

doi:10.3969/j.issn.1000-9760.2014.04.012

结直肠癌组织 5-LOX 的表达及其与微淋巴管密度的关系^{*}

李月春 王东霞 卢焕全 叶镇彭 吴志明 陈建华

(广东省东莞市人民医院, 广东 东莞 523059)

摘要 **目的** 探讨结直肠癌 5-脂氧合酶(5-LOX)的表达与微淋巴管密度及与结直肠癌相关临床病理因素的关系。**方法** 以免疫组化方法检测 52 例结直肠癌 5-LOX 表达,以 VEGFR-3 单克隆抗体行微淋巴管内皮细胞染色标记淋巴管,计数组织中微淋巴管密度(LMVD)。**结果** 52 例结直肠癌标本中 5-LOX 阳性表达率 73.08%(38/52)。5-LOX 在Ⅲ、Ⅳ期的阳性表达率高于Ⅰ、Ⅱ期($P<0.01$);浸润较深(T1+T2)组阳性表达率高于浸润较浅(T3+T4)组($P<0.05$);未分化、低分化组阳性表达率高于中、高分化组($P<0.01$);淋巴结转移组的阳性表达率高于无转移组($P<0.01$)。并且 5-LOX 阳性组的 LMVD(26.61 ± 6.93)高于阴性组(13.86 ± 4.83 , $P<0.05$)。**结论** 5-LOX 在结直肠癌组织中有阳性表达,其表达与肿瘤淋巴转移、浸润深度、分化程度和 TNM 分期及癌组织 LMVD 有关。

关键词 结直肠癌;5-脂氧合酶;血管内皮生长因子抗体-3;微淋巴管密度

中图分类号:R735.3 **文献标识码**:B **文章编号**:1000-9760(2014)08-270-03

有研究发现,5-脂氧合酶(5-lipoxygenase, 5-LOX)在多种实体瘤组织中有表达^[1-2],提示 5-LOX 可能与肿瘤的生物学特性、病理过程有关。我们在结直肠癌组织中检测 5-LOX 表达及微淋巴管密度(Lymphatic microvessel density, LMVD),以探讨 5-LOX 在结直肠癌发生、发展中的作用。

1 材料与方法

1.1 临床资料

选择我院2011年1月至2012年12月间临床病理资料完整的结直肠癌52例,其中男性38例,女性14例。年龄29~81岁,中位年龄56岁。男女比例为1.35:1。回盲部1例,升结肠4例,肝曲部10例,横结肠2例,脾曲部4例,降结肠3例,乙状结肠癌6例,直肠癌22例。排除标准:1)术前进行新辅助治疗者,包括应用化疗、放疗或生物治疗;2)长时间应用糖皮质激素或非甾体类抗炎药者。

1.2 主要试剂及免疫组织化学染色

羊抗人 5-LOX 多克隆抗体、VEGFR-3 兔抗人抗体及 S-P 免疫组化试剂盒均购自北京中山生物技术有限公司。染色采用免疫组化 S-P 法,按试剂盒说明操作。

1.3 判断标准

1.3.1 5-LOX 蛋白阳性产物 阳性细胞判断标准为:细胞胞浆、核膜或胞膜呈棕黄色颗粒。阳性

细胞率分 4 级: $\leq 5\%$ 、 $6\% \sim 30\%$ 、 $31\% \sim 70\%$ 和 $\geq 71\%$ 分别记分为 0、1、2、3 分。染色强度判定:阴性,染色与背景一致;弱阳性,染色呈淡黄色,略高于背景;阳性,染色呈黄色,明显高于背景;强阳性,染色呈棕褐色。据此将染色强度同样分为 4 级:阴性、弱阳性、阳性、强阳性分别记分为 0、1、2、3 分。阳性细胞率和染色强度的分值之和即为表达水平,两项之和为 0 分、1~3 分、4~6 分分别为不表达、低表达和高表达。

1.3.2 LMVD 淋巴管内皮细胞 VEGFR-3 染色阳性为棕黄色,用 Wendner 等^[3]的方法计算微淋巴管密度:低倍镜($\times 100$)下找出 4 个微淋巴管高密度区,高倍镜($\times 200$)下计数微淋巴管数目,取其平均值作为该病例的 LMVD。

1.3.3 结直肠癌病理分期 按美国癌症联合会(AJCC)第 6 版行 TNM 分期。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 12.0 统计软件进行统计学处理。

2 结果

2.1 52 例结直肠癌组织病理学结果

直径 <5 cm 者 32 例,直径 ≥ 5 cm 者 20 例。高分化腺癌 4 例,中分化腺癌 24 例,低分化腺癌 15 例,未分化腺癌 9 例。T1 1 例, T2 14 例, T3 28 例, T4 9 例。无局部淋巴转移者 11 例,有局部淋巴转移者 41 例。病理分析:ⅠA 期 1 例;ⅠB 期 12 例;Ⅱ期 11 例;ⅢA 期 11 例;ⅢB 期 19 例;Ⅳ期 9 例。

^{*} [基金项目] 广东省医学科学技术研究基金项目(编号: A2011707)

2.2 结直肠癌组织 5-LOX 的表达

52 例标本中 5-LOX 表达阳性 38 例,阳性表达率 73.08%(38/52),其中高表达 22 例,高表达率 42.31%(22/52);低表达 16 例,低表达率 30.77%(16/52)。14 例阴性表达,阴性表达率 26.92%(14/52)。

5-LOX 蛋白阳性产物大多见于结直肠癌细胞的胞浆中,呈弥散性分布;在癌组织内的间质细胞和内皮细胞中亦可见散在表达,为弱表达。癌旁正常黏膜上皮和固有腺上皮胞浆偶见微量表达(图 1)。

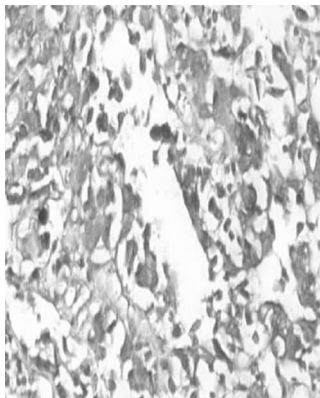


图 1 结直肠癌组织 5-LOX 染色阳性(×200)

2.3 结直肠癌组织中微淋巴管表达

淋巴管内皮细胞 VEGFR-3 染色阳性为棕黄色。癌组织中阳性的 VEGFR-3 染色主要分布于癌巢周围以及癌灶边缘,癌巢中央较少。癌组织周边区的淋巴管壁薄,分布不均匀,散在或成簇分布,部分扩张,或形成狭窄的腔隙,伴不同程度的水肿和炎性细胞浸润(图 2)。

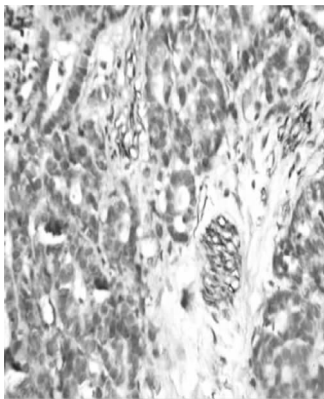


图 2 结直肠癌组织淋巴管 VEGFR-3 染色(×400)

2.4 5-LOX 表达与结直肠癌临床病理因素的关系

见表 1。

表 1 结直肠癌组织 5-LOX 的表达
与临床病理因素的关系(n)

病理因素	n	5-LOX ⁺	5-LOX ⁻	χ^2	P
肿瘤大小	< 5cm	24	8	0.003	>0.05
	≥5cm	14	6		
浸润深度	T ₁ +T ₂	8	7	6.609	<0.05
	T ₃ +T ₄	32	56		
肿瘤分化	高、中分化	12	14	14	<0.01
	低、未分化	24	0		
浸润浆膜	有	27	8	0.017	<0.05
	无	11	6		
脉管浸润	有	12	3	0.513	>0.05
	无	26	116		
淋巴结转移	有	35	5	20.706	<0.01
	无	2	9		
肿瘤分期	I+II	7	6	14.119	<0.01
	III+IV	31	8		

2.5 5-LOX 阳性表达组与阴性表达组 LMVD 的比较

见表 2。

表 2 5-LOX 阳性表达与阴性表达组 LMVD 的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	LMVD
5-LOX ⁺	38	26.61±6.93
5-LOX ⁻	14	13.86±4.83
t		5.342
P		<0.05

3 讨论

5-LOX 是脂氧合酶同工酶的一种,是影响细胞信号传导及代谢的关键酶。已有研究表明 5-LOX 及其产物在部分癌前病变和恶性肿瘤中高表达^[4-5]。但 5-LOX 在结直肠癌组织中的表达研究较少。本文结果显示结直肠癌中 5-LOX 蛋白有较高的阳性表达,表明 5-LOX 可能是结直肠癌发生发展的一个重要标志物。不同病理阶段 5-LOX 阳性表达存在差异,浸润较深、分期较晚、有淋巴结转移的结直肠癌组织中 5-LOX 阳性表达率较高,提示 5-LOX 高表达可能是结直肠癌的不良预后之一。

结直肠癌新生淋巴管是肿瘤侵袭转移机制中重要的一环,淋巴转移是决定预后的重要因素。VEGFR-3 是位于细胞膜的跨膜酪氨酸激酶受体,

主要与淋巴管的生成有关^[6]。在成人 VEGFR-3 几乎仅在淋巴内皮细胞表达^[7],而胚胎发育早期则表达于血管内皮细胞。用 VEGFR-3 抗体标记淋巴管,正是利用了 VEGFR-3 这个特性。LMVD 与肿瘤的生物学特性、肿瘤不同的病理分期相关。有研究表明 LMVD 与结直肠癌病人的预后密切相关,在 224 例结直肠癌病人中,LMVD 高的病人,其无病生存期明显减低^[8]。

本文发现癌周区有较多开放状态的功能性微淋巴管,癌周组织 LMVD 较正常组织增加,与相关研究结果一致。5-LOX 阳性组 LMVD 显著高于阴性组,表明 5-LOX 可能与结直肠癌新生淋巴管形成有关。提示 5-LOX 抑制剂可能会通过抑制肿瘤淋巴管的形成而产生抗肿瘤作用,确切机制待于进一步研究。

参考文献:

- [1] Yoshimura R, Matsuyama M, Mitsuhashi M, et al. Relationship between lipoxygenase and human testicular cancer[J]. *Int J Mol Med*, 2009, 13(3):389-393.
- [2] Steele VE, Holmes CA, Hawk ET, et al. Lipoxygenase inhibitors as potential cancer chemopreventives[J]. *Cancer Epide-*

miol Biomarkers Prev, 2012, 8(5):467-483.

- [3] Weidner N, Folkman J, Pozza F, et al. Tumor angiogenesis: a new significant and independent prognostic indicator in early-stage breast carcinoma[J]. *J Natl Cancer Inst*, 1992, 84(24):1875-1887.
- [4] Hong SH, Avis I, Vos MD, et al. Relationship of arachidonic acid metabolizing enzyme expression in epithelial cancer cell lines to the growth effect of selective biochemical inhibitors [J]. *Cancer Res*, 2010, 59(9):2223-2228.
- [5] Gunning WT, Kramer PM, Steele VE, et al. Chemoprevention by lipoxygenase and leukotriene pathway inhibitors of vinyl carbamate-induced lung tumors in mice [J]. *Cancer Res*, 2008, 62(15):4199-4201.
- [6] Brown LF, Detmar M, Claffey K, et al. Vascular permeability factor, vascular endothelial growth factor: A multifunctional angiogenic cytokine[J]. *Exs*, 2007, 79:233.
- [7] Kaipainen A, Korhonen J, Mäntönen T, et al. Expression of the fms-like tyrosine kinase 4 gene becomes restricted to lymphatic endothelial during development [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 92:3566-3570.
- [8] Chen Y, Yan J, Wang Z, et al. A meta-analysis of the relationship between lymphatic microvessel density and the survival of patient with colorectal cancer[J]. *Lymphology*, 2013, 46(1):42-51.

(收稿日期 2014-05-11)

(上接第 269 页)的化疗患者,二线化疗方案还不清楚。Thuss-Patience 等的三期临床试验证实,一线化疗中没有应用多西他赛,二线化疗时可以选择多西他赛或者伊立替康^[4],本文伊立替康作为晚期胃癌的二线治疗方案显示出良好的疗效及耐受性,为一线应用顺铂、氟尿嘧啶和多西他赛化疗失败的患者提供了治疗选择。但本文仅为临床观察,伊立替康作为晚期胃癌的二线治疗仍需要多中心、随机对照的 III 期临床研究来进一步证实。

参考文献:

- [1] Greenlee RT, Murray T, Bolden S, et al. Cancer statistics, 2000[J]. *CA Cancer J Clin*, 2000, 50(1):7-33.
- [2] Gunderson LL, Hoskins RB, Cohen AC, et al. Combined modality treatment of gastric cancer[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1983, 9(7):965-975.
- [3] Catalano V, Labianca R, Beretta GD, et al. Gastric cancer [J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2005, 54(3):209-241.
- [4] Thuss-Patience PC, Kretschmar A, Bichev D, et al. Survival advantage for irinotecan versus best supportive care as second-line chemotherapy in gastric cancer-a randomised phase III study of the Arbeitsgemeinschaft Internistische Onkologie (AIO)[J]. *Eur J Cancer*, 2011, 47(15):2306-2314.

- [5] Kim SH, Lee GW, Go SI, et al. A phase II study of irinotecan, continuous 5-fluorouracil, and leucovorin (FOLFIRI) combination chemotherapy for patients with recurrent or metastatic gastric cancer previously treated with a fluoropyrimidine-based regimen[J]. *Am J Clin Oncol*, 2010, 33(6):572-576.
- [6] Seo HY, Kim DS, Choi YS, et al. Treatment outcomes of oxaliplatin, 5-FU, and leucovorin as salvage therapy for patients with advanced or metastatic gastric cancer: a retrospective analysis[J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2009, 63(3):433-439.
- [7] Sym SJ, Ryu MH, Lee JL, et al. Salvage chemotherapy with biweekly irinotecan, plus 5-fluorouracil and leucovorin in patients with advanced gastric cancer previously treated with fluoropyrimidine, platinum, and taxane[J]. *Am J Clin Oncol*, 2008, 31(2):151-156.
- [8] Koda Y, Ito S, Mochizuki Y, et al. A phase II study of weekly paclitaxel as second-line chemotherapy for advanced gastric Cancer (CCOG0302 study) [J]. *Anticancer Res*, 2007, 27(4C):2667-2671.
- [9] Chun JH, Kim HK, Lee JS, et al. Weekly irinotecan in patients with metastatic gastric cancer failing cisplatin-based chemotherapy[J]. *Jpn J Clin Oncol*, 2004, 34(1):8-13.

(收稿日期 2014-06-15)