

# 结肠癌及癌前病变组织中COX-2及VEGF的表达

陈建华

陈建华, 驻马店市中心人民医院普外科, 河南省驻马店市, 463000

通讯作者: 陈建华, 463000, 河南省驻马店市中华路西段779号, 驻马店市中心人民医院普外科. cjh@126.com  
电话: 0396-2926218

收稿日期: 2007-04-27 接受日期: 2007-05-11

## Expression of Cyclooxygenase-2 and Vascular endothelial growth factor in precancerous lesions and colon carcinoma tissue

Jian-Hua Chen

Jian-Hua Chen, Department of General Surgery, Zhumadian Central People's Hospital, Zhumadian 463000, Henan Province, China

Correspondence to: Jian-Hua Chen, Department of General Surgery, Zhumadian Central People's Hospital, 779 Zhonghua Road, Zhumadian 450052, Henan Province, China. cjh@126.com

Received: 2007-04-27 Accepted: 2007-05-11

### Abstract

**AIM:** To determine the clinical significance of expression of cyclooxygenase-2 (COX-2) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in normal colon epithelium near colon carcinoma, and in precursors and colon carcinoma.

**METHODS:** Immunohistochemistry (ABC) was utilized to detect the expression of COX-2 and VEGF in 40 normal colon epithelium, 27 adenomatous polyposis of the colon, and 40 colon carcinoma tissues.

**RESULTS:** Immunoreactivity of COX-2 and VEGF in adenomatous polyposis of the colon and colon carcinoma was much higher than that in normal tissues (COX-2, 63.0 and 77.5% vs 0.0 and 0.0%; VEGF, 70.4 and 80.0% vs 25.0 and 25.0%, respectively;  $P < 0.05$ ). The relationship between COX-2 and VEGF was statistically significant ( $r = 0.411$ ,  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** COX-2 and VEGF expression is

up-regulated in adenomatous polyposis of the colon and colon carcinoma.

**Key Words:** Colonic carcinoma; Precursors of colonic carcinoma; Cyclooxygenase-2; Vascular endothelial growth factor

Chen JH. Expression of Cyclooxygenase-2 and Vascular endothelial growth factor in precancerous lesions and colon carcinoma tissue. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007;15(19):2167-2169

### 摘要

**目的:** 探讨结肠癌及癌前病变中COX-2和血管内皮生长因子(VEGF)的表达意义。

**方法:** 应用免疫组织化学ABC法检测COX-2及VEGF在40例癌旁正常结肠黏膜和结肠癌、27例结肠腺瘤组织中COX-2和VEGF的表达。

**结果:** 结肠腺瘤和结肠癌组COX-2阳性表达率明显高于癌旁正常结肠黏膜组(63.0%, 77.5% vs 0.0%, 0.0%;  $P < 0.05$ )。结肠腺瘤和结肠癌组VEGF阳性表达率明显高于癌旁正常结肠黏膜组(70.4%, 80.0% vs 25.0%, 25.0%;  $P < 0.05$ )。且二者表达有相关性( $r = 0.411$ ,  $P < 0.01$ )。

**结论:** COX-2和VEGF在结肠腺瘤及结肠癌中表达异常增高。

**关键词:** 结肠癌; 癌前病变; 环氧合酶-2; 血管内皮生长因子

陈建华. 结肠癌及癌前病变组织中COX-2及VEGF的表达. *世界华人消化杂志* 2007;15(19):2167-2169

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/2167.asp>

### 0 引言

结肠癌是世界上常见的恶性肿瘤之一, 由于缺乏特异、敏感的早期诊断和生物防治的指标与方法, 晚期结肠癌患者的预后较差, 5 a生存率为33.3%<sup>[1]</sup>。环氧合酶(cyclooxygenase, COX)是花生四烯酸代谢过程中一个重要的限速酶, 包

### ■背景资料

结肠癌的发病率正在逐年上升, 欧美等国家结肠癌的患病率在癌症中已占到前3位。在结肠癌中, 对潜伏期和临床患者的大量研究表明血管生成对结肠肿瘤的生成和转移至关重要。

### ■创新盘点

本研究表明, COX-2与癌前病变进展相关, 可能是癌前病变进展的重要因素之一, 提示选择性COX-2抑制剂可能抑制结肠癌的发生发展, 降低结肠癌的发生率. 本研究结果表明VEGF在正常结肠黏膜组织中表达量很低, 在结肠黏膜发生病变时, VEGF的表达量增加, 并且与疾病的进展呈正相关.

### ■应用要点

VEGF可以反映结肠黏膜的病变, 为结肠癌高发区高危人群的筛查和早期诊断提供了可靠的分子指标, 并有可能成为临床干预与治疗的新靶点.

含COX-1和COX-2 2个异构体. COX-1是表达于多数哺乳动物的组织中, 执行看家基因的功能; COX-2在正常组织表达量检测不到, 在炎症等病理情况和有丝分裂原等因子刺激下, 表达量迅速增高<sup>[2-3]</sup>. 近年的研究表明, COX-2的表达还与肿瘤的发生发展及转移相关. 血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是刺激肿瘤血管生长的主要因子之一, 与肿瘤的生长、浸润及转移密切相关<sup>[4]</sup>. 我们应用免疫组化技术检测COX-2及VEGF在结肠癌及癌旁正常上皮和癌前病变的组织中的表达特征, 探讨二者在结肠癌多阶段演进过程中的作用.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 2005/2007年存档蜡块67例年龄37-70(51.5±6.8)岁, 男41例, 女26例, 术前未接受任何放化疗. 手术标本离体后迅速用40 g/L甲醛固定, 常规脱水、石蜡包埋, 连续切片厚8 μm. 结肠癌手术切除标本经病理学证实. 卵白素-生物素-辣根过氧化氢酶复合物(ABC)试剂盒、DAB底物试剂盒、COX-2、VEGF鼠抗人单克隆抗体均购自北京中杉生物技术有限公司, 抗体的工作浓度为1:200. 小牛血清白蛋白(Bovine serum albumin, BSA), 购自Sigma公司.

**1.2 方法** 采用ABC法<sup>[5]</sup>. 切片脱蜡至水, 10 mL/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>室温孵育20 min; 正常马血清(1:50)室温孵育20 min封闭非特异性免疫球蛋白; COX-2以20 g/L BSA 1:400稀释, 4℃孵育12 h; 生物素标记的第二抗体以20 g/L BSA 1:200稀释, 室温孵育45 min; ABC室温下孵育60 min(使用前30 min新鲜配制); 二氨基联苯胺(DAB)和3 mL/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>混合孵育2-5 min, 显微镜下观察. 根据免疫阳性细胞染色程度, 无染色为0分; 细胞膜或胞质内见淡黄色颗粒, 明显高于背景为1分; 较多棕黄色颗粒为2分; 大量深棕黄色颗粒为3分. 每片随机观察5个视野, 计数500个细胞中染色阳性细胞数, 根据阳性细胞数在同类细胞中所占比例, 分4类, 阳性细胞百分数<5%为0分, 5-25%为1分, 25%-75%为2分, >75%为3分. 综合评价值由2类记分分值的乘积表示, 0-3分为(-), 4分为(+), 6分为(++), 9分为(+++).

**统计学处理** 采用SPSS10.0统计软件包进行统计学分析, 采用 $\chi^2$ 检验及Spearman等级相关检验,  $P<0.05$ 为差异有显著性.

## 2 结果

**2.1 COX-2和VEGF的表达** COX-2在癌旁正常

结肠黏膜组织内不表达, 在结肠腺瘤中阳性表达率为17/27(63.0%), 在结肠癌中阳性表达率为31/40(77.5%). 结肠腺瘤和结肠癌组的阳性表达率明显高于正常组( $P<0.05$ ). VEGF在癌旁正常结肠黏膜组织中阳性表达率为10/40(25.0%), 在结肠腺瘤中阳性表达率为19/27(70.4%), 在结肠癌中的阳性表达率为32/40(80.0%), 结肠腺瘤组和结肠癌组阳性表达率明显高于正常组( $P<0.05$ ).

**2.2 COX-2与VEGF的相关性** 在COX-2表达阳性的不同程度病变组织, VEGF阳性表达率为100%; 在COX-2表达阴性的结肠黏膜组织中, VEGF阳性表达率为25.0%. Spearman等级相关分析表明, 二者表达呈显著正相关( $r = 0.411$ ,  $P<0.01$ ).

## 3 讨论

环氧合酶(COX)是催化花生四烯酸转化为前列腺素的关键酶. COX-2是膜结合蛋白, 存在于核膜和微粒体膜, 包括2种同工酶: COX-1和COX-2, 二者有60%同源, 核心序列有70%同源, 尤其有催化活性的氨基酸位点在COX-1和COX-2高度保守. COX-1和COX-2在表达调控及定位分布方面有明显不同: COX-1被认为是“看家基因”, COX-1存在于许多组织中, 包括胃、肾脏组织和血小板. COX-2被认为是“早期即刻基因”, 在正常生理状态下虽然有些组织如脑、肾、妊娠后期的胎盘表达COX-2, 但多数组织内检测不到, 只有当细胞受到刺激才能迅速诱导表达COX-2, 参与各种病理生理过程, 包括炎症、发热、疼痛等. 近年的研究发现人类多种恶性肿瘤及癌前病变组织中均有COX-2的高表达. COX-2可能通过以下机制参与肿瘤的发生发展: (1)刺激细胞生长; (2)抑制细胞凋亡; (3)刺激新生血管形成; (4)与肿瘤的侵袭与转移有关; (5)通过催化花生四烯酸代谢产物而影响细胞增殖, 促进肿瘤细胞生长, 抑制局部免疫功能等<sup>[6-7]</sup>. 大量研究表明, COX-2在多种肿瘤组织中表达增加, 如舌和口腔的鳞状细胞癌、宫颈癌、非小细胞肺癌、鼻咽癌、乳腺癌等. 本研究表明, COX-2与癌前病变进展相关, 可能是癌前病变进展的重要因素之一, 提示选择性COX-2抑制剂可能抑制结肠癌的发生发展, 降低结肠癌的发生率.

VEGF, 又称血管内皮生长因子, 是40 kDa-45 kDa的分泌性糖蛋白, 由于mRNA剪接的不同, 人体细胞分泌5种多肽<sup>[8]</sup>. 大量的研究认为VEGF是刺激肿瘤血管生长的主要因子之一, 肿

瘤细胞分泌该因子,可诱导肿瘤血管的生成,与瘤组织的生长和浸润、转移密切相关.正常情况下VEGF表达水平较低,而在某些病理情况下,如在炎症和肿瘤时,可出现VEGF的过量表达,VEGF在许多肿瘤新生血管形成中起着关键作用,并与肿瘤的浸润与转移有关<sup>[9]</sup>.我们研究结果表明VEGF在正常结肠黏膜组织中表达量很低,在结肠黏膜发生病变时,VEGF的表达量增加,并且与疾病的进展呈正相关,提示VEGF可以反映结肠黏膜的病变,为结肠癌高发区高危人群的筛查和早期诊断提供了可靠的分子指标,并有可能成为临床干预与治疗的新靶点.

我们发现,COX-2和VEGF在各级结肠黏膜上皮病变均有不同程度的表达,并且随结肠黏膜上皮病变的恶化,二者的表达增加,提示COX-2和VEGF参与了结肠癌的发生发展,并且与结肠癌前病变的恶化具有相关性.另外,COX-2与VEGF二者的表达具有显著的相关性,提示COX-2的高表达可能通过上调VEGF的表达,使血管的生成增加,为肿瘤的生长提供更多的营养物质,有利于肿瘤细胞的生长与转移.COX-2与VEGF表达的相关性分析表明,在结肠癌及癌前病变中二者的表达具有一定的协调性,COX-2可能通过VEGF的表达量增高,促进了肿瘤血管的生成.且有明显相关性,提示COX-2的表达与血管生成.COX-2和VEGF的高表达增强了肿瘤血管的形成,促进肿瘤的形成、发展、恶化.COX-2和VEGF在结肠腺瘤和结肠癌组织中高表达,提示检测COX-2和VEGF对结肠癌的早期诊断有重要的意义,选择性COX-2抑制剂为结肠癌癌前病变的干预提供了新的分子指标,

抑制COX-2和VEGF的过度表达可能成为治疗结肠癌的重要手段之一.

#### 4 参考文献

- 1 李世荣,田素丽,武子涛,韩英,盛剑秋,高革,夏长虹,曹建彪,晨智敏,王志红,李雅君.序贯粪隐血试验在自然人群连续性大肠癌普查中的应用.世界华人消化杂志 2004; 12: 137-139
- 2 Cervello M, Foderaa D, Florena AM, Soresi M, Tripodo C, D'Alessandro N, Montalto G. Correlation between expression of cyclooxygenase-2 and the presence of inflammatory cells in human primary hepatocellular carcinoma: possible role in tumor promotion and angiogenesis. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 4638-4643
- 3 Zhan J, Liu JP, Zhu ZH, Yao HR, Chen CY. Relationship between COX-2 expression and clinicopathological features of colorectal cancers. *Chin Med J (Engl)* 2004; 117: 1151-1154
- 4 Brown LF, Guidi AJ, Tognazzi K, Dvorak HF. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor and vascular stroma formation in neoplasia. Insights from in situ hybridization studies. *J Histochem Cytochem* 1998; 46: 569-575
- 5 皇甫秋强,陈清勇.间隙连接蛋白43和E-钙黏素在肺癌组织中的表达及临床意义.肿瘤研究与临床 2006; 18: 386-388
- 6 Basu GD, Liang WS, Stephan DA, Wegener LT, Conley CR, Pockaj BA, Mukherjee P. A novel role for cyclooxygenase-2 in regulating vascular channel formation by human breast cancer cells. *Breast Cancer Res* 2006; 8: R69
- 7 王兴鹏,徐选福,谢传高,王冰嫻,吴凯,董育玮,吴丽颖,张汝玲.环氧合酶2对胰腺癌新生血管生成的调节作用及其机制.中华肝胆外科杂志 2002; 8: 552-556
- 8 Jang YJ, Kim DS, Jeon OH, Kim DS. Saxatilin suppresses tumor-induced angiogenesis by regulating VEGF expression in NCI-H460 human lung cancer cells. *J Biochem Mol Biol* 2007; 40: 439-443
- 9 胥文春,陈新敏,罗春丽.血管内皮生长因子受体与恶性肿瘤.国外医学(临床生化学与检验学分册) 2003; 24: 158-159

#### ■同行评价

本文探讨了结肠癌及癌前病变组织中COX-2及VEGF的表达,层次清楚,对早期诊断结肠癌和癌前病变组织有一定的帮助作用.

编辑 程剑侠 电编 郭海丽

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2007年版权归世界华人消化杂志

#### • 消息 •

### 世界华人消化杂志关于作者署名的声明

**本刊讯** 世界华人消化杂志要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献.第一方面是直接参与,包括:(1)酝酿和设计实验;(2)采集数据;(3)分析/解释数据.第二方面是文章撰写,包括:(1)起草文章;(2)对文章的知识性内容作批评性审阅.第三方面是工作支持,包括:(1)统计分析;(2)获取研究经费;(3)行政、技术或材料支持;(4)指导;(5)支持性贡献.每个人必须在第一至第三方面至少具备一条,才能成为文章的署名作者.世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.