

生长抑素、环氧合酶-2 在肝癌发生发展中的变化及意义*

谢咏梅¹, 李肖², 严律南³, 魏兵⁴, 王春辉², 唐承薇^{2△}

1. 四川大学华西第二医院 神经消化科(成都 610041); 2. 四川大学华西医院 消化科(成都 610041);

3. 四川大学华西医院 肝胆外科(成都 610041); 4. 四川大学华西医院 病理科(成都 610041)

【摘要】 目的 探讨在肝癌发生发展过程中,生长抑素及其受体(SST/SSTR)和环氧合酶-2(COX-2)的表达演变规律,并分析门脉高压与 SST/SSTR 表达之间的关联性。**方法** 收集一系列肝脏手术标本:正常肝脏 5 例、慢性肝炎 14 例、肝硬化 40 例、癌前病变 40 例及肝癌组织 40 例,收集肝硬化经颈静脉肝内门体分流手术(TIPS)患者术前及术后外周血标本各 20 例。免疫组化法及 RT-PCR 法分别检测肝组织中 SSTR 1~5 亚型的蛋白及 mRNA 表达情况。放射免疫法检测外周血及肝组织中 SST 表达量。Western blot 检测肝组织中 COX-2 蛋白表达量。**结果** 约 90% 的癌前病变高表达 SSTR 2、5,且 SSTR 表达分布呈包绕门静脉特征。至少约 60% 的肝癌组织表达 SSTR 2、5 亚型。SSTR 1~5 表达量与 SST 表达量呈正相关。肝硬化患者 TIPS 术后,外周血 SST 水平较术前升高($P<0.05$)。COX-2 在肝硬化组织中表达量最高(约 90%),在癌前病变(约 80%)及肝癌中表达量降低。**结论** 就分子靶点分布情况而言,癌前病变期可能为生长抑素类似物与 COX-2 抑制剂联合用药的最佳时期。而对肝癌组织,缓解门脉高压可能有利于诱导增强 SSTR 在肿瘤组织中的表达。

【关键词】 肝细胞癌 生长抑素 环氧合酶-2 门静脉高压

The Expressions of Somatostatin and Cyclooxygenase-2 in Chronic Hepatitis, Hepatic Cirrhosis, Precancerous Lesion and Hepatocellular Carcinoma XIE Yong-mei¹, LI Xiao², YAN Lyu-nan³, WEI Bing⁴, WANG Chun-hui², TANG Cheng-wei^{2△}. 1. Department of Gastroenterology and Neurology, West China Second University Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Department of Gastroenterology, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 3. Department of Hepatobiliary Surgery, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 4. Department of Pathology, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China

△ Corresponding author, E-mail: shcqedmed@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the expression difference of somatostatin (SST), SST receptors (SSTR) and COX-2 in chronic hepatitis, hepatic cirrhosis, precancerous lesion and hepatocellular Carcinoma, and explore the relationship between portal hypertension and SST/SSTR expressions. **Methods** A series of human liver tissues were obtained from surgery, including normal liver 4 cases, chronic hepatitis 14 cases, hepatic cirrhosis 40 cases, precancerous lesion 40 cases and HCC tissues 40 cases. Peripheral bloods were collected from 20 patients before and after the operation of transjugular intrahepatic portosystemic shunt (TIPS). SSTR 1-5 subtypes in hepatic tissues were detected by immunohistochemical study and RT-PCR. Levels of SST and COX-2 were quantified by radioimmunoassay and Western blot. **Results** 90% of precancerosis expressed high levels of SSTR 2,5 subtypes, and SSTR mainly distributed surrounding portal vein. At least 60% of HCC expressed SSTR 2,5 subtypes, and there were positive correlations between levels of SSTR 1-5 and SST. Levels of SST in peripheral blood of cirrhotic patients significantly increased after TIPS($P<0.05$). Levels of COX-2 were highest in cirrhosis (about 90%), and decreased in precancerosis (about 80%) and HCC tissues. **Conclusions** Precancerosis or early stage of HCC may be the optimum time for synergetic medication of SST analogue and COX-2 inhibitor.

【Key words】 Hepatocellular carcinoma Somatostatin Cyclooxygenase-2 Portal hypertension

生长抑素类似物(somatostatin analogue, SSTA)及选择性环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)抑制剂是两类非细胞毒性抗肿瘤药,二者在

我们前期的体外及体内实验中对肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)细胞株表现出良好的协同抗肿瘤效应^[1-3]。SSTA 相应的临床试验也开展了 10 余年,但结果却富有争议。癌细胞表达生长抑素(somatostatin, SST)受体是 SSTA 有效的基础,但生长抑素及其受体(SST/SSTR)在肝癌患

* 国家自然科学基金(No. 30330270)资助

△ 通讯作者, E-mail: shcqedmed@163.com

者体内的表达情况却不十分清楚,盲目用药导致临床结果不确定。COX-2 抑制剂在体外及体内对 HCC 细胞具有抗肿瘤效应^[4],且也有临床有效个案报道^[5]。因此,进一步探讨 SST/SSTR 及 COX-2 在肝癌发生发展中的表达演变规律,将有利于指导后期的临床试验研究。

我国的很多肝癌患者均经历了以下 5 个病理阶段:正常肝脏、慢性肝炎、肝硬化、癌前病变及肝癌期。其中癌前病变是肝癌进展关键期。肝细胞不典型增生(liver cell dysplasia, LCD)是确认的癌前病变^[6]。受肿瘤内分泌及旁分泌影响, LCD 常分布于 HCC 癌旁区,从癌旁区域收集的 LCD 病灶能很好的代表癌前病变的生物学特性。本研究收集了一系列人体手术标本,包括正常肝、慢性肝炎、肝硬化、癌旁 LCD 灶及 HCC 组织,从而为探讨 SST/SSTR 及 COX-2 在肝癌发生发展过程中的表达演变规律提供了研究模型。

1 材料和方法

1.1 组织标本及血标本

所有人体肝组织标本收集于四川大学华西医院行肝叶切除及肝移植手术的 61 例患者(男/女为 37/24)。获得慢性肝炎组织 14 例、肝硬化组织 40 例、癌旁 LCD 病灶 40 例及 HCC 组织 40 例,所有组织病理诊断经同一病理医生确认。5 例正常肝组织从良性孤立肝病标本最远端获得。20 例肝硬化行经颈静脉肝内门体分流术(TIPS)的患者,收集术前及术后外周血。同时收集 20 例正常志愿者外周血。本研究通过了四川大学华西医院医学伦理委员会审批,并于中国临床试验中心注册(No. ChiCTR-CCS-00000153)。所有患者均被充分告知并签署了同意书。

1.2 主要试剂

RNA 储存液(北京天为时代科技有限公司), RNA 提取试剂(Invitrogen 生物技术有限公司), 特异性引物(上海生物工程有限公司合成), RT-PCR 试剂盒(日本宝生生物公司); SP 9003 三步法免疫组化试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司), 内源性生物素阻断试剂盒(福州迈新生物技术有限公司), SST 1~5 亚型山羊抗人单克隆抗体(美国 Santa Cruz 生物工程公司), 浓缩型 DAB 试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司)。BIO RAD PTC-100 PCR 仪(Bio-Rad Laboratories, CA, USA)。Western blot 试剂(美国 Santa Cruz 生物工程有限

公司), PVDF 膜(Millipore 生物工程有限公司), COX-2 小鼠抗人单克隆抗体(美国 Cayman Chemical 公司), β -actin 小鼠抗人单克隆抗体(武汉博士德生物工程有限公司), HRP 标记的山羊抗小鼠 IgG(北京中杉金桥生物技术有限公司); SST 放免试剂盒(海军放免技术中心, 北京), SN-695B 型智能放免计数仪(上海核所日环光电仪器有限公司)。

1.3 逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)法检测肝组织中 SST 1~5 亚型 mRNA 表达率

新鲜组织于 RNA 储存液中冻存备用; TRIZOL Reagent 提取总 RNA(按试剂盒说明操作); 检测 RNA 完整性及纯度并定量; PCR 仪进行 RT-PCR 反应, 按试剂盒说明进行; SST 1~5 亚型引物序列及 PCR 产物序列、RT 反应条件及 PCR 反应条件见参考文献^[7]。PCR 扩增产物经凝胶电泳后成像。实验同时设立阳性对照及内参照(β -actin)。RT-PCR 产物均经测序鉴定(上海美吉生物), 同源性为 98%~100%^[7]。

1.4 免疫组化法(IHC)检测肝组织中 SST 1~5 亚型蛋白表达情况

10%(体积分数)中性甲醛固定组织, 常规石蜡包埋切片; 脱蜡水化; 高压锅修复 3 min; 阻断内源性生物素(按试剂盒说明操作); 后续按 SP 9003 三步法免疫组化试剂盒说明操作, 其中一抗工作液(SST 1~5 均为 1:300)孵育条件为 4℃过夜; DAB 显影以棕褐色染色为阳性。阳性表达强度以阳性染色积分光密度(IOD)值表示, 在 400 倍放大条件下, 每张切片随机取 5 个视野计数阳性细胞, Image-Pro Plus 4.5 软件定量测定阳性染色 IOD 值, 取均值为该标本 IOD 值; 每高倍镜(400 倍)视野<5 个阳性细胞判断为阴性。实验同时设立阳性对照及空白对照。

1.5 放射免疫法(RIA)定量检测外周血及肝组织中 SST 表达量

新鲜标本-80℃冻存备用; 取组织块 200 mg, 加 2 mL 生理盐水, 100℃煮沸 3 min, 加入 0.1 mol/L 盐酸 0.5 mL, 剪碎后, 超声匀浆; 4℃孵育 1~2 h, 加 0.1 mol/L NaOH 0.5 mL 中和; 4℃低温离心 3 000 r/min×30 min, 取上清液; 考马斯亮蓝法测定蛋白浓度, 蛋白液-20℃冻存待检。所有外周血浆标本亦-80℃冻存备用, 检测时取血浆 2 mL, 除不需捣碎匀浆外, 余处理方法同组织标本。后续放射免疫分析检测按 SST 放免试剂盒操作说

明进行。放免检测分析仪自动绘制标准曲线并计算和打印检测结果。

1.6 Western blot 定量检测肝组织中 COX-2 表达量

提取组织总蛋白(RIPA 方案);考马斯亮蓝法测定并调节蛋白浓度;SDS-PAGE 电泳及半干式电转;封闭缓冲液封闭 PVDF 膜 1 h;一抗工作液(COX2 1 : 500, β -actin 1 : 5 000)4 ℃ 孵育过夜;二抗工作液(HRP 标记的山羊抗小鼠 IgG 1 : 4 000), 37 ℃ 孵育 1 h;TBS 漂洗 10 min $\times$ 3 次;ECL 显影 1~2 min;暗室曝光;冲洗 X 光片;Quantity One-4.3.1 软件测量条带光密度(OD)值。实验同时设立内参照(β -actin)。COX-2 表达量以 COX-2 条带 OD 值/ β -actin 条带 OD 值的比值表示。

1.7 统计学方法

计量数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,计数资料用例数(百分率)表示。计量数据分析采用 t 检验、方差分析、 q 检验及直线相关分析,计数资料分析采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肝癌发生发展过程中 SSTTR 1~5 亚型 mRNA

表 1 肝癌发生发展过程中 SSTTR 1~5 mRNA 的阳性表达情况[例数(%)]
Table 1 Positive rates of SSTTR 1-5 mRNA in sequence of HCC development [case (%)]

Group	<i>n</i>	SSTTR 1	SSTTR 2	SSTTR 3	SSTTR 4	SSTTR 5
Normal liver	5	2 (40.0) *	4 (80.0) *	2 (40.0) *	3 (60.0) *	1 (20.0) *
Chronic hepatitis	14	9 (64.3) *	12 (85.7) *	10 (71.4) *	12 (85.7) *	8 (57.1) *
Cirrhosis	40	32 (80.0) *	36 (90.0) *	28 (70.0) *	37 (92.5)	24 (60.0) *
Precancerous lesion	40	36 (90.0)	39 (97.5)	38 (95.0)	36 (90.0)	37 (92.5)
HCC	40	31 (77.5) *	35 (87.5) *	25 (62.5) *	33 (82.5) *	29 (72.5) *

* $P < 0.05$, vs. precancerous lesion

表 2 肝癌发生发展过程中 SSTTR 1~5 亚型蛋白的阳性表达率[例数(%)]及相对表达量(IOD 值, $\bar{x} \pm s$)
Table 2 Positive rates [case (%)] and relative quantifications (IOD value, $\bar{x} \pm s$) of SSTTR 1-5 proteins in sequence of HCC development

Group	<i>n</i>		SSTTR 1	SSTTR 2	SSTTR 3	SSTTR 4	SSTTR 5
Normal liver	5	Positive rate	1 (20.0)	3 (60.0)	2 (40.0)	2 (40.0)	1 (20.0)
		Expression level	0.13	0.81 $\pm$ 0.06	0.36 $\pm$ 0.01	0.47 $\pm$ 0.02	0.18
Chronic hepatitis	14	Positive rate	7 (50.0)	10 (71.4)	8 (57.1)	9 (64.3)	6 (42.9)
		Expression level	1.46 $\pm$ 0.23	3.69 $\pm$ 0.86	2.81 $\pm$ 0.46	4.41 $\pm$ 0.93	1.02 $\pm$ 0.11
Cirrhosis	40	Positive rate	22 (55.0)	27 (67.5)	21 (52.5)	24 (60.0)	19 (47.5)
		Expression level	2.78 $\pm$ 0.58	5.03 $\pm$ 1.91	3.46 $\pm$ 1.26	5.15 $\pm$ 1.95	1.93 $\pm$ 0.50
Precancerous lesion	40	Positive rate	35 (87.5) ▲	38 (95.0) ▲	34 (85.0) ▲	35 (87.5) ▲	36 (90.0) ▲
		Expression level	24.54 $\pm$ 7.77 ▲	30.07 $\pm$ 7.99 ▲	28.72 $\pm$ 8.70 ▲	23.57 $\pm$ 8.41 ▲	32.56 $\pm$ 9.13 ▲
HCC	40	Positive rate	19 (47.5)	28 (70.0)	20 (50.0)	26 (65.0)	27 (67.5)
		Expression level	5.93 $\pm$ 2.08 *	8.93 $\pm$ 3.29 *	8.20 $\pm$ 3.37 *	9.49 $\pm$ 3.68 *	10.13 $\pm$ 4.59 *

▲ $P < 0.01$, vs. other tissues; * $P < 0.05$, vs. cirrhosis

2.3 肝癌发生发展过程中 SSTTR 表达分布特征

从正常肝脏到肝硬化期, SSTTR 表达缓慢上升,

的表达情况

结果见图 1、表 1。SSTTR 1~5 亚型 mRNA 在 5 种肝脏组织中均有不同程度表达, SSTTR 1~5 mRNA 在癌前病变中表达率最高($P < 0.05$)。

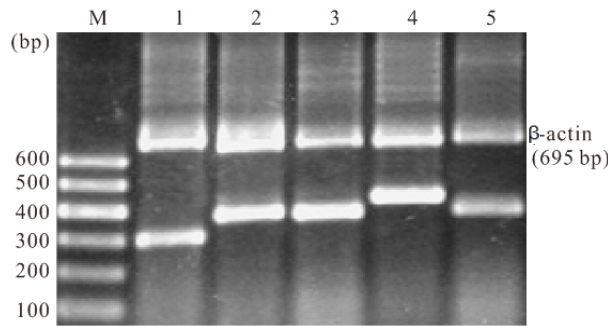


图 1 SSTTR1~5 亚型 RT-PCR 产物

Fig 1 RT-PCR product of human SSTTR 1-5 subtypes

M: Marker; 1: SSTTR 1(303 bp); 2: SSTTR 2(390 bp); 3: SSTTR 3(385 bp); 4: SSTTR 4(433 bp); 5: SSTTR 5(385 bp)

2.2 肝癌发生发展过程中 SSTTR 1~5 亚型蛋白的表达情况

结果见表 2、图 2。SSTTR 1~5 亚型蛋白在癌前病变中表达量最高($P < 0.01$), 在 HCC 中表达量下降,但仍高于肝硬化表达量($P < 0.05$)。

在胞膜及胞内呈不规则散在分布(图 2)。癌前病变中, SSTTR 表达显著上升(图 3A、3B),并呈“包饶门

静脉分布”及“面向门静脉侧胞膜分布”(图 3C、3D)。同时 SST 向胞内的内化现象增加(图 3E)。

2.4 肝癌发生发展过程中 SST 表达量

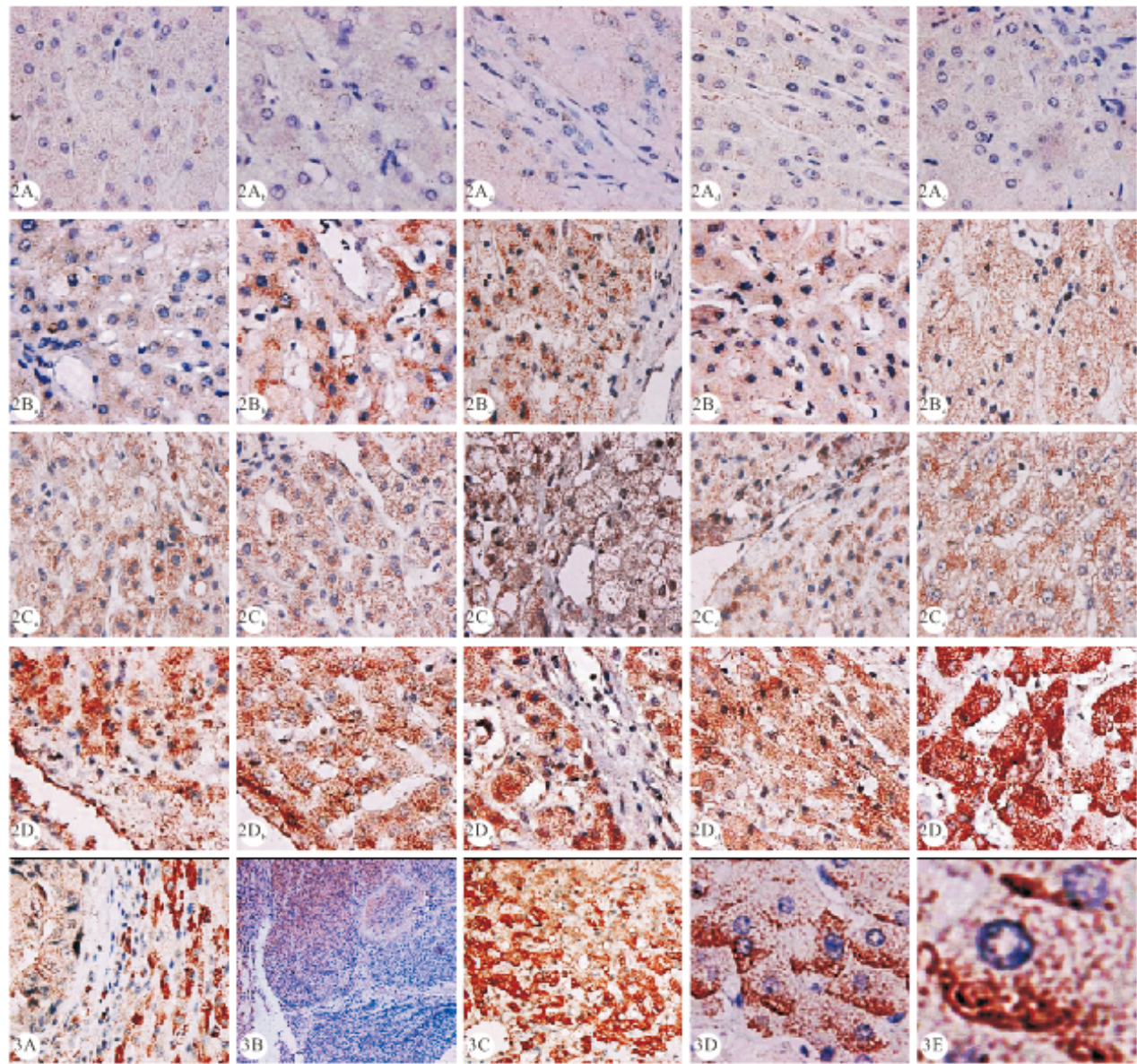


图 2 肝癌发生发展过程中 SST1~5 亚型蛋白的表达情况。SP ×400

Fig 2 SST 1-5 subtypes in sequence of HCC development. SP ×400

2A: Normal liver; 2B: Chronic hepatitis; 2C: Cirrhosis; 2D: Precancerous lesion; a: SST 1; b: SST 2; c: SST 3; d: SST 4; e: SST 5; 3A: Precancerous lesion (right side) is higher than HCC (left side), ×100; 3B: Precancerous lesion (left-upper side) is higher than liver cirrhosis (right-below side), ×10; 3C: In precancerous lesion, region of near portal vein (left-below side) is higher than region of far from portal vein (right-upper side), ×100; 3D: On cytomembrane of precancerous cells, side of facing portal vein (left-below side) is higher than side of deviating portal vein (right-upper side), ×400; 3E: In precancerous cells, internalization of SST markedly increased, ×1 000

2.5 TIPS 术前术后外周血 SST 含量的变化

TIPS 术前,肝硬化患者的外周血 SST 含量 [(75.62±22.60) pg/mg protein] 低于正常人群 [(123.61±27.15) pg/mg protein, $P<0.05$],TIPS

结果见表 3。SST 表达状况与 SSTTR 表达相似。在癌前病变中显著升高,在 HCC 中表达下降, HCC 中 SST 含量低于癌前病变 43% ($P<0.05$)。

图 3 SST 在癌前病变区域的分布特征。SP

Fig 3 Features of SST distribution in precancerous lesion. SP

术后外周血 SST 含量 [(103.78±40.39) pg/mg protein]较术前升高 ($P<0.05$),但仍低于正常人外周血 SST 浓度 ($P<0.05$)。

2.6 肝癌发生发展过程中 COX-2 蛋白的表达量

表 3 肝癌发生发展过程中 SST 蛋白的表达量($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Intrahepatal levels of SST in sequence of HCC development ($\bar{x}\pm s$)

Group	n	SST (pg/mg protein)
Normal liver	5	16.2 $\pm$ 2.4 *
Chronic hepatitis	14	78.3 $\pm$ 14.1 *
Cirrhosis	40	140.6 $\pm$ 30.4 *
Precancerous lesion	40	618.1 $\pm$ 129.6 *
HCC	40	352.8 $\pm$ 74.4

* $P<0.05$, vs. other groups

结果见图 4、表 4。从正常肝脏到肝硬化期, COX-2 表达逐渐上升。而在癌前病变及肝癌中, COX-2 表达量又下降。COX-2 在肝硬化组织中的表达量最高($P<0.05$)。

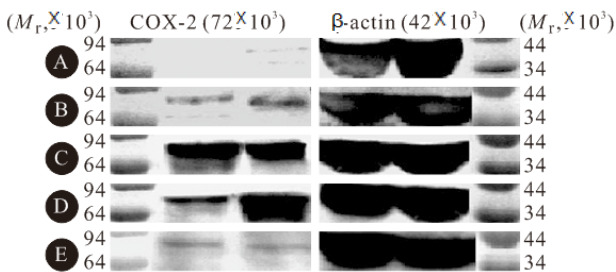


图 4 肝癌发生发展过程中 COX-2 的表达情况(Western blot)

Fig 4 Expressions of COX-2 in sequence of HCC development (Western blot)

A: Normal liver; B: Chronic hepatitis; C: Cirrhosis; D: Precancerous lesion; E: HCC

表 4 肝癌发生发展过程中 COX-2 的阳性表达率[例数(%)]及相对表达量(OD 值, $\bar{x}\pm s$)

Table 4 Positive rates [case (%)] and relative quantifications (OD value, $\bar{x}\pm s$) of COX-2 protein in sequence of HCC development

Group	n	Positive rate	Expression level
Normal liver	5	2 (40.0)	0.081 $\pm$ 0.002
Chronic hepatitis	14	13 (92.9)	0.155 $\pm$ 0.013
Cirrhosis	40	38 (95.0) *	0.290 $\pm$ 0.040 *
Precancerous lesion	40	33 (82.5)	0.200 $\pm$ 0.030
HCC	40	31 (77.5)	0.140 $\pm$ 0.010

* $P<0.05$, vs. other tissues

2.7 肝癌发生发展过程中 SSTR、SST 及 COX-2 表达相关性

结果见图 5。在肝癌发生发展过程中, SSTR 各亚型表达量与 SST 表达量之间呈高度正相关(SSTR 1~5 亚型相关系数分别为: $r=0.899, 0.907, 0.908, 0.928, 0.919, P<0.05$)。SST/SSTR 表达的峰值期在癌前病变期, 而 COX-2 表达峰值期在肝硬化期。SSTR、SST 与 COX-2 的表达之间不具有线性相关性。

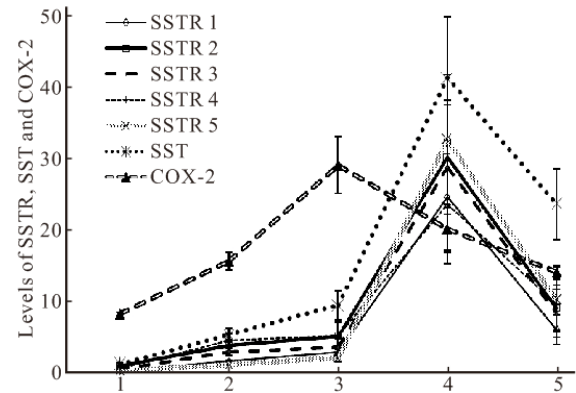


图 5 肝癌发生发展过程中 SSTR 1~5 亚型、SST 及 COX-2 的表达变化

Fig 5 Changes of SSTR 1-5 subtypes, SST and COX-2 in sequence of HCC development

SSTR (IOD value), SST (15 times minified), COX-2 (100 times magnified). 1: Normal liver; 2: Chronic hepatitis; 3: Cirrhosis; 4: Precancerous lesion; 5: HCC

3 讨论

SSTA 及 COX-2 抑制剂是两种非细胞毒性抗肿瘤药, 我们前期已证实二者在体内及体外实验中对肝癌细胞有协同抗肿瘤效应^[1,2]。因此, 后续就需要我们对人体内肝癌发生发展过程中 SST/SSTR 及 COX-2 的表达及演变有更深入的了解。

作为一种非细胞毒性抗肿瘤药, SSTA 主要通过 SSTR 2、5 亚型介导抗增殖效能^[8]。我们前期的研究显示, SSTA 对 HCC 细胞株有良好抗肿瘤作用^[9]。但相应的临床试验却疗效不确定, 进展缓慢^[10]。尽管多数报道显示 SSTA 能缓解症状, 延长生存期^[11], 但也有不能延长生存期的报道^[12]。从慢性肝炎到肝癌, 肝细胞经历了有序到无序增殖、良性到恶性增殖过程。本研究发现, 正常肝组织中 SSTR 呈散在极少量分布, 提示在正常细胞周期中 SST/SSTR 抗增殖机制几乎不启动。而在慢性肝炎及肝硬化组织中, SST/SSTR 表达量缓慢上升, 提示肝细胞代偿性增殖也刺激了抗增殖机制。低量的 SST/SSTR 表达可能是良性增殖的平衡机制。SSTR 的信号途径终止及再循环有赖于 SST/SSTR 复合体向胞内的内化过程^[13]。在癌前病变中, SSTR 不仅在胞膜上表达显著升高, 向胞内内化也全面激活, 这提示此时 90% 的癌前病变组织在全面启动 SST/SSTR 机制抵御细胞恶性增殖。可见 SST/SSTR 也是机体的重要抗肿瘤机制。在癌前病变期, 高量的 SSTR 2、5 亚型表达, 为 SSTA 抑制癌前病变继续进展提供了可能。从分子靶点分布而

言,约 90% 的癌前病变患者适合 SSTA 治疗。当发展到肝癌阶段,SSTR 1~5 mRNA 表达量较癌前病变下降了 10%~30%。但仍至少有约 60% 的 HCC 组织表达 SSTR 2、5。从靶点分布看,约 60% 的 HCC 患者可能适合 SSTA 治疗。但约 30%~40% 的患者为 SSTR 阴性,且进展期 HCC 时 SSTR 表达显著下降,这就有助于解释临床试验疗效不确定的原因。

在癌前病变中,我们发现 SSTR 呈现“包绕门静脉”及“面向门脉侧胞膜分布”现象。近门脉侧的肝组织有更高浓度的 SSTR 表达及内化循环增强,这都提示某种门脉来源的物质诱导了 SSTR 的表达。我们前期的猕猴实验曾证明,小肠分泌的 SST 经门静脉进入肝脏,并多数在门脉系统中被降解^[14],即肝组织中 SST 由门脉运输而来。本研究显示,在各期肝组织中,SSTR 与 SST 的表达呈直线正相关性,这意味着门脉来源的 SST 诱导上调了肝组织中 SSTR 的表达。这提示肝细胞的恶性增殖也刺激了肠道分泌 SST,肠道神经内分泌系统也参与了机体抗癌机制。癌旁的癌前病变组织由门静脉滋养,而 HCC 组织则由肝动脉滋养,这就意味着门脉中 SST 浓度与癌前病变抗癌效应相关,而外周血中 SST 浓度与 HCC 组织的抗癌效应相关。而门脉中 SST 浓度远高于外周血浓度^[14]。这可能是 HCC 组织中 SST/SSTR 表达远低于癌前病变的原因之一。在本研究中,我们收集了肝硬化患者 TIPS 术前及术后的外周血标本,发现外周血 SST 浓度在术后有显著提升。这提示肝硬化门脉高压导致 SST 在门脉水平滞留,加速了 SST 在门脉水平的降解,降低了外周血 SST 水平,这无疑帮助了肿瘤细胞逃脱抗增殖机制。因此,缓解门脉高压可能有利于改善 SST 抗肿瘤效应。同时,我们发现,尽管有些 HCC 组织不表达 SSTR,但其癌旁的癌前病变却表达 SSTR,这也为 SSTA 延缓 HCC 进展提供了靶点。这就可以解释为什么 SSTA 能使部分患者缓解症状,改善生活质量,而生存期并无延长^[15]。

COX-2 与慢性炎症诱导癌变之间的关联性早已在多种肿瘤中得以证实^[16]。体外及体内实验显示 COX-2 抑制剂对 HCC 细胞有良好的抑制增殖及诱导凋亡效能^[17],且已有临床有效的个案报道^[5]。本研究结果显示,在正常肝脏向肝硬化发展的过程中,COX-2 的表达逐步上升,这显然是慢性炎症诱导累积的结果。COX-2 在肝硬化组织中的峰值表达,提示 COX-2 可能参与诱导肝硬化癌变。但在癌

前病变及 HCC 组织中,COX-2 反而下降,这可能是慢性炎症癌变的一个重要信号。有报道显示,COX-2 的表达与细胞分化程度相关,高分化 HCC 组织较低分化者有更高量的 COX-2 表达^[18]。这与我们此次的检测结果相吻合,即从肝硬化向肝癌的发展过程中,COX-2 的表达量反向降低。因此,COX-2 可能与诱导早期肿瘤的形成相关,而在肿瘤进展期表达下调。这就不支持肿瘤产物上调 COX-2 的假说^[19]。至于为什么 HCC 中 COX-2 表达会下调则值得进一步研究。可见,COX-2 抑制剂的最佳抗癌阶段应在癌前病变或早癌期,对进展期肝癌疗效下降。

既往资料显示,多位点的联合用药有利于增强抗肿瘤药物疗效。我们前期的实验显示,SSTA 与 COX-2 抑制剂有协同抗肿瘤效应^[1,20]。COX-2 和 SST 能作用于细胞增殖信号途径的不同环节,COX-2 与 SST 在信号通路上的某些联系已有报道,如 SST/SSTR 促进花生四烯酸释放^[21],而 COX-2 诱导花生四烯酸降解,COX-2 抑制剂则降低花生四烯酸降解,从而增强了 SST/SSTR 的生物学活性。这些信号通路上的联系就解释了它们在 HCC 治疗上的协同作用。因此,联合用药可能在患者身上取得更好的疗效。本研究结果显示,在肝硬化向癌前病变发展的过程中,COX-2 表达下降,而 SSTR 表达上调,而到 HCC 期,COX-2 和 SSTR 均显著下降。因此,二者联合用药的最佳时期是癌前病变或早癌期。尽管 HCC 组织中的分子靶点有明显下降,但仍有相当量的 SSTR 和 COX-2 表达,这也为治疗提供了基础。但可惜的是,越到肿瘤晚期,可能抗肿瘤效应越差。

根据分子靶点分布情况看,对癌前病变或早癌状态患者,可能 90% 的患者对 SSTA 治疗敏感,约 80% 的患者可能对 COX-2 抑制剂敏感。而对进展期肝癌而言,SSTA 和 COX-2 抑制剂疗效都可能降低,SSTA 可能仅对约 60% 的 HCC 患者有效,缓解门脉高压可能有利于改善 SSTA 疗效。癌前病变或早癌期可能是 SSTA 与 COX-2 抑制剂联合用药的最佳时机。

参 考 文 献

- 1 Xie Y, Chen S, Wang CH, *et al.* SOM230 combined with celecoxib prolongs the survival in nude mice with HepG-2 xenografts. *Cancer Biol Ther*,2011;12(1):86-92.
- 2 Wang CH, Zheng WB, Qiang O, *et al.* Effects of non-cytotoxic drugs on the growth of multidrug-resistance human

- gastric carcinoma cell line. *J Dig Dis*,2009;10(2):91-98.
- 3 Borbath I, Leclercq IA, Sempoux C, *et al*. Efficacy of lanreotide in preventing the occurrence of chemically induced hepatocellular carcinoma in rats. *Chem Biol Interact*,2010;183(1):238-248.
- 4 Hossain MA, Kim DH, Jang JY, *et al*. Aspirin enhances doxorubicin-induced apoptosis and reduces tumor growth in human hepatocellular carcinoma cells *in vitro* and *in vivo*. *Int J Oncol*,2012;40(5):1636-1642.
- 5 Song HJ, Kim YS, Han CH, *et al*. A case of complete regression of hepatocellular carcinoma during administration of COX-2 inhibitor. *Korean J Hepatol*,2006;12(3):449-454.
- 6 Roncalli M, Borzio M, Di Tommaso L. Hepatocellular dysplastic nodules. *Ann Ital Chir*,2008;79(2):81-89.
- 7 谢咏梅, 严律南, 魏 兵等. 原发性肝癌患者肿瘤组织生长抑素受体表达与血 AFP 水平的相关性. *癌症*,2007;26(7):688-692.
- 8 War SA, Somvanshi RK, Kumar U. Somatostatin receptor-3 mediated intracellular signaling and apoptosis is regulated by its cytoplasmic terminal. *Biochim Biophys Acta*,2011;1813(3):390-402.
- 9 Borbath I, Leclercq IA, Sempoux C, *et al*. Efficacy of lanreotide in preventing the occurrence of chemically induced hepatocellular carcinoma in rats. *Chem Biol Interact*,2010;183(1):238-248.
- 10 Ji XQ, Ruan XJ, Chen H, *et al*. Somatostatin analogues in advanced hepatocellular carcinoma: an updated systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Med Sci Monit*,2011;17(8):RA169-RA176.
- 11 Borbath I, Lhommel R, Guiot Y, *et al*. Lanreotide treatment of metastatic hepatocellular carcinoma resulting in partial regression and more than 3 years of progression-free survival. *Acta Gastroenterol Belg*,2012;75(2):270-273.
- 12 Shah U, O'Neil B, Allen J, *et al*. A phase II study of long-acting octreotide in patients with advanced hepatocellular carcinoma and CLIP score of 3 or higher. *Gastrointest Cancer Res*,2009;3(2):45-48.
- 13 Patel RC, Kumar U, Lamb DC, *et al*. Ligand binding to somatostatin receptors induces receptor-specific oligomer formation in live cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*,2002;99(5):3294-3299.
- 14 郭梅梅, 谭庆华, 范 华等. 猕猴发育过程中肠肝组织生长抑素及其受体表达演变规律. *生理学报*,2005;57(6):719-724.
- 15 Samonakis DN, Notas G, Christodoulakis N, *et al*. Mechanisms of action and resistance of somatostatin analogues for the treatment of hepatocellular carcinoma: a message not well taken. *Dig Dis Sci*,2008;53(9):2359-2365.
- 16 Ma D, Liu M, Wang AP, *et al*. Cyclooxygenase-2 is essential for the survival and proliferation of gastric cancer cells. *Cell Biochem Biophys*,2011;61(3):637-641.
- 17 Kern MA, Schubert D, Sahi D, *et al*. Proapoptotic and antiproliferative potential of selective cyclooxygenase-2 inhibitors in human liver tumor cells. *Hepatology*,2002;36(4 Pt 1):885-894.
- 18 Fernández-Alvarez A, Llorente-Izquierdo C, Mayoral R, *et al*. Evaluation of epigenetic modulation of cyclooxygenase-2 as a prognostic marker for hepatocellular carcinoma. *Oncogenesis*, 2012;1(7): e23. doi: 10.1038/oncsis.2012.23.
- 19 Qiu DK, Ma X, Peng YS, *et al*. Significance of cyclooxygenase-2 expression in human primary hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol*,2002;8(5):815-817.
- 20 Tong H, Li X, Zhang CL, *et al*. Octreotide and celecoxib synergistically encapsulate VX2 hepatic allografts following transcatheter arterial embolisation. *Exp Ther Med*,2013;5(3):777-7782.
- 21 Alderton F, Fan TP, Humphrey PP. Somatostatin receptor-mediated arachidonic acid mobilization: evidence for partial agonism of synthetic peptides. *Br J Pharmacol*,2001;132(3):760-766.

(2014-11-13 收稿, 2015-03-03 修回)

编辑 余 琳