

环氧合酶-2在喉鳞癌组织中的表达及其临床意义

陈艳峰, 陈福进, 杨安奎, 陈文宽

(华南肿瘤学国家重点实验室//中山大学肿瘤防治中心头颈科, 广东 广州 510060)

摘要:【目的】检测环氧合酶-2(COX-2)在喉鳞癌和喉鳞癌旁非癌组织中表达,分析其与喉鳞癌临床病理因素的关系以及对喉鳞癌患者预后的预测意义。【方法】收集1997年1月~1998年12月我院收治的81例喉鳞癌患者的临床资料和石蜡块,制作组织芯片,用链霉素亲生物素-过氧化物酶法(SP法)检测81例患者肿瘤组织和癌旁正常喉组织的COX-2表达;采用SPSS10.0软件分析COX-2表达与临床病理因素的关系,采用Cox比例风险模型分析影响预后的因素。【结果】COX-2在喉鳞癌和癌旁喉组织中的表达率分别为48.15%和0%, ($P < 0.05$);喉癌COX-2阳性组(5年生存率9.65%)较阴性组(5年生存率97.56%)预后差($P < 0.05$);COX-2表达与临床分期、T分期、N分期、病理分级、发病部位、复发相关($P < 0.05$);Cox比例风险模型多因素预后分析结果显示:COX-2表达、临床分期、T分期、病理分级是影响喉癌预后的独立因素($P < 0.05$)。【结论】COX-2在喉鳞癌组织中表达上调;COX-2与喉鳞癌患者的病理分化程度、TNM分期、淋巴结转移、复发呈正相关;COX-2表达升高可作为预测喉鳞癌患者预后的独立指标之一。

关键词:喉鳞癌; 环氧合酶-2; 预后

中图分类号:R739.65

文献标识码:A

文章编号:1672-3554(2008)01-0059-04

Expression and Clinical Significance of Cyclooxygenase-2 in Tumor of Laryngeal Squamous Cell Carcinoma

CHEN Yan-feng, CHEN Fu-jin, YANG An-kui, CHEN Wen-kuan, ZHANG Quan

(State Key Laboratory of Oncology in South China//Department of Head and Neck Surgery, Cancer Center, SUN Yat-sen University, Guangzhou 510060, China)

Abstract:【Objective】To detect expression of Cyclooxygenase-2(COX-2) in laryngeal squamous cell carcinoma (LSCC) and adjacent normal laryngeal mucosa, and to analyze its correlation to clinicopathologic characteristics and prognosis.【Methods】Collected information and paraffin-embedded tumor samples of 81 cases LSCC patients, who were treated at Cancer Center of SUN Yat-sen University between 1997 and 1998. Tissue chip was made, and SP immunohistochemistry was performed to analyze COX-2 expression of tumor section and adjacent normal laryngeal mucosa. The SPSS 10.0 software was used to analyze the relationship between the COX-2 expression and the clinicopathologic factors. Cox proportional hazard model was used to analyze the prognosis.【Results】The expression rate of COX-2 in laryngeal squamous cell carcinoma and adjacent normal laryngeal tissue were 48.15% and 0%, respectively ($P < 0.05$). The positive COX-2 expression group (5-OS: 9.65%) had a worse prognosis than negative one (5-OS: 97.56%) ($P < 0.05$). COX-2 expression was correlated with TNM clinical stage, T stage, N stage, histology grade, subsite of tumor, recurrence ($P < 0.05$). Cox proportional hazard model multivariate analysis showed: COX-2 expression, clinical stage, T stage, and histology grade were independent prognosis factors of survival of LSCC patients.【Conclusions】COX-2 expression is up-regulated in LSCC and positively correlated to tumor cell differentiation, TNM stage, lymph node metastasis and recurrence. COX-2 expression is an independent prognostic factor of LSCC.

Key words: laryngeal squamous cell carcinoma (LSCC); Cyclooxygenase-2; prognosis

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2008,29(1):59-62]

收稿日期:2007-09-05

基金项目:广东省科技计划项目(303040789001)

作者简介:陈艳峰(1973-),女,山西忻州人,博士,主治医师;陈福进,通讯作者,教授,博士生导师,E-mail:bell@126.com

环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)是花生四烯酸合成前列腺素和二十碳酸类化合物的关键酶,在大多数正常组织中检测不到,COX-2 在肿瘤发生时表达率增高,可快速诱导机体对促癌剂、细胞因子、生长因子等刺激因子产生反应,并通过多途径参与肿瘤的发生和发展^[1-3],但它在喉鳞癌组织中的表达情况目前国内罕见报道,国外研究结果表明,COX-2 在口腔癌和口咽癌中都有高表达,并与预后密切相关^[4,5],Cho 等^[6]学者发现 COX-2 表达与喉癌局部复发密切相关。本文采用组织芯片免疫组织化学方法初步观察了 COX-2 在喉鳞癌中的表达,并分析它与肿瘤临床病理学特征及预后的关系。

1 材料和方法

1.1 一般资料

1997 年 1 月至 1998 年 12 月中山大学肿瘤医院头颈科住院的喉癌患者 81 例,其中男性 76 例,女性 5 例;患者年龄 36~80 岁,中位年龄 59 岁;声门上型 16 例,声门型 65 例;病理高分化 39 例,中分化 28 例,低分化 14 例;按 2002 年国际抗癌联盟(UICC)TNM 分期标准进行分期,其中 T₁ 29 例, T₂ 24 例, T₃ 16 例, T₄ 12 例; N₀ 70 例, N₊ 11 例。所有患者均经病理学检查确诊为鳞癌,行根治性手术治疗,术前未行放疗、化疗或手术治疗,石蜡块保存完整。取肿瘤部位组织及手术切缘阴性的癌旁喉粘膜组织,制作组织芯片并进行统计分析。所有病例均进行了随访,随访至 2006 年 1 月,生存时间为手术日至死亡日期或最后一次随访日期,随访中有 43 例死亡,38 例存活。38 例存活患者中 3 例随访过程中失访,随访时间为 30~34 个月,剩余 35 例均为无瘤生存。

1.2 方法

1.2.1 实验仪器和试剂 本研究采用美国 BEECHER INSTRUMENTS 公司的组织阵列仪(tissue arrayer)来制作喉癌组织芯片,由香港大学关新元博士提供。COX-2 兔单克隆抗体购自 Santa Cru₂ 公司。通用型 SP Kit 购自北京中山生物技术有限公司。

1.2.2 制作过程 收集符合条件的喉癌病理玻片和相应的石蜡标本 81 例。光镜下观察原标本的病理玻片并定位。本研究每例标本取 3 个点,包括 1

个癌旁组织和 2 个肿瘤组织。准备好受体蜡块,用组织阵列仪打孔。根据原标本病理玻片的定位在供体蜡块(donor)相应部位获取组织块,挤压到受体石蜡块孔内。依次完成每个样本的取样(按不同组织类型和临床分期分区排列)。完成排列后将胶膜贴在组织芯片蜡块表面,然后进行切片。紫外线下照射 30 s 左右,去掉胶膜后就制成了组织芯片玻片。每张切片厚 6 μm。

1.2.3 喉鳞癌的免疫组化检测 本研究采用链霉素亲生物素-过氧化物酶法(SP)法,一抗稀释倍数:COX-2 为 1:120。结果评估:阴性(-),无棕色颗粒;阳性(+),癌巢内可见棕色颗粒^[4];用 PBS 液替代第一抗体作为空白对照;光镜下逐一评估组织芯片上每个组织块的染色并作记录。

1.2.4 统计学分析 采用 SPSS 10.0 统计软件包进行数据整理和统计分析。生存分析采用 Kaplan-Meier 法,两个相关因素分析采用 χ^2 检验,预后分析采用 Cox 模型。

2 结果

2.1 COX-2 在喉鳞癌组织和癌旁组织中的表达

喉鳞癌组织和癌旁组织中 COX-2 的阳性率分别为 48.15%和 0%, 两者的阳性率比较有显著性差异($P=0.000$,图 1,图 2)。

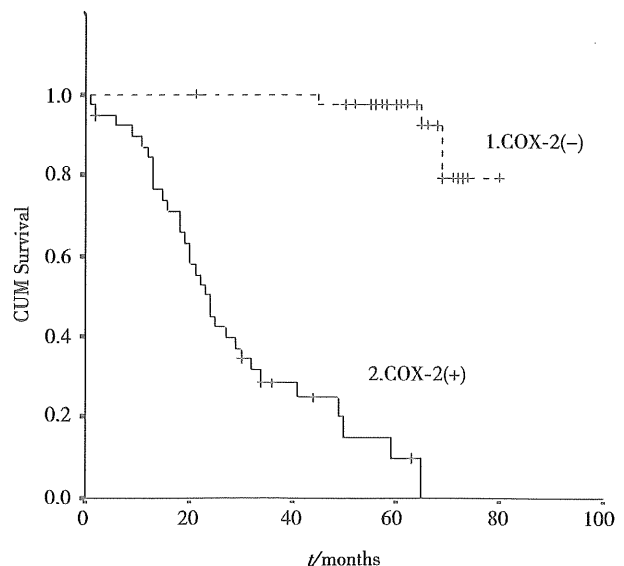


图 1 喉鳞癌 COX-2 阳性组和阴性组的生存曲线
Fig.1 Survival curves of positive and negative COX-2 expression groups in laryngeal squamous cell carcinoma

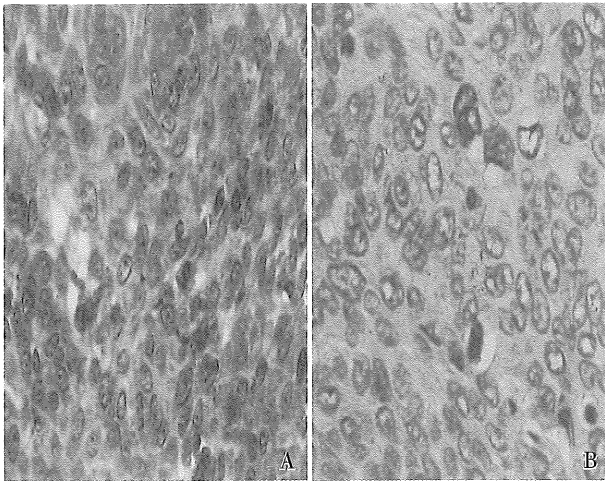


图 2 COX-2 在喉鳞癌中的表达

Fig.2 Expression of COX-2 in laryngeal squamous cell carcinoma

A: positive; B: negative; DAB×400

2.2 喉鳞癌组织中 COX-2 表达与临床病理因素之间的关系

COX-2 表达在临床晚期组显著高于临床早期组 ($P < 0.05$); 淋巴结转移组显著高于无淋巴结转移组 ($P < 0.05$); 低分化组显著高于中分化组和高分化组 ($P < 0.05$); 声门上型组显著高于声门型组 ($P < 0.05$); 复发组显著高于无复发组 ($P < 0.05$)。提示 COX-2 在喉鳞癌中的表达与肿瘤的某些恶性生物学特征密切相关(表 1)。

表 1 喉鳞癌组织中 COX-2 表达与临床病理因素之间的关系

Tabal 1 Correlation between COX-2 expression and clinicopathologic factors

| Variable | n | COX-2 expression | | χ^2 | P |
|---|----|------------------|---------|----------|-------|
| | | + | - | | |
| LCT/ ANLT | 81 | 39/0 | 42/81 | 25.683 | 0.000 |
| Clinical stage(I + II / III+IV) | 81 | 19/20 | 32/10 | 6.464 | 0.011 |
| T stage(T ₁ +T ₂ / T ₃ +T ₄) | 81 | 20/19 | 33/9 | 6.576 | 0.010 |
| N stage(N+/ N0) | 81 | 10/29 | 1/41 | 9.207 | 0.002 |
| Histology grade(G ₁ / G ₂ / G ₃) | 81 | 11/17/11 | 28/11/3 | 12.658 | 0.001 |
| Recurrence(Yes/No) | 81 | 19/20 | 4/38 | 16.199 | 0.000 |
| Anatomic subsite of tumor(S/G) | 81 | 12/27 | 4/38 | 5.687 | 0.016 |

LCT:laryngeal carcinoma tissues; ANLT:adjacent noncancerous laryngeal tissues; S:superglottic; G:glottic

2.3 喉鳞癌患者预后分析

将临床分期、T 分期、N 分期、病理分级、复发、COX-2 引入 Cox 回归模型, 显示:COX-2 表达、临

床分期、T 分期、病理分级是影响喉癌预后的独立因素(表 2)。

表 2 临床病理因素与喉鳞癌患者预后关系的 Cox 回归多因素分析结果

Table 2 Result of Cox regression modal for analysis of patients with laryngeal squamous cell carcinoma prognosis against clinicopathologic factors

| | B | SE | Wald χ^2 | P | Exp(B) | 95% CI for Exp(B) | |
|-----------------|--------|-------|---------------|-------|---------|-------------------|---------|
| COX-2 | 4.694 | 0.828 | 32.146 | 0.000 | 109.243 | 21.565 | 553.406 |
| Histology grade | -0.613 | 0.298 | 4.221 | 0.040 | 0.542 | 0.302 | 0.972 |
| T stage | -1.554 | 0.776 | 4.013 | 0.045 | 0.211 | 0.046 | 0.967 |
| Clinical stage | 1.930 | 0.808 | 5.711 | 0.017 | 6.890 | 1.415 | 33.549 |

3 讨论

喉鳞癌是头颈部常见的恶性肿瘤之一。临床中发现:相同病理分化、临床分期的患者预后常有明显差异, 因此寻找与肿瘤临床病理学因素密切相关的生物学指标有重要意义。

近年来很多研究表明 COX-2 蛋白在肿瘤发生的很多分子机制中发挥作用, 如:COX-2 可快速诱导机体对促癌剂、细胞因子、生长因子等刺激因子产生反应; 通过病理途径影响有丝分裂、细胞粘附、免疫监护而促进肿瘤的发生和发展。Itoh 等^[4]应用免疫组化方法研究手术切除口腔癌标本 COX-2 的表达, 发现 COX-2 蛋白表达见于细胞浆, COX-2 表达上调与淋巴结转移正相关。Takatori 等^[7,8]学者对 228 例食管癌患者进行研究, COX-2 高表达者癌浸润深度越深, 肿瘤分期越晚, 预后越差。病理分化差者 COX-2 阳性率较高。孙希才等^[9]学者研究 COX-2 在喉癌中的表达显示, COX-2 表达与淋巴结转移和临床分期密切相关, 淋巴结转移组和临床晚期组较无淋巴结转移组和临床早期组高表达。Grudzinski M 等^[10]学者研究发现, 乳腺癌腋窝淋巴结 COX-2 表达阳性患者较阴性患者原发灶复发间期短, 是原发灶复发的独立预后因素。Cho 等^[6]学者检测 123 例 T1-2N0 喉癌患者的 COX-2 表达与复发的关系, 发现 COX-2 表达与喉癌局部复发密切相关。大多数研究报道:COX-2 表达是预后差的标志^[3,5,8,11], 但也有不同的观点和研究成果:Atula 等^[12]学者发现 COX-2 无明显预后价值。

本组资料显示:COX-2 表达淋巴结转移组显

著高于无淋巴结转移组,在局部晚期患者显著高于早期患者,提示 COX-2 表达与喉鳞癌的侵袭和转移行为相关。病理分化差组 COX-2 表达显著高于中分化和高分化组,提示 COX-2 表达与肿瘤的恶性程度相关;声门上型喉癌组 COX-2 阳性率显著高于声门型组,可能与声门上区特殊的解剖学特征和更易发生侵袭和转移相一致。复发是影响患者预后的重要原因^[13],本组资料显示:本组病例复发率约为 28.5%,喉癌复发与 COX-2 表达密切相关,复发组阳性率(82.61%)明显高于未复发组(34.49%),从一个方面表明 COX-2 表达阳性者较阴性者更易发生复发,因此提出设想:对表达阳性的患者进行密切随访和适当的辅助治疗,但尚需进一步的动物实验和临床实验来论证。本组资料显示:COX-2 表达是喉癌患者独立的预后因素,COX-2 阳性组的 5 年生存率显著低于阴性组,COX-2 表达是预后差的标志,与大多数研究报道相一致。

综上所述,喉鳞癌组织中 COX-2 的表达与肿瘤的某些恶性生物学特征密切相关,研究 COX-2 在喉鳞癌中的表达对评估预后具有重要价值。为进一步探讨逆转 COX-2 表达与肿瘤恶性生物学特征的相关性提供理论依据,这将有助于喉癌治疗策略的进展。

参考文献:

- [1] Vane JR, Bakhle YS, Botting RM. Cyclooxygenases 1 and 2 [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 1998,38:97-120.
- [2] Kim HS, Youm HR, Lee JS, et al. Correlation between cyclooxygenase-2 and tumor angiogenesis in non-small cell lung cancer [J]. *Lung Cancer*, 2003,42(2):163-170.
- [3] 杨朝晖,李劲松,徐静,等.颊癌模型中环氧化酶-2 和诱导型一氧化氮合酶表达的意义 [J]. *中山大学学报:医学科学版*, 2007,28(3):297-300.
- [4] Itoh S, Matsui K, Furuta I, et al. Immunohistochemical study on overexpression of cyclooxygenase-2 in squamous

cell carcinoma of the oral cavity:its importance as a prognostic predictor [J]. *Oral Oncol*, 2003,39(8):829-835.

- [5] Chang BW, Kim DH, Kowalski DP, et al. Prognostic significance of cyclooxygenase-2 in oropharyngeal squamous cell carcinoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2004,10(5):1678-1684.
- [6] Cho EI, Kowalske DP, Sasaki CT, et al. Tissue microarray analysis reveals prognostic significance of COX-2 expression for local relapse in T1-2N0 larynx cancer treated with primary radiation therapy [J]. *Laryngoscope*, 2004,114(11):2001-2008.
- [7] Takatori H, Natsugoe S, Okumura H, et al. Cyclooxygenase-2 expression is related to prognosis in patients with esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Eur J Surg Oncol*, 2007 Jun 4; [Epub ahead of print]
- [8] Ristimaki A, Sivula A, Lundin J, et al. Prognostic significance of elevated cyclooxygenase-2 expression in breast cancer [J]. *Cancer Research*, 2002,62(3):632-635.
- [9] 孙希才,葛荣明,董庆汉,等.环氧化酶-2 在喉鳞状细胞癌中的表达及其与微血管密度的关系 [J]. *临床耳鼻喉科杂志*, 2005,19(21):967-970.
- [10] Grudzinski M, Cambuzzi E, Lahude E, et al. Cox-2 and CD105 expression in breast cancer and disease-free survival [J]. *Rev Assoc Med Bras*, 2006,52(4):275-280.
- [11] Soumaoro LT, Uetake H, Takagi Y, et al. Coexpression of VEGF-C and Cox-2 in human colorectal cancer and its association with lymph node metastasis [J]. *Dis Colon Rectum*, 2006,49(3):392-398.
- [12] Atula T, Hedstrom J, Ristimake A, et al. Cyclooxygenase-2 expression in squamous cell carcinoma of the oral cavity and pharynx: association to p53 and clinical outcome [J]. *Oncol Rep*, 2006,16(3):485-490.
- [13] 陈艳峰,陈福进,杨安奎,等.复发性喉癌患者的临床特点和影响预后因素的分析 [J]. *癌症*, 2004,23(5):584-588.

(编辑 孙慧兰)