

# 环氧化酶-2 在肾癌中表达的研究

崔书平<sup>1</sup>, 霍红旭<sup>2</sup>, 黑兰荪<sup>2</sup>, 常学良<sup>2</sup>

## Expression of Cyclooxygenase-2 in Human Renal Cell Carcinoma

CUI Shu-ping<sup>1</sup>, HUO Hong-xu<sup>2</sup>, HEI Lan-sun<sup>2</sup>, CHANG Xue-liang<sup>2</sup>

1. Department of Urology, PLA No. 260 Hospital, Shijiazhuang 050040, China; 2. Department of Urology, Second Affiliated Hospital, Hebei Medical University

**Abstract: Objective** To study the expression of cyclooxygenase-2 (COX-2) in human renal cell carcinomas (RCCs) and to evaluate its clinical significance. **Methods** The expression of COX-2 was observed in 35 RCCs by immunohistochemical staining of SP method. **Results** COX-2 specific proteins were found in 24 of 35 RCC specimens, while in control renal tissues were 4 of 20. Expression of COX-2 in RCCs was significantly higher than that in control renal tissues ( $P < 0.05$ ). There are statistical significance between the PT<sub>1-2</sub> and PT<sub>3-4</sub> stage cases ( $P < 0.05$ ), but no correlation was found between COX-2 and tumor grading. **Conclusion** There is suggested that COX-2 overexpression plays a role in development and invasion of RCCs.

**Keywords:** Kidney neoplasms; Expression of cyclooxygenase-2; Renal cell carcinomas

**摘要:**目的 探讨 COX-2 与肾透明细胞癌的关系及临床意义。方法 应用免疫组化技术检测 35 例肾透明细胞癌标本中 COX-2 的表达,分析其与肾透明细胞癌的临床分期、病理分级及浸润、转移的关系。结果 肾透明细胞癌 COX-2 阳性表达率为 68.6%,对照组正常肾组织阳性表达率 20%,二者差别有显著性意义( $P < 0.05$ )。COX-2 的表达与肾透明细胞癌临床分期显著相关,PT<sub>3-4</sub>期明显高于 PT<sub>1-2</sub>期( $P < 0.05$ ),不同病理分级肾透明细胞癌的表达差别无显著性意义。结论 COX-2 在肾透明细胞癌的发生发展中起重要作用,与肾透明细胞癌的浸润、转移相关。

**关键词:** 肾肿瘤; COX-2 表达; 透明细胞癌

中图分类号: R737.11 文献标识码: A 文章编号: 1000-8578(2004)11-0683-02

## 0 引言

为了探讨 COX-2 与肾癌的关系及临床意义,我们采用免疫组化技术对 COX-2 在肾癌组织中的表达进行了检测,现报告如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 标本来源

收集 1999~2002 年肾透明细胞癌手术标本 35 例,年龄 43~75 岁,男 21 例,女 14 例,均有明确病理学诊断。病理分级: Ⅰ级 13 例, Ⅱ级 11 例, Ⅲ级 8 例, Ⅳ级 3 例。临床分期按国际抗癌协会(UICC) 1987 年标准: PT<sub>1</sub> 期 9 例, PT<sub>2</sub> 期 14 例, PT<sub>3</sub> 期 7 例, PT<sub>4</sub> 期 5 例。肾癌组织取自手术标本瘤体中心,另选择 20 例距癌组织边缘 2cm 以上正常肾组织为正常对照。所有患者术前均未行放疗或化疗。

### 1.2 试剂

COX-2 多克隆抗体购自 Cayman Chemical 公司, SP 免疫组化试剂盒购自北京中山生物技术有限

公司。

### 1.3 方法

石蜡标本作 4μm 厚连续切片 3 张,供 HE 染色和免疫组化标记用。采用微波修复抗原 SP 法进行免疫组化染色,用已知阳性片作阳性对照, PBS 代替一抗作阴性对照。

### 1.4 结果判定

光镜下观察细胞内有棕黄色颗粒者为阳性细胞,用 5 个具有代表性的高倍视野,按阳性细胞所占比例分为 1~4 级(1 级占 10%~25%, 2 级占 26%~50%, 3 级占 51%~75%, 4 级占 76%~100%)。阳性细胞 <10% 为阴性表达。

### 1.5 统计学处理

数据采用  $\chi^2$  检验和 Fisher 四格表确切概率法,  $P < 0.05$  为有显著性差异。

## 2 结果

免疫组化染色 COX-2 主要表达在肾透明细胞癌的癌细胞中,胞质染色,弥漫性分布,核周偶尔着色。正常肾组织在肾皮质的致密斑、亨氏襻升支粗段上皮细胞、髓质间质细胞亦表达 COX-2,但很弱,肾小球、肾动脉及集合管无 COX-2 表达。

收稿日期: 2003-04-24; 修回日期: 2004-03-30

作者单位: 1. 050040 石家庄, 解放军第 260 医院泌尿外科; 2. 河北医科大学附属第二医院泌尿外科

COX-2 免疫组化染色在 35 例肾透明细胞癌中,24 例阳性表达(68.6%),20 例远离癌组织的正常肾组织阳性表达者 4 例(20%),差别有显著性意义( $\chi^2 = 10.1, P < 0.05$ ),37.1% (13/35)的肾透明细胞癌标本染色强度为 3~4 级,而无 1 例远离癌组织的正常肾组织。

COX-2 表达与肾透明细胞癌病理分级无关。在病理分级 I~IV 级 COX-2 阳性表达率分别为 61.5% (8/13)、63.6% (7/11)、75% (6/8)、100% (3/3),随着分级增高表达率增加,但差别无显著性意义( $P > 0.05$ ),见表 1。COX-2 表达与肾透明细胞癌临床分期明显相关。在 PT<sub>1-4</sub>期 COX-2 阳性表达率分别为 55.6% (5/9)、57.1% (8/14)、85.7% (6/7)、100% (5/5),四者之间差别无显著性意义( $P > 0.05$ )。但是,将 PT<sub>1</sub>期和 PT<sub>2</sub>期相加,PT<sub>3</sub>期和 PT<sub>4</sub>期相加,则肿瘤局限于肾内的 PT<sub>1-2</sub>期与有肾外侵犯的 PT<sub>3-4</sub>期相比两者差别具有显著性意义( $P = 0.036$ ,Fisher 确切概率法),见表 2。

表 1 COX2 表达与肾癌病理分级间的关系

项目	例数	COX-2 表达				COX-2 阳性率 %
		1	2	3	4	
病理分级						
	13	1	3	2	2	61.5
	11	1	2	3	1	63.6
	8	1	2	1	2	75.0
	3		1	1	1	100.0
合计	35	3	8	7	6	68.6

表 2 COX2 表达与肾癌临床分期间的关系

项目	例数	COX-2 表达				COX-2 阳性率 %
		1	2	3	4	
TNM 分期						
PT <sub>1-2</sub>	23	2	5	3	3	56.5
PT <sub>3-4</sub>	12	1	3	4	3	91.7

### 3 讨论

环氧化酶(COX)是一种膜结合蛋白,存在于核膜和微粒体膜,是前列腺素生物合成初始步骤中的一个重要限速酶。目前已知哺乳动物的 COX 至少有两个同工酶,即组织型 COX-1 和诱导型 COX-2。COX-1 被认为是由“看家基因”(housekeeping gene)所编码,在大多数组织细胞内均有表达且较稳定,主要位于内质网附近,调节正常组织细胞的生理活动。而 COX-2 则被认为由“迅速应答基因”(early response gene)所编码,主要存在于内质网膜和核周围,作为诱导型酶,在正常生理状态下多数组织内检测不到,但受到细胞因子、生长因子、致癌基因、肿瘤促进剂等相应刺激后,可迅速合成,表达急剧增

加<sup>[1]</sup>。

目前对 COX-2 在结肠癌中的表达研究较为系统,认为 COX-2 过表达在人类直肠结肠癌和药物诱导的鼠结肠癌形成过程中,作为一个早期事件参与了肿瘤形成<sup>[2]</sup>,肿瘤的复发特别是结肠癌的血行转移与 COX-2 的高表达有关,使用 COX-2 抑制剂即非甾体类抗炎药物可以降低结肠癌的发病率,抑制其转移<sup>[3]</sup>,关于 COX-2 在肾癌中表达的研究,文献报道较少,KhanKN 等<sup>[4]</sup>采用免疫组化方法检测了 COX-2 在 3 例自然发生的犬肾细胞癌中的表达,结果发现 3 例标本中有 2 例 COX-2 表达中度到强度,认为一些犬肾细胞癌表达高水平 COX-2,且在调节肿瘤细胞生长过程中起重要作用。本研究结果表明,在人肾透明细胞癌中 COX-2 表达也有明显升高。

我们的研究发现正常肾组织 COX-2 低水平表达,而在人肾透明细胞癌中 COX-2 表达明显升高,两者之间差异有显著性意义。COX-2 表达与肿瘤分级无明显相关,但与肿瘤分期相关,随着分期的增高 COX-2 表达有升高趋势,在肿瘤局限于肾内的 PT<sub>1-2</sub>期表达明显高于有肾外浸润的 PT<sub>3-4</sub>期,二者差别比较有显著性意义。这表明 COX-2 参与了肾透明细胞癌的发生发展,COX-2 表达升高很可能是肾癌发生的早期事件。肾透明细胞癌侵袭性越高,COX-2 阳性表达率越高,提示 COX-2 的表达在肾透明细胞癌的恶性进展过程中发挥着重要作用,与肾癌的增殖、浸润及病程演进关系密切。这些发现提示使用 COX-2 抑制剂不仅能抑制肾透明细胞癌发生,而且能抑制肾透明细胞癌的转移和扩散。

目前,越来越多的证据表明 COX-2 参与了肿瘤的发生发展,但对其在肿瘤发生发展过程中的具体作用尚不清楚,可能机制是:抑制凋亡和促进细胞粘附<sup>[5]</sup>;影响细胞周期:Shen gH 等<sup>[6]</sup>发现过表达 COX-2 的细胞 cyclinD1 表达下调,Rb 蛋白激酶活性降低,G<sub>1</sub>期显著延长,促进了肿瘤形成;COX-2 可上调并激活基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases,MMP),增强肿瘤浸润、转移能力<sup>[7]</sup>;COX-2 可以上调血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor,VEGF)的表达,促进肿瘤血管生长<sup>[8]</sup>。

在体外和一些动物试验中,COX-2 选择性抑制剂用于治疗肿瘤已取得了满意的效果。最近,Davies 等<sup>[9]</sup>采用 COX-2 选择性抑制剂 celecoxib 用于临床家族性腺瘤性息肉病患者的治疗,应用 400mg 每日 2 次,6 个月后腺瘤的数目大大减少。

(下转第 687 页)

(MMP-2) ,降解细胞外基质 ,从而有利于肿瘤细胞的侵袭和转移 ,上述作用在体外可被特异性 COX-2 抑制剂所逆转。推测癌细胞产生的 COX-2 可能通过上述机制在膀胱癌的分化、浸润生长及转移中发挥重要作用 ,COX-2 高表达的膀胱癌具有更大的恶性潜能。但 COX-2 上调的原因不详。

本研究通过检测 Ki67,进一步探讨 COX-2 与肿瘤细胞增殖的关系。相关分析发现 ,COX-2 表达异常病例 Ki67 指数亦呈增高趋势 ,COX-2 和 Ki67 抗原表达呈明显正相关 ,即 COX-2 表达水平越高 ,肿瘤细胞增殖越活跃。早期的研究已发现并证实 ,PGs 具有明显的促细胞增殖作用<sup>[7]</sup>。而近来的研究进一步发现 COX-2 还具有促进血管生成作用 ,可使肿瘤血管增多 ,血管通透性增加 ,血管内渗出物增多 ,这使得肿瘤细胞可得到更多的氧和营养物质 ,从而增殖加快<sup>[8,9]</sup>。结合本研究结果推测 ,COX-2 可能通过上述机制促进癌细胞异常增殖而影响膀胱癌的生物行为。

本实验结果初步表明 ,COX-2 表达上调是膀胱癌恶性进程中的重要分子事件之一 ,它可能作为一种促瘤生长因素在膀胱肿瘤的发生发展中扮演重要角色 ,其作用机制之一可能是通过增强膀胱癌细胞的增殖活性 ,进而影响肿瘤的分化、生长及转移。

(本文图见封 3)

参考文献 :

[1] Nzeako UC, Guicciardi ME, Yoon JH, et al. COX-2 Inhibits Fas-Mediated Apoptosis in Cholangiocarcinoma Cells [J]. *He patology*, 2002, 35 (3) : 552-559.

[2] Kakiuchi Y, Tsujii S, Tsujii M, et al. Cyclooxygenase-2 Activity in the Cell Surface Carbohydrate Antigen on Colon Cancer Cells and Enhanced Liver Metastasis [J]. *Cancer Research*, 2002, 62 (5) : 1567-1572.

[3] Williams CS, Tsujii M, Reese J, et al. Host Cyclooxygenase-2 Modulates Carcinoma Growth [J]. *J Clin Invest*, 2000, 105 (11) : 1589-1594.

[4] Urata H, Kawano S, Tsujii S, et al. Enhanced Lymphatic Invasion and Metastasis with Cyclooxygenase-2 Over-Expression in Human Gastric Carcinoma [J]. *Gastroenterology*, 1998, 114 (4pt2) : A798.

[5] Tsujii M, DuBois RN. Alterations in Cellular Adhesion and Apoptosis in Epithelial Cells overexpressing Prostate Glandin Endoperoxide Synthase 2 [J]. *Cell*, 1995, 83 (3) : 493-501.

[6] Tsujii M, Kawano S, DuBois RN. Cyclooxygenase-2 Expression in Human Colon Cancer Cells Increases Metastatic Potential [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94 (7) : 3336-3340.

[7] Marnett LJ. Aspirin and the Potential Role of Prostate Glandin in Colon Cancer [J]. *Cancer Res*, 1992, 52 (20) : 5575-5589.

[8] Liu XH, Kirschenbaum A, Yao S, et al. Inhibition of Cyclooxygenase-2 Suppresses Angiogenesis and the Growth of Prostate Cancer in Vivo [J]. *J Urol*, 2000, 164 (3Pt1) : 820-825.

[9] Bamba H, Ota S, Kato A, et al. Effect of Prostate Glandin E1 on Vascular Endothelial Growth Factor Production by Human Macrophage and Colon Cancer Cells [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2000, 19 (2) : 219-223.

[编辑 :刘红武 ,校对 :安 凤]

(上接第 684 页)

由于大多数肾透明细胞癌 COX-2 表达明显升高 ,进一步研究 COX-2 抑制剂用于临床治疗肾细胞癌显得很有价值。尽管流行病学调查发现服用镇痛剂量的阿司匹林、对乙酰氨基酚等 NSAIDs 会增加肾癌的危险性 ,但是这些药物只是相对较差的非选择性 COX-2 抑制剂 ,随着新型的 COX-2 选择性抑制剂不断推出 ,寻找一种治疗肾细胞癌安全有效的 COX-2 选择性抑制剂完全可能 ,COX-2 抑制剂将为肾癌的化学预防和治疗开辟新的途径。

参考文献 :

[1] Xie W, Herschman HR. VEGF Induces Prostate Glandin Synthase 2 Gene Expression by Activation of the c-Jun N-Terminal Kinase and the c-Jun Transcription Factor [J]. *J Biol Chem*, 1995, 270: 27622-27628.

[2] Dimberg J, Samuelsson A, Huggander A, et al. Differential Expression of Cyclooxygenase-2 in Human Colorectal Cancer [J]. *Gut*, 1999, 45 (5) : 730-732.

[3] Chen WS, Wei SJ, Liu JM, et al. Tumor Invasiveness and Liver Metastasis of Colon Cancer Cells Correlated with Cyclooxygenase-2

(COX-2) Expression and Inhibited by a COX-2-Selective Inhibitor, Etodolac [J]. *Int J Cancer*, 2001, 91 (6) : 894-899.

[4] Khan KN, Stanfield KM, Trajkovic D, et al. Expression of Cyclooxygenase-2 in Canine Renal Cell Carcinoma [J]. *Vet Pathol*, 2001, 38 (1) : 116-119.

[5] Khan KN, Stanfield KM, Trajkovic D, et al. Expression of Cyclooxygenase-2 in Canine Renal Cell Carcinoma [J]. *Vet Pathol*, 2001, 38 (1) : 116-119.

[6] Sheng H, Shao J, Hooton EB, et al. Cyclooxygenase-2 Induction and Transforming Growth Factor-beta Growth Inhibition in Rat Intestinal Epithelial Cells [J]. *Cell Growth Differ*, 1997, 8 (4) : 463-470.

[7] Tsujii M, Kawano S, DuBois RN. Cyclooxygenase-2 Expression in Human Colon Cancer Cells Increases Metastatic Potential [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94 (7) : 3336-3340.

[8] Fosslien E. Review: Molecular Pathology of Cyclooxygenase-2 in Cancer-Induced Angiogenesis [J]. *Ann Clin Lab Sci*, 2001, 31 (4) : 325-348.

[9] Davies NM, Gudde TW, Deleew MA. Celecoxib: A New Option in the Treatment of Arthropathies and Familial Adenomatous Polyposis [J]. *Expert Opin Pharmacother*, 2001, 2 (1) : 139-152.

[编辑校对 :安 凤]