

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2015.07.025

大肠癌组织中 TS 和 COX-2 的表达及其与患者无病生存期的关系 *

张高高^{1,2} 郑国宝^{1△} 王仰坤¹ 原旭涛¹ 贡 田¹ 蒙念龙¹ 吕学霞¹

(1 中国人民解放军第 150 中心医院 河南 洛阳 471000; 2 新乡医学院研究生院 河南 新乡 453000)

摘要 目的:探讨大肠癌患者癌组织中环氧化酶-2(COX-2)、胸苷酸合成酶(TS)的表达及其与患者无病生存期的关系。**方法:**筛选我院收治的大肠癌根治术患者,选择无病生存期大于 48 个月者 30 例和无病生存期小于 48 个月者 29 例。采用免疫组化法检测大肠癌组织中 COX-2 和 TS 的表达,并分析其与患者无病生存期的关系。**结果:**49 例结直肠癌患者中,TS 的阳性表达率为 91.84%,COX-2 的阳性表达率为 77.55%。不同无病生存期的大肠癌患者 TS 的表达水平比较无统计学差异($P=0.646$)。COX-2 在无病生存期 >48 个月的患者癌组织中表达水平明显低于无病生存期 <48 个月的患者,差异有统计学意义($P=0.033$)。**结论:**COX-2 与大肠癌患者的无病生存期显著相关,可能成为预测大肠癌预后的参考指标。

关键词: 环氧化酶-2; 胸苷酸合成酶; 无病生存期; 大肠癌

中图分类号: R735.34; R362 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2015)07-1297-03

Relationship between the DFS and Expression of TS, COX-2 in Colorectal Cancer*

ZHANG Gao-gao^{1,2}, ZHENG Guo-bao^{1△}, WANG Yang-kun¹, YUAN Xu-tao¹, YUN Tian¹, MENG Nian-long¹, LV Xue-xia¹

(1 The number 150 central hospital of Chinese people's liberation army, Luoyang, Henan, 471000, China;

2 School of Graduates, Medical University of Xinxiang, Xinxiang, Henan, 453000, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the correlation of cyclooxygenase-2 (COX-2) and thymidylate synthase (TS) expressions in Cancerous tissue with the disease free survival of patients with colorectal cancer. **Methods:** 30 patients with colorectal cancer whose disease-free survival were more than 48 months and 29 patients with colorectal cancer whose disease-free survival were less than 48 months were selected and underwent radical surgery in our hospital. The expression of COX-2 and TS in Cancerous tissue were detected by immunohistochemistry, the relationship between them and disease-free survival were analyzed. **Results:** In 49 patients with colorectal cancer, the positive expression rate of TS and COX-2 were 91.84% and 77.55%, respectively. No significant difference was found in the expression of TS between the patients with different disease-free survival ($P=0.646$). The expression of COX-2 of patients whose DFS were longer than 48 months were significantly lower than those whose DFS were shorter than 48 months ($P=0.033$). **Conclusion:** COX-2 was significantly related to the disease-free survival of patients with colorectal cancer, which might be a marker to predict the prognosis of colorectal cancer.

Key words: Cyclooxygenase-2 (cox-2); Thymidylate Synthase (TS); Disease-free survival (DFS); Colon cancer

Chinese Library Classification(CLC): R735.34; R362 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2015)07-1297-03

前言

环氧化酶(cyclooxygenase, COX)是花生四烯酸合成前列腺素的限速酶,目前已发现其有三种同工酶 COX-1、COX-2 和 COX-3,其中 COX-2 为诱导酶,可催化合成炎症介质细胞因子如肿瘤坏死因子 α 、白介素-1 和白介素-6 等和前列腺素 E2(PGE2),在炎症和细胞增殖中起重要作用^[1,2]。胸苷酸合成酶(thymidylate synthetase, TS)是胸腺嘧啶合成过程中催化四氢叶酸与 dUMP 结合后合成胸苷酸的重要限速酶,也是氟尿嘧啶类药在人体内代谢的关键酶之一,是其作用的重要靶点,属于化疗耐药相关蛋白^[3,4]。本研究主要分析了大肠癌患者癌组织中 COX-2

和 TS 的表达及其与患者无病生存期的关系,以期为大肠癌的治疗和预后评估提供更多的参考依据。

1 资料与方法

1.1 资料

选择我院 2006 年 1 月至 2010 年 1 月收治的行大肠癌根治术并行标准 FOXFLO4 方案化疗 4~6 周期的患者,筛选出 Dukes 分期为 B 期(无淋巴结转移),pTNM 分期为 II 期的患者 49 例。其中,男 31 例,女 21 例;中分化粘液腺癌 8 例,中分化管状腺癌 32 例,中分化绒毛状腺癌 6 例,中分化两种以上混合癌 6 例;年龄 45~68 岁,平均 56.5 岁。

* 基金项目:全军医药卫生科研基金项目(08Z006)

作者简介:张高高(1987-),男,硕士研究生,医师,主要研究方向:肿瘤的早期诊断与综合治疗,电话:13623878312, E-mail: Zgg28@126.com

△ 通讯作者:郑国宝,男,医学博士,主任医师,主要研究方向:肿瘤的早期诊断与综合治疗, E-mail: zhengguobao123@126.com

(收稿日期:2014-09-26 接受日期:2014-10-20)

1.2 方法

采用 SP 免疫组织化学法, 由我院病理蜡块库提供库存手术标本蜡块, 2.5 μm 厚度切片, 使用 VENTANA 公司 BENCH MARK 型自动免疫组化仪自动脱蜡, 修复抗原, 涂片, 染色后, 手工封固。试剂为鼠抗人胸苷酸合酶免疫组化单克隆抗体, 鼠抗人环氧化酶 2 免疫组化单克隆抗体以及加强型 DAB 显色试剂盒, 均采购于福建迈新生物技术公司。根据切片中阳性细胞百分比判断为阴性(<6%)、弱阳性(6%~30%)、阳性(30%~70%)和强阳性(>70%), 由三名资深病理医师分别判读后综合结果, 见图 1(100 $\times$)。

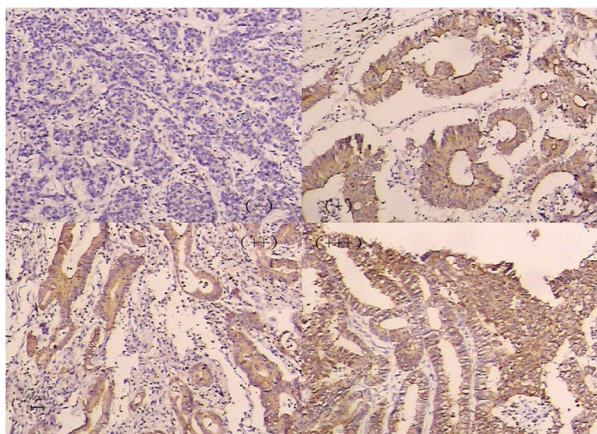


图 1 COX-2 和 TS 表达的免疫组化结果

Fig.1 Expressions of COX-2 and TS detected by immunohistochemistry

1.3 统计学分析

使用 SPSS21.0 软件进行统计学分析, 根据不同无复发无病生存期将患者分 <48 个月组和 >48 个月组, 结果分为阴性、

阳性、强阳性三个等级, 采用两独立样本非参数检验法分别分析 TS 和 COX-2 与无复发无病生存期相关性, 以 $P < 0.05$ 为具有统计学意义的标准。采用非参数检验 χ^2 检验分析癌组织与周围正常组织的表达情况是否一致。

2 结果

2.1 大肠癌组织中 TS 和 COX-2 的表达

TS 和 COX-2 阳性染色均定位于细胞胞浆中与胞膜上。结直肠癌组织中, 49 例结直肠癌患者 TS 表达阴性者 4 例, 阳性者 25 例, 强阳性者 20 例, 阳性表达率 91.84%; COX-2 表达阴性者 11 例, 阳性者 13 例, 强阳性者 25 例, 阳性表达率 77.55%, 具体见表 1。正常结直肠组织中, 49 例结直肠癌患者, 12 例 TS 表达阳性, 阳性表达率为 24.5%, 明显低于癌组织, 差异存在统计学意义 ($P < 0.01$); 7 例 COX-2 表达阳性, 阳性率为 14.3%, 明显低于癌组织, 差异存在统计学意义 ($P < 0.01$)。

2.2 大肠癌组织 TS 和 COX-2 表达与患者无复发无病生存期的相关性

49 例患者结直肠癌中, TS 阴性、COX-2 阳性者 17 例, TS 阴性、COX-2 阴性者 4 例, TS 阳性、COX-2 阳性者 28 例, TS 阳性、COX-2 阴性者 0 例, 采用 Spearman 相关性分析显示, 癌组织中 TS 和 COX-2 表达并无明显相关性 ($P = 0.789$)。采用 2 Independent Samples Test 分析显示, 癌组织中 TS 的表达情况与患者无病生存期无明显相关性 ($P = 0.646$); 而大肠癌组织中 COX-2 的表达与患者的无复发无病生存期明显相关 ($P = 0.033$), 以 <48 months 组表达程度较强 (28.667 > 20.333), Mann-Whitney U 统计量为 188.0, Z 检验统计量为 $Z = 2.13$, 具体见表 2。

表 1 结直肠癌组织中 TS 和 COX-2 的表达

Table 1 The expression of TS and COX-2 in colorectal cancer tissue

Item	Expression intensity	Group1(DFS<48months)	Group2(DFS>48months)	Total
TS	(-)	3(6.1%)	1(2.1%)	4(8.2%)
	(+)	13(26.5%)	12(24.5%)	25(51.0%)
	(++)	8(16.3%)	12(24.5%)	20(40.8%)
	(+++)	0(0%)	0(0%)	0(0%)
COX-2	(-)	4(8.2%)	7(14.3%)	11(22.4%)
	(+)	4(8.2%)	9(18.4%)	13(26.5%)
	(++)	8(16.32%)	5(10.2%)	13(26.5%)
	(+++)	8(16.32%)	4(8.2%)	12(24.5%)

表 2 结直肠癌组织 TS 和 COX-2 表达与患者无复发无病生存期的相关性

Table 2 Correlation of the expression of TS and COX-2 in colorectal cancer tissue with the recurrence-free and disease-free survival of patients

Item	Group	Mean Rank	U	Z	P
TS	<48months	24.125	279.000	-0.459	0.646
	>48 months	25.840			
COX-2	<48 months	28.667	188.000	-2.13	0.033
	>48 months	20.333			

3 讨论

大肠癌是临床上较为常见的一种恶性肿瘤, 在我国属第三

高发肿瘤, 在西方发达国家属第二高发肿瘤^[9], 其发病与低膳食纤维、高脂高蛋白饮食、烟酒嗜好、钙和硒等微量元素的摄入、肥胖、缺乏体力活动、肠道疾病以及心理精神因素等密切相关,

多见于老年人^[6]。随着我国经济高速发展,饮食结构调整,结肠癌的发病年龄已经有所年轻化^[8],已成为威胁人群健康的重要疾病之一。

大肠癌的预后一般较好,术后病检无淋巴结转移患者,5年生生存率可高达70%左右,DuckA期甚至可达90%^[9]。但仍有很多患者无病生存期不足5年,甚至更短。本研究旨在探讨影响结肠癌患者预后的相关因素。我们尽量挑选了基本情况相近的患者,经检验分组后两组患者的肿瘤大小、转移情况、局部浸润情况、淋巴结转移情况均不存在明显差异($P>0.05$),诊疗经过基本相同,可排除这些因素的干扰。

有研究显示 COX-2 的表达水平与大肠癌患者的年龄、性别、肿瘤发病部位和浸润深度关系不明显,而与癌组织的大小、分期、组织分级、HP 感染以及有无淋巴结转移关系较密切,肿瘤组织 COX-2 表达显著高于正常组织^[10,11]。COX-2 可能通过以下因素促进肿瘤的发生:增加前列腺素的产生,抑制机体的免疫反应;抑制肿瘤细胞凋亡,促进肿瘤细胞增殖;调控细胞周期;促进肿瘤血管生成;上调肿瘤细胞基质金属蛋白的表达以及诱导致癌物质前体的活化^[12-14]。TS 是胸腺嘧啶合成过程中催化四氢叶酸与 dUMP 结合后合成胸苷酸的重要限速酶,也是氟尿嘧啶类药物体内代谢的关键酶之一,现已成为判断肿瘤对 5-FU 是否敏感的重要指标。TS 主要表达于肿瘤组织中,在正常组织中的阳性表达率较低^[15]。有研究表明肿瘤组织 TS 的表达显著高于正常组织中,与淋巴结转移者和肿瘤分化程度均显著相关^[16,17]。且 NSABP R-01 报道,术后高 TS 表达的直肠癌 5 年 DFS 为 27%,OS 为 40%^[18],矛盾的是氟尿嘧啶类药物的疗效与 TS 的表达呈正相关^[19]。

本研究中,无病生存期 >48 个月的患者肿瘤组织中的 COX-2 表达水平明显低于无病生存期 <48 个月的患者。马波等的研究^[20]表明 COX-2 通过上调 VEGF-C 的表达,促进肿瘤淋巴管的生成,导致肿瘤细胞的淋巴转移。这可能是 COX-2 高表达者低生存期的原因之一。

而 TS 表达水平与大肠癌患者的无复发无病生存期无显著相关性,间接表明两组患者对于结直肠癌根治术后的化疗受益水平是一致的,可排除因药物敏感程度不同而引起预后差异的可能性。

总之,大肠癌组织 COX-2 的表达与患者的无复发无病生存期呈显著负相关,COX-2 高表达者生存期相对较短,而 COX-2 的表达相对较低者低生存期相对较长。而 TS 的表达与大肠癌患者的无复发无病生存期无显著相关性。因此,COX-2 有望成为大肠癌预后评估的参考指标,而其影响大肠癌预后的机制尚有待于进一步的研究。

参考文献(References)

- [1] Funk C D, Funk L B, Kennedy M E, et al. Human platelet thromboxane synthase: cDNA cloning, expression, and gene chromosomal assignment[J]. *FASEB*, 1991, 5(9): 2304-2312
- [2] Chandrasekharan N V, Dai H, Roos K L, et al. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic antipyretic drugs; cloning, structure and expression[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(7): 13926-13931
- [3] Longley D B, Harkin D P, Johnston P G. 5-Fluorouracil: mechanisms of action and clinical strategies[J]. *Nat Rev Cancer*, 2003, 3(5): 330-338
- [4] Kato Y, Murakami Y, Uemura K, et al. Impact of intratumoral thymidylate synthase expression on prognosis after surgical resection for ampullary carcinoma[J]. *J Surg Oncol*, 2011, 103(7): 663-668
- [5] Xu Jian-ming. The differences in colon cancer and colorectal cancer[J]. *Chinese Journal of Oncology*, 2010, 32(5): 321-323
- [6] Ketata S, Ben Mabrouk M, Derbel F, et al. Tumoral form of abdominal actinomycosis: a retrospective case series of seven patients [J]. *Rev Med Interne*, 2010, 31(11): 735-741
- [7] Randi G, Edefonti V, Ferraroni M, et al. Dietary patterns and the risk of colorectal cancer and adenomas[J]. *Nutr Rev*, 2010, 68(7): 389-408
- [8] Liang Han, Hao Xi-shan, Wang Xiao-na, et al. Prognosis factor analysis about colon cancer of young people under 40 [J]. *Chinese Journal of Clinical Oncology*, 2007, 34(15): 853-857
- [9] Sun Yan, Wan De-shen, Li Jin, et al. Colon Cancer [M]. *Advanced tutorial of clinical oncology*, 2011, 13(3): 550
- [10] Cheryl L Thompson, Sarah J Plummer, Alona Merkulova, et al. No association between cyclooxygenase-2 and uridine diphosphate glucuronosyltransferase 1A6 genetic polymorphisms and colon cancer risk[J]. *World J Gastroenterol*, 2009, 15(18): 2240-2244
- [11] Sansbury L B, Millikan R C, Schroeder J C, et al. COX-2 polymorphism use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs, and risk of colon cancer in African Americans[J]. *Cancer Causes Control*, 2006, 17(3): 257-266
- [12] Yang Xiao-dong, Xing Cun-gen, Zhao Zhi-dong, et al. Role of carcinoembryonic antigen and cyclooxygenase-2 in the study of molecular incidence for colorectal cancer [J]. *Chin J Gastrointest Surg*, 2011, 10(14): 807-809
- [13] Mao Xiao-yun, Wang Xiao-ge, Lv Xiao-jun, et al. COX-2 expression in gastric cancer and its relationship with angiogenesis using tissue microarray [J]. *World Journal Of Gastroenterology*, 2007, 13(25): 3466-3471
- [14] Sun Hai-bing, Wei Yong-chang, Tu Hong-lei, et al. Expressions of COX-2, PKC- α and miR-101 in gastric cancer and their correlations [J]. *Jouran of Southern Medical University*, 2013, 33(4): 559-562
- [15] He Qiong, Gao Jing, Wang Ting-ting, et al. Correlations between serum level of TS, TP and clinical outcome in Chinese patients with advanced gastric cancer receiving fluorouracil-based chemotherapy[J]. *China Oncology*, 2013, 4(23): 292-297
- [16] Guo Fang-fang, Lu Zhen-xia, Xing Hong-cun. The expression and clinical role of thymidine phosphorylase in colorectal cancer[J]. *Chinese Journal of Laboratory Diagnosis*, 2009, 5(13): 625-627
- [17] Uchida K, Danenberg P V, Danenberg K D, et al. Thymidylate synthase, dihydropyrimidine dehydrogenase, ERCC1, and thymidine phosphorylase gene expression in primary and metastatic gastrointestinal adenocarcinoma tissue in patients treated on a phase I trial of oxaliplatin and capecitabine[J]. *BMC Cancer*, 2008, 8(15): 386
- [18] Van Cutsem E, Oliveira J. Advanced colorectal cancer: ESMO clinical recommendations for diagnosis, treatment and follow up [J]. *Ann Oncol*, 2009, 20(4): 61-63
- [19] Johnston P G, Fisher E R, Rockette H E, et al. The role of thymidylate synthase expression in prognosis and outcome of adjuvant chemotherapy in patients with rectal cancer[J]. *J Clin Oncol*, 1994, 12(6): 2640
- [20] Ma Bo, Li Jun-cheng, Wei Feng. Correlation of COX-2 and VEGF-C expressions with lymph node metastasis in human colon carcinoma[J]. *Modern Practical Medicine*, 2012, 6, 24(6): 617-620