

NICD 及 COX-2 在胃癌组织中的表达及临床生物学意义

孙国羊 骆定海 吴建胜 潘钰婷 马升高 张 行 金 嵘 郑建建

摘 要 **目的** 本文旨在研究 NICD 与 COX-2 在胃癌组织中的表达及其临床生物学意义。**方法** 通过免疫组化方法检测 109 例胃癌组织和 57 例胃癌前病变组织及 72 例慢性浅表性胃炎组织中 NICD 和 COX-2 的表达,分析两者的表达水平与临床病理特征的关系以及两者的相互关系。**结果** NICD 在胃癌组中的阳性率为 74.31% (81/109), 明显高于癌前病变组 31.58% (18/57) 及慢性浅表性胃炎组 23.61% (17/72) ($\chi^2 = 53.45, P < 0.01$), 与肿瘤大小、分化程度、浸润深度、淋巴结转移有关 ($\chi^2 = 5.51, P < 0.05$; $\chi^2 = 4.76, P < 0.05$; $\chi^2 = 4.44, P < 0.05$; $\chi^2 = 4.62, P < 0.05$)。COX-2 在胃癌组中的阳性率为 71.56% (78/109), 明显高于癌前病变组 1.75% (1/57) 及慢性浅表性胃炎组 0.00% (0/72) ($\chi^2 = 133.50, P < 0.01$), 与肿瘤的分化程度、淋巴结转移有关 ($\chi^2 = 20.78, P < 0.01$; $\chi^2 = 4.15, P < 0.05$)。NICD 和 COX-2 在胃癌中表达呈正相关 ($r = 0.30, \chi^2 = 9.38, P < 0.01$)。Kaplan-Meier 分析显示: NICD 阳性组 2 年生存率 50.50%, 阴性组 2 年生存率 72.80%; COX-2 阳性组 2 年生存率 55.10%, 阴性组 2 年生存率 71.40%; NICD 阳性 COX-2 阳性组、NICD 阳性 COX-2 阴性组、NICD 阴性 COX-2 阳性组、NICD 阴性 COX-2 阴性组 2 年生存率分别为 43.10%、100.00%、66.7%、100.00%。生存曲线的 $\log-rank$ 检验显示: NICD 与 COX-2 阳性对胃癌患者生存率影响有统计学意义 ($\chi^2 = 9.70, P < 0.01$; $\chi^2 = 7.95, P < 0.01$)。Cox 回归分析显示: NICD 与 COX-2 可以作为影响胃癌预后的独立因素 ($\chi^2 = 7.55, P < 0.05$; $\chi^2 = 4.45, P < 0.05$)。**结论** NICD、COX-2 在胃癌的发生发展过程中可能起着促癌作用, 这两项指标的表达水平可作为评价胃癌预后的指标, 联合检测这两项指标在评估胃癌预后方面具有一定的临床价值。

关键词 胃肿瘤 NICD COX-2 免疫组化 预后指标

The Expression of NICD and COX-2 in Gastric Carcinoma Tissues and Its Clinical Biological Significance. Sun Guoyang, Luo Dinghai, Wu Jiansheng, et al. Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College, Zhejiang 325000, China

Abstract **Objective** To investigate the expression and significance of NICD and COX-2 in gastric cancer. **Methods** The expression of NICD and COX-2 in a tissue microarray containing 109 cases of gastric cancer tissues, 57 cases of precancerous lesions and 72 cases of chronic superficial gastritis was detected by SP immunohistochemistry. The correlation of NICD expression and COX-2 expression, and their correlation to the clinicopathologic features of gastric cancer was analyzed. **Results** The positive rate of NICD was significantly higher in gastric cancer than that in precancerous lesions and chronic superficial gastritis (74.31% vs 31.58%, 74.31% vs 23.61% separately; $\chi^2 = 28.39, P < 0.01$; $\chi^2 = 44.89, P < 0.01$), and closely related to tumor size ($\chi^2 = 5.51, P < 0.05$), differentiation grade ($\chi^2 = 4.76, P < 0.05$), depth of invasion ($\chi^2 = 4.44, P < 0.05$) and lymph node metastasis ($\chi^2 = 4.62, P < 0.05$). The positive rate of COX-2 was significantly higher in gastric cancer than in precancerous lesions and chronic superficial gastritis (71.56% vs 1.75%, 71.56% vs 0.00% separately; $\chi^2 = 73.12, P < 0.01$, $\chi^2 = 90.54, P < 0.01$), and closely related to differentiation grade ($\chi^2 = 20.78, P < 0.01$) and lymph node metastasis ($\chi^2 = 4.15, P < 0.05$). The expression of NICD was positively correlated to that of COX-2 ($r = 0.30, \chi^2 = 9.38, P < 0.01$). The 2-year survival rate was significantly higher in NICD(-) group (NICD-negative) than in NICD(+) group (NICD-positive) (72.80% vs 50.50%; $\chi^2 = 9.70, P < 0.01$), and was significantly higher in COX-2(-) group (COX-2-negative) than in COX-2(+) group (COX-2-positive) (71.40% vs 55.10%; $\chi^2 = 7.95, P < 0.01$). The 2-year survival rates of NICD(+)COX-2(+) group, NICD(+)COX-2(-) group, NICD(-)COX-2(+) group, and NICD(-)COX-2(-) group were 43.10%, 100.00%, 66.7%, 100.00% separately. COX regression analysis showed that NICD expression and COX-2 expression were independent prognostic factors of gastric cancer ($\chi^2 = 7.55, P < 0.05$; $\chi^2 = 4.45, P < 0.05$). **Conclusion** The dys-regulation of NICD and COX-2 expression in gastric cancer tissues may play a role in promoting the occurrence and development of gastric cancer. The expression level of these two indicators can be used as a prognostic factor for gastric cancer, and the combined detection of these two indicators in the evaluation of gastric cancer prognosis has certain clinical value.

基金项目:浙江省自然科学基金资助项目(Y2101458)

作者单位:325000 温州医学院附属第一医院消化内科(孙国羊、骆定海、吴建胜、潘钰婷);温州医学院附属第一医院流行病学教研室(金嵘);温州医学院附属第一医院内镜诊疗科(马升高);温州医学院附属第一医院外科实验室(张行、郑建建)

通讯作者:金嵘,电子邮箱:jinrong62@yahoo.com.cn

tion of NICD and COX-2 expression may correlate to the occurrence and development of gastric cancer. NICD and COX-2 may be novel prognostic markers of gastric cancer. Combined detection of these two indicators has some clinical value in assessing the prognosis of gastric cancer.

Key words Gastric neoplasm; NICD; COX-2; Immunohistochemistry; Prognostic factor

胃癌发病率在全世界范围内居恶性肿瘤第4位,病死率居第2位,中国的胃癌人数占全世界发病总数的42%,其发生发展与多基因调控改变相关^[1]。Notch信号是进化中高度保守的通路,控制着细胞的命运、干细胞的维持、胚胎和产后组织的分化^[2]。近年来发现Notch1在消化道肿瘤中具有重要意义,是当今研究的热点,但其作用为抑癌还是促癌尚存在争论^[3]。目前国内研究NICD较少,而NICD是Notch1受体的活化形式,在Notch1信号途径中起关键作用。环氧化酶(COX)是花生四烯酸合成前列腺素的限速酶,包括COX-1和COX-2两种亚型,COX-2的过度表达可能是促进肿瘤发生发展的原因之一^[3-6]。已有学者报道在胃癌细胞株中NICD及CBF1通过与COX-2启动子联系进而提高COX-2的表达,而通过COX-2抑制剂作用或敲除COX-2可减少肿瘤细胞的生成、迁移及侵袭能力^[7]。有鉴于此,本研究利用免疫组化技术检测NICD和COX-2在胃癌组织和正常胃组织及癌前病变中的表达,并对患者进行术后随访,初步分析两者与临床病理特征及预后的关系,进一步探讨两者在胃癌发生发展中的作用及其意义。

材料与方法

1. 标本及其来源:收集温州医学院附属第一医院2007~2009年胃癌手术标本共110例。患者男性83例,女性26例,平均年龄 60.52 ± 11.29 岁。其中高分化5例,中分化42例,低分化62例。根据国际抗癌联盟(UICC)1997年制定的TNM分期系统,I期15例,II期18例,III期46例,IV期30例。所有患者术前均未接受放疗和化疗,均有完整的临床资料。另取同期门诊胃镜室行活检术取得的慢性浅表性胃炎组织72例,其中男性39例,女性33例,平均年龄 41.38 ± 10.15 岁;癌前病变组织57例(胃溃疡4例、胃窦息肉2例、慢性萎缩性胃炎9例、慢性萎缩性胃炎伴肠化26例、慢性浅表性炎伴灶区萎缩性肠化13例,胃黏膜不典型增生3例),男性35例,女性22例,平均年龄 47.24 ± 12.41 岁。所有标本均经10%甲醛固定,常规石蜡包埋。

2. 组织切片的制作:选择所需病例存档蜡块,由笔者医院病理科专家根据HE切片进行形态学观察,确定具有代表性的病变部位,将所有标本置于空白蜡块中并加以记录,4 μ m连续切片,贴于1%多聚赖氨酸处理的载玻片上。

3. 免疫组化:采用SP二步法免疫组化染色,一抗兔抗人NICD购自密理博公司(Millipore, Cat: 07-1232, 工作浓度

1:100),一抗鼠抗人COX-2购自Santa Cruz(工作浓度1:50),二抗即用型试剂盒(PV6001, PV9001)及DAB显色试剂盒均购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

4. 结果判定: NICD染色结果以阳性细胞所占百分比表示,即低倍镜下(放大40倍)随机选取10个视野,每个视野计数100个细胞,取其均值,其细胞染色判断标准参考文献[8]。细胞没有染色或阳性细胞比例<1%为阴性,1%~20%(含1%)为弱阳性,20%~40%为中度阳性,>40%为强阳性;阴性和弱阳性为阴性表达,中度阳性及以上为阳性表达。COX-2染色结果判断标准采用阳性细胞<10%为阴性,>10%为阳性,并采用Image-Pro Plus 6.0软件分析,以累计光密度为指标,其数值高低反映阳性率的高低。

5. 随访:156例患者通过电话随访及门诊随访,随访率100%,随访截止日期为2010年3月1日。

6. 统计学处理:采用SPSS 16.0统计软件,样本率间比较用 χ^2 检验分析,因素相关性分析用Spearman等级相关分析,单因素分析用Kaplan-Meier曲线、log-rank检验,多因素分析用Cox比例风险回归模型。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. NICD、COX-2蛋白在胃癌组织和癌前状态组织及慢性浅表性胃炎组织中的表达。NICD蛋白表达主要位于细胞胞核,部分位于胞质,呈棕黄色颗粒,见图1。胃癌组中阳性率为74.31%(81/109),癌前病变组阳性率为31.58%(18/57),慢性浅表性胃炎组阳性率为23.61%(17/72)。NICD表达阳性率胃癌、癌前病变、慢性浅表性胃炎三组间比较差异有统计学意义($\chi^2 = 53.45, P < 0.01$);胃癌组分别与癌前病变组、慢性浅表性胃炎组比较差异均有统计学意义($\chi^2 = 28.39, P < 0.01, \chi^2 = 44.89, P < 0.01$);癌前病变组与慢性浅表性胃炎组比较差异无统计学意义($\chi^2 = 1.02, P > 0.05$, 表1)。COX-2蛋白表达位于细胞胞质,呈棕黄色颗粒,见图2。胃癌组中阳性率为71.56%(78/109),癌前病变组阳性率为1.75%(1/57),慢性浅表性胃炎组阳性率为0.00%(0/72)。COX-2表达阳性率胃癌、癌前病变、慢性浅表性胃炎三组间比较差异有统计学意义($\chi^2 = 133.50, P < 0.01$);胃癌组分别与癌前病变组、慢性浅表性胃炎组比较差异均有统计学意义($\chi^2 = 73.12, P < 0.01, \chi^2 = 90.54, P < 0.01$);癌前病变组与慢性浅表性胃炎组比较差异无统计学意义($\chi^2 = 1.27, P > 0.05$, 表2)。

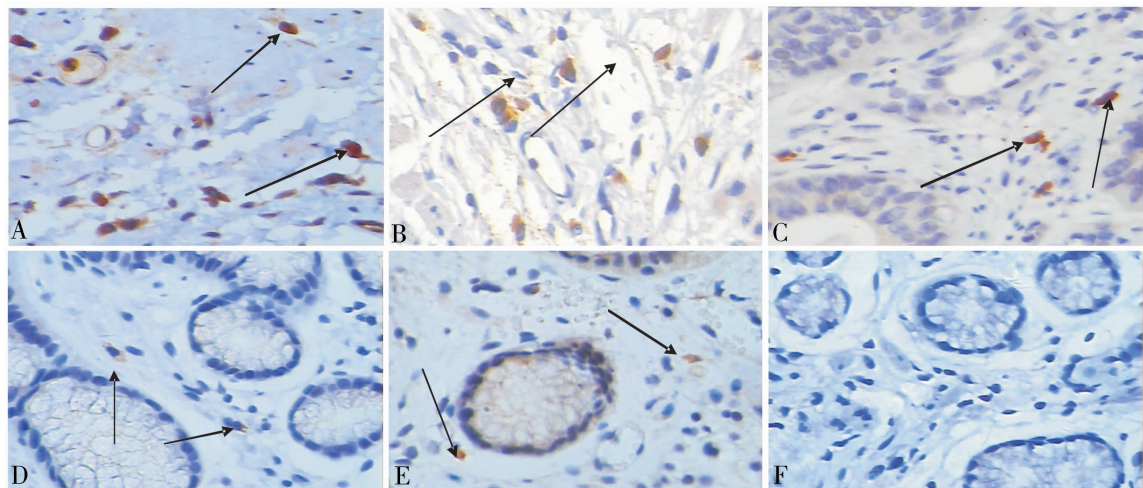


图1 NIDC在胃组织中的表达

A. 低分化胃癌患者(SP法, ×400); B. 中分化胃癌患者(SP法, ×400); C. 高分化胃癌患者(SP法, ×400);
D. 癌前状态患者(肠化生)(SP法, ×400); E. 癌前状态患者(胃窦息肉)(SP法, ×400); F. 慢性浅表性胃炎患者(SP法, ×400)

表1 各组 NIDC 蛋白阳性表达率的比较

组别	NIDC		χ^2	P
	阳性数	阴性数		
	[n(%)]	[n(%)]		
胃癌组	81(74.31)	23(25.69) ^a	53.45	<0.05
癌前病变组	18(31.58)	39(68.42) ^b		
慢性浅表性胃炎组	17(23.61)	55(76.39) ^c		

与癌前病变组相比,^a $\chi^2=28.39, P<0.01$;与慢性浅表性胃炎组相比,^b $\chi^2=1.02, P>0.05$;与胃癌组相比,^c $\chi^2=44.89, P<0.01$

2. NIDC、COX-2 蛋白表达与胃癌临床病理特征的关系:NIDC 蛋白阳性表达率与胃癌的患者肿瘤大小、分化程度、浸润深度、淋巴结转移的相关性均有统计学意义($\chi^2=5.51, P<0.05; \chi^2=4.76, P<0.05; \chi^2=4.44, P<0.05; \chi^2=4.62, P<0.05$), 而与年龄、性别、部位、脉管浸润、远处转移的相关性均无统计学意义($\chi^2=0.13, P>0.05; \chi^2=0.12, P>0.05; \chi^2=0.98, P>0.05; \chi^2=1.18, P>0.05; \chi^2=1.18, P>$

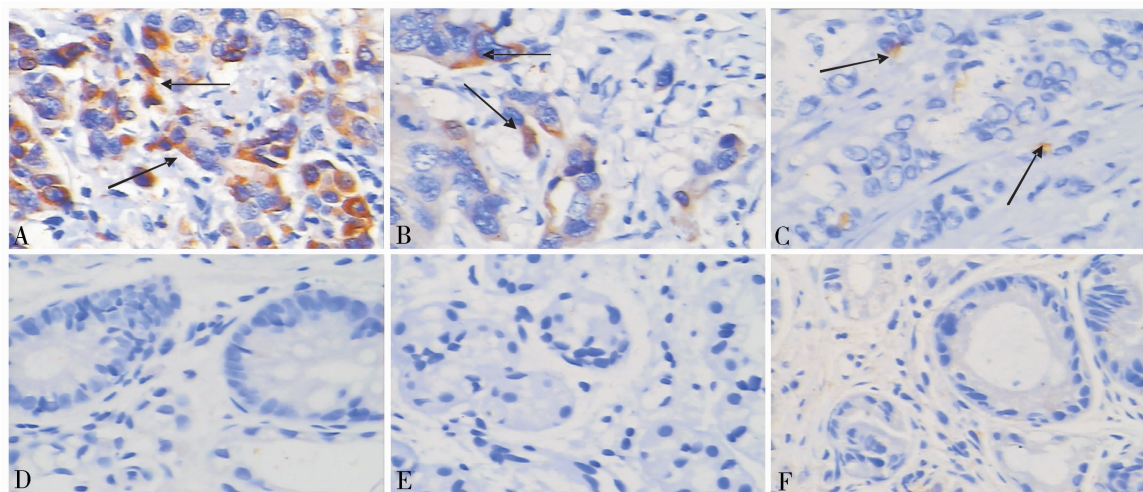


图2 COX-2在胃组织中的表达

A. 低分化胃癌患者(SP法, ×400); B. 中分化胃癌患者(SP法, ×400); C. 高分化胃癌患者(SP法, ×400);
D. 慢性萎缩性胃炎患者(SP法, ×400); E. 胃窦息肉患者(SP法, ×400); F. 慢性浅表性胃炎患者(SP法, ×400)

0.05)。COX-2 蛋白阳性表达与胃癌患者肿瘤的分化程度、淋巴结转移的相关性均有统计学意义($\chi^2=20.78, P<0.01; \chi^2=4.15, P<0.05$), 而与年龄、性

别、部位、肿瘤大小、浸润深度、脉管浸润、远处转移的相关性无统计学意义($\chi^2=0.22, P>0.05; \chi^2=0.04, P>0.05; \chi^2=1.82, P>0.05; \chi^2=0.01, P>0.05;$

表 2 各组 COX-2 蛋白阳性表达率的比较

组别	COX-2		χ^2	<i>P</i>
	阳性数 [<i>n</i> (%)]	阴性数 [<i>n</i> (%)]		
胃癌组	78(71.56)	31(28.44) ^a	133.50	<0.01
癌前病变组	1(1.75)	56(98.25) ^b		
慢性浅表性胃炎组	0(0)	72(100) ^c		

与癌前病变组相比,^a $\chi^2=73.12, P<0.01$;与慢性浅表性胃炎组相比,^b $\chi^2=1.27, P>0.05$;与胃癌组相比,^c $\chi^2=90.54, P<0.01$

表 3 NICD 及 COX-2 蛋白阳性表达率与胃癌生物学行为的关系

组别	<i>n</i>	NICD 阳性数[<i>n</i> (%)]	χ^2	<i>P</i>	COX-2 阳性数[<i>n</i> (%)]	χ^2	<i>P</i>
年龄(岁)			0.13	>0.05		0.22	>0.05
<60	46	35(76.09)			34(73.91)		
≥60	63	46(73.02)			44(69.84)		
性别			0.12	>0.05		0.04	>0.05
男性	83	61(73.49)			59(71.08)		
女性	26	20(76.92)			19(73.08)		
部位			0.98	>0.05		1.82	>0.05
贲门及胃底	18	13(72.22)			13(72.22)		
胃体	39	31(79.48)			29(74.36)		
胃角	12	9(75.00)			10(83.33)		
胃窦及幽门	40	28(70.00)			26(65.00)		
肿瘤大小			5.51	<0.05		0.01	>0.05
<3cm	42	26(61.90)			30(71.43)		
≥3cm	67	55(82.09)			48(71.64)		
分化程度			4.76	<0.05		20.78	<0.05
高+中分化	47	30(63.83)			23(48.94)		
低分化	62	51(82.26)			55(88.71)		
浸润深度			4.44	<0.05		0.06	>0.05
T ₁ +T ₂	30	18(60.00)			22(73.33)		
T ₃ +T ₄	79	63(79.75)			56(70.89)		
脉管浸润			1.18	>0.05		0.27	>0.05
阳性	64	50(78.13)			47(73.44)		
阴性	45	31(68.89)			31(68.89)		
淋巴结转移			4.62	<0.05		4.15	<0.05
阳性	69	56(81.15)			54(78.26)		
阴性	40	25(62.50)			24(60.00)		
远处转移			1.18	>0.05		0.72	>0.05
阳性	10	6(60.00)			6(60.00)		
阴性	99	75(75.76)			72(72.73)		

表 4 NICD、COX-2 蛋白在胃癌中表达的相关性

COX-2	NICD 表达		合计
	阳性数	阴性数	
阳性数	63	15	78
阴性数	18	13	31
合计	81	28	109

4. NICD、COX-2 蛋白表达与预后的关系:以手术时间为开始随访的时间,定义从手术后到病人死亡的时间为生存时间。156 例完整资料的病例随访 5~27 个月,死亡 26 例。NICD 阳性组中位生存时间

$\chi^2=0.06, P>0.05$; $\chi^2=0.27, P>0.05$; $\chi^2=0.72, P>0.05$, 表 3)。

3. NICD、COX-2 蛋白在胃癌中表达的相关性: Spearman 秩相关性分析显示, NICD 和 COX-2 表达共同阳性者 63 例, 共同阴性者 13 例, NICD 阳性而 COX-2 阴性表达者 18 例, NICD 阴性而 COX-2 阳性者 15 例, 两者在胃癌中表达呈正相关($r=0.30, \chi^2=9.38, P<0.01$)。见表 4。

21.61 个月, 2 年生存率 50.50%; 阴性组中位生存时间 26.60 个月, 2 年生存率 72.80%。COX-2 阳性组中位生存时间 22.95 个月, 2 年生存率约 55.10%; 阴性组中位生存时间 25.79 个月, 2 年生存率 71.40%。NICD 阳性 COX-2 阳性组中位生存时间 20.78 个月, 2 年生存率 43.10%; NICD 阴性 COX-2 阳性组中位生存时间 25.58 个月, 2 年生存率 66.70%, 而 NICD 阴性 COX-2 阴性组和 NICD 阳性 COX-2 阴性组在随访期间无一例死亡。生存曲线的 log-rank 检验显示, NICD 与 COX-2 阳性对胃癌患者生存率

影响有统计学意义 ($\chi^2 = 9.70, P < 0.01; \chi^2 = 7.95, P < 0.01$) (图 3、图 4)。Cox 比例风险回归模型分析显示,在包括肿瘤大小、浸润深度、分化程度、淋巴结转移、远处转移、脉管浸润、NICD 表达和 COX-2 表达的多因素分析中,浸润深度、COX-2 蛋白表达阳性、NICD 蛋白表达阳性可以作为影响胃癌预后的独立因素 ($\chi^2 = 6.08, P < 0.05; \chi^2 = 7.55, P < 0.05; \chi^2 = 4.45, P < 0.05$)。

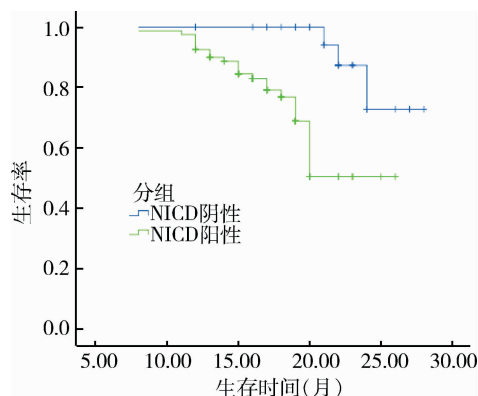


图 3 NICD 表达阳性组与阴性组胃癌患者的生存曲线

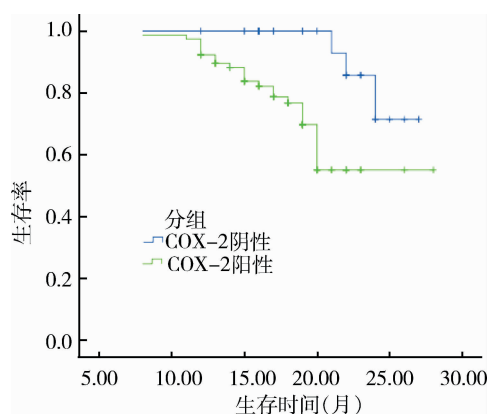


图 4 COX-2 表达阳性组与阴性组胃癌患者的生存曲线

讨 论

Notch 基因发现于 1919 年,因在果蝇体内发现一种基因,其功能部分缺失可导致果蝇翅缘出现缺口(英语译为 Notch),故命名该基因为 Notch。Notch 信号是进化中高度保守的通道,控制着细胞的命运、干细胞的维持、胚胎和产后组织的分化^[2]。Notch 的活化大体有 3 个步骤,首先 Notch 以非活化的形式在内质网合成,然后在在高尔基网络被弗林样转换酶进行蛋白分裂(S1 分裂),裂解成 TN 和 EC 两个亚基。TN 和 EC 以二硫键连接在一起,形成异二聚体形式的

Notch 受体,位于细胞膜表面。与 Notch 配体结合后,受体在金属酶(如肿瘤坏死因子- α 转化酶)作用下进一步分裂(S2 分裂),然后在 γ -分泌酶复合物(γ -secretase complex)的作用下再次裂解(S3 分裂),最终生成有活化的形式 NICD(notch intracellular domain, Notch 胞内区域),并转移至胞核,进而激活靶基因而产生作用^[9]。

近年研究发现,Notch1 信号对肿瘤发生和进展不仅具有促进功能,而且还具有抑制功能,但是这种作用取决于肿瘤细胞的来源及生长环境。如 Ghaleb 等^[10]研究发现在人结肠癌 HT29 细胞中抑制 Notch1 信号活化,能导致细胞增生降低;而通过转染使 NICD 的过表达,能显著提高 HT29 的增生率。Reedi 等也发现从正常肠黏膜发展到 IV 期结肠肿瘤过程中,Notch1 的表达不断增加,并且与 Notch1 有一定的相关性。相反,鲁照明等^[12]研究发现在正常食道黏膜组织中高表达,而在食道鳞癌中低表达或不表达,且 Notch1 蛋白的随着淋巴结受累范围增加而降低,在食管鳞癌细胞株 EC9706 细胞中激活的 Notch1 信号,能抑制 EC9706 细胞的增生。Zhang 等^[13]也发现在食管鳞癌细胞株 EC109 细胞中活化的 Notch1 信号,通过抑制 HPV18 E6/E7 基因的表达,进而上调 p53 的表达,最终导致 EC109 细胞生长受抑制,并使其停滞在 G₂/M 期。尤其是在宫颈癌的研究中已发现 Notch1 蛋白在宫颈癌细胞中,所表现出来的促癌和抑癌双重作用是由 Notch1 信号存在的细胞环境决定的。

本实验研究发现与癌前病变组、慢性浅表性胃炎组相比,NICD 在胃癌组织中的表达明显增高,差异显著(P 均 < 0.01)。进一步的研究发现,NICD 表达与肿瘤大小、分化程度、浸润深度、淋巴结转移的相关性均有统计学意义($P < 0.05$)。提示在胃癌的发生发展过程中存在着 Notch1 信号的异常活化,NICD 在胃癌的发生发展中可能起着促癌作用。李大卫和 Yeh 等的研究也支持这一结论,李大卫等发现 Notch1 在胃癌中表达较正常胃组织明显上调,并与肿瘤的大小、分化程度、浸润深度、脉管浸润程度明显相关。Yeh 等^[7]在胃癌细胞(SC-M1)中,激活 Notch1 信号后,SC-M1 细胞集落形成能力、迁徙能力和侵袭能力明显增强;阻断 Notch1 信号后,SC-M1 细胞集落形成能力、迁徙能力和侵袭能力明显受抑制。但是贾桂枝等采用 real time RT-PCR 技术和 Western blot 方法研究 Notch1 在人正常胃黏膜细胞株(GES-1)和胃

癌细胞株 (AGS、SGC-7901、BGC-823 细胞) mRNA 和蛋白质水平上的表达,发现与 GES-1 相比较, Notch 1 mRNA 和 Notch1 蛋白在 3 种胃癌细胞株中的表达显著降低,差异均具有显著性 ($P < 0.01$),并推测 Notch1 在胃癌的发生中可能起着抑癌作用。分析原因可能是由于胃癌细胞株细胞与体内胃癌细胞存在差异及体外生长环境与人体内的环境不同所致。

动物实验发现, COX-2 表达增加前列腺素 E_2 (PGE_2) 的合成, PGE_2 可诱导细胞增生并刺激 bcl-2 蛋白表达,后者是通过阻止细胞色素 C 从线粒体向胞质释放对细胞凋亡起调节作用,而抑制细胞凋亡,使细胞增生和凋亡失去平衡而促进肿瘤的发生。关于 COX-2 与 NICD 的关系, Yeh 等^[7]报道在胃癌细胞株中 NICD 通过 CBF-1 依赖方式结合到 COX-2 启动子,增强 COX-2 启动子活性,提高 COX-2 的表达,从而促进胃癌的进展,但目前国内尚未见两者在实体瘤中表达相互关系的报道。

COX-2 蛋白的表达位于细胞胞质,呈棕黄色颗粒,胃癌组阳性率为 71.56% (78/109);癌前疾病组阳性率为 1.75% (1/57);慢性浅表性胃炎组阳性率为 0.00% (0/72)。胃癌组 COX-2 蛋白阳性表达率高于癌前病变组和慢性浅表性胃炎组,差别有统计学意义 ($P < 0.01$)。进一步研究发现 COX-2 蛋白阳性表达与胃癌患者的与肿瘤的分化程度及淋巴结转移的相关性均有统计学意义 ($P < 0.05$)。提示在胃癌的发生发展中存在着 COX-2 的表达升高,说明 COX-2 在胃癌的发生和发展中可能起着促癌作用。Spearman 秩相关性分析显示,在胃癌中 NICD 和 COX-2 表达呈正相关 ($r = 0.30, P < 0.01$),并且在低分化胃癌组 NICD 和 COX-2 的表达明显高于高/中分化组,在淋巴结转移阳性组 NICD 和 COX-2 的表达明显高于淋巴结转移阴性组提示 COX-2 过表达能协同 NICD 过表达促进胃癌发生发展及其恶性生物学行为。Yeh 等^[7]在胃癌细胞株中的研究也支持这一结论,但两者的相互关系尚需进一步研究。

从本实验结果发现 COX-2 阳性表达与肿瘤远处转移无明显相关性,与国外文献报道不一致,可能与本实验组胃癌远处转移病例数不够而影响统计学结果有关,为了更深入地研究需提高病例数。

本实验通过对胃癌患者进行术后随访, Kaplan-Meier 生存曲线显示 NICD 阳性组的胃癌患者胃癌患者 2 年生存率明显低于阴性组, COX-2 阳性组的胃癌患者胃癌患者 2 年生存率明显低于阴性组, NICD

和 COX-2 均阳性组的胃癌患者 2 年生存率明显低于均阴性组;生存曲线的 $\log-rank$ 检验显示, NICD 与 COX-2 阳性对胃癌患者生存率影响有统计学意义。Cox 比例风险回归模型分析显示,在包括肿瘤大小、浸润深度、分化程度、淋巴结转移、远处转移、脉管浸润、NICD 表达和 COX-2 表达的多因素分析中, NICD 蛋白表达阳性、COX-2 蛋白表达阳性、浸润深度可以作为影响胃癌预后的独立因素。综上所述, NICD 及 COX-2 的表达上调与胃癌的分化、浸润和转移密切相关。检测 NICD 及 COX-2 可反映肿瘤的恶性程度,并可提示胃癌患者的预后。联合检测 NICD 及 COX-2 在评估胃癌预后方面具有一定的临床价值。

参考文献

- 1 Parkin DM, Bray F, Ferlay J, *et al.* Global Cancer Statistics. 2002. CA Cancer J Clin, 2005, 55(2):74-108
- 2 Grego-Bessa J, Diez J, Timmerman L, *et al.* Notch and epithelial-mesenchyme transition in development and tumor progression: Another turn of the screw. Cell Cycle, 2004, 3(6):718-721
- 3 Nystrom ML, McCulloch D, Weinreb PH, *et al.* Cyclooxygenase-2 inhibition suppresses alphavbeta6 integrin-dependent oral squamous carcinoma invasion. Cancer Res, 2006, 66(22):10833-10842
- 4 Leo C, Faber S, Hentschel B, *et al.* The status of cyclooxygenase-2 expression in ductal carcinoma in situ lesions and invasive breast cancer correlates to cyclooxygenase-2 expression in normal breast tissue. Ann Diagn Pathol, 2006, 10(6):327-332
- 5 Joo YE, Chung JJ, Park YK, *et al.* Expression of cyclooxygenase-2, p53 and Ki267 in gastric cancer. J Korean Med Sci, 2006, 21(5):871-876
- 6 Onguru O, Kurt B, Gunhan O, *et al.* Cyclooxygenase-2 (COX-2) expression and angiogenesis in intracranial ependymomas. Clin Neuropathol, 2006, 25(5):216-220
- 7 Tien-Shun Yeh, Chew-Wun Wu, Kai-Wen Hsu, *et al.* The Activated Notch1 Signal Pathway Is Associated with Gastric Cancer Progression through Cyclooxygenase-2. Cancer Res, 2009, 69(12):5039-5048
- 8 Massi D, Tarantini F, Franchi A, *et al.* Evidence for differential expression of Notch receptors and their ligands in melanocytic nevi and cutaneous malignant melanoma. Mod Pathol, 2006, 19(2):246-254
- 9 Stanley P. Regulation of Notch signaling by glycosylation. Curr Opin Struct Biol, 2007, 17(5):530-535
- 10 Ghaleb AM, Aggarwal G, Bialkowska AB, *et al.* Notch inhibits expression of the Kruppel-like factor 4 tumor suppressor in the intestinal epithelium. Mol Cancer Res, 2008, 6(12):1920-1927
- 11 Reedijk M, Odorcic S, Zhang H, *et al.* Activation of Notch signaling in human colon adenocarcinoma. Int J Oncol, 2008, 33(6):1223-1229
- 12 鲁照明, 刘洪涛, 高媛. 食管鳞癌及正常食管组织中 Notch1 基因的 mRNA 及蛋白的表达. 华中师范大学学报(自然科学版), 2007, 41(2):263-267 (收稿:2010-09-20)