

结肠癌组织中尾型同源盒转录因子2 与环氧合酶-2、血管内皮生长因子的表达

李志锋, 刘进忠, 石荣亚, 赵小利, 霍曼, 刘芳

(河北省保定市第一医院 普外科, 河北 保定, 071000)

摘要:目的 探讨尾型同源盒转录因子2(CDX2)与环氧合酶-2(COX-2)、VEGF在结肠癌组织的表达及意义。方法 采用免疫组化SP法检测CDX2与COX-2、VEGF在62例结肠癌组织、20例正常结肠组织中的表达情况,探讨CDX2、COX-2、VEGF与结肠癌临床病理特征的关系。结果 CDX2在结肠癌、正常结肠组织中阳性表达率分别为54.8%、95.0%, COX-2在结肠癌、正常结肠组织中阳性表达率分别为75.8%、20.0%, VEGF在结肠癌、正常结肠组织中阳性表达率分别为80.6%、25.0%。CDX2在结肠癌组织中表达阳性率显著低于正常结肠组织($P < 0.05$), COX-2、VEGF在结肠癌组织中表达阳性率显著高于正常结肠组织($P < 0.05$)。CDX2、COX-2、VEGF在结肠癌阳性表达与患者肿瘤浸润深度、有无淋巴结转移相关。Spearman相关分析显示, CDX2与COX-2、VEGF在结肠癌组织中表达均呈负相关($P < 0.05$), COX-2和VEGF在结肠癌组织中表达呈显著正相关($P < 0.05$)。结论 CDX2、COX-2、VEGF的表达与结肠癌的发生、发展及预后关系密切。

关键词: 结肠癌; 淋巴结转移; 尾型同源盒转录因子2; 环氧合酶-2; 血管内皮生长因子

中图分类号: R 735.3 文献标志码: A 文章编号: 1672-2353(2017)05-079-04 DOI: 10.7619/jcmp.201705022

Expressions of CDX2, COX-2 and VEGF in colon carcinoma tissues

LI Zhifeng, LIU Jinzhong, SHI Rongya, ZHAO Xiaoli, HUO Man, LIU Fang

(Department of General Surgery, Baoding First Hospital, Baoding, Hebei, 071000)

ABSTRACT: Objective To explore expressions and clinical significance of CDX2, COX-2 and VEGF in colon carcinoma tissues. **Methods** The expressions of CDX2, COX-2 and VEGF in colon carcinoma tissues of 62 cases and normal colon tissues of 20 cases were detected by immunohistochemical SP methods. Relationships between clinical pathological features and CDX2, COX-2 and VEGF were analyzed. **Results** The positive expression rates of CDX2 in colon carcinoma tissues and normal colon tissues were 54.8% and 95.0% respectively, the positive expression rates of COX-2 in colon carcinoma tissues and normal colon tissues were 75.8% and 20.0%, and the positive expression rates of VEGF in colon carcinoma tissues and normal colon tissues were 80.6% and 25.0%. The positive expression rate of CDX2 in colon carcinoma tissues was significantly lower than that in normal colon tissues ($P < 0.05$), the positive expression rates of COX-2 and VEGF in colon carcinoma tissues were significantly higher than those in normal colon tissues ($P < 0.05$). The positive expressions of CDX2, COX-2 and VEGF in colon carcinoma tissues were related with invasive depth and lymph node metastasis ($P < 0.05$). Spearman correlation analysis results showed that expression of CDX2 was negatively correlated with COX-2 and VEGF in colon carcinoma tissues ($P < 0.05$), and COX-2 was positively correlated with VEGF in colon carcinoma tissues ($P < 0.05$). **Conclusion** The expressions of CDX2, COX-2 and VEGF are closely related with the occurrence, development and prognosis of colon carcinoma.

KEY WORDS: colon carcinoma; lymph node metastasis; CDX2; COX-2; vascular endothelial growth factor

收稿日期: 2016-12-04

通信作者: 刘进忠

结肠癌是一种常见的消化系统恶性肿瘤,其全球发病率位居恶性肿瘤第 3 位,仅次于胃癌和食管癌,近年来在中国发病率呈逐年升高趋势^[1]。尾型同源盒转录因子 2(CDX2)是一种特异性的肠道核转录因子,它不仅调控着胚胎细胞的发育、分化,还与肠源性上皮的分化和增殖关系密切,是肠道肿瘤发生机制中发挥重要作用的一个关键因子。环氧合酶-2(COX-2)是前列腺素合成过程中的一个限速酶,COX-2 不仅在炎症反应过程中发挥了重要作用,还与肿瘤的发生、发展密切相关。血管内皮生长因子(VEGF)是一种具有促进血管生成作用的细胞因子,它能促进血管内皮细胞的增殖,特异性诱导相应淋巴管的形成,在肿瘤的发生、浸润、转移过程中发挥重要作用。本文通过免疫组化检测 CDX2、COX-2、VEGF 在结肠癌组织中表达情况,探讨其与结肠癌发生、发展的关系,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取本院 2013 年 10 月—2016 年 3 月手术切除的 62 例结肠癌病例资料,其中男 36 例,女 26 例,年龄 35 ~ 78 岁,平均年龄为 61.5 岁。病理类型:高分化 26 例,中分化 23 例,低分化 13 例。浸润深度: T₁ ~ T₂ 期 25 例, T₃ ~ T₄ 期 37 例,其中有淋巴结转移为 33 例,无淋巴结转移为 29 例。同时选取 20 例正常结肠黏膜组织作为对照。所有标本术前均未做化、放疗等相关治疗。

1.2 方法

标本均用中性福尔马林固定,常规石蜡包埋后

行 4 μm 厚连续切片。石蜡切片经脱蜡、水化,按免疫组化 SP 法染色,显微镜下观察切片染色。CDX2 鼠抗人单克隆抗体、COX-2 兔抗人单克隆抗体、VEGF 兔抗人单克隆抗体、免疫组化试剂盒及 DAB 显色试剂盒均购于福州迈新生物技术公司。

1.3 结果判断

CDX2 蛋白阳性染色定位于细胞核, COX-2、VEGF 阳性定位于细胞质和细胞膜,根据染色强度、阳性细胞数所占比例综合评分,由 2 位高年资病理医师盲法判读。着色强度:无着色为 0,浅黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3;阳性细胞百分率:阳性细胞百分数 ≤ 5% 为 0 分, 6% ~ 25% 为 1 分, 26% ~ 50% 为 2 分, > 50% 为 3 分; 2 项得分相加, 0 ~ 2 分为 (-), ≥ 3 为 (+)。

1.4 统计学方法

应用 SPSS17.0 统计软件进行数据处理,计数资料的比较采用 χ^2 检验,当某一个理论数 1 < T ≤ 5 时,须对 χ^2 进行连续性校正,相关性分析采用 Spearman 检验,以 P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CDX2、COX-2、VEGF 在结肠癌、癌旁结肠组织、正常结肠组织中表达情况

CDX2 阳性示在细胞核可见淡黄色、棕黄色、棕褐色颗粒, MMP-9、VEGF 阳性示在细胞质和胞膜可见淡黄色、棕黄色、棕褐色颗粒。CDX2 在结肠癌组织中表达阳性率显著低于正常结肠组织中(P < 0.05)。COX-2、VEGF 在结肠癌组织中的表达阳性表达率显著高于正常结肠组织中(P < 0.05)。见表 1。

表 1 CDX2、COX-2、VEGF 在结肠癌、癌旁结肠组织、正常结肠组织中表达

类型	例数	CDX2		COX-2		VEGF	
		阳性	阳性率/%	阳性	阳性率/%	阳性	阳性率/%
结肠癌组织	62	34	54.8	47	75.8	50	80.6
正常结肠组织	20	19	95.0*	4	20.0*	5	25.0*

与结肠癌组织比较, *P < 0.05。

2.2 CDX2、COX-2、VEGF 在结肠癌表达与临床病理特征的关系

CDX2、COX-2、VEGF 在结肠癌阳性表达与患者性别、年龄、肿瘤形态、分化程度无相关性(P > 0.05), 而与患者肿瘤浸润深度、有无淋巴结转移显著相关(P < 0.05)。CDX2 表达阳性率在结肠癌淋巴结转移阴性组高于淋巴结转移阳性组, T₁

~ T₂ 期高于 T₃ ~ T₄ 期, COX-2、VEGF 表达阳性率在结肠癌淋巴结转移阳性组高于淋巴结转移阴性组, T₃ ~ T₄ 期高于 T₁ ~ T₂ 期。见表 2。

2.3 CDX2、COX-2、VEGF 在结肠癌组织中表达相互关系

Spearman 相关分析结果表明, CDX2 与 COX-2、VEGF 在结肠癌组织样本中表达均呈负相关

($r = -0.286$ 、 -0.281 , $P = 0.024$ 、 0.027), COX-2 和 VEGF 在结肠癌组织样本中表达呈显著正相关($r = 0.391$, $P = 0.002$)。见表 3。

表 2 CDX2、COX-2、VEGF 在结肠癌表达与临床病理特征的关系

临床病理特征	n	CDX2			COX-2			VEGF		
		阳性	阴性	P	阳性	阴性	P	阳性	阴性	P
性别										
男	36	19	17	0.701	28	8	0.670	30	6	0.528
女	26	15	11		19	7		20	6	
年龄										
≥60 岁	32	19	13	0.459	23	9	0.455	25	7	0.844
<60 岁	30	15	15		24	6		25	5	
肿瘤形态										
隆起型	38	22	16	0.543	28	10	0.852	29	9	0.450
溃疡型	24	12	12		19	5		21	3	
分化程度										
高分化	26	16	10	0.386	18	8	0.548	20	6	0.805
中分化	23	13	10		19	4		19	4	
低分化	13	5	8		10	3		11	2	
浸润深度										
T ₁ + T ₂	25	19	6	0.008	14	11	0.006	16	9	0.015
T ₃ + T ₄	37	15	22		33	4		34	3	
淋巴结转移										
有	33	12	21	0.002	30	3	0.008	31	2	0.012
无	29	22	7		17	12		19	10	

表 3 结肠癌组织中 CDX2 与 COX-2、VEGF 表达的相关性[n(%)]

CDX2	COX-2			VEGF		
	阳性	阴性	P	阳性	阴性	P
阳性	22(35.5)	12(19.4)	<0.05	24(38.7)	10(16.1)	<0.05
阴性	25(40.3)	3(4.8)		26(41.9)	2(3.2)	

3 讨论

尾型同源盒转录因子-2(CDX2)是最早在果蝇中分离出的同源盒基因家族中的成员之一。CDX2 蛋白由 311 个氨基酸组成,其以螺旋-环-螺旋(HLH)的结构识别、结合 DNA 的特异区域,并通过转录因子的方式调节 DNA 的表达。近年来研究^[2]发现,CDX2 能调节肠上皮细胞细胞的增殖、分化,维持肠上皮细胞的表型,对肠上皮细胞的发育起着关键作用,对消化道肿瘤的发生和发展起到重要调节作用。CDX2 在肠上皮细胞中特异表达,通过抑制 β-catenin/TCF 活性调控 Wnt 信号途径的转导,对肠上皮细胞的异常生长、增殖和分化产生影响^[3]。本文以免疫组化 SP 法检测 CDX2 蛋白在结肠癌组织和正常结肠组织中的表达情况,结果表明 CDX2 蛋白在结肠癌组织中表达明显低于正常结肠组织中的表达,结肠癌中

CDX2 蛋白表达与肿瘤浸润深度、淋巴结转移呈负相关。CDX2 蛋白与结肠癌发生发展关系密切,其表达降低或者缺失可能会引起一系列的基因调控异常,导致瘤细胞的增殖及浸润、转移。任海亮等^[4]通过给裸鼠接种结肠癌细胞发现,接种过表达 CDX2 的瘤细胞裸鼠的肿瘤生长相比对照组明显减慢,证实 CDX2 可以抑制裸鼠移植结肠癌细胞的生长。多项研究结果^[5-6]表明,CDX2 对结肠癌的形成、播散具有明显的抑制作用,有望成为结肠癌治疗的新靶点。

环氧合酶(COX)是花生四烯酸转化为前列腺素 H₂ 的限速酶,COX 有两种同工酶:COX-1 和 COX-2。COX-1 属于结构基因产物,主要分布在大多数组织的内质网且通过参与前列腺素的产生来维持组织和细胞的正常生理功能。COX-2 属于诱导基因产物,通过细胞分裂素、细胞因子、激素和生长因子参与炎症反应。COX-2 基因位于人染色体 1q25.2~25.3,长约 8.3 kb。COX-2 基因结构可分为三部分,即转录起始点上游区、含有 10 个外显子和 9 个内含子的蛋白质编码区及非编码区组成^[7]。COX-2 基因的调控作用主要表现在转录水平,当细胞受到细胞因子、生长因子等各种刺激,通过 G 蛋白偶联机制及信号转导通路

作用于 COX-2 基因的调控序列,促进 COX-2 基因转录。COX-2 通过促使前列腺素 E₂、前列腺素 I₂、MMPs 及 VEGF 等水平升高,促进肿瘤细胞增殖,肿瘤新生血管形成,增加肿瘤细胞的侵袭性^[8]。COX-2 还可通过调节蛋白 Bax/bcl-2 通路,抑制肿瘤细胞凋亡。研究^[9-11]发现,COX-2 在胃癌、肝癌、宫颈癌及前列腺癌等多种癌组织中高表达。本研究中 COX-2 在结肠癌组织中表达明显高于正常结肠组织,结肠癌中 COX-2 蛋白表达与肿瘤浸润深度、淋巴结转移呈正相关,COX-2 在结肠癌发生发展过程中发挥重要作用。

血管内皮生长因子(VEGF)是一种血小板衍生生长因子(PDGF)家族成员之一,VEGF 是一种分子量为 32~34 kDa 的多功能糖分泌性蛋白,由动脉平滑肌细胞、巨噬细胞、上皮细胞以及各种肿瘤细胞合成分泌。VEGF 是一种强效的血管形成诱导因子和血管通透性诱导因子,它能诱导内皮细胞进行有丝分裂、增殖、迁移和细胞外基质降解酶的表达,同时增加微血管通透性,促进血管形成^[12]。VEGF 因子还可调控淋巴内皮细胞的生长,促使肿瘤细胞和淋巴内皮细胞之间的互分泌关系,促进淋巴管增生,增强淋巴管通透性;并参与淋巴管内皮细胞分裂、增殖,促进肿瘤细胞的淋巴浸润和淋巴结转移。本研究中 VEGF 在结肠癌组织中高表达,表达水平与肿瘤浸润深度、淋巴结转移呈正相关。VEGF 在结肠癌的血管形成和淋巴转移过程中发挥至关重要的作用,促进结肠癌的发生、发展^[13]。

本研究中经 Spearman 相关分析发现,CDX2 与 COX-2、VEGF 在结肠癌组织中表达均呈负相关($r = -0.286$ 、 -0.281 , $P < 0.05$),COX-2 和 VEGF 在结肠癌组织中表达呈显著正相关($r = 0.391$, $P < 0.05$)。CDX2 可通过失活核因子 κ B(NF- κ B)降低 COX-2 转录。研究^[14]证实,人结肠癌细胞株中 CDX2 可抑制 COX-2 表达,从而抑制肿瘤细胞增殖并促进其凋亡/自噬。而 COX-2 是 VEGF 转录水平通路中重要的上游调控基因,COX-2 蛋白可通过催化其产物与受体结合,使 HER-2/Neu 受体磷酸化增强,并介导 MAPK 信号通路激活 NF- κ B,促使 VEGF 上调。而 COX-2 抑制剂能够明显抑制 VEGF 表达^[15]。

综上所述,CDX2、COX-2、VEGF 与结肠癌的发生、发展密切相关。结肠癌的发生、发展是一个多因素的复杂过程,CDX2 与 COX-2、VEGF 在结

肠癌的发生、浸润及转移过程中发挥了重要作用,可作为结肠癌重要的生物学指标,联合检测对于结肠腺癌诊断、鉴别诊断及预后评估具有重要意义,并为分子靶向治疗提供新的研究方向。

参考文献

- [1] 王宁,孙婷婷,郑荣寿,等. 中国 2009 年结直肠癌发病和死亡资料分析[J]. 中国肿瘤, 2013, 22(7): 515-520.
- [2] Michael P, Hyunjin S H, Adrianna K, et al. Intestinal Master Transcription Factor CDX2 Controls Chromatin Access for Partner Transcription Factor Binding [J]. Mol Cell Biol, 2013, 33(2): 281-292.
- [3] Rong-Jun Guo, Shinsuke F, Hannah H. Lee, et al. The intestine-specific transcription factor Cdx2 inhibits β -catenin/TCF transcriptional activity by disrupting the β -catenin-TCF protein complex[J]. Carcinogenesis, 2010, 31(2): 159-166.
- [4] 任海亮,孙学军,郑见宝,等. 过表达 CDX2 抑制裸鼠结肠癌移植瘤的生长[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2011, 18(4): 434-436.
- [5] 郑见宝,孙学军,王炜,等. HIF-1 α 与 CDX2 在结直肠癌组织中的表达及意义[J]. 中国普外基础与临床杂志, 2010, 17(12): 1265-1268.
- [6] 孙景武,王艳艳,孔磊. CDX2 在结肠癌中的表达特点与转移的关系研究[J]. 临床和实验医学杂志, 2014, 13(7): 545-547.
- [7] 鲁林,贾彦彬. COX-2 与消化系统恶性肿瘤相关性研究进展[J]. 包头医学院学报, 2015, 31(4): 136-137.
- [8] Shalaby M A, Nounou H A, Ms A, et al. Associations between single nucleotide polymorphisms of COX-2 and MMP-2 Genes and colorectal cancer susceptibility in the Saudi population [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2014, 15(12): 4989-4994.
- [9] 张莉华,辛华栋,王春丽,等. COX-2 对宫颈鳞癌预后影响的临床研究[J]. 中国热带医学, 2015, 15(9): 1119-1123.
- [10] 孙晓艳,王亚帝,何东宁,等. BAG-1S 和 COX-2 基因在非小细胞肺癌中的表达及其对预后的意义[J]. 中国全科医学, 2014, 17(32): 3840-3845.
- [11] 谷倬宇,李思源,李军,等. MMP-14 和 COX-2 蛋白在胃癌侵袭转移过程中的表达和关系[J]. 世界华人消化杂志, 2014, 22(16): 2300-2305.
- [12] Hira LGoel, Arthur M. VEGF targets the tumour cell [J]. Nat Rev Cancer, 2013, 13(12): 871-882.
- [13] 张海峰,王助新,张杰,等. 结肠癌患者血清及癌组织中 VEGF 的表达水平及临床意义[J]. 中国微生态学杂志, 2014, 26(10): 1151-1154.
- [14] 陈美霓,郭浩,郭巍,等. COX-2 蛋白和 VEGF-C 蛋白在胃癌和非胃癌黏膜病变组织中的表达及临床意义[J]. 海南医学, 2015, 26(18): 2671-2674.
- [15] 韩冰. 环氧合酶-2 抑制剂降低结肠癌细胞血管内皮生长因子表达的影响及机制[J]. 中国老年学杂志, 2015, 35(20): 5721-5723.