

VEGF 及其受体在小细胞肺癌患者组织中的表达及意义

Expressions of VEGF and Its Receptor in Small Cell Lung Cancer Tissues and Their Significance

LV Li-li, ZHANG Hui-dan, LIU Li-li

吕立丽, 张会丹, 刘丽丽

(唐山市人民医院, 河北 唐山 063000)

摘要: [目的] 研究小细胞肺癌患者(SCLC)癌组织血管内皮生长因子(VEGF)及其受体 VEGFR-3 的表达与 SCLC 生物学特性之间的关系。[方法] 免疫组化(SP法)分别检测 SCLC 患者癌组织中 VEGF 及其受体 VEGFR-3 的表达。[结果] 有淋巴结转移患者癌组织 VEGF 及 VEGFR-3 的表达均高于无淋巴结转移组(P 均 <0.05)。广泛期 SCLC 患者组织 VEGF 及 VEGFR-3 的表达均高于局限期(P 均 <0.05)。[结论] 在 SCLC 患者中, 癌组织 VEGF 及 VEGFR-3 的表达与淋巴结转移及分期相关。

关键词: 小细胞肺癌; 血管内皮生长因子; 受体; 血管内皮生长因子

中图分类号: R733 **文献标识码:** B

文章编号: 1671-170X(2014)07-0601-02

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2014.07.B017

血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 是目前已知的作用最强的促血管生成因子之一, 对肿瘤血管生成及血管通透性增加有重要的调节作用, 能特异性地促进细胞分裂、增殖及迁移, 在肿瘤的发生、发展、侵袭过程中起着至关重要的作用。以往研究表明, VEGF 在组织的高表达与肿瘤转移和复发密切相关^[1-4]。血管内皮细胞生长因子受体(VEGFR)是与 VEGF 有高度亲和力的Ⅲ型酪氨酸激酶受体, 主要存在于血管内皮细胞。VEGF 受体家族包括 VEGFR-1、VEGFR-2 和 VEGFR-3^[5], 均是脉管系统发生和维持的关键调节物。VEGFR-3 在胚胎、心血管发生和成年机体淋巴管生成的过程中发挥双重调节作用。在成人体内, VEGFR-3 则绝大部分局限于淋巴管内皮, 与淋巴管新生有关^[6,7], 是淋巴管内皮细胞和新生淋巴管的特异性标志物。但关于 VEGF 及 VEGFR-3 表达与小细胞肺癌 (small cell lung cancer, SCLC) 的研究报道较少。我们通过免疫组化法检测 SCLC 患者病变组织中 VEGF 及 VEGFR-3 的表达, 探讨 SCLC 患者病变组织 VEGF 及 VEGFR-3 的表达与淋巴结转移情况及分期的关系, 旨在揭示其与 SCLC 发展的相关性。

1 资料与方法

1.1 对象

收集 2009 年 3 月至 2011 年 3 月唐山市肿瘤医院未经

任何治疗的 SCLC 患者 40 例, 其中男性 31 例, 女性 9 例, 年龄 40~72 岁, 平均年龄 58 岁。以上患者均由纤维支气管镜直视下采取病理组织样本进行病理确诊, SCLC 分期依据美国联合癌症分类委员会(AJCC)建议的分期标准: 局限期(limited disease-small cell lung cancer, LD-SCLC) 和广泛期(extensive disease-small cell lung cancer, ED-SCLC)。局限期指 SCLC 局限于同侧胸腔、纵隔和锁骨上, 但不能有明显上腔静脉压迫、声带麻痹和胸腔积液; 广泛期是指病变超越了上述范围。为了明确疾病的分期, 40 例 SCLC 患者都进行了如下的检查: 体格检查、头胸部腹部肾上腺 CT、脑 MRI、纤维支气管镜检查、骨扫描、PET-CT 扫描、胸腔心包积液细胞学检查、纵隔镜、骨髓活检/骨穿。所有患者术前均未接受过化疗或放疗治疗。VEGF 免疫组化抗体为兔抗人抗体, 由北京中杉金桥生物技术有限公司提供。

1.2 方法

免疫组化染色: 待检测标本统一切成 4 μ m 厚石蜡切片, 提取组织细胞, 按试剂盒说明进行免疫组织化学 (SP 法) 染色。步骤如下: 石蜡切片脱蜡至水, 蒸馏水冲洗, PBS 缓冲液浸泡 5min, 抗原热修复。3% H_2O_2 室温孵育 5~10min, 以消除内源性过氧化物酶的活性, PBS 冲洗, 2min $\times$ 3 次。滴加一抗工作液 VEGF, 4 $^{\circ}$ C 过夜。PBS 冲洗, 2min $\times$ 3 次。滴加试剂 1 (polymer helper), 室温孵育 20min, PBS 冲洗, 2min $\times$ 3 次。滴加试剂 2 (poly peroxidase-anti-mouse/rabbit IgG), 室温孵育 20~30min, PBS 冲洗, 2min $\times$ 3 次。显色剂 DAB 显色。自来水充分冲洗, HE 复染, 脱水透明, 封片。

结果判定: VEGF、VEGFR-3 两种蛋白均表达于癌细胞胞浆, 呈棕黄色颗粒; 计数 5 个不同高倍视野下 200 个癌细胞, 根据细胞染色的肿瘤细胞占肿瘤细胞总数的百分比, 读出结果, 再取平均值。

1.3 统计学处理

采用 SPSS13.0 统计软件进行统计分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, t 检验用于比较 SCLC 患者癌组织 VEGF 及 VEGFR-3 表达在有淋巴结转移及不同分期状态下的差异, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

通讯作者: 吕立丽, 主治医师, 硕士; 河北省唐山市人民医院放化五科, 河北省唐山市路南区胜利路 65 号 (063000); E-mail: 3lmn@sina.com

收稿日期: 2013-12-14; **修回日期:** 2014-01-05

2 结 果

2.1 SCLC 患者淋巴转移情况与组织 VEGF 和 VEGFR-3 表达的关系

将 SCLC 患者根据有无淋巴结转移分为两组,对两组进行 *t* 检验,*P*<0.05,表明肿瘤组织 VEGF 表达与是否有淋巴结转移有关 (Table 1)。

无淋巴结转移患者组织 VEGFR-3 低于有淋巴结转移患者组织 VEGFR-3 的表达 (*P*<0.05),提示与肿瘤组织 VEGFR-3 表达与是否有淋巴结转移有关 (Table 1)。

2.2 病理分期与组织 VEGF 及 VEGFR-3 表达的关系

广泛期 SCLC 患者 VEGF 及 VEGFR-3 表达均高于局限期 (*P*<0.05),表明不同分期组织 VEGF 及 VEGFR-3 表达差异有统计学意义 (Table 2)。

3 讨 论

研究表明,肿瘤 VEGF 的高表达与肿瘤已达晚期或不良预后明显相关^[8]。在许多恶性肿瘤中,VEGF 表达水平已成为一种监测肿瘤复发或患者预后的因素,是一个很有价值的肿瘤标记物^[9-11]。VEGF 与许多肿瘤病理因素如血管生成、淋巴管生成和淋巴浸润相关^[2-4],也与肿瘤细胞播散、区域淋巴结转移之间有密切关系^[9,10]。本实验证实,在 SCLC 组织中有 VEGF 及 VEGFR-3 的表达,这与文献报道 VEGF 促肿瘤生长,对肿瘤血管内皮细胞的增殖和迁移等发挥着重要作用^[1,5]相一致。而 VEGFR-3 绝大部分局限于淋巴管内皮,与淋巴管新生有关^[11,12]。本研究检测的 40 例 SCLC 患者结果表明,癌组织 VEGF 及 VEGFR-3 表达与 SCLC 淋巴结转移及分期均有关,无淋巴结转移患者的表达低于有淋巴结转移的病例,广泛期的表达均高于局限期,且均有统计学意义,说明 VEGF 及 VEGFR-3 可作为肺癌发生发展的临床监测指标。

参考文献:

[1] Jemal A,Siegel R,Ward E,et al.Cancer statistics [J].CA Cancer J Clin,2007,57(1):43-66.
[2] Onogawa S,Kitadai Y,Tanaka S,et al. Expression of VEGF-C and VEGF-D at the invasive edge correlates with lymphnode metastasis and prognosis of patients with colorectal carcinoma [J]. Cancer Sci,2004,95 (1):32-39.
[3] Matsumoto M,Natsugoe S,Okumura H,et al . Overexpression of vascular endothelial growth factor-C correlates with lymphnode micro metastasis in submucosal esophageal cancer[J]. J Gastrointest Surg,2006,10(7):1016-1022.
[4] Liu H,Xiao J,Yang Y,et al.COX-2 expression is correlated with VEGF-C,lymphangiogenesis and lymph node metastasis in human cervical cancer [J].Microvasc Res,

Table 1 VEGF and VEGFR-3 in SCLC patients with or without lymph node metastasis

Lymph node metastasis	N	VEGF			VEGFR-3		
		$\bar{x}\pm s(\%)$	<i>t</i>	<i>P</i>	$\bar{x}\pm s(\%)$	<i>t</i>	<i>P</i>
No	9	9.556 ±5.077	5.727	<0.05	6.111±3.333	6.41	<0.05
Yes	31	24.290±7.184			18.645±8.958		

Table 2 VEGF and VEGFR-3 in patients with ED-SCLC and LD-SCLC

Stage	N	VEGF			VEGFR-3		
		$\bar{x}\pm s(\%)$	<i>t</i>	<i>P</i>	$\bar{x}\pm s(\%)$	<i>t</i>	<i>P</i>
LD-SCLC	22	15.864±8.254	4.029	<0.05	10.682±7.351	4.264	<0.05
ED-SCLC	18	25.278±6.057			22.111±8.274		

2011,82(2):131-140.
[5] Su JL,Yang PC,Shih JY,et al. The VEGF-C /Flt-4 axis promotes invasion and metastasis of cancer cells [J]. Cancer Cell,2006,9 (3):209-223.
[6] Li Y,Dong L,Li HJ. The clinical significance of serum VEGF,bFGF and TNF-α in non-small cell lung cancer[J]. Journal of Chinese Oncolgy,2013,19(1):50-54.[李 英,董良,李海金. 非小细胞肺癌血清 VEGF、bFGF 和 TNF-α 的临床意义[J].肿瘤学杂志,2013,19(1):50-54.]
[7] Wang Q,An ZW.Expressions and correlation of HIF-1α and VEGF in colorectal cancer [J].Journal of Chinese Oncolgy,2013,19 (11):858-861.[王 前,安泽武.HIF-1α 和 VEGF 在大肠癌中的表达及其相关性研究[J].肿瘤学杂志,2013,19(11):858-861.]
[8] Sato K,Tsuchiya N,Sasaki R,et al.Increased serum levels of vascular endothelial growth factor in patients with renal cell carcinoma[J].Jpn J Cancer Res,1999,90(8):874-879.
[9] Yonemura Y,Endo Y,Fujita H,et al. Role of vascular endothelial growth factor C expression in the development of lymphnode metastasis in gastric cancer [J]. Clin Cancer Res,1999,5 (7):1823-1829.
[10] Da MX,Wu XT,Wang J,et al. Expression of cyclooxygenase-2 and vascular endothelial growth factor-C correlates with lymphangiogenesis and lymphatic invasion in human gastric cancer [J]. Arch Med Res,2008,39 (1):92-99.
[11] Shibuya M.Vascular endothelial growth factor and its receptor system:physiological functions in angiogenesis and pathological roles in various diseases[J]. J Biochem,2013,153(1):13-19.
[12] Li ZX.Expression of VEGFR-3 and VEGF-C in human breast cancer and their significance [J]. Journal of Modern Oncology,2010,18 (7):1313-1315.[李智信.VEGFR-3 和 VEGF-C 在乳腺癌中的表达及意义 [J]. 现代肿瘤医学,2010,18(7):1313-1315.]