

血管内皮生长因子(VEGF)在大肠癌中的表达及临床意义

邹继华 宋印利

(哈尔滨医科大学大庆校区 黑龙江 大庆 163319)

摘要 目的:探讨 VEGF(Vascular endothelial growth factor)在大肠癌中的表达及与肿瘤大小、病理分级、临床分期和预后的关系。方法:大肠癌组织蜡块 50 例、癌旁组织 20 例、正常组织 20 例。采用免疫组化 S-P 法对本切片进行染色。结果:VEGF 在癌组织中表达明显高于癌旁组织和正常组织,三者之间差异显著($P < 0.05$)。VEGF 抗原表达与病理分级、Dukes 分期呈负相关性($P < 0.01$)。结论:VEGF 与大肠癌的发生有关,VEGF 的检测可作为大肠癌预后评估的客观指标。

关键词: 大肠癌; 血管内皮生长因子; 免疫组织化学

中图分类号: R735.3 文献标识码: A

Expression of VEGF in colorectal cancer and its clinical significance

ZOU Ji-hua, SONG Yin-li

(Daqing School, Harbin Medical University, Daqing 163000, Heilongjiang, China)

ABSTRACT Objective: To investigate expression of VEGF in colorectal cancer and its clinical significance. **Methods:** Immunohistochemical staining S-P method was used to detect VEGF expression in normal mucous tissue (NMT) (20 cases), in the tissue adjacent to tumor (TAT) (20 cases) and in the colorectal cancer tissue (CCT) (50 cases). **Results:** VEGF level in CCT was much higher than those in NMT and in TAT. There was significant difference between the three ($P < 0.05$). There was negative correlation between VEGF expression and pathological grading and Dukes stage ($P < 0.01$). **Conclusion:** VEGF is associated with the growth of the colorectal cancer. VEGF could be considered as an objective predictable index for prognosis of colorectal cancer.

Key words: Colorectal cancer; VEGF; Immunohistochemistry

大肠癌是人类发病率最高的恶性肿瘤之一,近年来由于经济发展,人民生活水平的提高以及饮食结构的改变,大肠癌的发病率一直呈上升趋势,为人们所关注。实体瘤的生长离不开新生血管,肿瘤不仅通过新生血管获取生长所必需的氧和营养物质,并通过血管浸润周围脏器,发生远处转移。近 30 年来在肿瘤研究领域的重大进展之一就是确定了肿瘤血管生成在肿瘤发展中的重要地位及抗血管生成治疗肿瘤的意义。

随着分子生物学的不断发展和应用,最近的一些研究表明,VEGF 和血管生成在大肠癌的发生发展中具有重要意义。血管内皮生长因子 1989 年初 Ferrara 和 Gospodarowicz 等^[1]人分别在牛垂体滤泡星状细胞体外培养液中首先纯化出来的,而后由 Leung 等首先从牛垂体滤泡 cDNA 文库中用多克隆杂交系列分析克隆,它是由某些肿瘤细胞分泌,并与血管内皮上的受体结合,可诱导肿瘤血管生成,维持肿瘤的持续生长,是重要的血管生成因子,已经发现与肿瘤的预后有关。但是,目前国内对很多专家对 VEGF 在胃癌中的表达研究较多(2-5),而对大肠癌中 VEGF 表达的研究并不多,而且也并未达成一致意见。本实验即采用免疫组化 S-P 法检测 VEGF 在大肠癌中的表达及其与临床病理因素的关系。

1 材料与方法

1.1 标本来源

本研究收集哈尔滨医科大学附属第五医院病理科从 1995 年~ 2004 年间大肠癌根治术病例存档蜡块 50 例,均具有完整临床病理资料。癌旁组织 20 例,阴性切片 20 例作为对照组,其中男性 28 例,女性 22 例,平均年龄 54.7 岁,高中低分化癌分别为 22 例、20 例、8 例。按照 Dukes 分期, A 期 25 例、B 期 13 例、

C 期 8 例、D 期 4 例,每例组织蜡块重新切片,HE 染色,确保对照组为阴性,校对病理资料并选取最佳标本。

1.2 实验标本的准备

载玻片清洗干净后,放入 70% 乙醇- 1% 盐酸浸泡 48 小时,蒸馏水冲洗,烤箱内烘干, 10% 多聚赖氨酸 (Poly-L-Lysin) 涂片后,风干过夜。对蜡块进行连续切片 5 张,每张厚 4 μ m,放入 55℃ 烤箱中烤 8 小时。

1.3 免疫组化方法

免疫组化仪器和试剂:医用微波炉、恒温箱、冰箱、显微镜;抗体购自北京中山公司;显色系统: DAB 工作液 3mg 溶于 3ml 蒸馏水中,使用时配制。免疫组化步骤按试剂盒说明进行。阳性结果的判定标准:每组实验都设有阳性和阴性对照。VEGF 在细胞浆中表达,呈现棕黄色颗粒。统计学分析:采用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 VEGF 在大肠癌中的表达

VEGF 在不同组织中的表达, 20 例正常粘膜组织中 VEGF 有 1 例表达, 20 例癌旁组织中 VEGF 有 4 例表达, 50 例癌组织中 VEGF 阳性表达 29 例。

表 1 VEGF 在不同组织中的表达

Table 1 The expression of VEGF in different tissues

不同组织	VEGF		合计
	阳性数	阴性数	
正常组织	1	19	20
癌旁组织	4	16	20
癌组织	29	21	50
合 计	34	56	90

$\chi^2 = 20.53$ $P < 0.01$

VEGF 的表达在正常粘膜、腺瘤、癌组织中的表达存在显著差异 $P < 0.01$ 。

作者简介: 邹继华, 女, (1965-), 副教授, 从事临床医学专业

(收稿日期: 2006- 04- 12 接受日期: 2006- 05- 13)

2.2 VEGF 表达与肿瘤大小的关系

50 例癌组织中肿瘤直径> 4cm 的 27 例, VEGF 阳性表达 16 例, 直径小于 4cm 的 23 例, 阳性表达 13 例, 两组之间差异不显著 P> 0. 05。

表 2 VEGF 表达与肿瘤大小的关系

Table 2 The relationship between tumor size and VEGF expression

肿瘤大小	VEGF		合计
	阳性数	阴性数	
≥4cm	16	17	27
< 4cm	13	10	23
合 计	29	21	50

$X^2= 0.0382$ $P> 0.05$

2.3 VEGF 表达与肿瘤分化程度的关系:

VEGF 的表达随分化程度的降低而升高, 分别为 9/22、13/20、7/8。三者之间存在显著差异, P< 0. 05。

表 3 VEGF 表达与肿瘤分化程度的关系

Table 3 The relationship between pathological grading and VEGF expression

分化程度	VEGF		合计
	阳性数	阴性数	
高分化	9	13	22
中分化	13	7	20
低分化	7	1	8
合 计	29	21	50

$X^2= 7.34$ $P< 0.05$

2.4 VEGF 表达与大肠癌 Dukes 分期的关系:

VEGF 的表达随着分期增加而增强, 各期之间存在显著差异 P< 0. 05, 如果将 A+ B 期和 C+ D 期合并, 则 A+ B 期为 18/38, 而 C+ D 期为 11/12, 二者之间存在更显著差异。

表 4 VEGF 表达与大肠癌 Dukes 分期的关系

Table 4 The relationship between dukes stage and VEGF expression

Dukes 分期	VEGF		合计
	阳性数	阴性数	
A	9	16	25
B	9	4	13
C	7	1	8
D	4	0	4
合计	29	21	50

$X^2= 11.39$ $P< 0.01$, 将 A+ B 与 C+ D 比较结果 $X^2= 7.35$ $P< 0.01$

3 讨论

在调控肿瘤血管生成的诸多因素中, 血管内皮生长因子 (VEGF) 是最近几年研究的热点之一。血管内皮生长因子是血小板源性生长因子(PDGF) 家庭的一个成员, 人血管内皮生长因子基因定位于染色体 6P21, 可产生 5 种不同形式的蛋白分子, 因其基因含缺氧诱导因子 1 结合位点, VEGF 可因缺氧而表达增高, 作为最重要的促血管生成因子, VEGF 与肿瘤的关系也是建立在 VEGF 的促血管生成作用基础上的。抗血管生成的基因治疗已经成为抗肿瘤研究的新热点, 杨治华^[9]等人在应用具有中和活性的抗人 VEGF 单抗进行抑瘤动物实验时发现 VEGF 单抗能阻断小鼠自发乳腺癌组织血管的形成, 显著抑制原发瘤的生长; 体外实验显示 VEGF 单抗对乳腺癌细胞生长无抑制作用, 因此证明 VEGF 单抗的作用不是直接抑制瘤生

长所致, 而是通过抑制新生血管内皮细胞增殖, 阻断肿瘤血管形成来实现的。

本研究用免疫组化方法检测大肠癌中 VEGF 的表达, 20 例正常组织中 VEGF 有 1 例表达, 20 例癌旁组织中 VEGF 有 4 例表达, 而 50 例大肠癌标本中有 29 例(58%) 表达明显高于癌旁组织和正常组织, 三者之间差异显著 (P< 0. 01)。Chen CA 等应用酶免疫分析法测定肿瘤细胞质内的 VEGF 含量; Guidi AJ 等用原位杂交法检测肿瘤中 VEGFmRNA 含量, 还有的学者测定血清中的 VEGF 含量。虽然研究方法各异, 但多数都得出相同的结论, 且与我们研究的结果相同, 即 VEGF 在肿瘤中有高表达, 说明 VEGF 与大肠癌的生长有关。

我们的实验中肿瘤直径大于 4cm 的 27 例, 其中 VEGF 阳性表达 16 例(59%) 直径小于 4cm 的 23 例 VEGF 阳性表达 13 例(56.5%), 两组之间差异不显著(P> 0. 05)。VEGF 蛋白表达与大肠癌分化程度有相关性, 即随着大肠癌分化程度降低, VEGF 表达增强, 存在统计学意义(P< 0. 05); 但 Tanigawa 等对肾癌的研究中发现, 高分化的癌组织 VEGF 表达强于低分化癌组织; Ellis 等报道 VEGF 在几乎所有的良恶性结肠肿瘤中均有表达。这种 VEGF 在不同组织类型中表达的差异可能与不同肿瘤的生物学特性及不同肿瘤组织的微环境有关。

从实验结果中, 我们发现 VEGF 的表达与 Dukes 分期相关, A、B、C、D 期表达率分别为 36%、69%、87.5%、100%。A+ B 与 C+ D 期间存在显著性差异(P< 0. 01)。可见, 随着 VEGF 表达水平的增高, 发生淋巴结和远处转移的危险度显著增加。本研究表明 VEGF 作为高效的血管调控因子, 在大肠癌血管形成中发挥重要作用。Takahashi 等^[7]在对结肠癌的研究中发现, 癌浸润前微血管密度较高, 新生血管化程度活跃, VEGF 表达也明显。Ellis 等^[8]发现 VEGF 在结肠癌转移细胞株中的表达较无转移细胞株中高。这提示大肠癌 VEGF 表达与新生血管化部位的一致性及其与浸润转移的关系。所以 VEGF 与大肠癌 Dukes 分期密切相关, 可以作为判断大肠癌 Dukes 分期, 预测淋巴结和远处转移的指标。

参 考 文 献

[1] Ferrara N. Expression of VEGF in carcinoma[J]. Nature, 1996, 380 (6573): 439- 442

[2] 马凤江, 智绪亨. 血管内皮生长因子- C 在胃癌组织中的表达及与肿瘤淋巴结转移的关系[J]. 肿瘤防治杂志, 2005, (04): 125- 126

[3] 谷依学, 李汉贤, 王汉群, 等. 缺氧诱导因子 1α 及血管内皮生长因子的表达与胃癌生物学行为的关系[J]. 华中大学学报, 2005, (01): 78- 79

[4] 刘智红, 康楠. 血管内皮生长因子与消化道肿瘤[J]. 包头医学院学报, 2004, (01): 145- 146

[5] 王倩, 陈晓理, 刘力华. VEGF 及其受体家族与白血病[J]. 中国厂矿医学, 2005, (01): 96- 97

[6] 杨治华. 血管内皮生长因子与实体瘤的关系研究[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 1999, 19(4): 282- 285

[7] Takahashi Y, Kitaki Y, Bucana CD, et al. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptor, KDR correlates with vascularity, metastasis, and proliferation of human colon cancer[J]. Cancer Res, 1995, 55: 3964

[8] Ellis LM, Liu W. vascular endothelial growth factor Expression and alternate splicing in nonmetastatic human colon cancer lines[J]. Proc Am Assoc Cancer Res, 1995, 36: 88