

· 论 著 ·

胃癌组织 cagA 阳性幽门螺杆菌感染与环氧化酶-2 的关系

戚红霞¹, 李晓虹², 袁 亚³

(1. 上海市市北医院消化内科 200432; 2. 上海市普陀区人民医院消化内科 200060; 3. 上海市普陀区人民医院病理室 200060)

摘要:目的 观察胃癌组织中环氧化酶-2(COX-2)的表达情况,探讨 cagA 阳性幽门螺杆菌(Hp)感染与 COX-2 的关系。方法 应用聚合酶链反应(PCR)检测 42 例胃癌患者胃癌组织、癌旁增生组织及癌旁正常胃黏膜组织中 Hp cagA 的表达情况。结果 胃癌组织 COX-2 蛋白阳性率明显高于癌旁增生组织及正常胃黏膜组织,差异有统计学意义($P < 0.01$)。经 PCR 基因扩增 42 例胃癌标本中 Hp cagA 阳性 25 例, Hp cagA 阴性 17 例。Hp cagA 阳性组 COX-2 蛋白阳性表达率为 88.0%(22/25), Hp cagA 阴性组 COX-2 蛋白阳性表达率为 35.3%(6/17), 二者比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。结论 胃癌组织中存在 COX-2 的异常表达, cagA 阳性 Hp 感染可能通过调节 COX-2 的表达水平促进胃癌的发生、发展。

关键词:胃肿瘤; 螺杆菌属; 环氧化酶-2; cagA

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.26.003

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2013)26-3087-02

Analysis of cagA⁺ Helicobacter pylori infection and expression level of COX-2 in gastric tumor tissueQi Hongxia¹, Li Xiaohong², Yuan Ya³

(1. Department of Gastroenterology, Shibei Hospital, Shanghai 200432, China; 2. Department of Gastroenterology, Putuo People's Hospital, Shanghai, 200060, China; 3. Department of Pathology, Putuo People's Hospital, Shanghai, 200060, China)

Abstract: Objective To observe the cyclooxygenase-2(COX-2) expression of gastric tumor tissue, and to study the relationship between cagA⁺ Helicobacter pylori(Hp cagA⁺) infection and COX-2. **Methods** 42 specimens of gastric cancer tissue (including gastric carcinoma, paracancerous hyperplastic tissue and paracancerous normal gastric mucosa) in our hospitals from January 2010 to August 2011 were collected and detected the Hp cagA expression by PCR. **Results** The COX-2 protein positive rate in the gastric cancer tissue was significantly higher than that in the paracancerous hyperplastic tissue and normal gastric mucosa($P < 0.01$). Among 42 cases of gastric cancer specimens, Hp cagA⁺ was in 25 cases, Hp cagA⁻ was in 17 cases. The COX-2 protein positive rate was 88.0%(22/25) in the Hp cagA⁺ group and 35.3%(6/17) in the Hp cagA⁻ group. The COX-2 protein positive rate in the Hp cagA⁺ gastric tissue was significantly higher than that in the Hp cagA⁻ gastric tissue($P < 0.01$). **Conclusion** Abnormal expression of COX-2 exists in gastric cancer tissue, cagA⁺ Helicobacter pylori infection may promote the occurrence and development of gastric cancer by regulating the expression level of COX-2.

Key words: stomach neoplasms; helicobacter; cyclooxygenase-2; cagA

目前大量研究表明,幽门螺杆菌(Hp)感染是慢性胃炎、消化性溃疡发病的重要病因,也是胃癌发生的重要因素之一。有研究表明 Hp 感染人群胃癌发生率增加 4~9 倍,且有 60% 的胃癌患者被检出有 Hp 感染^[1]。细胞毒素相关基因 A(cagA)阳性的 Hp 具有更强的毒力和危险性,但 cagA 阳性菌株通过何种机制促进胃癌发生仍不清楚^[2]。环氧化酶-2(COX-2)是花生四烯酸代谢的限速酶,在正常组织细胞内无表达,在胃癌、食管癌、结肠癌中存在 COX-2 的过度表达,并认为其与消化道肿瘤发生有密切关系^[3]。本研究对胃癌组织 cagA 及 COX-2 表达水平进行了检测分析,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2010 年 1 月至 2011 年 8 月上海普陀区人民医院收治的胃癌患者组织标本 42 例(包括胃癌组织、癌旁增生组织及癌旁正常胃黏膜)。所有标本均经 10% 甲醛固定,石蜡包埋,5 μm 厚连续切片,经 2 名高年资病理医师诊断为胃腺癌。42 例标本中来源于男性患者 26 例,女性患者 16 例,年龄 43~76 岁,平均(58.3±5.6)岁。所有患者术前未长期服用糖皮质激素及非甾体抗炎药(NSAIDs)治疗,未进行放、化疗。

1.2 方法

1.2.1 免疫组化法 应用 SP 免疫组化法,主要试剂为 SP 试

剂盒,COX-2 蛋白单抗,乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)修复液,DAB 显色液(福建迈新生物技术有限公司生产)。所有切片经脱蜡、水化、流水冲洗、抗原修复、山羊血清封闭抗体,并滴加一抗、二抗及免疫组化工作液,DAB 显色,苏木精复染、封片。在高倍镜下观察组织,COX-2 阳性为细胞质内出现棕黄色颗粒,根据显色程度判断阳性程度。

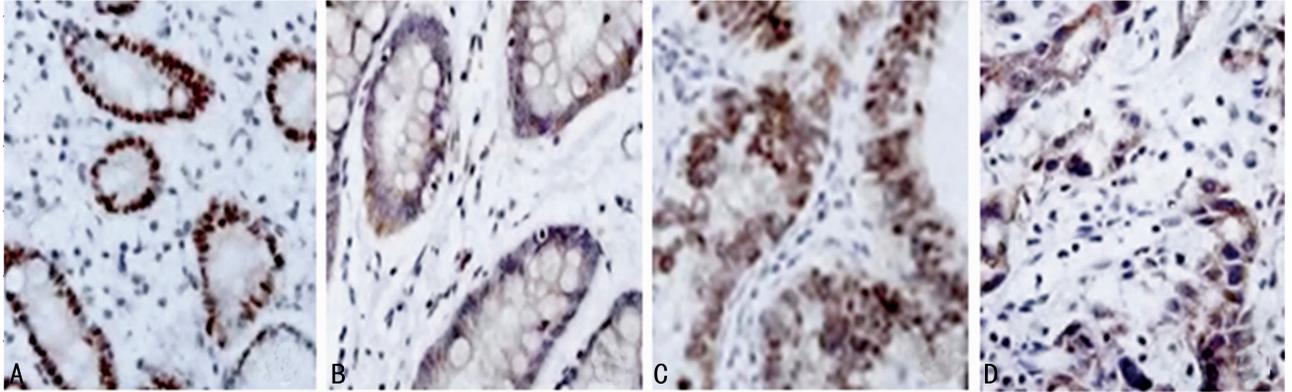
1.2.2 聚合酶链反应(PCR) Hp 基因引物由中国军事医学科学院合成,引物 1:5'-ATA ATG CTA AAT TAG ACA ACT TGA GCG-3';引物 2:5'-TTA GAA TAA TCA ACA AAC ATC ACG CCA T-3'。所有标本经脱水、梯度水化,放入磷酸盐缓冲液(PBS)中,加入 0.3 mmol/L 盐酸(HCl)酸化,1 mg/L 蛋白酶消化,RNA 酶消化,40 g/L 多聚甲醛固定。PCR 反应体系:DNA 模板 5 μL,PCR 缓冲液 2 μL,dNTP 2 μL,MgCl₂ 2 μL,引物 1(upward),引物 2(downward)。反应条件:94 ℃变性 5 min,94 ℃ 1 min,50 ℃ 1 min,72 ℃ 1 min 顺序循环 35 次,72 ℃延伸 10 min,产物 4 ℃储存。产物经电泳后在凝胶自动成像仪下成像判定结果。

1.3 统计学处理 所有资料应用 SPSS 17.0 软件进行统计分析,组间比较采用方差分析,各组间率的比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 胃癌组织、癌旁增生组织及癌旁正常胃黏膜组织 COX-2 蛋白表达情况 胃癌组织 COX-2 阳性率为 66.7% (28/42), 癌旁增生组织 COX-2 阳性率为 28.6% (12/42), 癌旁正常胃黏膜组织 COX-2 阳性率为 4.8% (2/42), 胃癌组织 COX-2 蛋白阳性率明显高于癌旁增生组织及正常胃黏膜组织, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。

2.2 Hp cagA 阳性胃癌组织与 Hp cagA 阴性胃癌组织 COX-2 蛋白表达情况 经 PCR 基因扩增 42 例胃癌标本中 Hp cagA 阳性 25 例, Hp cagA 阴性 17 例。Hp cagA 阳性组 COX-2 蛋白阳性表达率为 88.0% (22/25), Hp cagA 阴性组 COX-2 蛋白阳性表达率为 35.3% (6/17)。Hp cagA 阳性胃癌组织 COX-2 蛋白阳性表达率明显高于 Hp cagA 阴性胃癌组织, 二者比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 见图 1。



A: COX-2 蛋白在胃癌组织中的表达; B: COX-2 蛋白在胃肠上皮化生组织中的表达; C: COX-2 蛋白在高分化癌中的表达; D: COX-2 蛋白在低分化癌中的表达。

图 1 COX-2 在胃肠组织中的表达 (SP 法)

3 讨 论

Hp 是 1983 年由两位澳大利亚学者 Warren 和 Marshall 在胃黏膜组织中发现的一种微需氧型、革兰阴性螺旋杆菌^[4]。Hp 感染是引起消化道疾病的重要病因, 且与胃癌发生存在显著的相关性。有报道显示, Hp 感染人群胃癌发生率增加 4~9 倍, 且有 60% 的胃癌患者被检出有 Hp 感染。近年来随着研究的进展, 人们发现 cagA 阳性菌株较 cagA 阴性菌株具有更强的毒力, 与胃癌及癌前病变有密切的关系。Parsonnet 等^[5]通过研究发现, cagA 阳性的 Hp 菌株感染者发展成胃癌的概率较 cagA 阴性的 Hp 菌株感染者高 2.3~5.8 倍。Blaser 等^[6]研究发现, cag 阳性的 Hp 菌株感染能明显加重胃黏膜损伤, 使其失去正常上皮结构, 增加胃癌发病危险。但 cagA 阳性 Hp 究竟通过何种途径促进胃癌的发生, 目前仍不十分清楚。

COX-2 是近年来新发现的一种与 COX-1 具有相似作用的同工酶, 是介导花生四烯酸代谢的限速酶。正常情况下, COX-2 在组织细胞中不表达, 而当组织受到炎症因子、细胞因子等作用时可以诱发机体生成 COX-2。近年来研究发现, COX-2 在胃癌、结肠癌、食管癌等肿瘤中存在过度表达。而动物实验显示, 应用 COX-2 特异性抑制剂可以有效地抑制大鼠肿瘤转移^[7]。COX-2 可能在胃癌的发生、发展和转移中起到重要的作用。本研究通过免疫组化法检测了 42 例胃癌组织、癌旁增生组织和癌旁正常组织中 COX-2 的表达情况, 结果胃癌 COX-2 阳性率为 66.7%, 癌旁增生组织 COX-2 阳性率为 28.6%, 癌旁正常胃黏膜组织 COX-2 阳性率为 4.8%, 胃癌组织 COX-2 蛋白阳性率明显高于癌旁增生组织及正常胃黏膜组织。证实了胃癌组织中存在 COX-2 的异常表达。COX-2 可能在胃癌发生、发展中起到了重要的作用。

本研究还应用 PCR 法对胃癌组织中 cagA 基因表达情况进行了检测, 结果经 PCR 基因扩增 42 例胃癌标本中 Hp cagA 阳性 25 例, Hp cagA 阴性 17 例。Hp cagA 阳性组 COX-2 蛋白阳性表达率高达 88.0%, 而 Hp cagA 阴性组 COX-2 蛋白阳性表达率为 35.3%, Hp cagA 阳性胃癌组织 COX-2 蛋白阳性

表达率明显高于 Hp cagA 阴性胃癌组织。提示 cagA 阳性菌株可能通过上调胃癌组织 COX-2 的表达, 进而参与胃癌的发生。由于 Hp cagA 阴性胃癌组织中也存在部分 COX-2 阳性的病例, 这提示除 Hp cagA 阳性感染外同时有其他因素调节 COX-2 的表达, 促进肿瘤发生、发展。

综上所述, 胃癌组织中存在 COX-2 的异常表达, cagA 阳性感染可能通过调节 COX-2 的表达水平促进胃癌的发生与发展。因此, 在根治 Hp 感染的同时, 应用 COX-2 抑制剂可能有效地控制胃癌的发生和发展。

参考文献:

- [1] 朴金花, 李大辉. 上消化道疾病与幽门螺杆菌相关性临床分析[J]. 中国医药指南, 2010, 8(2): 48-49.
- [2] 陈娟, 周建奖, 谢渊, 等. 幽门螺杆菌毒素蛋白 cagA 诱导的蛋白的差异表达分析及其基因在胃癌组织中的表达[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2011, 27(12): 1125-1132.
- [3] 郑旭, 唐世孝. 环氧化酶 2 (COX-2) 与胃癌关系的研究进展[J]. 西南军医, 2012, 14(3): 493-496.
- [4] 薛燕, 姚伟, 张莉, 等. 第五届中日韩幽门螺杆菌感染会议纪要[J]. 中华内科杂志, 2006, 45(7): 599-600.
- [5] Parsonnet J, Friedman GD, Orentlich N, et al. Risk for gastric cancer in people with cagA positive or cagA negative helicobacter pylori infection[J]. Gut, 1997, 40(3): 297-303.
- [6] Blaser MJ, Perez-Perez GI, Kleantous H, et al. Infection with Helicobacter pylori strains possessing cagA is associated with an increased risk of developing adenocarcinoma of stomach[J]. Cancer Res, 1995, 55(32): 2111-2115.
- [7] 张彬, 周业江. 胃癌中 COX-2 的表达及其与胃癌淋巴结转移的关系[J]. 实用医学杂志, 2011, 27(18): 3320-3323.