

膀胱癌组织中 EphA2 与 VEGF 的表达及其临床意义

Expressions of EphA2 and VEGF in Bladder Cancer Tissues and Their Significance

ZHAO Yu-bin, ZHANG Shao-hua, HE Wen-qian

赵玉斌¹, 张少华², 贺文茜¹

(1. 青岛市中心医院, 山东 青岛 266042; 2. 即墨市人民医院, 山东 即墨 262200)

摘要: [目的] 探讨 EphA2 与 VEGF 在膀胱癌组织中的表达及其意义。[方法] 通过免疫组织化学 SP 法测定 EphA2 与 VEGF 蛋白在 130 例膀胱癌标本中的表达水平, 并分析两者与各临床病理因素的关系。[结果] EphA2 与 VEGF 在膀胱癌组织中的表达阳性率分别为 61.5% 和 74.6%。EphA2 与 VEGF 在膀胱癌组织中的表达与临床分期、淋巴结转移、肿瘤大小显著相关 ($P < 0.05$)。[结论] EphA2 和 VEGF 与膀胱癌的发生和发展相关, 联合检测有助于客观评估膀胱癌的生物学行为。

关键词: EphA2; VEGF; 膀胱肿瘤; 免疫组织化学

中图分类号: R737.14 **文献标识码:** B

文章编号: 1671-170X(2015)06-0522-03

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2015.06.B017

膀胱癌是泌尿系统最常见的恶性肿瘤。近几年来有关 EphA2 在肿瘤发生和发展过程中的作用受到越来越多的关注, 而对于 EphA2 与 VEGF 在膀胱癌中联合检测的研究少见报道。本研究联合检测 130 例膀胱癌组织中 EphA2 与 VEGF 的表达水平, 以探讨 EphA2 与 VEGF 在膀胱癌发生、发展中的作用。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取 2005 年 12 月至 2010 年 12 月青岛市中心医院膀胱癌切除术后的 130 例石蜡组织标本, 其中女性 55 例, 男性 75 例, 年龄 36~76 (51.5±6.9) 岁。其中鳞状细胞癌 30 例, 腺癌 25 例, 移行细胞癌 75 例。按 WHO 的 TNM 分期标准分期: IV 期 29 例, III 期 39 例, II 期 32 例, 0~I 期 30 例。按肿瘤大小分为 >5cm、3~5cm 和 <3cm 三组, 分别为 45、47、38 例; 按年龄分为 ≥65 岁、46~64 岁和 ≤45 岁三组, 分别为 45、48、37 例。所有病例均已经记录淋巴结转移情况, 其中淋巴结转移阴性 58 例, 淋巴结转移阳性 72 例。经三位病理医师分别阅片, 取得一致意见后重新认定。全部标本都经 10% 甲醛固定, 石蜡包埋, 4μm 厚连续切片, 分别做 HE 染色和免疫组织化学检测。

1.2 主要试剂

SP 免疫组织化学相关试剂盒、VEGF 多克隆抗体均为福

州迈新生物技术有限公司产品。兔抗人 EphA2 多克隆抗体为美国 Santa Cruz 公司产品。

1.3 实验方法

采用 S-P 二步法免疫组织化学染色。片厚 4μm, 脱蜡、梯度酒精水化, 高压锅热处理 5~8min 进行抗原修复, PBS 冲洗, 3% 过氧化氢阻断过氧化物酶, 马血清封闭, 加用 1 抗, 4℃ 冰箱孵育过夜, 加生物素标记的二抗, 室温下 30min 后 PBS 充分洗涤, 加入 SP 复合物孵育 20~30min; PBS 洗 3 次, 每次 2min; DAB 显色, 苏木素复染。自来水冲洗返蓝, 梯度酒精脱水, 中性树脂胶封片。用 PBS 代替一抗作为阴性对照, 已知阳性片作为阳性对照。

1.4 结果判定

每例切片随机选择 10 个高倍镜视野, 计数 200 个以上细胞, 根据肿瘤细胞中着色细胞数所占比例来分为 (-) 和 (+): VEGF 和 EphA2 细胞质和细胞膜均同时染成棕褐色或棕黄色的细胞在 5 个高倍镜视野 >20% 者为阳性, 否则为阴性病例^[1]。结果判断由病理科三名副主任医师统一核准。

1.5 统计学处理

应用 SPSS13.0 统计软件分析, 样本率的比较采用 χ^2 检验; 等级资料的比较采用秩和检验 (Kruskal-wallis Test); 相关性分析采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

EphA2 表达主要位于肿瘤细胞的细胞膜和细胞质中, 呈棕黄色或棕褐色; VEGF 表达主要位于肿瘤细胞和血管内皮细胞的胞浆中, 少量位于炎细胞的胞浆中 (Figure 1、2)。EphA2 和 VEGF 表达的阳性率分别为 61.5% (80/130) 和 74.6% (97/130)。EphA2 和 VEGF 的表达阳性率与病理组织学类型、年龄、性别无显著相关 ($P > 0.05$); 而与临床分期、肿瘤大小、淋巴结转移显著相关 ($P < 0.05$), 临床分期较晚组、肿瘤直径较大组、有淋巴结转移组的阳性率分别显著高于临床分期较早组、肿瘤直径较小组、无淋巴结转移组的阳性率 ($P < 0.05$) (Table 1)。EphA2 与 VEGF 表达的阳性率显著相关 ($P < 0.05$) (Table 2)。

通讯作者: 赵玉斌, 副主任医师, 博士; 青岛市中心医院肿瘤内二科, 山东省青岛市四流南路 127 号 (266042); E-mail: zhaoyubin2005@126.com
收稿日期: 2014-09-11; **修回日期:** 2014-11-11

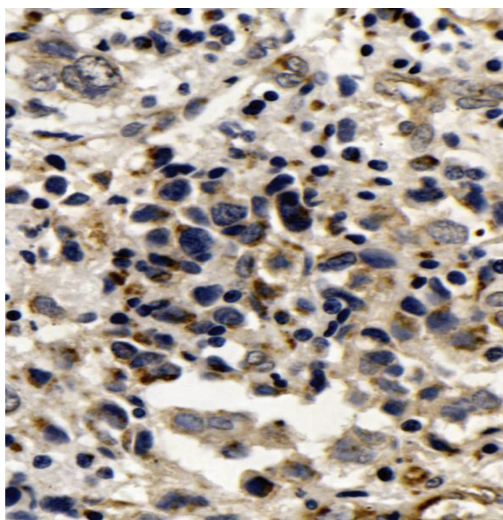


Figure 1 The protein expression of EphA2 in bladder carcinoma tissues(SP ×400)

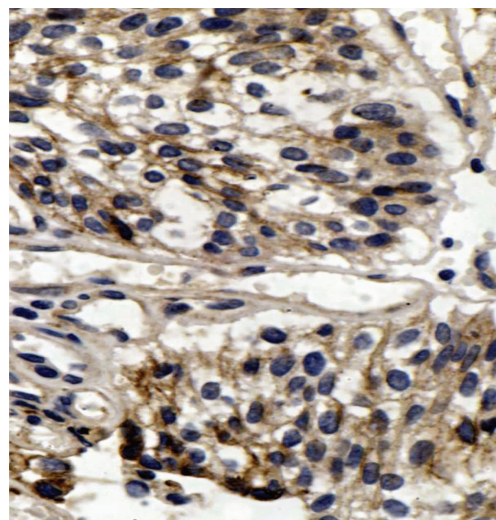


Figure 2 The protein expression of VEGF in bladder carcinoma tissues(SP ×200)

Table 1 The expressions of EphA2 and VEGF in bladder carcinoma tissues

Factors	N	EphA2				VEGF			
		Positive(%)	Negative(%)	χ^2	P	Positive(%)	Negative(%)	χ^2	P
Age(years)									
≤45	37	24(64.9)	13(35.1)	0.243	0.885	28(75.7)	9(24.3)	0.116	0.944
46~64	48	29(60.4)	19(39.6)			35(72.9)	13(27.1)		
≥65	45	27(60.0)	18(40.0)			39(75.6)	11(24.4)		
Gender									
Male	75	46(61.3)	29(38.7)	0.003	0.551	55(73.3)	20(26.7)	0.154	0.427
Female	55	34(61.8)	21(38.2)			42(76.4)	13(23.6)		
TNM stage									
0~ I	30	8(26.7)	22(73.3)	30.800	0.000	15(50.08)	15(50.0)	10.201	0.008
II	32	16(50.0)	16(50.0)			21(65.6)	11(34.4)		
III	39	30(76.9)	9(23.1)			33(84.6)	6(15.4)		
IV	29	26(89.7)	3(10.3)			28(93.1)	1(6.9)		
Tumor diameter(cm)									
<3	38	11(28.9)	27(71.1)	39.822	0.000	20(52.6)	18(47.4)	32.540	0.000
3~5	47	26(55.3)	21(44.7)			33(70.2)	14(29.8)		
>5	45	43(95.6)	2(4.4)			44(97.8)	1(2.2)		
Lymph node metastasis									
Yes	58	49(84.5)	9(15.5)	23.292	0.000	56(96.6)	2(3.4)	26.605	0.000
No	72	31(43.1)	41(56.9)			41(50.0)	31(50.0)		
Pathological types									
Transitional cell carcinoma	75	46(61.3)	29(38.7)	0.095	0.953	56(74.7)	19(25.30)	0.157	0.924
Squamous cell carcinoma	30	18(60.0)	12(40.0)			23(26.7)	7(23.3)		
Adenocarcinoma	25	16(64.0)	9(36.0)			18(72.0)	7(28.0)		

Table 2 The correlation between the expression of EphA2 and VEGF in bladder carcinoma tissues

EphA2	VEGF		χ^2	P
	Positive	Negative		
Positive	71	9	21.940	0.000
Negative	26	24		

3 讨论

Eph 基因家族为受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinases, RTKs) 家族中最大的亚家族成员, EphA2 是该家族中被发现的具有酪氨酸激酶活性的第 1 个基因。EphA2 介导的信号参与许多组织和器官的形成, 包括神经系统的发育、血管形成、细胞的生长、迁徙和分化及细胞与细胞之间粘附状态的调节, 参与肿瘤的发生、发展。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF) 被认为是最重要的血管生成促进因子。VEGF 是一种能特异性促使内皮细胞激活、增殖及直接参与血管生成的糖蛋白。在许多恶性肿瘤中, 均报道 EphA2 和 VEGF 高水平的表达^[2,3]。目前对于 EphA2 和 VEGF 在恶性肿瘤中的表达与临床病理因素关系的报道还很不一致。Shao 等^[4]研究发现, 在舌鳞癌中 EphA2 和 VEGF 的表达与肿瘤的大小、临床分期、淋巴结转移、肿瘤复发与转移等密切相关。Nakamura 等^[5]发现 EphA2 在胃癌组织中的阳性率与患者年龄、肿瘤大小、血管侵犯和淋巴结受累相关。Herrem 等^[6]对肾细胞癌(RCC)的研究发现, 不管组织病理学分级如何, 高表达 EphA2 的 RCC 肿瘤体积更大、临床分期更高, 血供更丰富。王金清等^[7]报道膀胱癌中 EphA2 蛋白的高表达与肿瘤大小、淋巴结转移及 TNM 分期相关($P < 0.05$)。而对于 EphA2 和 VEGF 在恶性肿瘤中联合检测的研究, 国内外少见报道。我们的研究显示 EphA2 和 VEGF 在膀胱癌组织中表达的阳性率分别为 61.5% 和 74.6%。EphA2 和 VEGF 的阳性表达率与膀胱癌患者的年龄、性别、病理组织学类型均无显著相关($P > 0.05$); 而与肿瘤大小、淋巴结转移及临床分期显著相关($P < 0.05$)。肿瘤直径较大组、临床分期较晚组、有淋巴结转移的阳性表达率显著高于肿瘤直径较小组、临床分期较早组、无淋巴结转移的阳性率($P < 0.05$)。EphA2 表达的阳性率与 VEGF 的阳性率显著相关($P < 0.05$)。这提示 EphA2 和 VEGF 可能在膀胱癌细胞的信号转导过程中存在着某种协调作用机制, EphA2 和 VEGF 在膀胱癌组织中的表达强度随着膀胱癌恶性度的增高而增强, 它们的联合检测有助于客观评估膀胱癌的生物学行为及预测预后。但是要将这些指标作为膀胱癌的预测指标应用于临床, 还需要大样本量的进一步研究, 必须结合其他因素进行多指标、多因素综合分析, 才能作出更好地判断, 而 EphA2 和 VEGF 在膀胱癌中的相互作用方式及其

机制也还需要进一步的研究。

参考文献:

- [1] Zhao YB, Zhang SH, Lv J, et al. Expression of EphA2 and EphrinA1 mRNA in breast cancer tissues and its significance[J]. China Cancer, 2012, 21(7): 543-547. [赵玉斌, 张少华, 吕杰, 等. 乳腺癌组织 EphA2 mRNA 和 EphrinA1 mRNA 表达及其意义[J]. 中国肿瘤, 2012, 21(7): 543-547.]
- [2] Wang JQ, Zhao YB, Zhang SH, et al. Expression of EphA2 and EphrinA1 mRNA in bladder cancer tissues and its significance[J]. China Cancer, 2012, 21(9): 710-713. [王金清, 赵玉斌, 张少华, 等. 膀胱癌组织 EphA2 mRNA 和 EphrinA1 mRNA 表达及其意义[J]. 中国肿瘤, 2012, 21(9): 710-713.]
- [3] Zhao YB, Zhang SH, Xiang FG, et al. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptor KDR in lung carcinoma and relationship with metastasis and prognosis [J]. Chinese Journal of Clinical Medicine, 2003, 4(5): 8-11. [赵玉斌, 张少华, 项锋钢, 等. 肺癌血管内皮生长因子(VEGF)及其受体 KDR 的表达与转移和预后的关系[J]. 中华临床医药杂志, 2003, 4(5): 8-11.]
- [4] Shao Z, Zhang WF, Chen XM, et al. Expression of EphA2 and VEGF in squamous cell carcinoma of the tongue: Correlation with the angiogenesis and clinical outcome [J]. Oral Oncol, 2008, 44(12): 1110-1117.
- [5] Nakamura R, Kataoka H, Sato N, et al. EphA2/EFNA1 expression in human gastric cancer[J]. Cancer Sci, 2005, 96(1): 42-47.
- [6] Herrem CJ, Tatsumi T, Olson KS, et al. Expression of EphA2 is prognostic of disease-free interval and overall survival in surgically treated patients with renal cell carcinoma[J]. Clin Cancer Res, 2005, 11(1): 226-231.
- [7] Wang JQ, Zhao YB, Zhang SH, et al. Expression of EphA2 and EphrinA1 mRNA in bladder cancer tissues and its significance[J]. Chinese Journal of Postgraduates of Medicine, 2010, 33(35): 25-27. [王金清, 赵玉斌, 张少华, 等. EphA2、EphrinA1 在膀胱癌组织中的表达及其临床意义[J]. 中国医师进修杂志, 2010, 33(35): 25-27.]