

· 研究原著 ·

文章编号 1000-2790(2006)18-1720-03

表皮肿瘤中 COX-2 , VEGF 表达的意义

毛越苹¹ 段朝晖² 曾凡钦¹ 林宝珠¹ (中山大学附属第二医院 :¹ 皮肤性病科 ,² 临床免疫实验室 广东 广州 510120)

Expressions of cyclooxygenase-2 and vascular endothelial growth factor in skin tumors and their clinical significance

MAO Yue-Ping¹ , DUAN Zhao-Hui² , ZENG Fan-Qin¹ , LIN Bao-Zhu¹

¹Department of Dermatology & Venerology , ²Laboratory of Clinical Immunology , Second Affiliated Hospital , Zhongshan University , Guangzhou 510120 , China

【 Abstract 】 AIM : To investigate the expressions of cyclooxygenase-2(COX-2) and vascular endothelial growth factor(VEGF) in skin tumors and to explore the relationship between them. **METHODS :** COX-2 and VEGF protein expressions were detected by immunohistochemical staining in 15 seborrheic keratosis(SK) , 15 Bowen's disease(BD) , 20 basal cell epithelioma(BCE) , 20 squamous-cell carcinoma(SCC) and 5 normal skin tissues. **RESULTS :** COX-2 protein expression could be observed in these 4 kinds of skin tumors , but not in the normal skin tissues SCC(95.0%) , BD(73.3%) , SK(46.6%) , BCE(68.0%) respectively. VEGF protein expression could be observed in SCC (85.0%) , BD(60.0%) , SK(53.3%) , but not significant in normal tissue and BCE(13.3%) . Expression of VEGF was significantly higher in the group of COX-2 positive staining than the negative group in SCC ($P < 0.05$). **CONCLUSION :** There was over-expression of COX-2 in skin tumors. The expression of VEGF was correlated with the over-expression of COX-2 protein but unrelated with the nature of histiocytes. COX-2 may cooperate with VEGF to promote the formation and development of SCC.

【 Keywords 】 prostaglandin-endoperoxide synthase ; vascular endothelial growth factors ; skin neoplasms

【 摘 要 】 目的 : 了解表皮肿瘤组织环氧化酶-2(COX-2)及血管内皮生长因子(VEGF)表达的情况及其临床意义. 方法 : 免疫组织化学法检测脂溢性角化病(SK)15 例 , 皮肤原位癌(BD)15 例 , 基底细胞上皮癌(BCE)20 例 , 鳞癌(SCC)20 例及

收稿日期 2005-11-07 ; 接受日期 2006-01-04

基金项目 广东省医学科研基金项目(B2005032)

通讯作者 : 曾凡钦. Tel : (020) 81332210 Email : fqzeng@21cn.com

作者简介 : 毛越苹. 硕士 主治医师. Tel (020) 81332077 Email : maoyyp@tom.com

正常组织 5 例 COX-2 和 VEGF 的表达. 结果 : 所检测的各种组织标本均有 COX-2 的表达 , 分别为 SCC 95.0% , BD 73.3% , SK 46.6% , BCE 68.0% 表达强度以 SCC 最为显著. VEGF 在 SCC(85.0%) , BD(60.0%) , SK(53.3%) 的表达阳性率较高 , 而在正常组织和 BCE(13.3%) 中基本不表达. SCC COX-2 表达阳性者其 VEGF 表达的阳性率较 COX-2 表达阴性者高($P < 0.05$). 结论 : 表皮肿瘤存在 COX-2 的过表达 ; VEGF 表达与否与组织细胞的性质无关 ; VEGF 的表达与 COX-2 的过表达有关 , COX-2 可能与 VEGF 发挥协同作用 , 促进 SCC 的形成及发展.

【 关键词 】 前列腺素内过氧化物合酶 ; 血管内皮生长因子类 ; 皮肤肿瘤

【 中图分类号 】 R739.5

【 文献标识码 】 A

0 引言

新近的研究发现 , 有规律地服用阿司匹林等消炎镇痛药物(NSAID) 的患者实体肿瘤的发生率较低 (结肠癌的发病率降低 40% ~ 50%)^[1] , NSAID 的作用靶点—环氧化酶-2(cyclooxygenase-2 , COX-2) 与肿瘤的关系得到了普遍的关注. 大量研究表明 , COX-2 在许多肿瘤如结肠癌、前列腺癌、肺癌等均有稳定表达 , COX-2 的表达与人类肿瘤呈正相关. 血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor , VEGF) 是一种高度特异性的血管内皮细胞有丝分裂原 , 在许多肿瘤的生长过程中发挥着重要的作用. 为了解 COX-2 , VEGF 与表皮肿瘤的关系 , 我们检测了 COX-2 , VEGF 在皮肤良性肿瘤脂溢性角化病(seborrheic keratosis , SK) , 皮肤原位癌(Bowen's disease , BD) 和基底细胞上皮癌(basal cell epithelioma , BCE) , 鳞癌 (squamous cell carcinoma , SCC) 等的表达.

1 材料和方法

1.1 材料 ① 标本 2000-01/2004-10 中山大学附属第二医院皮肤性病科保存并经组织病理学检查确诊的石蜡组织标本 , 其中 SK 15(男 7 , 女 8) 例 , 年龄 38 ~ 68 岁 ; BD 15(男 5 , 女 10) 例 , 年龄 40 ~ 62 岁 ; BCE 20(男 13 , 女 7) 例 , 年龄 56 ~ 73 岁 ; SCC 20(男 15 , 女 5) 例 , 年龄 61 ~ 78 岁 ; 正常组织 5 例来自外科手术切除的正常皮肤组织. ② 试剂 用于免疫组化

的 SP 系列试剂盒及鼠抗人 COX-2, VEGF mAb(美国 ZYMED 公司)均购于北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学染色 采用常规 SP 法,主要步骤:石蜡切片常规脱蜡至水,EDTA/枸橼酸钠溶液浸泡,微波炉等处理进行抗原修复,30 mL/L H₂O₂ 去离子水孵育后,依次滴加封闭血清,一抗(37℃ 2~3 h),二抗(37℃ 10~15 min),辣根酶标记卵白素工作液(37℃ 10~15 min),每张切片滴加 2 滴新鲜配制的 DAB 溶液染色,显微镜下观察以控制反应时间,苏木素复染,中性树胶封片。一抗,二抗均按 1:200 稀释。

1.2.2 结果判定 COX-2 采用半定量法^[21],根据切片染色范围(即阳性细胞率)和阳性细胞着色强度分别计分。胞质内或核膜上呈棕黄色者为阳性。着色强度:0 分无色(-),1 分浅棕色(+),2 分棕黄色(++)和 3 分深棕色(+++)。染色范围以免疫染色最多的区域计数 500 个细胞,阳性细胞百分数分级:0 分 0~25%,1 分 1 级 26~50%,2 分 2 级 51%~75%,3 分 3 级 76%~100%。阳性细胞率+着色强度 ≥3 分为阳性。VEGF 以未见阳性者及 <25% 为阴性;阳性细胞 ≥25% 为阳性^[3]。

统计学处理:应用 SPSS10.0 统计学软件,计数资料用阳性率(%)表示,率的比较用配对资料的校正 χ^2 检验或 Fisher's 精确概率法,相关分析用 Spearman 等级相关。

2 结果

2.1 表皮肿瘤 COX-2 的表达 COX-2 在各组织标本中均有一定的表达,但其阳性表达的形式、强度和范围不一致。正常组织仅表现在基底细胞均匀的染色,着色较淡;SK 表现为强度不一的局灶性阳性染色;BD, SCC 均有染色均匀、范围较广泛的表达,其中 SCC 的染色强度、染色范围最显著, BCE 以肿瘤中心部位阳性为主,染色范围欠广泛,染色强度较 BD, SCC 为弱^[4]。

2.2 表皮肿瘤 VEGF 的表达 VEGF 在正常组织不表达,在 SCC(85.0%), BD(60.0%), SK(53.3%), BCE(13.3%)等肿瘤部位的胞质,胞膜及在间质处均可见散在棕色颗粒(图 1)。

2.3 COX-2 与 VEGF 表达的相关性 COX-2 阳性的 SCC 其 VEGF 表达的阳性率亦高($P > 0.05$),作等级相关分析,两者具相关性($r_s = 0.546, P < 0.05$);BCE 组织 COX-2 与 VEGF 表达的阳性率有

差异($P < 0.05$),但两者无相关性($r_s = -0.015, P > 0.05$,表 1)。

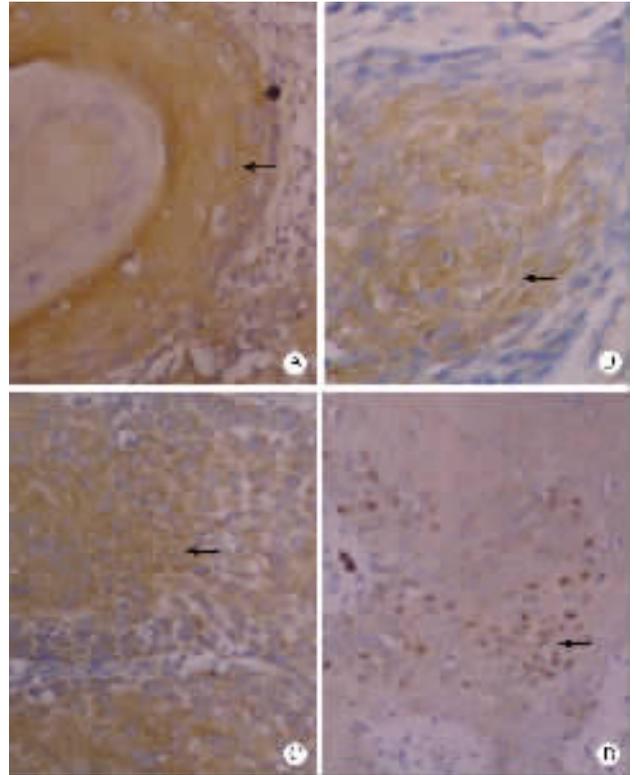


图 1 表皮肿瘤免疫组织化学染色 SP ×400 (图中箭头所指为 VEGF 染色阳性细胞)

表 1 COX-2 与 VEGF 表达的关系

组别	n	COX-2 阳性 表达率(%)	VEGF 阳性 表达率(%)	χ^2	P	r_s	P
SCC	20	19(95.0)	17(85.0)	0.500	0.500	0.546	0.013*
BCE	20	13(68.0)	2(13.3)	7.690	0.003*	-0.015	0.660
BD	15	11(73.3)	9(60.0)	0.250	0.625	0.431	0.109
SK	15	7(46.6)	8(53.3)	0.000	1.000	0.339	0.216

* 差异有显著性。SCC:鳞癌;BCE:基底细胞上皮瘤;BD:皮肤原位癌;SK:脂溢性角化病。

3 讨论

COX-2 在多种肿瘤及癌前病变细胞中存在着过度表达,被认为是皮肤外肿瘤预后的指标,如结肠癌,乳癌,肺癌,胰腺癌等^[4-6]。在人和动物模型表皮肿瘤的研究中,亦发现 SCC 及其癌前病变组织中 COX-2 的表达明显上调,故认为 COX-2 的表达可作为 SCC 恶性变的提示^[7]。我们应用免疫组化法检测了 SK, BD, BCE, SCC 及正常组织 COX-2 的表达。研究结果发现,肿瘤组织均有不同程度和范围的 COX-2 的表达,以 SCC(95%), BD(73.3%)为著,而

周围正常组织未见 COX-2 的表达,证实了 COX-2 在表皮肿瘤存在着过表达,并且与鳞状细胞来源的组织病变关系密切^[4]。

VEGF 是最重要的促血管生长因子之一^[8]。血管增生是肿瘤侵袭、转移的必要条件^[9]。在 VEGF 转基因小鼠,其发生表皮肿瘤的几率增加^[10]。本组资料显示 VEGF 在 SCC, BD, SK 均有较高的表达,而在正常皮肤及 BCE 几乎不表达,提示 VEGF 表达与否与组织细胞的性质无关,其在良性肿瘤 SK 较高的表达可能与 SK 等生长缓慢的新生组织亦需要新生血管的支持有关。此外,VEGF 在 SCC 中的高表达和在 BCE 中的低表达可能与两种组织的病理表现不同有关。BCE 表现为毛细血管扩张,无血管增生及毛细血管密度的改变,并且临床上生长缓慢,很少转移,而 SCC 具侵袭性及可能转移。VEGF 在这两种肿瘤组织中的不同表达也从另一方面证实了其在表皮肿瘤的发展和侵袭中起到一定的作用。

有研究表明,COX-2 具有促进细胞生长,抑制凋亡,参与肿瘤血管形成的功能,但具体机制尚未明确^[11]。本研究中,SCC 组织 COX-2 的表达与 VEGF 的表达呈正相关($P < 0.05$)即存在 COX-2 过表达的组织其 VEGF 也倾向过表达,提示 COX-2 可通过增加血管生长因子 VEGF 的表达来促进肿瘤血管的增生,从而促进表皮肿瘤的发展及转移,其中的机制可能与前列腺素有关。PGE1, PGE2 等可上调 VEGF 的表达,而 PGE2 对 COX-2 的表达有放大作用^[12],故过表达的 COX-2 在诱导前列腺素生成的同时,有可能上调 VEGF 的产生。COX-2 和 VEGF 在上皮细胞来源的表皮肿瘤均普遍表达,并且在 SCC 两者的表达关系密切,提示对表皮肿瘤的发生、发展起协同作用。深入研究其作用机制,可对以 COX-2 和 VEGF 为靶点的化学治疗提供理论依据。

【参考文献】

- [1] Thun MJ, Namboodiri MM, Calle EE, et al. Aspirin use and risk of fatal cancer[J]. *Cancer Res*, 1993, 53(6): 1322-1327.
- [2] 陆红, 戈之铮, 刘文忠, 等. 环氧合酶-2 蛋白在结肠疾病中的表达[J]. *胃肠病学杂志*, 2000, 5(3): 158-160.
- [3] Kyzas Pa, Cunha IW, Ioannidis JP. Prognostic significance of vascular endothelial growth factor immunohistochemical expression in head and neck squamous cell carcinoma: A meta-analysis[J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(4): 1434-1440.
- [4] 毛越苹, 段朝晖, 尹若菲, 等. COX-2 与 BCL-2 的表达与皮肤肿瘤关系的研究[J]. *中山大学学报: 医学科学版*, 2006, 27(2): 169-172.
- [5] Moran EM. Epidemiological and clinical aspects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and cancer risks[J]. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*, 2002, 21(2): 193-201.
- [6] 刘江伟, 李开宗, 襄科峰, 等. 胰腺癌组织 survivin 和 COX-2 表达的相关性[J]. *第四军医大学学报*, 2004, 25(7): 635-636.
- [7] Takeda K, Kanekura T, Kanzaki T. Negative feedback regulation of phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway by over-expressed cyclooxygenase-2 in human epidermal cancer cells[J]. *J Dermatol*, 2004, 31(7): 516-523.
- [8] Yancopoulos GD, Davis S, Gale NW, et al. Vascular-specific growth factors and blood vessel formation[J]. *Nature*, 2000, 407(6801): 242-248.
- [9] Larcher F, Franco M, Bolontrade M, et al. Modulation of the angiogenesis response through Ha-ras control, placenta growth factor, and angiopoietin expression in mouse skin carcinogenesis[J]. *Mol Carcinog*, 2003, 37(2): 83-90.
- [10] Larcher F, Murillas R, Bolontrade M, et al. VEGF/VPF overexpression in skin of transgenic mice induces angiogenesis, vascular hyperpermeability and accelerated tumor development[J]. *Oncogene*, 1998, 17(3): 303-311.
- [11] Nijsten T, Colpaert CG, Vermeulen PB, et al. Cyclooxygenase-2 expression and angiogenesis in squamous cell carcinoma of the skin and its precursors: A paired immunohistochemical study of 35 cases[J]. *Br J Dermatol*, 2004, 151(4): 837-845.
- [12] Badawi AF, Badr MZ. Expression of cyclooxygenase-2 and peroxisome proliferators-activated receptor-gamma and levels of prostaglandin E2 and 15-deoxy-delta 12, 14-prostaglandin J2 in human breast cancer and metastasis[J]. *Int J Cancer*, 2003, 103(1): 84-90.

编辑 井晓梅