

· 论 著 ·

人脑胶质瘤中 12-脂氧合酶的表达及其临床意义

杜安民, 靳向前

湛江市第一中医医院神经外科, 广东 湛江 524043

摘要: **目的** 探讨人脑胶质瘤中 12-脂氧合酶(12-LOX)的表达及与病理、临床特征等的关系。**方法** 选取 2011 年 2 月至 2015 年 10 月首次手术治疗的 30 例脑胶质瘤患者(脑胶质瘤组)为研究对象,以行颅内减压术的患者 20 例为对照组;对胶质瘤组手术切除的瘤体组织和对照组颅内减压术获得的正常脑组织,采用免疫组化方法检测和对比 12-LOX 的表达,分析其表达和胶质瘤患者病理及临床特征的关系。**结果** (1)30 例胶质瘤患者标本中,23 例(76.7%)呈现 12-LOX 的强阳性表达,7 例为弱阳性;而 20 例对照组患者正常脑组织均为弱阳性表达;两者强阳性表达率差异有统计学意义($P < 0.01$)。(2)脑胶质瘤患者的性别、年龄、病灶直径、反映肿瘤患者功能状态的 KPS 评分均与 12-LOX 的表达无显著关联($P > 0.05$);12-LOX 的表达与胶质瘤病理级别相关,随着恶性程度升高,12-LOX 的强阳性率表现出递增趋势($P < 0.01$)。(3)弱阳性表达 12-LOX 的脑胶质瘤患者其生存率显著高于强阳性表达患者($P < 0.01$)。**结论** 脑胶质瘤组织存在异常 12-LOX 高表达,脑胶质瘤患者 12-LOX 表达和病理分级关系密切,与患者预后相关。

关键词: 脑胶质瘤; 12-脂氧合酶; 病理级别; 免疫组织化学

中图分类号: R 730.264 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2016)10-1319-04

Expression and its clinical significance of 12-lipoxygenase in human brain glioma

DU An-min, JIN Xiang-qian

Department of Neurosurgery, First Traditional Chinese Medicine Hospital of Zhanjiang, Zhanjiang, Guangdong 524043, China

Abstract: **Objective** To investigate the expression of 12-lipoxygenase (12-LOX) in human brain glioma and its association with clinical and pathological characteristics. **Methods** Thirty brain glioma patients of first surgical treatment between February 2011 and October 2015 were served as research objects (brain glioma group), and 20 patients with normal brain tissues who underwent intracranial decompression operation were served as control group. Immunohistochemical method was used to detect the expressions of 12-LOX in tumor tissues of brain glioma patients from surgical excision, and in normal brain tissues of control patients obtained from intracranial decompression operation. The correlation of expressions of 12-LOX with clinical and pathological characteristics of brain glioma patients was analyzed. **Results** Out of 30 samples of brain glioma patients, 23 (76.7%) presented strong positive expressions of 12-LOX, and 7 presented weakly positive expressions, while its expressions in the normal brain tissues of 20 patients of control group were all weakly positive expressions. There was significant difference in strong positive expression rates between two groups ($P < 0.01$). The gender and age of patients, lesion diameter, KPS score reflecting the functional status of tumor patients were not significantly correlated with 12-LOX expression (all $P > 0.05$). 12-LOX expression was correlated with pathological grade of brain glioma, and its strong positive rate presented increasing trend with the increase of degree of malignancy ($P < 0.05$). The survival rate in patients with weakly positive expression of 12-LOX was significantly higher than that in patients with strong positive expression of 12-LOX ($P < 0.01$). **Conclusions** There is abnormal high-expression of 12-LOX in brain glioma tissues. 12-LOX expression is closely correlated with the pathological grade of brain glioma and the patients' prognosis.

Key words: Brain glioma; 12-lipoxygenase; Pathological grade; Immunohistochemistry

人脑胶质瘤为颅内最常见肿瘤,治疗方案包括手术和放疗、化疗等,手术仍是主要手段^[1]。胶质瘤的

高增殖和侵袭性常导致手术效果不佳,很多患者在术后较短时间内出现病灶复发,其预后不良,存在较高的病死率和复发率。提高脑胶质瘤的疗效为目前临床脑外科医生亟待解决的难题。脂氧合酶(LOX)为一类与花生四烯酸等多不饱和脂肪酸代谢相关的酶

类,和免疫及炎症反应相关^[2]。12-LOX 为其中一个亚型,其活化和抑瘤及促瘤作用的发挥有关^[3],和卵巢癌、前列腺癌等癌细胞增殖与凋亡存在密切关系,研究认为,肿瘤瘤体组织中 12-LOX 的阳性表达和患者预后密切相关^[4-5]。但关于脑胶质瘤中 12-LOX 的表达相关报道较少,12-LOX 与胶质瘤的相关关系尚不明确。我们通过对脑胶质瘤组织进行免疫组化检测 12-LOX 的表达,结合患者的病理临床特征及预后资料,分析 12-LOX 在人脑胶质瘤中的表达情况及与患者的病理、临床特征、预后的相关性,以期为该患者的治疗及预后判定提供一定的参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 以我院 2011 年 2 月至 2015 年 10 月期间首次手术治疗的 30 例脑胶质瘤患者为研究对象,其中女 13 例,男 17 例;年龄 26~74(45.7±5.4)岁;所有患者均为第一次就诊,均予以手术治疗,术前均未行放、化疗等。病理分级根据 WHO 相关标准(2007 年)^[6]:18 例为低度恶性胶质瘤(I/II 级),包括 13 例 II 级和 5 例 I 级;12 例为高度恶性(III/IV 级),包括 7 例 IV 级与 5 例 III 级。选择在我院行颅内减压术的患者 20 例为对照组,其中 6 例女性,14 例男性;年龄 28~65(42.3±4.7)岁。两组患者的性别、年龄比较无统计学差异(P 均>0.05)。本研究得到我院伦理委员会同意,所有研究对象都签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 试剂 Abcam 公司(英国)的 12-LOX 鼠抗人单克隆抗体,中杉金桥公司(北京)提供的 DAB 试剂盒、兔抗山羊二抗试剂盒(免疫组织化学法)。

1.2.2 免疫组织化学染色 以胶质瘤组 30 例脑胶质瘤患者手术切除已经确诊的胶质瘤组织和对照组行颅内减压术中获得的正常脑组织为实验对象。免疫组织化学法均根据试剂盒说明书严格进行操作,获得 10 个高倍镜视野(随机)进行计数($\times 400$),阳性细胞百分比计分判定:4 分,阳性细胞数在 76%~100%;3 分,在 51%~75%;2 分,26%~50%;1 分,5%~25%;<5%即为 0 分。阳性着色强度的判定:3 分,棕褐色;2 分,棕黄色;1 分,淡黄色;0 分,无色。两种计数相加:5~6 分为(+++);3~4 分为(++);2 分为(+);0 分为阴性(-)。其中 3~6 分表示强阳性表达;1~2 分表示弱阳性表达。

1.2.3 随访 患者术后第 1 天作为随访开始,2015 年 10 月底为截止日期。主要方式为门诊复查,未及复诊患者电话通知复诊。随访包括患者一般情况、

神经功能评估、全身体格检查及头颅 MRI 等影像学检查。并对患者手术前后的各个时间段进行反映肿瘤患者功能状态的 KPS 评分,对患者生存情况、病情或死亡原因进行记录。

1.3 统计学方法 采取 SPSS 18.0 统计软件处理分析数据。定性数据应用 χ^2 检验及 Fisher 确切概率法;生存分析采取 Kaplan-Meier 法,不同组生存率比较采取 Log-rank 检验。取 $\alpha = 0.05$ 为检验水准。

2 结果

2.1 正常脑组织及神经胶质瘤中 12-LOX 的表达

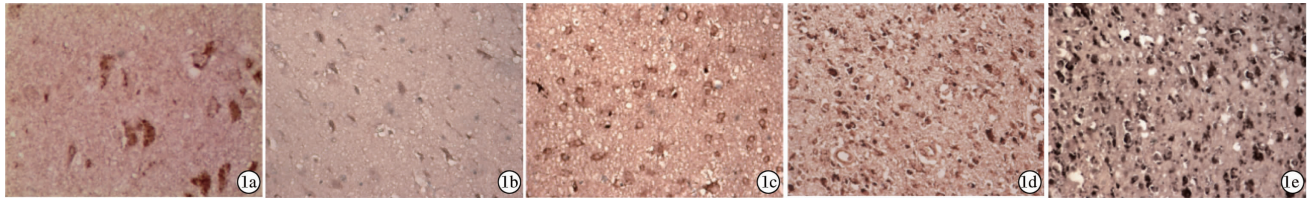
30 例患者标本中,23 例(76.7%)胶质瘤组织呈现出 12-LOX 强阳性表达,7 例(23.3%)为弱阳性;而 20 例对照组患者正常脑组织均呈现弱阳性表达,无一例强阳性表达;两者强阳性表达率差异有统计学意义($P < 0.01$)。见图 1。

2.2 脑胶质瘤患者 12-LOX 表达和病理及临床特征的关系 脑胶质瘤患者的性别、年龄、病灶直径、反映肿瘤患者功能状态的 KPS 评分均与 12-LOX 的表达无显著关联(P 均>0.05);12-LOX 的表达与病理级别相关,随着恶性程度升高,12-LOX 的强阳性率表现出递增趋势($P < 0.01$)。见表 1。

2.3 脑胶质瘤患者 12-LOX 的表达和无瘤生存期的关系 本研究 30 例患者均获得随访,其中位随访时间 29 个月。其中 23 例强阳性表达 12-LOX 患者中位无瘤生存的时间 15 个月;7 例弱阳性表达 12-LOX 患者中位生存时间 27 个月;两组之间生存率比较,经 Log-rank 检验发现,存在显著统计学差异($\chi^2 = 12.730, P < 0.01$)。见图 2。

表 1 12-LOX 表达和临床及病理特征的关系 (例)

临床及病理特征	例数	12-LOX 表达		χ^2 值	P 值
		强阳性	弱阳性		
性别					
男性	17	12	5	0.910	0.340
女性	13	11	2		
年龄(岁)					
>50	19	13	6	3.241	0.278
≤50	11	10	1		
肿瘤直径(cm)					
≤3	14	9	5	1.290	0.256
>3	16	14	2		
KPS 评分					
>80 分	8	6	2	0.078	0.780
<80 分	22	17	5		
病理分级					
I	5	2	3	12.744	0.007
II	13	10	3		
III	5	4	1		
IV	7	7	0		



注:1a:正常脑组织;1b~1e:均为神经胶质瘤组织,病理分级分别为 I 级、II 级、III 级、IV 级。

图 1 12-LOX 在正常脑组织及不同病理级别神经胶质瘤组织的表达(免疫组化染色, ×400)

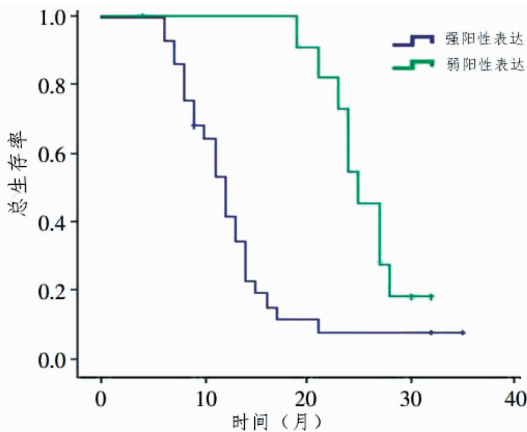


图 2 12-LOX 弱阳性与强阳性表达胶质瘤病人生存曲线

3 讨论

LOX 存在四种亚型:15-、12-、8-、5-LOX, 而 12-LOX 又包括 12R-、12S-LOX。12-LOX 可通过催化亚油酸、花生四烯酸等的代谢参与细胞的新陈代谢、信号转导等过程^[7]。相关研究在动物模型的淋巴结中发现了 12-LOX 的存在, 并认为其与前列腺癌的新生血管形成关系密切, 对肿瘤的生长具有诱导作用^[8-9]。Piotrowska 等^[10]的研究发现, 12-LOX 在前列腺癌中呈现高表达, 而前列腺正常组织中未见到明显表达, 提示增加的 12-LOX 表达和前列腺肿瘤细胞的侵袭、增殖有关。也有研究发现, 正常胰腺组织无 12-LOX 的表达, 而在多种胰腺癌细胞系, 包括 ASPC-1、Capan2、MiaPaca2、PANC-1 均存在 12-LOX 的高表达, 表明 12-LOX 的表达与胰腺肿瘤细胞的增殖密切相关。

近期较多的研究均显示, 神经元细胞中存在 12-LOX 的表达, 其可通过对谷胱甘肽的消耗及形成谷氨酸等神经毒性物质从而引发脑细胞的凋亡^[11], 表明 12-LOX 与神经胶质细胞及神经元等的新陈代谢关系密切, 其上调的表达与神经元异常情况相关。本研究对 30 例胶质瘤患者的瘤体组织标本进行免疫组化检测发现, 23 例 (76.7%) 胶质瘤标本呈现出 12-LOX 强阳性表达, 而 20 例正常脑组织中表达均为弱阳性, 提示正常脑组织中存在 12-LOX 的表达, 但表达强度均为弱阳性, 在消除切片差异、实验条件等可

能影响因素后, 其表达强度显著低于胶质瘤组织, 表明在胶质瘤组织中出现了 12-LOX 表达的上调。相关报道显示, 黄芩素作为一种特异性的 12-LOX 拮抗剂可以对脑胶质瘤细胞系 U87 的侵袭及增殖进行抑制^[12], 提示脑胶质瘤中 12-LOX 表达的上调与胶质瘤的浸润、侵袭过程关系密切。

Gao 等^[13]的研究中, 前列腺癌组织中存在 12-LOX 的高表达, 并且表达强度与肿瘤的病理分级显著相关。龚镭等^[14]研究中, 胰腺癌组织中 12-LOX 高表达和其病理级别的高低呈现正相关。本研究中, 12-LOX 在胶质瘤的高表达和肿瘤直径、性别、年龄、KPS 评分均无有明显关系, 而随着胶质瘤组织病理级别的增加 12-LOX 表达也随之上调, 两者之间表现出正相关关系。对患者的术后随访中, 12-LOX 表达为弱阳性的患者其中位生存时间显著高于存在 12-LOX 高表达的患者, 提示高表达的 12-LOX 严重影响患者预后, 与 Pidgeon 等^[15]的报道一致, 其机制和 12-LOX 通过促进胶质瘤中新生血管形成、胶质瘤细胞浸润、增殖等有关。

综上所述, 本研究检测脑正常组织与胶质瘤组织中 12-LOX 的表达, 发现脑胶质瘤组织中存在异常的 12-LOX 高表达, 而正常脑组织仅为低表达。脑胶质瘤患者 12-LOX 的表达和病理分级关系密切, 和患者预后相关。

参考文献

- [1] Yeh CN, Chiang KC, Juang HH, et al. Reappraisal of the therapeutic role of celecoxib in cholangiocarcinoma [J]. PloS One, 2013, 8 (7): e69928.
- [2] Hill R, Li Y, Tran LM, et al. Cell intrinsic role of COX-2 in pancreatic cancer development [J]. Mol Cancer Ther, 2012, 11 (10): 2127-2137.
- [3] 王嘉, 李晓明, 徐鸥, 等. 磷脂酶参与的花生四烯酸 12-LOX 代谢通路在喉鳞状细胞癌中的作用及临床意义 [J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2013, 27 (24): 1355-1359.
- [4] Xu XM, Yuan GJ, Deng JJ, et al. Inhibition of 12-lipoxygenase reduces proliferation and induces apoptosis of hepatocellular carcinoma cells in vitro and in vivo [J]. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2012, 11 (2): 193-202.
- [5] Guo AM, Liu X, Al-Wahab Z, et al. Role of 12-lipoxygenase in regu-

- lation of ovarian cancer cell proliferation and survival [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2011, 68 (5) : 1273 - 1283.
- [6] Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, et al. The 2007 WHO classification of tumors of the central nervous system [J]. *Acta Neuropathol*, 2007, 114 (2) : 97 - 109.
- [7] Porro B, Songia P, Squellerio I, et al. Analysis, physiological and clinical significance of 12-HETE: A neglected platelet-derived 12-lipoxygenase product [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2014, 964 : 26 - 40.
- [8] Krishnamoorthy S, Jin R, Cai Y, et al. 12-Lipoxygenase and the regulation of hypoxia-inducible factor in prostate cancer cells [J]. *Exp Cell Res*, 2010, 316 (10) : 1706 - 1715.
- [9] Dilly AK, Ekamparam P, Guo Y, et al. Platelet-type 12-lipoxygenase induces MMP9 expression and cellular invasion via activation of PI3K/Akt/NF- κ B [J]. *Int J Cancer*, 2013, 133 (8) : 1784 - 1791.
- [10] Piotrowska M, Szeffel J, Skrzypczak-Jankun E, et al. The concentration of 12-lipoxygenase in platelet rich plasma as an indication of cancer of the prostate [J]. *Contemp Oncol (Pozn)*, 2013, 17 (4) : 389 - 393.
- [11] Higuchi Y, Tani H, Koriyama Y, et al. Arachidonic acid promotes glutamate-induced cell death associated with necrosis by 12-lipoxygenase activation in glioma cells [J]. *Life Sci*, 2007, 80 (20) : 1856 - 1864.
- [12] Chiu WT, Shen SC, Chow JM, et al. Contribution of reactive oxygen species to migration/invasion of human glioblastoma cells U87 via ERK-dependent COX - 2/PGE (2) activation [J]. *Neurobiol Dis*, 2010, 37 (1) : 118 - 129.
- [13] Gao X, Grignon DJ, Chbihi T, et al. Elevated 12-lipoxygenase mRNA expression correlates with advanced stage and poor differentiation of human prostate cancer [J]. *Urology*, 1995, 46 (2) : 227 - 237.
- [14] 龚镭, 胥明, 彭晓斌, 等. 12-脂氧合酶在胰腺癌中的表达及其临床意义 [J]. *中华胰腺病杂志*, 2011, 11 (6) : 410 - 412.
- [15] Pidgeon GP, Lysaght J, Krishnamoorthy S, et al. Lipoxygenase metabolism: roles in tumor progression and survival [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2007, 26 (3/4) : 503 - 524.

收稿日期: 2016 - 05 - 04 修回日期: 2016 - 06 - 14 编辑: 王海琴

(上接第 1318 页)

- [8] Klesney-Tait J, Turnbull IR, Colonna M. The TREM receptor family and signal integration [J]. *Nat Immunol*, 2006, 7 (12) : 1266 - 1273.
- [9] Bouchon A, Dietrich J, Colonna M. Cutting edge: inflammatory responses can be triggered by TREM-1, a novel receptor expressed on neutrophils and monocytes [J]. *J Immunol*, 2000, 164 (10) : 4991 - 4995.
- [10] Roe K, Gibot S, Verma S. Triggering receptor expressed on myeloid cells-1 (TREM-1): a new player in antiviral immunity? [J]. *Front Microbiol*, 2014, 5 : 627.
- [11] Radaev S, Kattah M, Rostro B, et al. Crystal structure of the human myeloid cell activating receptor TREM-1 [J]. *Structure*, 2003, 11 (12) : 1527 - 1535.
- [12] Ford JW, McVicar DW. TREM and TREM-like receptors in inflammation and disease [J]. *Curr Opin Immunol*, 2009, 21 (1) : 38 - 46.
- [13] 韩美玲, 陈绍平, 贾钦尧, 等. 可溶性髓样细胞触发受体-1 在胸腔积液中的应用分析 [J]. *世界最新医学信息文摘*, 2016, 16 (36) : 28 - 30.
- [14] Hyder LA, Gonzalez J, Harden JL, et al. TREM-1 as a Potential Therapeutic Target in Psoriasis [J]. *J Invest Dermatol*, 2013, 133 (7) : 1742 - 1751.
- [15] Rohde G, Radsak MP, Borg I, et al. Levels of soluble triggering receptor expressed on myeloid cells 1 in infectious exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Respiration*, 2012, 83 (2) : 133 - 139.
- [16] 李新胜. 慢性阻塞性肺疾病患者血浆可溶性髓样细胞触发受体-1、白三烯 B4 测定及临床意义 [D]. 南充: 川北医学院, 2014.
- [17] 刘尧, 钟发平, 裴文军, 等. sTREM-1 在 AECOPD 患者治疗及疗效评估中的临床价值研究 [J]. *中国医师杂志*, 2015, 17 (9) : 1331 - 1334.
- [18] 廖敏, 李志英. COPD 患者血清 sTREM-1、IL-17 水平的变化及意义 [J]. *山东医药*, 2015, 55 (37) : 53 - 54.
- [19] Gómez-Piña V, Soares-Schanoski A, Rodríguez-Rojas A, et al. Metalloproteinases shed TREM-1 ectodomain from lipopolysaccharide-stimulated human monocytes [J]. *J Immunol*, 2007, 179 (6) : 4065-4073.
- [20] Fu JJ, McDonald VM, Baines KJ, et al. Airway IL-1 β and Systemic Inflammation as Predictors of Future Exacerbation Risk in Asthma and COPD [J]. *Chest*, 2015, 148 (3) : 618 - 629.
- [21] 洪原城, 黄鑫城, 范洪涛, 等. 慢性阻塞性肺疾病合并意识障碍患者血清 INF- γ 、IL-1 β 、NO 水平变化的临床意义 [J]. *川北医学院学报*, 2014, 29 (6) : 583 - 585.
- [22] Churg A, Zhou S, Wang X, et al. The role of interleukin-1beta in murine cigarette smoke-induced emphysema and small airway remodeling [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2009, 40 (4) : 482 - 490.
- [23] Salomão R, Martins PS, Brunialti MK, et al. TLR signaling pathway in patients with sepsis [J]. *Shock*, 2008, 30 Suppl 1 : 73 - 77.

收稿日期: 2016 - 06 - 16 修回日期: 2016 - 07 - 12 编辑: 周永彬