

DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.03.023

Bcl-2 和 COX-2 在宫颈鳞癌中的表达及其临床意义

佟丹 朱莉[△] 刘磊 林楠 肖巍

(哈尔滨医科大学附属第四医院 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要 目的:观察 Bcl-2 和 COX-2 在正常宫颈和宫颈鳞癌中的表达情况,并探讨其与宫颈鳞癌发生发展的关系。方法:应用免疫组织化学 S-P 法检测 40 例宫颈鳞癌组织、10 例正常宫颈组织中 Bcl-2 和 COX-2 的表达情况。结果:(1)Bcl-2 在正常宫颈组织和宫颈鳞癌组织中的阳性表达率分别为 30.0%、72.5%($P<0.05$),而 COX-2 在正常宫颈组织和宫颈鳞癌组织中的阳性表达率分别为 0.0%、60.0%($P<0.05$)。 (2)在宫颈鳞癌中,Bcl-2 的表达与宫颈鳞癌的病理分级、临床分期以及淋巴结转移无关($P>0.05$),而 COX-2 的表达与宫颈鳞癌的病理分级及淋巴转移有关($P<0.05$),与临床分期无关($P>0.05$)。 (3)Spearman 等级相关性分析显示宫颈鳞癌组织中 Bcl-2 和 COX-2 的表达呈正相关($r=0.517$, $P<0.01$)。结论:Bcl-2 和 COX-2 在宫颈鳞癌中的表达升高并呈显著正相关,且 COX-2 的表达与宫颈鳞癌的淋巴转移有关,二者在宫颈癌的发生发展中可能起重要作用,有可能作为评估宫颈鳞癌淋巴结转移的参考指标。

关键词: Bcl-2; COX-2; 宫颈鳞癌; 表达; 临床意义

中图分类号: R737.33 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2014)03-486-04

The Expression and Clinical Significance of Bcl-2 and COX-2 in Cervical Squamous Cell Cancer

TONG Dan, ZHU Li[△], LIU Lei, LIN Nan, XIAO Wei

(The Fourth Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China)

ABSTRACT Objective: To detect the expression of Bcl-2 and COX-2 in cervical squamous cell cancer and explore the clinical significance of Bcl-2 and COX-2 in the development of cervical squamous cell cancer. **Methods:** The expression of Bcl-2 and COX-2 in 40 cases of cervical squamous cell cancer and 10 cases of normal cervical tissue were detected by immunohistochemical SP method. **Results:** (1)The positive expression rates of Bcl-2 in normal cervical tissue and cervical squamous cell cancer were 30.0 % and 72.5%, respectively ($P<0.05$). The positive expression rates of COX-2 in normal cervical tissue and cervical squamous cell cancer were 0.0% and 60.0%, respectively ($P<0.05$). (2)The expression of Bcl-2 in cervical squamous cell cancer was not related with the histological grade, the clinical stage and the lymph node metastasis ($P>0.05$), while the expression of COX-2 in cervical squamous cell cancer was related with the histological grade and the lymph node metastasis ($P<0.05$), but not related to the clinical stage ($P>0.05$). (3)The expression of Bcl-2 was positively correlated with the expression of COX-2 ($r=0.517$, $P<0.05$). **Conclusion:** The upregulation of Bcl-2 and COX-2 expression which were positively related were involved in the development of cervical squamous cell cancer, they may be used as indicators of the prognosis of cervical squamous cell cancer.

Key words: Bcl-2; COX-2; Cervical squamous cell cancer; Expression; Clinical significance

Chinese Library Classification(CLC): R737.33 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)03-486-04

宫颈癌(cervical cancer)是影响妇女健康最常见的恶性肿瘤之一,在女性生殖系统的恶性肿瘤中占 50 %以上,死亡率居妇女恶性肿瘤的首位,其中以鳞状上皮细胞癌最为多见,但其确切的发病机制至今尚未完全明了^[1]。近代肿瘤分子生物学研究表明,宫颈癌在发生发展过程中,使细胞增殖和凋亡失调的原因可能是由于致癌因子通过不同机制使原癌基因激活或抑癌基因失活所致。本研究采用免疫组化链霉素抗生物素蛋白-过氧化氢酶连接(streptavidin-peroxidase, SP)法检测 Bcl-2、COX-2 在宫颈鳞癌及正常宫颈组织中的表达,并探讨二者在宫颈鳞癌发生、发展中的作用。

1 材料与方法

1.1 研究对象

选取 2007 年~2011 年在哈尔滨市第一医院妇科接受手术治疗的子宫颈癌组织病理石蜡标本 40 例;根据 2000 年国际妇产科联盟(FIGO, Intonation Federation of Gynecology and obstetrics)制订的临床分期标准,Ⅰ期 28 例,Ⅱ期 12 例;按病理分级:高分化(G_1)13 例,中/低分化(G_2 - G_3)27 例;无淋巴结转移 23 例,有淋巴结转移 17 例。同时,选取因子宫肌瘤而行子宫全切术的正常宫颈组织石蜡标本 10 例设为对照组。患者年龄为 28-75 岁,平均年龄为 42 岁。两组平均年龄差异无显著性。所有患者术前均未作任何抗肿瘤治疗。所有标本切片均经过有经验的病理科医师阅片确定病理诊断。

1.2 主要试剂

作者简介:佟丹(1986-),女,硕士研究生

[△]通讯作者:朱莉, E-mail: zhuli_01@sina.com

(收稿日期:2013-04-12 接受日期:2013-05-10)

兔抗人 Bcl-2 单克隆抗体、兔抗人 COX-2 单克隆抗体, S-P 试剂盒, 二氨基联苯胺(Diaminobenzidine, DAB)显色试剂盒, PBS(phosphate buffered saline)缓冲液, 柠檬酸盐缓冲液均购自武汉博士德生物工程有限公司。

1.3 方法

将石蜡包埋标本连续切片, 厚 4 μm , 作免疫组化染色(SP 法)。免疫组化染色严格按照说明书操作步骤进行 DAB 显色, 苏木精复染, 脱水, 透明, 封片, 镜下观察, 用已知阳性基因蛋白表达肿瘤标本作阳性对照, 以 PBS 替代一抗作阴性对照。

1.4 结果判断

Bcl-2 免疫组化染色以细胞浆被染呈棕黄色或棕褐色为阳性细胞; COX-2 以细胞膜被染呈棕黄色或棕褐色为阳性细胞。计数 200 个肿瘤细胞中的阳性细胞数, 阳性细胞数占总细胞数的 10% 以上为阳性。

1.5 统计学处理

采用正版 SPSS 17.0 统计软件对所得数据进行处理, 采用 χ^2 检验、Spearman 等级相关法对数据进行统计分析, 以 $\alpha=0.05$ 为显著性检验水准, $P<0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 Bcl-2 及 COX-2 在不同宫颈组织中的表达情况

Bcl-2 及 COX-2 的阳性染色主要定位于细胞浆和细胞膜, 呈棕黄色或棕褐色颗粒。本实验研究显示在正常宫颈组织中 Bcl-2 有表达而 COX-2 无表达(见图 1), 而宫颈鳞癌中 Bcl-2 及 COX-2 均有不同程度的表达(见图 2)。Bcl-2 及 COX-2 在宫颈鳞癌中的阳性表达率分别为 72.5% 和 60%, 均显著高于正常宫颈组织(分别为 30% 和 0), 差异均有统计学意义($P<0.05$), 见表 1。

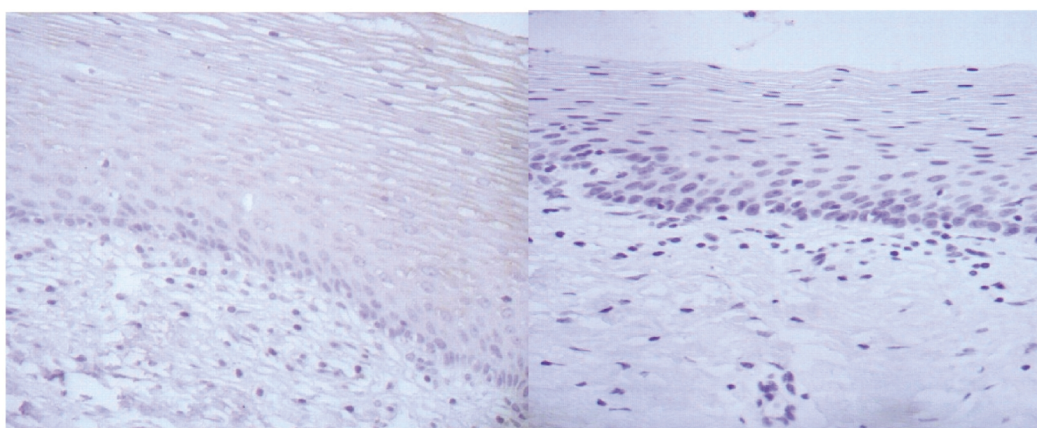


图 1 Bcl-2(左)和 COX-2(右)在正常宫颈组织中的表达(SP $\times$ 200)

Fig.1 Expression of Bcl-2(left) and COX-2(right) in the normal cervical epithelium(SP $\times$ 200)

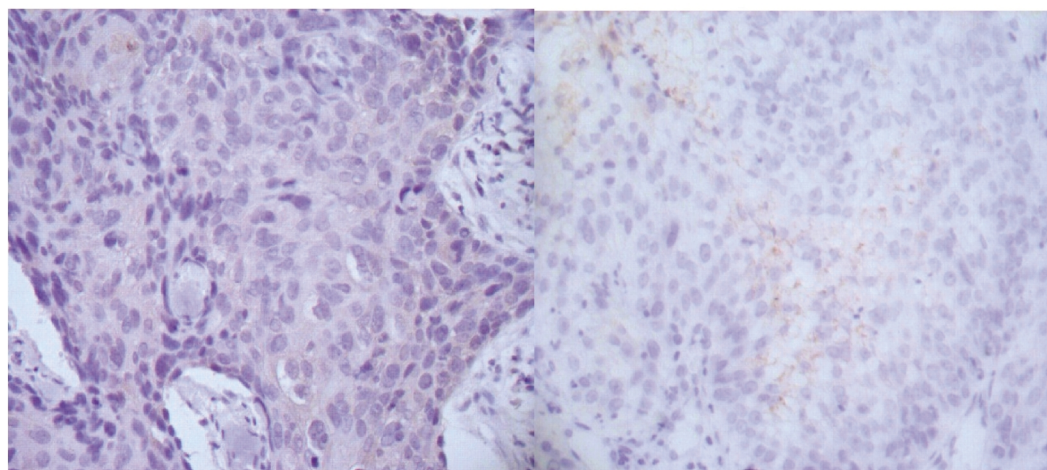


图 2 Bcl-2(左)和 COX-2(右)在宫颈鳞癌中的表达(SP $\times$ 200)

Fig.2 Expression of Bcl-2(left) and COX-2(right) in the cervical squamous cell cancer(SP $\times$ 200)

表 1 Bcl-2 和 COX-2 在宫颈鳞癌及正常宫颈中的表达

Table 1 The expression of Bcl-2 and COX-2 in the cervical squamous cell cancer and normal cervical epithelium

Type	N	Bcl-2			COX-2		
		+	-	p	+	-	p
Cervical squamous cell cancer	40	29	11	0.012	24	16	0.001
Normal cervical epithelium	10	3	7		0	10	

2.2 Bcl-2 和 COX-2 的表达水平与宫颈鳞癌临床病理指标的关系

Bcl-2 在宫颈鳞癌病理分级中高分化和中 - 低的阳性表达率分别为 69.2 % (9/13)、77.8 % (21/27), 差异无统计学意义 ($P>0.05$); COX-2 在宫颈鳞癌病理分级中高分化和中 - 低分化的阳性表达率分别为 38.5 % (5/13)、81.5 % (22/27), 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。Bcl-2 在 I、II 期宫颈鳞癌中阳性表达率随临床分期增加而升高, 分别为 53.6 % (15/28)、66.7 % (8/12), 差

异无统计学意义 ($P>0.05$); COX-2 在 I、II 期宫颈鳞癌中阳性表达率随临床分期增加而升高, 分别为 60.7 % (17/28)、75.0 % (9/12), 但差异无统计学意义 ($P>0.05$)。Bcl-2 在淋巴结转移组及无淋巴结转移组中的阳性表达率分别为 52.9 % (9/17)、60.9 % (14/23), 差异无统计学意义 ($P>0.05$); 而 COX-2 在淋巴结转移组及无淋巴结转移组中的阳性表达率分别为 88.2 % (15/17)、56.5 % (13/23), 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。见表 2。

表 2 Bcl-2 和 COX-2 的表达与宫颈鳞癌临床病理特征的关系

Tabel 2 The relationship between the expression of Bcl-2 or COX-2 and clinicopathological characteristics of cervical squamous cell cancer

Group	n	BCL-2		P			P
		+	-		+	-	
Pathological grades							
High grade	13	9	4	0.559	5	8	0.007
Low grade	27	21	6		22	5	
Clinicalst ages							
Stage I	28	15	13	0.589	17	9	0.754
Stage II	12	8	4		11	3	
Lymphoma metastasis							
With	17	9	8	0.616	15	2	0.030
Without	23	14	9		13	10	

2.3 宫颈鳞癌组织中 Bcl-2 与 COX-2 表达的相关性

在 40 例宫颈鳞癌中, Bcl-2 阳性表达占 19 例, COX-2 阳性表达占 23 例, Bcl-2 与 COX-2 表达共为阳性者 14 例, 共为阴性者 12 例, 表达一致者为 28 例, Bcl-2 阴性 COX-2 阳性 9 例, Bcl-2 阳性 COX-2 阴性 5 例。经相关性分析表明, 二者的表达呈显著正相关, 差异有统计学意义 ($P<0.05$, $r=0.517$)。

表 3 宫颈鳞癌组织中 Bcl-2 与 COX-2 表达的关系

Tabel 3 The relationship between the expressions of Bcl-2 and COX-2 in cervical squamous cell cancer

Cox-2	Bcl-2		Total
	+	-	
+	14	9	23
-	5	12	17
Total	19	21	40

3 讨论

宫颈癌是女性生殖系统中最常见的妇科恶性肿瘤之一, 从形态学发展的角度讲, 宫颈癌应首先经过鳞状上皮化生、不典型增生、部分转变成原位癌、最后演变成浸润癌。大量研究证实宫颈癌的发生与人乳头瘤病毒 (HPV) 感染有关, 尤其是 HPV16、18E2, 而近年研究表明, 癌基因激活、抑癌基因突变与宫颈癌的发生密切相关^[2]。

Bcl-2 基因是染色体 t(14;18) 易位的结果, 最初在人类滤泡性 B 细胞淋巴瘤的研究中被发现。研究证实, Bcl-2 是一种细胞凋亡抑制基因, 其作用是抑制细胞凋亡的发生^[3,4]。转基因试验表明, Bcl-2 基因的致癌性主要是通过抑制细胞的凋亡而导致

肿瘤细胞的堆积^[5]。目前 Bcl-2 在人体多种肿瘤组织中已经有不少研究, 其在多种肿瘤细胞中的表达水平显著升高^[6]。王海鹏等^[7]应用免疫组织化学方法检测了 68 例胃癌组织中 Bcl-2 蛋白的表达, 研究结果显示其在胃癌组织中呈高表达。张光谋等^[8]应用免疫组织化学方法检测 47 例乳腺癌中 Bcl-2 蛋白的表达, 结果显示其在乳腺癌组织中呈高表达。且研究证实 Bcl-2 在多种肿瘤组织中的过度表达导致细胞转化和肿瘤形成的前提因素是基因异常^[9]。本研究结果显示: Bcl-2 在宫颈鳞癌中的阳性表达率显著高于正常宫颈组织, 但其表达与宫颈鳞癌的病理分级、临床分期及淋巴结转移均无关, 由此推测 Bcl-2 的高表达主要与在宫颈鳞癌的发生有关。

环氧合酶 (cyclooxygenase, COX) 是一种完整的膜结合蛋白, 具有双重酶的功能, 是分解花生四烯酸产生各种内源性前列腺素的重要限速酶, 能够维持机体的病理生理过程, 目前研究发现在细胞中至少有 2 种编码 COX 的基因, 即 COX-1 和 COX-2。COX-1 在人体多种组织和细胞中均有表达, 能产生具有生理作用的前列腺素 (PGs), 参与维持机体正常的生理功能; COX-2 是一种诱导性即刻反应基因, 正常生理状态下在大多数组织中不表达, 只有在受到炎症介质、促癌剂、生长因子、细胞因子等多种因素刺激时, 其表达可以在 24 小时内增加数十倍, 进而参与炎症过程和肿瘤的发生^[10]。研究表明, COX-2 参与多种肿瘤的发生和发展过程是通过促进细胞增殖、抑制凋亡、促进肿瘤新生血管形成等机制完成的^[11,12]。Liu w k^[13]等通过 SP 法检测 82 例食管鳞状细胞癌和 30 例正常食管粘膜发现 COX-2 在食管鳞癌中呈高表达。COX-2 在多种肿瘤组织中的高表达^[14,15], 被认为与肿瘤生成有关^[16,17], 但国内关于 COX-2 在宫颈鳞癌组织中表达的报道较少。本研究采用免疫组化方法检测

COX-2 在正常宫颈组织、宫颈鳞癌中的阳性表达,发现其在宫颈鳞癌中的阳性表达率显著高于正常宫颈组织,且 COX-2 的阳性表达与宫颈鳞癌的分化程度和淋巴转移显著相关,可见,COX-2 不仅能抑制细胞凋亡,促进细胞增殖以及促进肿瘤血管形成,而且还能促进肿瘤浸润^[18],因此推测 COX-2 的表达上调参与了宫颈鳞癌的发生和发展过程,并有可能作为辅助判断宫颈鳞癌淋巴结转移的一个指标。

研究表明:COX-2 诱导 Bcl-2 的表达升高,主要是由于 COX-2 阻滞细胞凋亡的中下游信号通路中有 Bcl-2 介导通路的参与^[19,20],但并不是 BCL-2 表达升高的唯一上游通路。本实验研究中显示 COX-2 与 Bcl-2 在宫颈鳞癌组织中的表达呈显著正相关,提示在宫颈鳞癌组织中,COX-2 的表达增高可能诱导 Bcl-2 的过表达,二者协同作用共同促进宫颈鳞癌的增殖并抑制凋亡,从而促进宫颈鳞癌的发生发展,但其途径还有待进一步深入研究。

参考文献(References)

- [1] 周正平,刘世梅,肖庆邦. c-erbB-2、bcl-2 蛋白在宫颈鳞癌细胞中的表达及其意义[J].遵义医学院学报,2004,27(1): 19-21
Zhou Zheng-ping, Liu Shi-mei, Xiao Qing-bang. The expression and clinical significances of c-erbB-2, bcl-2 proteins in squamous cell carcinoma of the uterine cervix[J]. Acta Academiae Medicinae Zunyi, 2004, 27(1): 19-21 (In Chinese)
- [2] Reesink-Peters N, Hougardy BM, van den Heuvel FA, et al. Deathreceptors and ligands in cervical carcinogenesis: an immunohistochemical study[J]. Gynecol Oncology, 2005, 96(3): 705-713
- [3] 赵丽萍,陆晓媛. Annexin A2、Bcl-2 在宫颈癌中的表达及意义[J].徐州医学院学报,2010,30(8): 507-510
Zhao Li-ping, Lu Xiao-yuan. Expression of annexin A2 and Bcl-2 in cervical cancer and its significance [J]. Acta Academiae Medicinae Xuzhou, 2010, 30(8): 507-510(In Chinese)
- [4] 王晓琴,戴穹,杨志惠. bcl-2、Ki-67 和 bax 蛋白在宫颈上皮内瘤变和宫颈癌中的表达及临床意义[J].中国医疗前沿,2008,3(2): 27-28
Wang Xiao-qin, Dai Qiong, Yang Zhi-hui. Expression and Clinical Significance of bcl-2, Ki-67 and bax in Cervical Intraepithelial Neoplasia and Cervical Carcinoma [J]. Guide of China Medicine, 2008, 3(2): 27-28(In Chinese)
- [5] 李巧稚,拉莱·苏祖克,林晨,等. 凋亡相关基因 Bcl-2、Bag-1 在宫颈上皮病变中的表达及意义 [J]. 新疆医科大学学报,2007,30(6): 589-591
Li Qiao-zhi, Lalai·Suzuke, Lin Chen, et al. Apoptosis-regulating gene Bcl-2 and Bag-1 expression in cervical carcinogenesis [J]. Journal of Xinjiang Medical University, 2007, 30(6): 589-591 (In Chinese)
- [6] 董令仪,黄薇. 细胞凋亡基因 bcl-2 在宫颈癌中的研究进展 [J]. 中国医药导报,2008,5(7): 21-22
Dong Ling-yi, Huang Wei. Progress in Apoptotic gene bcl-2 in Cervical Carcinoma[J]. China Medical Herald, 2008, 5(7): 21-22 (In Chinese)
- [7] 王海鹏,田小林,冉福林等. HP 相关性胃癌组织中 COX-2 和 Bcl-2 的表达及其意义[J]. 陕西医学杂志,2009,38(7): 813-816
Wang Hai-peng, Tian Xiao-lin, Ran Fu-lin, et al. Expressions and significances of COX-2 and Bcl-2 in gastric carcinoma infected with helicobacter pylori[J]. Shaanxi Medical Journal, 2009, 38(7): 813-816(In Chinese)
- [8] 张光谋,吴俊琢,徐振平,等. 抗细胞凋亡基因 bcl-2 在乳腺癌中的表达[J]. 新乡医学院学报,2001,18(3): 160-161
Zhang Guang-mou, Wu Jun-zhuo, Xu Zhen-ping, et al. Expression of bcl-2 gene suppressing apoptosis in human breast carcinoma [J]. Journal of Xinxiang Medical College, 2001, 18(3): 160-161 (In Chinese)
- [9] Manusirivithaya S, Siriaunkgul S, Khunamornpong S, et al. Association between Bcl-2 expression and tumor recurrence in cervical cancer: a matched case-control study [J]. Gynecol Oncol, 2006, 102(2): 263-269
- [10] Kern MA, Schuberth D, Sahid, et al. Proapoptotic and anti-proliferative potential of selective cyclooxygenase-2 inhibitors in human liver tumor cells[J]. Hepatology, 2002, 36(4 Pt 1): 885-894
- [11] 罗胜田,邱锦,于飞. COX-2 与 Ki-67 在宫颈癌中的表达及其意义 [J]. 黑龙江医药科学,2008,31(1): 4-5
Luo Sheng-tian, Qiu Jin, Yu Fei. The expression and significance of COX-2 and Ki-67 in human cervical cancer [J]. Heilongjiang Medicine and Pharmacy, 2008, 31(1): 4-5(In Chinese)
- [12] Lee E J, Michoi E, Rakim S, et al. Cyclooxygenase-2 promotes cell proliferation, migration and invasion in U2OS human osteosarcoma cells[J]. Exp Mol Med, 2007, 39(4): 469-476
- [13] Liu WK, Fu Q, Li Ym, et al. The relationship between cyclooxygenase-2, CD44v6, and nm23H1 in esophageal squamous cell carcinoma [J]. Onkologie, 2009, 32(10): 574-578
- [14] 黄河胜,马传庚,陈志武. 黄酮类化合物药理作用研究进展[J]. 中国中药杂志,2000,25(10): 589-592
Huang He-sheng, Ma Chuan-geng, Chen Zhi-wu. The progress in pharmacological research of flavones [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2000, 25(10): 589-592(In Chinese)
- [15] 郭经毕,徐志丹,刘志虹,等. 结直肠癌 COX-2、MMP-7 和 MVD 的表达及预后[J]. 江西医药,2009,44: 548
Guo Jing-hua, Xu Zhi-dan, Liu Zhi-hong, et al. Expressions of COX-2, MMP-7, MVD in colorectal carcinoma and their correlations with prognosis[J]. Jiangxi Medical Journal, 2009, 44: 548
- [16] 冯天达,刘云会,刘硕. 星形细胞肿瘤组织中 Survivin 与 COX-2 基因表达及其相关性研究[J]. 广东医学,2007,28(2): 225-228
Feng Tian-da, Liu Yun-hui, Liu Shuo. Expression of Survivin and COX-2 Gene and their relationship in astrocytic neoplasms [J]. Guangdong Medical Journal, 2007, 28(2): 225-228(In Chinese)
- [17] 叶书成,王军业,袁国珍,等. 胃癌中 COX-2 与 P-gp 表达及其预后的研究[J]. 中国全科医学,2008,11(4): 291-294
Ye Shu-cheng, Wang Jun-ye, Yuan Guo-zhen, et al. Expression of COX-2 and P-gp and Its Prognosis in Gastric Carcinoma [J]. Chinese General Practice, 2008, 11(4): 291-294(In Chinese)
- [18] Lee K S, Lee H J, Ahn K S, et al. Cyclooxygenase-2/prostaglandin E2 pathway mediates icaritin II induced apoptosis in human PC-3 prostate cancer cells[J]. Cancer Lett, 2009, 280: 93-100
- [19] 赵冬梅,佟丽波,卢北燕,等. Bcl-2 和 COX-2 在子宫内膜癌中的表达[J]. 黑龙江医药科学,2009,32(5): 24-25
Zhao Dong-mei, Tong Li-bo, Lu Bei-yan, et al. Expressions of COX-2 and Bcl-2 in endometrial carcinoma tissue[J]. Heilongjiang Medicine and Pharmacy, 2009, 32(5): 24-25 (In Chinese)
- [20] 梁楠楠,韩萍,侯灵彤. 环氧合酶-2 与宫颈癌相关性的研究进展[J]. 现代预防医学,2009,36(13): 2586-2588
Liang Nan-nan, Han Ping, Hou Ling-tong. Progress in the Correlation of COX-2 and Cervical Cancer [J]. Modern Preventive Medicine, 2009, 36(13): 2586-2588(In Chinese)