

COX-2 与 mPGES-1 在肾透明细胞癌中的表达及临床意义

滕 皓¹ 周荣祥^{1△} 张 钢¹ 张宗亮¹ 王 鹏¹ 赵 凯²

(1 青岛大学医学院附属青岛市市立医院泌尿外科 山东 青岛 266011 2 青岛大学医学院附属医院泌尿外科 山东 青岛 266071)

摘要 目的 探讨环氧合酶-2 (COX-2) 和膜结合型前列腺素 E2 合成酶 1 (mPGES-1) 在肾透明细胞癌组织中的表达及临床意义。方法：采用免疫组化 SP 法分别检测 49 例肾透明细胞癌组织标本和 21 例正常肾组织标本中 COX-2 和 mPGES-1 的表达。结果：COX-2 在正常肾组织中的阳性表达率为 4.8%，在肾透明细胞癌组织中的阳性表达率为 53.1% ($P<0.05$)；mPGES-1 在正常肾组织中的阳性表达率为 4.8%，在肾透明细胞癌组织中的阳性表达率为 40.8% ($P<0.05$)；COX-2 和 mPGES-1 的高表达均与肾透明细胞癌的病理分级和临床分期无相关性 ($P>0.05$)；COX-2 和 mPGES-1 在肾透明细胞癌中的表达呈正相关 ($P<0.05$)， $r=0.5$ 。结论：COX-2 和 mPGES-1 在肾透明细胞癌发生及发展过程中共同发挥重要作用；COX-2 和 mPGES-1 可能成为肾透明细胞癌新的治疗靶点。

关键词 环氧合酶-2 膜结合型前列腺素 E2 合成酶-1 肾透明细胞癌 免疫组织化学

中图分类号 R737.11 **文献标识码** A **文章编号** 1673-6273 (2012) 16-3141-03

Expression and Clinical Significance of Cyclooxygenase-2 and Microsomal Prostaglandin E2 Synthase-1 in Clear Cell Renal Cell Carcinoma

TENG Hao¹, ZHOU Rong-xiang^{1△}, ZHANG Gang¹, ZHANG Zong-liang¹, WANG Peng¹, ZHAO Kai²

(1 Department of Urology, The Affiliated Qingdao Municipal Hospital of Qingdao University Medical College, Qingdao Shandong 266011, China; 2 Department of Urology, The Affiliated Hospital of Qingdao University Medical College, Qingdao Shandong 266071, China)

ABSTRACT Objective: To explore the expression and clinical significance of cyclooxygenase-2 (COX-2) and microsomal prostaglandin E2 synthase-1 (mPGES-1) in clear cell renal cell carcinoma. **Methods:** 49 cases of clear cell renal cell carcinoma tissues specimens and 21 cases of normal renal tissues specimens were used to detect the expression and the clinicopathological features of COX-2 and mPGES-1 in clear cell renal cell carcinoma by means of immunohistochemistry SP method. **Results:** COX-2 positive expression rate in normal renal tissue was 4.8%. On the contrary, COX-2 positive expression rate in clear cell renal cell carcinoma was 53.1% ($P<0.05$). mPGES-1 positive expression rate in normal renal tissue was 4.8%. On the contrary, mPGES-1 positive expression rate in clear cell renal cell carcinoma was 40.8% ($P<0.05$). The overexpression of mPGES-1 and COX-2 was not correlated with the pathologic grading and clinical staging of clear cell renal cell carcinoma ($P>0.05$). The expression of COX-2 was positively correlated with mPGES-1 ($P<0.05$), $r=0.5$. **Conclusion:** COX-2 and mPGES-1 might play crucial roles in the occurrence and development of clear cell renal cell carcinoma in common; COX-2 and mPGES-1 may be the novel therapeutic targets for treatment of clear cell renal cell carcinoma.

Key words: Cyclooxygenase-2; Microsomal prostaglandin E2 synthase-1; Clear cell renal cell carcinoma; Immunohistochemistry

Chinese Library Classification(CLC): R737.11 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2012)16-3141-03

前言

肾细胞癌 (Renal Cell Carcinoma, RCC) 是最常见的肾脏恶性肿瘤。近几年来,肾细胞癌的发病率呈逐渐上升趋势。在各种类型的肾细胞癌中,肾透明细胞癌 (Clear Cell Renal Cell Carcinoma, CCRCC) 约占 75%,是最常见的类型,而且与其他类型的肾细胞癌例如乳头状癌、嫌色细胞癌等相比,其预后更差。肾透明细胞癌缺乏早期临床表现,目前诊断主要依靠 B 超、CT、MRI 等影像学检查,治疗主要以外科手术为主,药物靶向治疗亦受到越来越多的关注。我们采用免疫组化 SP 法检测环氧合

酶-2 (COX-2) 和膜结合型前列腺素 E2 合成酶 1 (mPGES-1) 在肾透明细胞癌组织中的表达,分析其与肿瘤病理分级及临床分期的关系,并进一步分析二者在肾透明细胞癌发生和发展过程中的相关性。

1 材料与方法

1.1 材料

收集青岛市市立医院 2001~2011 年 49 例肾透明细胞癌石蜡切片标本和 21 例对照正常肾组织石蜡切片标本。肾透明细胞癌病人年龄 22~81 岁,平均年龄 58 岁。其中男性 32 例,女性 17 例,男女比例为 1.9:1。病理分级按 WHO 标准 G1 级 17 例, G2 级 22 例, G3 级 10 例;临床分期按 AJCC-TNM 分期标准: I 期 15 例, II 期 21 例, III~IV 期 13 例。所有患者术前均未行放疗、化疗、血管栓塞或免疫治疗等抗肿瘤治疗。

1.2 方法

作者简介 滕皓 (1985), 男, 硕士研究生, 主要研究方向 泌尿生殖系统肿瘤, Tel: 15066257316, E-mail: tengxining@163.com

△通讯作者 周荣祥 (1952), Tel: 0532-82789401,

E-mail: zhourongxiang621@sohu.com

(收稿日期 2011-10-22 接受日期 2011-11-18)

采用免疫组化 SP 法。一抗兔抗人 COX-2 单克隆抗体和兔抗人 mPGES-1 多克隆抗体分别购自北京中杉金桥生物技术有限公司和美国 Cayman Chemical 公司 免疫组化试剂盒为北京中杉金桥生物技术有限公司产品。严格按照试剂盒说明书进行实验操作。以 PBS 液代替一抗作为阴性对照,以已知阳性的结肠癌染色切片标本作为阳性对照。

1.3 结果判定

COX-2 和 mPGES-1 阳性表达细胞表现为细胞质内出现棕黄色或棕褐色染色颗粒。每张组织切片先在低倍镜(100 倍)下观察,选取 5 个有代表性视野 再换用高倍镜(400 倍)观察,计数高倍镜下每一选取视野中阳性细胞占有同类细胞的百分比,<10%为阴性 (-),>10%为阳性 (+)。

1.4 统计学处理

COX-2 和 mPGES-1 在肾透明细胞癌不同分级、分期及在肿瘤与正常组织之间的表达差异分析采用 χ^2 检验法 COX-2 和 mPGES-1 在肾透明细胞癌中表达的相关性分析采用配对计数资料 χ^2 检验法。

2 结果

2.1 COX-2 在肾透明细胞癌组织中的表达

肾透明细胞癌组织标本 COX-2 阳性表达率为 53.1%,着色部位主要位于细胞质,呈棕黄色或棕褐色颗粒 而正常肾组织标本 COX-2 阳性表达率为 4.8%,强度明显弱于癌组织。

$\chi^2=14.5, P<0.05$,统计学检验差别有显著性意义,即 COX-2 在肾透明细胞癌组织中的阳性表达率高于正常肾组织。G1、G2、G3 肾透明细胞癌标本 COX-2 阳性表达率分别为 35.3%、59.1%、70.0%,三组相比差别无显著性意义 ($\chi^2=3.6, P>0.05$) 肾透明细胞癌 I、II、III~IV 期组织标本中 COX-2 表达阳性率分别为 33.3%、52.4%、76.9%,三组相比差别亦无显著性意义 ($\chi^2=5.3, P>0.05$) ,提示随着肿瘤病理分级及临床分期的递增,COX-2 的阳性表达率呈逐渐增加的趋势,但差异无统计学意义(见表 1)。

2.2 mPGES-1 在肾透明细胞癌组织中的表达

肾透明细胞癌组织标本 mPGES-1 阳性表达率为 40.8%,着色部位主要位于细胞质,呈棕黄色或棕褐色颗粒 而正常肾组织标本 mPGES-1 阳性表达率为 4.8%,强度明显弱于癌组织。 $\chi^2=9.1, P<0.05$,统计学检验差别有显著性意义,即 mPGES-1 在肾透明细胞癌组织中的阳性表达率高于正常肾组织。G1、G2、G3 肾透明细胞癌标本 mPGES-1 阳性表达率分别为 23.5%、45.5%、60.0%,三组相比差别无显著性意义 ($\chi^2=3.8, P>0.05$) 肾透明细胞癌 I、II、III~IV 期组织标本中 mPGES-1 表达阳性率分别为 20.0%、42.9%、61.5%,三组相比差别亦无显著性意义 ($\chi^2=5.0, P>0.05$) ,提示随着肿瘤病理分级及临床分期的递增,mPGES-1 的阳性表达率呈逐渐增加的趋势,但差异无统计学意义(见表 1)。

表 1 COX-2 和 mPGES-1 在肾透明细胞癌组织中的表达
Table 1 The expression of COX-2 and mPGES-1 in CCRCC

Group	Total number	COX-2		P value	mPGES-1		P value
		-	+		-	+	
Normal	21	20	1	<0.05	20	1	<0.05
CCRCC	49	23	26		29	20	
Clinical stage							
I stage	15	10	5	>0.05	12	3	>0.05
II stage	21	10	11		12	9	
III~IV stage	13	3	10		5	8	
Pathologic grade							
1 grade	17	11	6	>0.05	13	4	>0.05
2 grade	22	9	13		12	10	
3 grade	10	3	7		4	6	

2.3 COX-2 与 mPGES-1 在肾透明细胞癌组织中表达的相关性

在 COX-2 表达阳性的 26 例肾透明细胞癌组织标本中,有 18 例 mPGES-1 同时表达阳性 29 例 mPGES-1 表达阴性的标本中,有 21 例 COX-2 同时表达阴性。用配对计数资料 χ^2 检验法检验二者表达的相关性,二者表达呈正相关关系 ($\chi^2=18.5, P<0.05$), $r=0.5$ (见表 2)。

3 讨论

前列腺素 E2 (PGE2) 是一类具有广泛生物学效应的生物活性脂,是人体中含量最丰富的前列腺素,凭借与 EP 受体家族的联系可以活化广泛的增殖信号,刺激肿瘤生长、介导免疫抑制、抑制凋亡及刺激血管再生,从而在肿瘤的发生和发展过程中发挥重要作用^[1,2]。COX-2 和 mPGES-1 是 PGE2 合成过程中两个重要的限速酶,二者均是诱导型酶,在正常组织中均不表达或者很少表达,一般只在应激后(如感染、缺氧、致瘤物质刺激等)表达增加,参与炎症、疼痛、肿瘤等多种病理生理过程。

表 2 COX-2 和 mPGES-1 在肾透明细胞癌组织中的表达的相关性
Table 2 The correlation of COX-2 and mPGES-1 in CCRCC

COX-2	mPGES-1		Total number
	-	+	
-	21	2	23
+	8	18	26
Total number	29	20	49

Note: r=0.5, P<0.05

免疫荧光法检测结果表明,COX-2 和 mPGES-1 共同定位在微粒体和细胞核的核周膜上;在前炎症因子刺激下,mPGES-1 的表达会伴随 COX-2 表达的增加而上调,并伴 PGE2 合成增加,而这种现象可以被糖皮质激素阻断^[3]。当 COX-2 和 mPGES-1 共同转染人胚胎肾 (HEK) 293 细胞时,与单一转染 COX-2 或 mPGES-1 的 HEK293 细胞相比,内源性花生四烯酸或外源性花生四烯酸均会生成更高水平的 PGE2 这种共转染两种酶的 HEK293 细胞具有非抑制性生长、增殖速度快和形态异常等区别于正常细胞的特性,将这种共转染两种酶的 HEK293 细胞在软琼脂培养基中培养可形成许多大的细胞群落,将这种共转染 COX-2 和 mPGES-1 后的 HEK293 细胞皮下植入裸鼠可导致肿瘤形成^[3]。在许多肿瘤中 COX-2 和 mPGES-1 存在共同表达现象,如胃腺瘤^[4]、结肠腺瘤^[5]、肠型胃癌^[6]、前列腺癌^[7]中 COX-2 和 mPGES-1 均为高表达,且二者表达呈正相关关系。以上研究表明,COX-2 和 mPGES-1 偶联,共同介导 PGE2 的合成,二者在许多肿瘤发生、发展过程中协同发挥作用。

然而,也有研究表明 COX-2 和 mPGES-1 在某些肿瘤中的表达并不一致。例如,在侵袭性乳腺癌的研究中发现 mPGES-1 的高表达比 COX-2 要更加多见,而且 mPGES-1 和 COX-2 的诱导表达并无相关性^[8]在非小细胞肺癌的研究中发现 COX-2 并没有伴随 mPGES-1 的高表达而表达,主要是因为非小细胞肺癌的细胞中 IL-4 可以通过抑制 COX-2 mRNA 的转录而显著抑制 COX-2 和 PGE2 的合成,然而 mPGES-1 的表达却不受影响^[9]。以上研究表明 COX-2 与 mPGES-1 的诱导表达并不总是一致,两者诱导表达的调控可以被独立调节,既有一致性又有所区别。

既往有关 COX-2 与肾细胞癌的关系有多种报道 Okamoto 等研究发现在 Eker 鼠肾细胞癌模型中高表达的是 COX-1 而不是 COX-2^[10];而 Hashimoto Y 等研究发现 COX-2 在肾细胞癌中高表达而且 COX-2 的表达与肿瘤的分级和分期相关^[11];但 Yoshimura R 等研究发现虽然 COX-2 在肾细胞癌中高表达但是与肿瘤的分级和分期无关^[12]。与 COX-2 相比,mPGES-1 与肾细胞癌的关系鲜有报道。本研究结果显示 COX-2 和 mPGES-1 在肾透明细胞癌中均高表达,而在正常肾组织中不表达或者仅弱表达 而且,COX-2 和 mPGES-1 在肾透明细胞癌的阳性表达呈正相关关系,提示二者在肾透明细胞癌发生和发展过程中共同发挥重要作用以及 COX-2 和 mPGES-1 可能成为肾透明细胞癌新的治疗靶点,COX-2 和 mPGES-1 选择性抑制剂可能为肾透明细胞癌的药物 治疗提供新的选择。

COX-2 选择性抑制剂 (如塞来昔布、尼美舒利等) 已应用于

临床,用于抗炎、止痛、抑癌等治疗,但因其心血管等不良反应,使其临床应用受到限制。有研究表明,那些服用 COX-2 选择性抑制剂的患者患心肌梗死及脑中风的 风险明显增加,同时增加的还有心肌梗死的死亡率,而这主要归因于 COX-2 选择性抑制剂在抑制 PGE2 合成的同时也影响到其他重要前列腺素的合成,从而导致促血栓类产物及抗血栓类产物代谢不平衡,如血栓素 A2 (TXA2) 增加、前列环素 (PGI2) 减少^[13]。在 PGE2 合成的过程中,COX-2 参与催化生四烯酸生成不稳定的前列腺素 G2 (PGG2) 和前列腺素 H2 (PGH2) mPGES-1 参与催化 PGH2 生成 PGE2。由此可知,COX-2 只是 PGE2 合成过程中一个重要的限速酶,并不是终末限速酶 mPGES-1 参与的酶促反应位于 PGE2 合成过程的最下游,是 PGE2 合成的终末限速酶。因此,在抑制 PGE2 合成方面,mPGES-1 是一个较 COX-2 特异性更好的靶点。目前已有临床前实验研究发现,与 COX-2 选择性抑制剂相比,mPGES-1 选择性抑制剂不会影响其他重要前列腺素的水平,在降低 PGE2 水平的同时可避免心血管不良反应的发生,甚至还有抗血栓和抗动脉粥样硬化的作用^[14,15]。由此可见,mPGES-1 选择性抑制剂比 COX-2 选择性抑制剂拥有更广阔 的临床应用前景。

参 考 文 献 (References)

[1] Ben-Av P, Crofford LJ, Wilder RL, et al. Induction of vascular endothelial growth factor expression in synovial fibroblasts by prostaglandin E and interleukin-1: a potential mechanism for inflammatory angiogenesis[J]. FEBS Lett , 1995, 372(1): 83-87

[2] Sheng H, Shao J, Washington MK, et al. Prostaglandin E2 increases growth and motility of colorectal carcinoma cells [J]. J Biol Chem, 2001, 276(21): 18075-18081

[3] Murakami M, Naraba H, Tanioka T, et al. Regulation of prostaglandin E2 biosynthesis by inducible membrane-associated prostaglandin E2 synthase that acts in concert with cyclooxygenase-2 [J]. J Biol Chem, 2000, 275(42): 32783-32792

[4] Rocco A, Caruso R, Toracchio S, et al. Gastric adenomas: relationship between clinicopathological findings, Helicobacter pylori infection, APC mutations and COX-2 expression [J]. Ann Oncol, 2006, 17(7): 103-108

[5] Yoshimastu K, Golijanin D, Paty PB, et al. Inducible microsomal prostaglandin E synthase is overexpressed in colorectal adenomas and cancer[J]. Clin Cancer Res, 2001, 7(12): 3791-3796

[6] Nardone G, Rocco A, Vaira D, et al. Expression of COX-2, mPGE-synthase1, MDR-1 (P-gp), and Bcl-xL: a molecular pathway of H pylori-related gastric carcinogenesis[J]. J Pathol, 2004, 202 (3): 305-312

(下转第 3159 页)

- Bacilli [J]. Chinese Journal of Nosocomiology, 2009, 19 (22): 3090-3092
- [11] 王文丁, 胡龙华, 熊建球, 等. 头孢哌酮 / 舒巴坦对临床常见革兰阴性杆菌体外抗菌活性的分析 [J]. 中华医院感染学杂志, 2009, 19 (20):2772-2773
- Wang Wen-ding, Hu Long-hua, Xiong Jian-qi, et al. Prevalence of Antimicrobial-resistance to Cefoperazone/ sulbactam in Gram-negative bacilli [J]. Chinese Journal of Nosocomiology, 2009, 19 (20): 2772-2773
- [12] Burke JK. Effective period of preventive antibiotic action in experimental incisions and dermal lesions [J]. Surgery, 1961, 50: 161
- [13] Classen DC, et al. The timing of prophylactic administration of antibiotics and the risk of surgical wound infection [J]. N Engl J Med, 1992, 326:281
- [14] 中华医学会外科学会, 中华外科杂志编辑委员会, 围手术期预防应用抗菌药物指南[J]. 中华外科杂志, 2006, 23(44): 1594-1596
- Chinese Medical Society for surgery, Editorial board of Chinese Journal of surgery. Guide for prophylactic use of antibiotics in the perioperative period[J]. Chinese Journal of surgery, 2006, 23(44): 1594-1596
- [15] 蒋晓磊, 崔玉彬, 曹胜华, 等. 喹诺酮类抗菌药物研究新进展[J]. 中国抗生素杂志, 2011, 36(4):255-263
- Jiang Xiao-lei, Cui Yu-bin, Cao Sheng-hua, et al. Progress in research on quinolone antibacterials [J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2011, 36(4): 255-263
- [16] 夏蕊蕊, 国宪虎, 张玉臻, 等. 喹诺酮类药物及细菌对其耐药性机制研究进展[J]. 中国抗生素杂志, 2010, 35(4): 255-261
- Xia Rui-rui, Guo Xian-hu, Zhang Yu-zhen, et al. Quinolones and the mechanism of quinolone resistance in bacteria [J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2010, 35(4): 255-261
- [17] 卫生部办公厅. 关于抗菌药物临床应用管理有关问题的通知[S]. 卫医政发[2009]38 号
- The Ministry of health. The notice on the management of Antibacterial drug in clinical use [S]. Wei Yi ZHENG, [2009]38
- [18] 卫生部办公厅. 关于加强克林霉素注射液临床使用管理的通知[S]. 卫医政发[2009]107 号.
- The Ministry of health. The notice on strengthening the management of clindamycin injection in clinical use [S]. Wei Yi ZHENG, [2009] 107
- [19] 陈俊苗, 王少敏, 王玉栋, 等. 克林霉素及其磷酸酯的临床应用与不良反应[J]. 中国临床药理学杂志, 2011, 27(1): 55-58
- Chen Jun-miao, Wang Shao-min, Wang Yu-dong, et al. Clinical application and adverse reactions of clindamycin and its phosphate[J]. The Chinese Journal of Clinical Pharmacology, 2011, 27(1): 55-58
- [20] 张忠鲁. 大环内酯类抗生素. 林可霉素. 克林霉素的不良反应[J]. 医师进修杂志, 2005, 28(21): 5-6
- Zhang Zhonglu. Adverse reactions of macrolides, lincomycin and clindamycin [J]. Journal of Postgraduates of Medicine, 2005, 28(21): 5-6

(上接第 3143 页)

- [7] 尚芳芳, 于小玲, 齐瑞芳, 等. 前列腺癌组织 mPGES-1 表达及其与 COX-2 的相关性[J]. 齐鲁医学杂志, 2008, 23(3): 201-203
- Shang Fang-fang, Yu Xiao-ling, Qi Rui-fang, et al. Expression of membrane-associated PGE2 synthase and its correlation with cyclooxygenase-2 in primary prostate cancer [J]. Medical Journal of Qilu, 2008, 23(3): 201-203 (In Chinese)
- [8] Mehrotra S, Morimiya A, Agarwal B, et al. Microsomal prostaglandin E2 synthase-1 in breast cancer: a potential target for therapy [J]. J Pathol, 2006, 208(3): 356-363
- [9] Cui X, Yang SC, Sharma S, et al. IL-4 regulates COX-2 and PGE2 production in human non-small cell lung cancer [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2006, 343(4): 995-1001
- [10] Okamoto T, Hara A, Hino O. Down-regulation of cyclooxygenase-2 expression but up-regulation of cyclooxygenase-1 in renal carcinomas of the Eker (TSC2 gene mutant) rat model[J]. Cancer Science, 2003, 94(1): 22-25
- [11] Hashimoto Y, Kondo Y, Kimura G, et al. Cyclooxygenase-2 expression and relationship to tumour progression in human renal cell carcinoma[J]. Histopathology, 2004, 44(4): 353-359
- [12] Yoshimura R, Matsuyama M, Kawahito Y, et al. Study of cyclooxygenase-2 in renal cell carcinoma [J]. Int J Cancer, 2004, 108 (6): 825-832
- [13] N. Futaki, K. yoshikawa, Y. Hamasaka, et al. NS-398, a novel non-steroidal anti-inflammatory drug with potent analgesic and antipyretic effects, which causes minimal stomach lesions[J]. Gen. Pharmacol, 1993, 24(1): 105-110
- [14] N. Degousee, S. Fazel, D. Angoulvant, et al. Microsomal prostaglandin E2 synthase-1 deletion leads to adverse left ventricular remodeling after myocardial infarction[J]. Circulation, 2008, 117(13):1701-1710
- [15] Wang M, Znkas A M, Hul Y, et al. Deletion of microsomal prostaglandin E synthase-1 augments prostacyclin and retards atherogenesis[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103(39):14507-14512