

# COX-2、c-erbB-2、nm23-H1、PCNA 表达与 宫颈鳞癌预后的关系

欧阳艳琼<sup>1</sup>, 吴绪峰<sup>1</sup>, 马莱克<sup>1</sup>, 陈惠祯<sup>1</sup>, 王玉仁<sup>2</sup>, 张志强<sup>2</sup>

## Prognostic Significance of Expression of COX-2, c-erbB-2, nm23-H1 and PCNA in Cervical Carcinoma

OUYANG Yan-qiong, WU Xu-feng, MA Lai-ke, et al

Department of Gynecological Oncology, ZhongNan Hospital, WuHan University, Wuhan 430071, China

**Abstract: Objective** To study the association of expression of COX-2, c-erbB-2, nm23-H1, PCNA with the prognosis of cervical cancer. **Methods** Immunohistochemical assay was used to detect COX-2, c-erbB-2, nm23-H1 and PCNA in all specimens, including 52 cervical cancers and 30 normal cervixes. **Results** (1) It was the expression of nm23-H1 and PCNA, but not COX-2 and c-erbB-2, that were related to lymph node metastasis ( $P < 0.05$ ). The latter was positively correlated with lymph node metastasis while the former was negatively. (2) The expression of COX-2 and PCNA was more frequently detected in recurrent tumors ( $P < 0.05$ ), while the expression of c-erbB-2 and nm23-H1 were not related to recurrence ( $P > 0.05$ ). (3) The expression of COX-2 and PCNA was negatively related to the prognosis in cervical carcinoma, with the expression of nm23-H1 being positive. The c-erbB-2 expression had no relationship with survival. The multivariate Cox proportional hazard regression model indicated that lymph node metastasis and the expression of COX-2, nm23-H1 have influence on prognosis. **Conclusion** COX-2, nm23-H1, and PCNA may be useful independent prognostic factors in squamous cell uterine cervical carcinoma. The patients with COX-2(+)/nm23-H1(-) are at high risk of poor prognosis. c-erbB-2 is of no prognostic significance in squamous cell uterine cervical carcinoma.

**Keywords:** COX-2; c-erbB-2 gene; nm23-H1 gene; Proliferating cell nuclear antigen; Cervical neoplasms; Immunohistochemistry; Prognosis

**摘要:**目的 探讨环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)、c-erbB-2、nm23-H1、增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)的表达与宫颈鳞癌预后的关系。方法 应用免疫组化 S-P 方法检测了 30 例正常宫颈和 52 例宫颈鳞癌组织中 COX-2、c-erbB-2、nm23-H1、PCNA 的表达。结果 (1) COX-2、c-erbB-2 表达与淋巴结转移无关 ( $P > 0.05$ ), 而 PCNA 表达与淋巴结转移呈正相关 ( $P < 0.05$ ), nm23-H1 表达与淋巴结转移呈负相关 ( $P < 0.05$ ); (2) 复发患者 COX-2 与 PCNA 表达阳性率明显高于未复发的患者 ( $P < 0.05$ ), 而 nm23-H1 及 c-erbB-2 表达与复发无关 ( $P > 0.05$ ); (3) COX-2、PCNA 表达与预后呈负相关, 而 nm23-H1 表达则与预后呈正相关, c-erbB-2 表达与生存无关。多因素分析表明淋巴结转移、COX-2、nm23-H1 是影响宫颈鳞癌预后的独立因素。结论 COX-2、nm23-H1、PCNA 是影响宫颈鳞癌预后的独立因素; COX-2 (+)/nm23-H1 (-) 高度提示预后不良; c-erbB-2 表达与预后无关。

**关键词:** 环氧合酶; c-erbB-2 基因; nm23-H1 基因; 增殖细胞核抗原; 宫颈肿瘤; 免疫组化; 预后

中图分类号: R737.33 文献标识码: A 文章编号: 1000-8578(2004)02-0084-04

## 0 引言

宫颈癌是女性最常见的恶性肿瘤之一, 而鳞癌是其病理类型。探讨宫颈鳞癌的分子标志物与临床病理参数及预后的关系, 有助于更好地理解宫

颈鳞癌的生物行为, 为评估患者的预后提供更加可靠的依据。虽然与宫颈鳞癌预后有关的分子标志物的研究很多, 但多为单因素分析, 本课题对宫颈鳞癌标本切片采用免疫组化法同步检测 COX-2、c-erbB-2、nm23-H1、PCNA 表达, 结合临床病理参数, 探讨 COX-2、c-erbB-2、nm23-H1、PCNA 表达与患者预后的关系, 试图发现判断宫颈鳞癌预后的可靠标志物, 以期为临床治疗和判断预后提供依

收稿日期: 2003-04-03; 修回日期: 2003-10-13

基金项目: 湖北省科技厅资助项目(2002AA305B07)

作者单位: 1. 430071 武汉大学中南医院妇科科; 2. 武警湖北总队医院病理科

据。

## 1 材料和方法

1.1 标本的收集 宫颈鳞癌患者 52 例为中南医院 1999 年 10 月~2002 年 3 月的住院病人,年龄 21~53 岁,平均 $31.2 \pm 6.7$ 岁;FIGO 临床分期 IB 期 15 例,IIA 期 8 例,IIB 期 25 例,III 期 2 例,IV 期 2 例;16 例伴有淋巴结转移;24 例伴有宫旁浸润;11 例伴有脉管浸润;8 例肿瘤直径  $\geq 5$ cm,44 例肿瘤直径  $< 5$ cm;病理分级 I 级 7 例,II 级 28 例,III 级 17 例。30 例正常宫颈上皮组织均为子宫切除术时切除的正常宫颈组织。

1.2 方法 兔抗人 COX-2 多克隆抗体、鼠抗人 c-erbB-2 单克隆抗体、鼠抗人 nm23-H1 单克隆抗体、鼠抗人 PCNA 单克隆抗体均为美国 SantaCruz 公司产品,S-P 试剂盒购自北京中山生物技术有限公司。免疫组化染色程序严格按 S-P 试剂盒说明书进行。

1.3 结果判断 每批染色均设立对照,以 PBS 液代替一抗为阴性空白对照,用已知 COX-2 阳性的肺癌、c-erbB-2 阳性的乳腺癌、nm23-H1 阳性的乳腺浸润性导管癌、PCNA 阳性的大肠癌切片为阳性对照,以细胞内出现棕黄色颗粒者为阳性。COX-2、nm23-H1 表达位于细胞胞浆内,c-erbB-2 阳性染色定位于细胞膜,PCNA 表达位于细胞核。

1.4 统计学处理 采用 SAS 软件包进行统计学处理。各组间比较采用  $\chi^2$  检验及 Fisher 精确概率检验法,分析 COX-2 与 c-erbB-2、nm23-H1、PCNA 表达之间的关系采用相关系数  $r$ 。预后因素分析采用 Cox 比例风险回归模型,以  $P < 0.05$  为差异有显著性。

## 2 结果

### 2.1 COX-2、c-erbB-2、nm23-H1、PCNA 表达的免疫组化结果

正常宫颈组织 COX-2、c-erbB-2 和 nm23-H1 无表达;PCNA 阳性表达率为 9%。52 例宫颈鳞癌患者中 COX-2 阳性表达 23 例,阳性率为 44.2%;c-erbB-2 阳性表达 13 例,阳性率为 25.0%;nm23-H1 阳性表达 25 例,阳性率为 48.1%;PCNA 阳性表达 42 例,阳性率为 80.8%。与正常宫颈组织相比较,宫颈鳞癌患者 COX-2、c-erbB-2、nm23-H1、PCNA 表达有显著性差异( $P < 0.01$ )。

### 2.2 COX-2、PCNA、nm23-H1、c-erbB-2 阳性表达与宫颈癌临床病理特征的关系

本研究发现 COX-2 的表达与宫颈癌患者的临床分期、肿瘤分化程度及有无淋巴结转移无关( $P >$

0.05)。伴淋巴结转移的患者 COX-2 的阳性表达率高于不伴淋巴结转移的患者,但无统计学差异( $P > 0.05$ )。伴宫旁浸润或脉管浸润、肿瘤直径  $\geq 5$ cm 的宫颈癌患者 COX-2 的阳性表达率明显高于无宫旁浸润或脉管浸润、肿瘤直径  $< 5$ cm 的患者( $P < 0.05$ )。

c-erbB-2 表达与临床分期、肿瘤分化程度、肿瘤直径及有无淋巴结转移无关( $P > 0.05$ )。伴宫旁浸润或脉管浸润的宫颈癌患者 c-erbB-2 阳性表达率明显高于不伴宫旁浸润或脉管浸润的患者( $P < 0.05$ )。

nm23-H1 的表达与临床分期、肿瘤分化程度及肿瘤直径无关( $P > 0.05$ )。伴有淋巴结转移、宫旁浸润或脉管浸润的宫颈癌患者 nm23-H1 阳性表达率明显低于不伴淋巴结转移、宫旁浸润或脉管浸润的患者( $P < 0.05$ )。nm23-H1 低表达或不表达的患者淋巴结转移、宫旁浸润或脉管浸润发生率高( $P < 0.05$ )。

PCNA 表达与临床分期、肿瘤分化程度、肿瘤直径及有无宫旁浸润或脉管浸润无关( $P > 0.05$ )。伴淋巴结转移患者的 PCNA 阳性表达率及表达强度明显高于无淋巴结转移患者( $P < 0.05$ )。

### 2.3 COX-2、c-erbB-2、nm23-H1、PCNA 表达之间的关系

本研究发现 COX-2 与 nm23-H1 呈负相关,与 PCNA 呈正相关,与 c-erbB-2 没有相关性;c-erbB-2 与 nm23-H1 呈负相关,与 PCNA 没有相关性;nm23-H1 与 PCNA 呈负相关。

### 2.4 COX-2、c-erbB-2、nm23-H1、PCNA 表达与复发及预后的关系

52 例鳞癌患者平均随访 22 个月(8~36 个月),8 例复发,其中 5 例 COX-2(+)/nm23-H1(-),1 例 COX-2(+)/nm23-H1(+),2 例 COX-2(-)/nm23(+). 复发患者 COX-2 阳性表达率明显高于无复发患者( $P < 0.05$ ),c-erbB-2、nm23-H1、PCNA 表达与复发无关( $P > 0.05$ )。生存  $\geq 2$  年的患者 COX-2、PCNA 阳性表达率明显高于生存  $> 2$  年的患者( $P < 0.05$ ),COX-2、PCNA 阳性表达与生存呈负相关。nm23-H1 阳性表达则正好相反,生存  $> 2$  年的患者 nm23-H1 阳性表达率明显高于生存  $\geq 2$  年的患者( $P < 0.05$ )。c-erbB-2 表达与生存无关( $P > 0.05$ ),Cox 比例风险回归模型单因素分析表明淋巴结转移、COX-2、nm23-H1 及 PCNA 表达均与预后密切相关,多因素分析显示淋巴结转移、COX-2、nm23-H1 是对宫颈鳞癌预后具有显著影响的 3 个重要因素,见表 1。

表 1 Cox 比例风险模型分析宫颈癌预后因素

变量	因素	单因素分析 (P 值)	RR (95 %CI)	多因素分析 (P 值)	RR (95 %CI)
X1	肿瘤大小	0.058	2.6 (0.8 ~ 9.0)		
X2	宫旁浸润	0.10	2.0 (0.9 ~ 6.4)		
X3	脉管浸润	0.25	1.7 (0.7 ~ 4.3)		
X4	淋巴结转移	0.0037 <sup>b</sup>	9.8 (3.2 ~ 22.2)	0.0086 <sup>b</sup>	6.3 (2.9 ~ 20.6)
X5	COX-2 表达	0.0045 <sup>b</sup>	3.8 (2.4 ~ 19.9)	0.0074 <sup>b</sup>	4.8 (2.5 ~ 15.7)
X6	c-erbB-2 表达	0.083	5.9 (1.2 ~ 20.3)		
X7	nm23-H1 表达	0.0097 <sup>b</sup>	7.1 (3.9 ~ 24.3)	0.041 <sup>a</sup>	2.8 (1.7 ~ 14.4)
X8	PCNA 表达	0.036 <sup>a</sup>	3.7 (2.7 ~ 11.1)	>0.2	

注:RR 相对危险度;CI 可信区间;a  $P < 0.05$ , b  $P < 0.01$

### 3 讨论

目前,国内外学者都在致力于研究能够预测宫颈癌病人预后的生物学指标,目的是为了进一步改进治疗措施,改善宫颈癌患者预后,提高生存率。

COX-2 是一个诱导酶,参与炎症及肿瘤的新生血管生成等病理过程。最早发现 COX-2 与肿瘤的关系是 20 世纪 80 年代,流行病学研究表明长期服用大剂量阿司匹林等非甾体类抗炎药物的人群,结肠癌的患病率及死亡率均降低 40% ~ 50%。COX-2 参与肿瘤发生的机理尚不清楚,本研究证实 COX-2 表达与肿瘤大小、脉管浸润或宫旁浸润等有显著相关性,表明 COX-2 表达增加肿瘤浸润的潜能,这一结论与 Ferrandina<sup>[1]</sup> 基本一致, Ferrandina 研究 84 例 IB ~ IVA 期患者 COX-2 的表达与临床病理参数和临床结局的关系发现 COX-2 表达阳性者生存时间比 COX-2 表达阴性者明显缩短,多因素分析表明仅分期较晚和 COX-2 表达阳性对生存时间有独立预后作用。尽管 Ferrandina 没有证实 COX-2 表达与宫旁浸润的相关性,但 Ferrandina 认为与化疗对肿瘤体积的影响有关。Ryu 等<sup>[2]</sup> 发现淋巴结转移和脉管浸润的患者 COX-2 表达明显增强,本研究也发现 COX-2 表达与脉管浸润或宫旁浸润及肿瘤大小等有显著相关性,而与淋巴结转移之间没有相关性,分析与 Ryu 结论不同的原因可能是:(1) Ryu 研究病例均为 IB 期患者;(2) Ryu 将淋巴结转移或脉管浸润、宫旁浸润等病理参数一起笼统地研究,没有区分开来,因而结果有失偏颇。Gaffney<sup>[3]</sup> 发现 COX-2 表达强度与肿瘤大小呈正相关,认为 COX-2 是与局部控制和生存有关的唯一预后因素,COX-2 表达高者预后较差,总生存率和无瘤生存时间均降低<sup>[4]</sup>。本研究证实 COX-2 表达阳性者 2 年生存率比 COX 表达阴性者低,COX-2 阳性表达是影响复发的独立预后因素。

c-erbB-2 癌基因编码具有酪氨酸蛋白激酶活性的细胞膜糖蛋白,参与细胞生长、繁殖、分裂的调控

及控制肿瘤的生长。c-erbB-2 表达与宫颈癌预后的关系尚有争议。刘曼华等<sup>[6]</sup> 认为 c-erbB-2 表达则提示预后较差,c-erbB-2 表达与预后有明显相关性,但刘曼华等人的研究病例中包括鳞癌和腺癌患者。另有研究<sup>[8]</sup> 表明 c-erbB-2 表达与宫颈腺癌预后不良有关,但与宫颈鳞癌的预后无关。本研究发现伴有淋巴结转移的鳞癌患者 c-erbB-2 阳性表达率明显升高,但同时发现鳞癌患者 c-erbB-2 阳性表达与复发及预后无关,与 Mandai<sup>[8]</sup> 等结论一致。因此,c-erbB-2 表达是否能作为判断宫颈癌转移和预后的分子标志物还有待进一步研究。

nm23 基因是一种与肿瘤转移潜能相关、对肿瘤侵袭起负作用的基因,包括 nm23-H1、nm23-H2 等多个基因。nm23-H1 在宫颈癌中的表达及其意义存在争议。刘曼华等<sup>[5]</sup> 发现 nm23-H1 表达水平与临床分期呈负相关,临床分期越早表达率越高,伴有淋巴结转移的鳞癌患者和复发的鳞癌患者中 nm-23-H1 表达均阴性。认为 nm23-H1 在疾病早期已经表达,nm23-H1 低表达或不表达者预后差。Utrera-Barillas<sup>[6]</sup> 研究发现 nm23-H1 表达的鳞癌患者生存率明显高于 nm23-H1 缺乏患者,nm23-H1 缺乏预示预后不良,但 Mandai 等<sup>[8]</sup> 认为 nm-23-H1 低表达与宫颈腺癌预后不良有关,与宫颈鳞癌的预后无关。本研究发现 nm23-H1 的表达与临床分期、肿瘤分化程度及肿瘤直径无关,有淋巴结转移、脉管浸润或宫旁浸润者 nm23-H1 阳性表达率明显低于无淋巴结转移、脉管浸润或宫旁浸润者,nm23 表达与淋巴结转移、脉管浸润或宫旁浸润呈明显负相关。周勤等<sup>[7]</sup> 也发现有淋巴结转移者 nm23-H1 阳性表达率明显低于无淋巴结转移者,认为 nm23-H1 基因可作为判断宫颈鳞癌的恶性程度、评估病情发展、预测淋巴结转移的指标之一。本研究证实 nm23-H1 的表达与宫颈癌的预后呈正相关,可作为判断宫颈癌预后的一项指标。

PCNA 是一种与细胞增殖相关的抗原,应用免疫组化方法检测 PCNA 是研究肿瘤细胞增殖活性

的常用方法,表达强意味着肿瘤细胞处于增殖期,对药物治疗敏感,有利于指导临床化疗<sup>[4]</sup>。PCNA 表达可作为判断肿瘤预后的指标<sup>[9]</sup>,但其与临床分期、肿瘤分化程度、复发和转移的相关性尚需进一步研究。PCNA 阳性表达率在有淋巴结转移的宫颈癌组织中明显高于无淋巴结转移组,说明 PCNA 可估计细胞增殖及肿瘤的转移潜能,细胞增殖活性与肿瘤转移密切相关<sup>[10]</sup>。本研究发现 PCNA 指数(即 PCNA 阳性细胞在肿瘤细胞中所占的比例)高者 2 年生存率明显低于 PCNA 指数低者,PCNA 是影响预后的一个重要因素,PCNA 表达越强、PCNA 指数越高者预后越差。因此,本研究认为肿瘤的增殖活性越高,越容易浸润和转移,生存率也越低,PCNA 表达可作为反映淋巴结转移和预测预后的重要指标。

本研究发现 COX-2 阳性表达、nm23-H1 低或无表达的患者,2 年生存率以及无复发生存时间更低。Cox 比例风险回归模型单因素及多因素分析表明 COX-2、nm23-H1 是宫颈鳞癌的独立预后指标,COX-2(+)/nm23-H1(-)患者预后不良。Cox 比例风险模型表明 c-erbB-2 表达与生存时间无关,因此 c-erbB-2 表达不是鳞癌患者的预后因素。

总之,检测宫颈鳞癌患者 COX-2、c-erbB-2、PCNA、nm23-H1 表达,尤其是 COX-2 与 nm23-H1 表达有利于筛选复发高危患者和预后不良者,可以将 COX-2 与 nm23-H1 表达作为联合的预后指标应用于临床,为临床有效治疗提供理论依据。当然,目前已知有许多指标与宫颈癌预后密切相关,如能加大样本例数进行多指标、多水平的联合检测,必将会大大提高预后预测的准确性,从而更好地指导临床治

疗。

#### 参考文献:

- [1] Ferrandina G, Lauriola L, Distefano MG, et al. Increased cyclooxygenase-2 expression is associated with chemotherapeutic resistance and poor survival in cervical cancer patients [J]. *J Clin Oncol*, 2002, 20 (4): 973-981.
- [2] Ryu HS, Chang KH, Yan GH, et al. High cyclooxygenase-2 expression in stage I cervical cancer with lymph node metastasis or parametrial invasion [J]. *Gynecol Oncol*, 2000, 76 (3): 320-325.
- [3] Gaffney DK, Holden J, Davis M, et al. Elevated cyclooxygenase-2 expression correlates with diminished survival in carcinoma of the cervix treated with radiotherapy [J]. *Int J Radiation Oncology Biol Phys*, 2001, 49 (5): 1213-1217.
- [4] Kim YB, Kim GE, Cho NH, et al. Overexpression of cyclooxygenase-2 is associated with a poor prognosis in patients with squamous cell carcinoma of the uterine cervix treated with radiation and concurrent chemotherapy [J]. *Cancer*, 2002, 95 (3): 531-539.
- [5] 刘蔓华,冯一中,韩枋. nm23-H1 蛋白在宫颈癌组织中的表达及临床意义 [J]. *肿瘤*, 2002, 22 (2): 142-144.
- [6] Utrera-Barillas D, Salcedo-Vargas M, Garioglio Vidal P, et al. High nm23-H1 gene expression and proteolytic activities in squamous cell carcinoma of the uterine cervix [J]. *Arch Med Res*, 2000, 31 (2): 172-178.
- [7] 周勤,徐小蓉. nm23-H1 在宫颈原位癌及浸润癌中的表达 [J]. *实用妇产科杂志*, 2001, 17 (2): 112-114.
- [8] Mandai M, Konishi I, Koshiyama M, et al. Altered expression of nm23-H1 and c-erbB-2 proteins have prognostic significance in adenocarcinoma but not in squamous cell carcinoma of the uterine cervix [J]. *Cancer*, 1995, 75 (10): 2523-2529.
- [9] Konishi I, Nanbu K, Mandai M, et al. Tumor response to neoadjuvant chemotherapy correlates with the expression of P-glycoprotein and PCNA but not GST-pi in the tumor cells of cervical carcinoma [J]. *Gynecol Oncol*, 1998, 70 (3): 365-371.
- [10] 王冬,王占东,魏庆英,等. CD44v6、PCNA 在宫颈癌中的表达及淋巴结转移的相关性分析 [J]. *中国肿瘤临床*, 1999, 26 (6): 423-425.

(刘红武校对)