

· 研究原著 ·

文章编号 1000-2790(2006)07-0615-03

食管鳞癌组织 COX-2 和 VEGF-C 表达与淋巴转移的关系

逢小红, 李效良, 李跃, 葛兆茹, 吕伯实, 安淑红 (泰山医学院解剖学教研室, 山东泰安 271000)

Correlation between COX-2 and VEGF-C expressions and lymphatic metastasis in esophageal squamous carcinoma

PANG Xiao-Hong, LI Xiao-Liang, LI Yue, GE Zhao-Ru, LÜ Bo-Shi, AN Shu-Hong

Department of Anatomy, Taishan Medical College, Taian 271000, China

【Abstract】 AIM: To investigate the correlation of the expressions of cyclooxygenase-2 (COX-2) and vascular endothelial growth factor-C (VEGF-C) in esophageal squamous carcinoma and their implication in tumor lymphatic metastasis. **METHODS:** The expressions of COX-2 and VEGF-C were examined by immunohistochemical method in 72 cases of esophageal squamous carcinoma and 24 cases of normal esophageal mucosa. **RESULTS:** The positive rates of COX-2 and VEGF-C in esophageal squamous carcinoma were 48.6% and 38.9% respectively, and no expressions of COX-2 or VEGF-C were detected in normal esophageal mucosa. The expressions of COX-2 and VEGF-C were significantly associated with the depth of tumor invasion and lymph node metastasis ($P < 0.01$), but not with the patient age, tumor size or differentiation. The expression of COX-2 was closely correlated with that of VEGF-C (contingency coefficient = 0.342, $P = 0.002$). **CONCLUSION:** COX-2 may participate in VEGF-C lymphangiogenic pathway and play an important role in the lymphatic metastasis of esophageal squamous carcinoma.

【Keywords】 esophageal neoplasms; endothelial growth factors; cyclooxygenase

【摘要】目的 观察环氧化酶-2(COX-2)和血管内皮生长因子(VEGF-C)在食管鳞癌组织中的表达,分析其与淋巴转移的关系及二者的相关性。方法 采用免疫组化方法检测 COX-2 和 VEGF-C 在 72 例食管鳞癌及 24 例正常食管黏膜组织中的表达。结果 72 例食管鳞癌组织中 COX-2 和 VEGF-C 的阳性表达率分别为 48.6% 和 38.9%, 而正常食管黏膜组织中未见 COX-2 和 VEGF-C 抗原表达。COX-2 和 VEGF-C 的表达与肿瘤浸润深度、淋巴结转移有关 (P 均 < 0.01), 而与患者年

龄、肿瘤大小和组织学分级无关。COX-2 和 VEGF-C 的表达呈正相关(列联系数 $C = 0.342$, $P = 0.002$)。结论: COX-2 可能参与 VEGF-C 淋巴管生成通路, 在食管鳞癌的淋巴转移中发挥重要作用。

【关键词】 食管肿瘤; 内皮生长因子; 环氧化酶

【中图分类号】 R737.1 **【文献标识码】** A

0 引言

浸润和转移是恶性肿瘤的重要特征。临床发现, 鳞癌、黑色素瘤等上皮组织的恶性肿瘤主要经淋巴转移, 淋巴转移的程度是患者重要的预后因素^[1-2]。血管内皮生长因子(VEGF-C)是目前发现的惟一特异的促淋巴管内皮生长因子, 可诱导实体瘤内或瘤周的淋巴管生成, 与恶性肿瘤的淋巴转移密切相关^[3-4]。环氧化酶-2(COX-2)是前列腺素合成过程中的重要限速酶, 近年研究发现 COX-2 在多种肿瘤中表达上调, 并且与肿瘤的侵袭转移有关^[5-6]。VEGF-C 和 COX-2 在肿瘤组织中的关系还不清楚。我们运用免疫组化方法检测 VEGF-C 和 COX-2 在食管鳞癌组织中的表达, 分析其与肿瘤淋巴转移的关系及二者之间的相关性。

1 材料和方法

1.1 材料 72(男 42, 女 30)例食管鳞癌石蜡包埋组织标本取自山东大学齐鲁医院病理科, 均为外科手术切除的标本, 患者术前未行化、放疗。所有组织均经临床及病理组织学检查确诊。患者年龄 40~76 岁, 中位年龄 56 岁, 其中有淋巴结转移者 29 例, 无淋巴结转移者 34 例。选择 24(男 14, 女 10)例正常食管黏膜组织作对照, 年龄 35~70 岁, 中位年龄 54 岁。两组间性别、年龄均衡, 具有可比性 ($P > 0.05$)。羊抗人 VEGF-C 单克隆抗体和 COX-2 单克隆抗体购自 Santa Cruz 公司。VEGF-C 一抗工作浓度 1:100, COX-2 一抗工作浓度 1:75。SABC 免疫组化试剂盒和 DAB 显色试剂盒购自武汉博士德公司。

1.2 方法 采用链霉亲和素生物素复合物(streptavidin-biotin complex, SABC)法进行染色。实验步骤按试剂盒说明书进行。以微波 EDTA 缓冲液进行抗原修复, DAB 显色。用 PBS 代替一抗作为阴性对照,

收稿日期 2005-08-24; 接受日期 2005-11-02

作者简介 逢小红, 硕士, 讲师。Tel (0538) 6891385 Email pangxh@tsmc.edu.cn

用已知的 VEGF-C 和 COX-2 染色阳性的结肠癌组织切片作为阳性对照。以肿瘤细胞内出现定位明确、染色明显的棕黄/棕褐色颗粒为阳性。首先按染色强度评分:无色为 0 分,浅黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分,然后按阳性细胞率评分:肿瘤细胞内无阳性染色者为 0 分,阳性细胞率 $\leq 10\%$ 为 1 分, $11\% \sim 50\%$ 为 2 分, $51\% \sim 75\%$ 为 3 分, $> 75\%$ 为 4 分。两者乘积 ≤ 2 分为免疫组化反应阴性, ≥ 3 分为阳性。

统计学处理:采用 SPSS 10.0 软件进行 χ^2 检验并计算列联系数。

2 结果

2.1 COX-2 和 VEGF-C 在食管鳞癌组织中的表达

食管鳞癌组织中 COX-2 表达阳性率为 48.6% (35/72), VEGF-C 表达阳性率为 38.9% (28/72)。COX-2 和 VEGF-C 免疫反应阳性物质均位于肿瘤细胞胞质内,为棕黄色或棕褐色颗粒(图 1、2),正常食管黏膜组织及阴性对照未见免疫反应阳性信号。

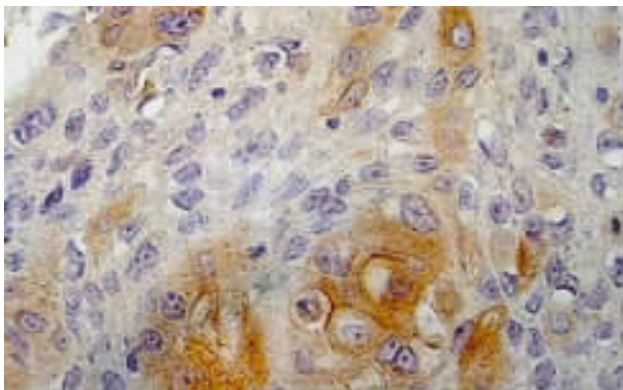


图 1 VEGF-C 蛋白在食管鳞癌组织中的表达 SABC $\times 400$

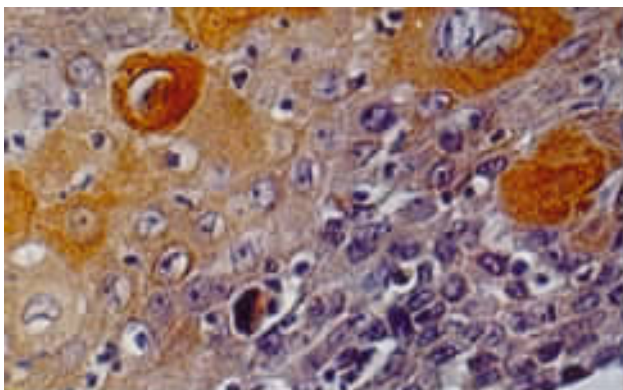


图 2 COX-2 蛋白在食管鳞癌组织中的表达 SABC $\times 400$

2.2 食管鳞癌组织 COX-2 和 VEGF-C 的表达与临床和病理因素的关系

COX-2 和 VEGF-C 的表达与

患者年龄、肿瘤大小、组织学分级无关,而与肿瘤浸润深度及淋巴结转移有关,即发生淋巴结转移的食管鳞癌组织中,VEGF-C 和 COX-2 的阳性表达率明显高于未发生淋巴结转移的食管鳞癌组织 ($\chi^2 = 10.979$, $P = 0.001$; $\chi^2 = 8.053$, $P = 0.005$, 表 1), 浸润深度为 T_2 , T_3 的食管鳞癌组织中 VEGF-C 和 COX-2 的阳性表达率明显高于 T_1 的食管鳞癌组织 ($\chi^2 = 10.772$, $P = 0.001$; $\chi^2 = 16.013$, $P = 0.000$, 表 1)。

表 1 COX-2, VEGF-C 的表达与食管鳞癌临床和病理因素的关系 (n=72)

临床和病理因素	VEGF-C		P	COX-2		P
	+	-		+	-	
年龄(岁)						
<65	16	25	0.978	20	21	0.974
≥ 65	12	19		15	16	
瘤径(cm)						
<5	20	32	0.905	26	26	0.704
≥ 5	8	12		9	11	
分级						
I	7	11	0.995	9	9	0.982
II	15	24		19	20	
III	6	9		7	8	
浸润深度						
T_1	8	30	0.001	10	28	0.000
$T_2 - T_3$	20	14		25	9	
淋巴结转移						
+	18	11	0.001	20	9	0.005
-	10	33		15	28	

2.3 食管鳞癌组织中 VEGF-C 表达和 COX-2 表达的关系 在 20 例食管鳞癌组织中 VEGF-C 和 COX-2 均被检测到, 15 例只检测到 COX-2, 8 例只检测到 VEGF-C, 有 29 例癌组织中二者均未检出。VEGF-C 和 COX-2 的表达呈正相关(列联系数 $c = 0.342$, $P = 0.002$)。

3 讨论

VEGF-C 是 VEGF 家族的新成员, 是首要的淋巴管内皮细胞特异性调节因子, 它通过与主要表达于淋巴管内皮细胞的 VEGFR-3 结合, 促进淋巴管生成, 维持淋巴管的完整性^[7]。目前发现部分恶性肿瘤组织表达 VEGF-C, 而且表达 VEGF-C 的肿瘤细胞具有较高的局部淋巴结转移率^[8-9]。本研究结果显示 72 例

食管鳞癌组织中 28 例 VEGF-C 蛋白阳性表达,阳性表达率为 38.9%,而正常食管黏膜组织中未见 VEGF-C 蛋白表达。VEGF-C 的表达与肿瘤淋巴结转移、浸润深度有关,表明 VEGF-C 可通过与位于食管壁淋巴管内皮的受体 VEGFR-3 结合,促进肿瘤周围或瘤内淋巴管生成,进而促进肿瘤细胞播散和向区域淋巴结转移。

COX-2 是前列腺素合成过程中的重要诱导酶。近年来诸多研究表明,COX-2 参与了多种肿瘤的发生及发展^[5-6]。本研究结果显示,72 例食管鳞癌组织中 35 例 COX-2 蛋白阳性表达,阳性表达率为 48.6%,而正常食管黏膜组织中未见 COX-2 蛋白表达。COX-2 的表达与肿瘤淋巴结转移、浸润深度有关,提示 COX-2 在食管鳞癌的发生、发展、肿瘤的浸润和转移中起重要作用。

关于 COX-2 促进肿瘤淋巴转移的机制尚不明确。Murata 等^[10]研究发现 COX-2 在大肠癌中的高表达可使金属蛋白酶-2 活性增加,膜金属蛋白酶表达水平增高,促进肿瘤淋巴转移。我们的研究结果表明,COX-2 与 VEGF-C 在食管鳞癌中的表达呈正相关,因此可以推测 COX-2 可能还通过调节 VEGF-C/VEGFR-3 信号传导通路,促进肿瘤的淋巴转移。这一结果与 Kyzas 等^[11]的研究结果一致,他们发现头颈部鳞癌患者 VEGF-C 与 COX-2 的阳性表达率在有淋巴结转移组明显高于无淋巴结转移组,且二者的共同表达是淋巴结转移惟一的预测因子。

本研究结果表明,COX-2 和 VEGF-C 的表达与食管鳞癌的淋巴转移有关,使用 COX-2 抑制剂或用抗体阻断 VEGF-C 来抑制肿瘤淋巴转移将成为有实用前景的治疗策略。

【参考文献】

[1] Natsugoe S, Matsumoto M, Okumura H, et al. Prognostic factors in patients with submucosal esophageal cancer [J]. J Gastrointest

Surg, 2004, 8(5): 631 - 635.

- [2] Komatsu S, Ichikawa D, Kurioka H, et al. Prognostic and clinical evaluation of patients with T2 gastric cancer [J]. Hepatogastroenterology, 2005, 52(63): 965 - 968.
- [3] Rubbia-Brandt L, Terris B, Giostra E, et al. Lymphatic vessel density and vascular endothelial growth factor-C expression correlate with malignant behavior in human pancreatic endocrine tumors [J]. Clin Cancer Res, 2004, 10(20): 6919 - 6928.
- [4] Jia YT, Li ZX, He YT, et al. Expression of vascular endothelial growth factor-C and the relationship between lymphangiogenesis and lymphatic metastasis in colorectal cancer [J]. World J Gastroenterol, 2004, 10(22): 3261 - 3263.
- [5] 刘江伟,李开宗,冀科峰,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.
- [6] Nozoe T, Ezaki T, Kabashima A, et al. Significance of immunohistochemical expression of cyclooxygenase-2 in squamous cell carcinoma of the esophagus [J]. Am J Surg, 2005, 189(1): 110 - 115.
- [7] Lymboussaki A, Olofsson B, Eriksson U, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and VEGF-C show overlapping binding sites in embryonic endothelia and distinct sites in differentiated adult endothelia [J]. Circ Res, 1999, 85(11): 992 - 999.
- [8] Tanigaki Y, Nagashima Y, Kitamura Y, et al. The expression of vascular endothelial growth factor-A and -C, and receptors 1 and 3 : correlation with lymph node metastasis and prognosis in tongue squamous cell carcinoma [J]. Int J Mol Med, 2004, 14(3): 389 - 395.
- [9] Fujimoto J, Toyoki H, Sato E, et al. Clinical implication of expression of vascular endothelial growth factor-C in metastatic lymph nodes of uterine cervical cancers [J]. Br J Cancer, 2004, 91(3): 466 - 469.
- [10] Murata H, Kawano S, Tsuji S, et al. Cyclooxygenase-2 overexpression enhances lymphatic invasion and metastasis in human gastric carcinoma [J]. Am J Gastroenterol, 1999, 94(2): 451 - 455.
- [11] Kyzas PA, Stefanou D, Agnantis NJ, et al. COX-2 expression correlates with VEGF-C and lymph node metastases in patients with head and neck squamous cell carcinoma [J]. Mod Pathol, 2005, 18(1): 153 - 160.

编辑 甄志强