

· 研究简报 · 文章编号 1000-2790(2004)16-1533-02

## 食管鳞癌中 COX-2, VEGF 的表达意义

索智敏<sup>1</sup>, 李继昌<sup>2</sup>, 康玉华<sup>1</sup>, 余玲<sup>1</sup>, 赵江海<sup>1</sup>, 任学群<sup>1</sup>, 景红<sup>1</sup>, 吴江<sup>1</sup> ( <sup>1</sup> 河南大学淮河医院消化科, 河南开封 475000, <sup>2</sup> 郑州大学第一附属医院消化科, 河南郑州 450052 )

【关键词】食管肿瘤 环氧合酶-2 内皮 血管 内皮生长因子

【中图分类号】R735.1 【文献标识码】B

**0 引言** 环氧合酶-2(COX-2)是催化花生四烯酸代谢为前列腺素(PG)的限速酶,参与炎症、肿瘤等病理过程。研究表明,许多肿瘤的发生、发展均与COX-2的表达有关。血管内皮生长因子(VEGF)对血管内皮细胞增殖有直接作用,是最主要的促血管生长因子之一,在肿瘤的生长过程中发挥着重要作用。但关于COX-2和VEGF与食管鳞癌生物学行为的研究较少,我们采用免疫组化方法检测COX-2,VEGF在食管鳞癌、不典型增生及正常组织中的表达,探讨COX-2,VEGF与食管鳞癌的发生、发展及转移的关系。

### 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集淮河医院2001/2002年收治的食管癌手术标本41(男22,女19)例,平均年龄 $52 \pm 8$ (38~74)岁。其中,高分化癌17例,中分化癌14例,低分化癌10例;有淋巴结转移19例,无淋巴结转移22例;侵犯外膜20例,未及外膜21例。不典型增生组织12(重度6,轻、中度6)例,均取自内镜活检组织。正常食管粘膜组织20例,取自食管癌手术切除标本中距癌组织5cm以外的组织,并经常规病理切片证实为正常组织。患者术前均未接受化疗、放疗及免疫治疗。所有病理诊断均经两位病理专家认同。兔抗人COX-2多克隆抗体(工作浓度为1:25)和兔抗人VEGF多克隆抗体(工作浓度为1:50)购自武汉博士德公司。

**1.2 方法** 全部石蜡标本均切成5mm厚的组织切片,采用常规免疫组化SP法,以已知阳性的结肠癌切片作阳性对照,以PBS代替一抗作阴性对照,所有对照与实验标本均在同一条件下按试剂盒推荐方法进行染色。结果判定为以胞质出现棕黄色颗粒的细胞为阳性细胞。每张切片在高倍显微镜下取5个不同视野,各计数100个细胞,COX-2以阳性细胞数小于10%为阴性, $\geq 10\%$ 为阳性<sup>[1]</sup>。VEGF以未见阳性者及阳性率 $< 25\%$ 为阴性,阳性细胞数 $\geq 25\%$ 为阳性<sup>[2]</sup>。

统计学处理:应用SPSS10.0统计软件进行统计学处理,对计数资料采用 $\chi^2$ 检验、Fisher精确概率法。

### 2 结果

**2.1 COX-2 表达** COX-2在正常食管粘膜组中不表达,在

收稿日期 2004-01-06; 修回日期 2004-04-06

作者简介 索智敏(1967-),女(汉族),河南省滑县人,硕士,副主任医师,副教授。Tel. (0378)3154641 Email. kflxm66@163.com

轻、中度不典型增生组中表达率为16.7%,在重度不典型增生及食管鳞癌中表达增加,表达率分别为50.0%和53.7%( $P < 0.05$ )。

**2.2 VEGF 表达** VEGF在正常食管粘膜组中不表达,在不典型增生组中表达率为16.7%,在食管鳞癌中表达增加,表达率为58.5%( $P < 0.05$ )。

**2.3 COX-2, VEGF 与食管鳞癌病理因素之间的关系** COX-2, VEGF的表达与食管鳞癌的分化程度和浸润深度无关,而与淋巴结转移有相关性(表1)。

表1 COX-2, VEGF 蛋白表达与食管癌临床病理因素之间的关系

病理因素	n	COX-2		阳性 率(%)	VEGF		阳性 率(%)
		+	-		+	-	
<b>肿瘤分级</b>							
高分化	17	12	5	70.6	9	8	52.9
中分化	14	6	8	42.9	8	6	57.1
低分化	10	4	6	40.0	7	3	70.0
<b>淋巴结转移</b>							
有	19	14	5	73.7*	15	4	78.9*
无	22	8	14	36.4	9	13	40.9
<b>浸润深度</b>							
侵犯外膜	20	12	8	60.0	13	7	65.0
未侵犯外膜	21	10	11	47.6	11	10	52.4

\* $P < 0.05$  vs 无淋巴结转移。

**3 讨论** COX至少有两种同工酶即COX-1和COX-2,COX-1是结构蛋白,维持细胞正常的生理功能。COX-2为诱导蛋白,参与炎症、肿瘤等病理过程。COX-2与肿瘤的关系首先来源于流行病学资料,长期服用非甾体抗炎药物(NSAIDs)的人群中结肠癌及腺瘤样息肉的发病率明显下降,结肠癌的死亡率降低了45%。其原因主要是由于NSAID抑制了结肠癌中COX-2的高表达<sup>[3]</sup>。近期研究也证实COX-2在许多肿瘤组织中呈高表达,提示COX-2参与了肿瘤的发生、发展。我们的研究结果显示,COX-2在重度不典型增生及食管癌组织中表达明显增高,表明COX-2可能参与了食管癌发生的早期过程,与Shamma等<sup>[4]</sup>和Ratnasinghe等<sup>[5]</sup>的报道基本一致。我们还发现,COX-2的表达与肿瘤细胞分化程度及浸润深度无关,具体原因有待于进一步研究。在有淋巴结转移组中COX-2的表达率高于无淋巴结转移组,结果与有关报道<sup>[6]</sup>相符。关于COX-2促进淋巴结转移的原因可能是COX-2促进新生血管形成,而食管粘膜下淋巴管与新生血管伴随发生,肿瘤细胞可通过新生血管向深处侵入淋巴道,同时COX-2还可使基质蛋白酶-2活性增加,有助于侵袭淋巴结而发生转移<sup>[7]</sup>。肿瘤的生长依赖于新生血管的支持,VEGF具有很强的促血管生成作用,是最主要的促血管生成因子,既能促进内皮细胞的增殖,又能促进血管渗漏,同时还可特异性诱导淋巴管的形成,在肿瘤的生长和转移中起着极为重要的作用。我们的研究表明,

VEGF 在食管鳞癌组织中表达率为 58.5%, 而正常食管粘膜组织中不表达, VEGF 与淋巴结转移有关, 而与分化程度和浸润深度无关, 而有报道<sup>[8]</sup> VEGF 与肿瘤细胞分化程度呈负相关, 与浸润深度呈正相关。具体原因有待于进一步探讨。

COX-2, VEGF 均参与了食管鳞癌的发生, 促进肿瘤的发生和淋巴结转移的过程, 并可能具有协同作用。COX-2, VEGF 蛋白表达的测定可能作为食管鳞癌的潜在标志物, 有助于食管鳞癌的诊断和预后判断, 为肿瘤治疗新途径提供理论依据, 特异性 COX-2 抑制剂有望成为食管癌及其癌前病变防治的新方法, 同时, VEGF 也可能成为抗肿瘤血管生成治疗中的生物靶点。

## 【参考文献】

- [1] 王立峰, 张伟, 王吾如等. 食管癌发生发展过程中环氧合酶-2 蛋白表达的研究 [J]. 中华肿瘤杂志, 2001 23(1): 14-16.
- [2] Kitadai Y, Haruma K, Tokutomi T, et al. Significance of vessel count and vascular endothelial growth factor in human esophageal carcinomas [J]. *Clin Cancer Res*, 1998; 4(9): 2195-2200.

- [3] Pennisi E. Does aspirin ward off cancer and Alzheimer's [J]? *Science*, 1998 280: 1192.
- [4] Shamma A, Yamamoto H, Doki Y, et al. Up-regulation of cyclooxygenase-2 in squamous carcinogenesis of the esophagus [J]. *Clin Cancer Res*, 2000; 6(4): 1229-1238.
- [5] Ratnasingham D, Tangrea J, Roth MJ, et al. Expression of cyclooxygenase-2 in human squamous cell carcinoma of esophagus: An immunohistochemical survey [J]. *Anticancer Res*, 1999; 19(1A): 171-174.
- [6] 吴清明, 李胜保, 王强等. 食管癌环氧合酶-2 的表达与临床病理特征的关系 [J]. 世界华人消化杂志, 2001 9(1): 11-14.
- [7] 陈志康, 欧阳植庭. 癌胚抗原和环氧合酶-2 表达与结、直肠癌的关系 [J]. 癌症, 2003 22(2): 164-167.
- [8] Inoue K, Ozeki Y, Sugauma T, et al. Vascular endothelial growth factor expression in primary esophageal squamous cell carcinoma, association with angiogenesis and tumor progression [J]. *Cancer*, 1997 79(2): 206-213.

编辑 王睿

· 研究简报 · 文章编号 1000-2790(2004)16-1534-02

## 抗血管内皮生长因子抗体对小鼠肾母细胞瘤生长和转移的抑制

单岩<sup>1</sup>, 张谦<sup>2</sup>, 吴国华<sup>3</sup> (郑州大学护理学院:<sup>1</sup> 临床教研室,<sup>3</sup> 医教科,<sup>2</sup> 郑州大学一附院小儿外科, 河南 郑州 450052)

【关键词】肾母细胞瘤; 内皮血管; 内皮生长因子; 新生血管化; 病理化

【中图分类号】R737.11 【文献标识码】A

**0 引言** 血管内皮生长因子(VEGF)是血管生成的关键因子, 能特异性地刺激内皮细胞有丝分裂, 从而建立肿瘤的微血管网络<sup>[1]</sup>。任何阻断 VEGF 作用的方案都可能抑制肿瘤微血管的生成, 进而抑制肿瘤的生长。本实验中, 我们将抗 VEGF 抗体注射至小鼠肾母细胞瘤模型中, 以观察抗 VEGF 抗体对小鼠肾母细胞瘤的生长和转移的抑制作用。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** BALB/c 裸小鼠, 雄性, 鼠龄 4~6 wk, 体质量 (25±2) g, 购自郑州大学实验动物中心。抗 VEGF 单克隆抗体(工作浓度 1:50), Sant Cruz 公司产品。G401 肾母细胞瘤细胞株由河南省肿瘤研究所提供。100 mL/L 胎牛血清 1640 细胞培养液 2.5 g/L 胰蛋白酶液。

## 1.2 方法

收稿日期 2004-04-22; 修回日期 2004-06-14

作者简介: 单岩(1969-), 女(汉族), 浙江省嵊州市人, 硕士, 讲师。

Tel. 13653868505 Email. sy110@sina.com

**1.2.1 小鼠肾母细胞瘤模型的建立及分组** 将冻存的 G401 肾母细胞瘤细胞株常规复苏, 用弯头吸管将其吸入培养瓶中, 加入少许培养液(100 mL/L 的胎牛血清与 10 g/L 青、链霉素)。将培养瓶放入培养箱(温度 37℃, 50 mL/L CO<sub>2</sub>)。传代 3 代以上, 待细胞 90% 融合时制备成悬液。胰蛋白酶获得, 台盼蓝染色计数, 无菌 PBS 液冲洗, 调整细胞悬液密度为 10<sup>10</sup>/L。动物甲本嗜睡(5 mg/kg ip)麻醉后, 选右腹部纵行切口暴露右肾。将 0.0005 L 悬液种植于裸小鼠右肾包膜下, 逐层关腹。接种 G401 肾母细胞瘤细胞株的小鼠共计 24 只, 随机分为抗 VEGF 抗体治疗组和对照组, 每组 12 只。

**1.2.2 抗 VEGF 抗体的治疗方案** 小鼠接种 G401 肾母细胞瘤细胞株 1 wk 后, 分组经腹腔给药: 抗 VEGF 抗体治疗组每只小鼠注射抗 VEGF 抗体 0.1 mL(含 100 μg 抗 VEGF 抗体), 2 次/wk, 治疗共计 5 wk, 对照组给予 PBS 缓冲液。(第 6 周分别将抗 VEGF 抗体治疗组及对照组 6 只小鼠颈椎脱臼法处死)。余继续饲养不予抗 VEGF 抗体治疗, 第 9 周将所有实验动物均处死。

**1.2.3 标本制备** 处死小鼠, 切取肾及肺组织, 测量左肾和右肾质量, 每只肾取一半用 40 g/L 甲醛液固定, 另一半冷藏于 -80℃ 冰箱中。双侧肺组织均用 40 g/L 甲醛液固定。将固定的组织进行石蜡切片。肺组织采用 HE 染色, 按外科病理要求确定肺组织有否转移<sup>[2]</sup>。

**统计学处理:** 所有数据用  $\bar{x} \pm s$  表示。转移率的比较选用 Fisher 精确检验。复发肿瘤与治疗肿瘤的比较采用 *t* 检验方法, 方差不齐时采用 *t'* 检验。

## 2 结果

**2.1 形态学观察** 整个试验过程无动物死亡, 治疗无副作用(动物行为无异常)。对照组: 多数小鼠瘤块表面有出血, 有肿瘤血管生成, 肾实质被肿瘤细胞浸润。抗体治疗组: 肿瘤明显较小, 肾包膜表面没有肿瘤血管生成。6 wk 时, 对照组肿