

DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.02.025

PDGF-D 和 VEGF 在宫颈鳞癌中的表达及其意义

夏会新 朱 莉[△] 张春树 彭丽敏 邢宁宁 朱文秀

(哈尔滨医科大学附属第四医院妇产科 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要 目的:检测宫颈鳞癌组织中血小板源性生长因子 D(PDGF-D)和血管内皮生长因子(VEGF)的表达,探讨二者在宫颈癌变过程中的作用及意义,为探讨宫颈鳞癌的发病机制和宫颈鳞癌的早期治疗提供理论依据。**方法:**采用免疫组织化学(SP法)检测 40 例宫颈鳞癌和 10 例正常宫颈组织中 PDGF-D 和 VEGF 蛋白的表达,分析两者之间的相关性及其与临床病理特征之间的关系。**结果:**宫颈鳞癌组织中 PDGF-D 和 VEGF 蛋白的表达显著高于正常宫颈组织($P < 0.05$);PDGF-D 和 VEGF 的表达与宫颈鳞癌的分化程度及淋巴结转移有关($P < 0.05$);与年龄及临床分期无关($P > 0.05$)。Spearman 相关分析发现 PDGF-D 与 VEGF 表达程度呈正相关($r = 0.346, P < 0.05$)。**结论:**1.PDGF-D 和 VEGF 在宫颈鳞癌组织中特异性高表达,可能在宫颈鳞癌的发生、发展与转移中起着重要作用。2.PDGF-D 和 VEGF 表达与宫颈鳞癌的分化程度及淋巴结转移有关,与年龄及临床分期无关,提示它们可能在宫颈鳞癌的浸润和转移及预后方面有重要的监测意义。3.PDGF-D 和 VEGF 在宫颈鳞癌组织中的表达呈正相关,提示两者起着相互促进的作用,对 PDGF-D 和 VEGF 的联合检查,为临床实际应用提供了参考。

关键词:宫颈鳞癌;血小板源性生长因子 D;血管内皮生长因子;免疫组化

中图分类号:R737.33 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)02-296-04

PDGF - D and VEGF in Cervical Squamous Carcinoma of the Expression and its Significance

XIA Hui-xin, ZHU Li[△], ZHANG Chun-shu, PENG Li-min, XING Ning-ning, ZHU Wen-xiu

(The fourth affiliated hospital of Harbin medical university postgraduate obstetrics and gynaecology,

Harbin, Heilongjiang, 150001, China)

ABSTRACT Objective: Detection of cervical squamous cell carcinoma tissue in platelet-derived growth factor D (PDGF-D) and vascular endothelial growth factor (VEGF) expression, probe into the two in cervical carcinogenesis in the role and significance, in order to investigate the pathogenesis of cervical squamous cell carcinoma and squamous cell carcinoma of the cervix and provide theoretical basis for early treatment. **Methods:** Detection of cervical squamous cell carcinoma tissue in platelet-derived growth factor D (PDGF-D) and vascular endothelial growth factor (VEGF) expression, probe into the two in cervical carcinogenesis in the role and significance, in order to investigate the pathogenesis of cervical squamous cell carcinoma and squamous cell carcinoma of the cervix and provide theoretical basis for early treatment. **Results:** Cervical squamous cell carcinoma and the expression of VEGF protein in PDGF-D was significantly higher than that in normal cervical tissue ($P < 0.05$); PDGF-D and VEGF expression in cervical squamous cell carcinoma and differentiation and lymph node metastasis ($P < 0.05$); with age and independent of clinical stage ($P > 0.05$). Spearman correlation analysis found that PDGF-D and VEGF expression was a positive correlation between degree ($r = 0.346, P < 0.05$). **Conclusion:** 1. PDGF-D and VEGF in cervical squamous carcinoma tissue specificity high expression, may be in cervical squamous carcinoma of the occurrence, development and transfer plays an important role. 2. PDGF-D and VEGF expression and cervical squamous carcinoma of the differentiation degree and lymph node metastasis related, and age and clinical staging has nothing to do, prompt they may in cervical squamous carcinoma invasion and metastasis and prognosis of have an important monitoring significance. 3. PDGF-D and VEGF in cervical squamous carcinoma tissue of the positive correlation between expression, indicating both plays the role of the mutual promotion of PDGF - D and VEGF joint inspection, for clinical application provides reference.

Key words: Squamous carcinoma of the cervix; Platelet- growth factor D sex; Vascular endothelial growth factor; Immunohistochemistry

Chinese Library Classification(CLC): R737.33 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2014)02-296-04

作者简介:夏会新(1985-),女,硕士研究生,电话:15846332076,

E-mail:xiahuixin@sina.cn

[△]通讯作者:朱莉,硕士生导师,E-mail:Zhuli-01@sina.com

(收稿日期:2013-02-18 接受日期:2013-03-10)

前言

宫颈癌发病率在女性恶性肿瘤中居第二位,仅次于乳腺癌。是女性生殖系统最常见的恶性肿瘤,在近年呈现年轻化和上升趋势,是威胁女性生命健康的严重疾病。研究宫颈癌的发病机制,以寻求有效的治疗方法已成为妇产科重要的研究课题之一。宫颈癌常见的病理类型以鳞癌为主,约占90%,其余为腺癌,小细胞癌等。在宫颈病变的发展过程中,均有新生血管生成。血管新生在肿瘤的早期形成以及浸润和转移中起重要作用。肿瘤新生血管形成与肿瘤细胞或其间质细胞释放的特异性血管形成因子有关,如bFGF、VEGF、PDGF等。已有研究发现PDGF家族在多种肿瘤^[1-3]中都有表达,但PDGF-D发现较晚,在肿瘤中研究很少。最近有报道在卵巢癌,肺癌,肾癌和脑肿瘤患者的血清中可检测到高水平的PDGF-D,这与免疫组织化学的结果相一致^[4]。而PDGF-D在宫颈鳞癌中的表达情况国内文献中尚未见报道。VEGF是近年来研究的热点,它具有促进肿瘤微血管形成和诱导血管通透性增加的作用,为肿瘤的生长、侵袭和转移创造了条件。VEGF在肿瘤组织中的表达已逐渐被作为判断其预后的指标。研究表明,血管生成是肿瘤生长的先决条件,而PDGF-D和VEGF是促进肿瘤血管生成的重要促进因子。文献报道,宫颈鳞癌具有血管生成活性。但是,在目前的研究中,关于PDGF-D和VEGF在宫颈鳞癌中的作用,国内鲜见报道。本实验用免疫组化方法检测PDGF-D和VEGF在宫颈鳞癌组织及正常宫颈组织中的表达,探讨其在宫颈鳞癌中表达的意义,为探讨宫颈鳞癌的发病机制和抗血管生成治疗提供重要的理论依据。

1 材料与方法

1.1 标本来源

选取2001年10月~2011年12月在哈尔滨市第一人民医院妇科进行手术切除或活检的未经过化疗、放疗及免疫治疗的存档蜡块。其中子宫颈鳞癌40例,根据2000年国际妇产科联盟(FIGO, International Federation of Gynecology and obstetrics)制订的临床分期标准,Ⅰ期24,Ⅱ期16例;分化程度:高/中分化19例,低分化21例;无淋巴结转移26例,有淋巴结转移14例。同时选取因子宫良性病变而行子宫全切术的正常宫颈组织

石蜡标本10例,设为对照组。患者年龄为27-75,平均年龄为56.7,各组平均年龄差异无显著性。

1.2 方法

采用4 μm厚切片,脱蜡去水,采用免疫组织化学SP法,置于3% H_2O_2 内5分钟灭活内源性过氧化物酶。抗原修复后,自然冷却20分钟,滴加一抗,4℃冰箱过夜,PBS冲洗,2分钟×3次;滴加二抗,37℃温箱内孵育20分钟,PBS冲洗2分钟×3次;DAB显色,蒸馏水冲洗、苏木素衬染,乙醇脱水,二甲苯透明,中性树脂封固。PDGF-D与VEGF均为鼠抗人单克隆抗体工作液,(SP免疫组化试剂盒及DAB显色试剂盒均购自博士德公司)。具体步骤详见说明书。分别用PBS代替一抗作阴性对照,用已知阳性切片作阳性对照。

1.3 免疫组化结果判断

阳性表达为PDGF-D、VEGF以细胞质或细胞膜呈棕黄色染色。按染色强度和阳性细胞数占肿瘤细胞总数的百分比综合计分。染色强度:无色(0分),淡黄色(1分),棕黄色(2分),棕褐色(3分);阳性细胞数:<5%(0分),5%~25%(1分)26%~50%(2分),>50%(3分)。染色强度得分与阳性细胞数得分相乘,<2分为阴性(-),≥2分为阳性(+)。

1.4 统计学分析

应用SPSS13.0统计软件对数据进行分析,采用 χ^2 检验,所有结果均以 $P<0.05$ 为有统计学意义,相关性分析使用Spearman检验,以 $\alpha=0.05$ 为显著性检验水准, $P<0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 PDGF-D与VEGF在正常宫颈组织和宫颈鳞癌组织中的表达

PDGF-D与VEGF在正常宫颈组织和宫颈鳞癌组织中的表达结果如表1,图1,图2所示。

表1 治疗后生存和死亡者的疗效情况比较

Table 1 Comparison of efficacy between survive and dead after treatment

Group	Number	PDGF-D(+)	VEGF(+)
Normal cervix	10	0	1
Cervix carcinoma	40	20	24

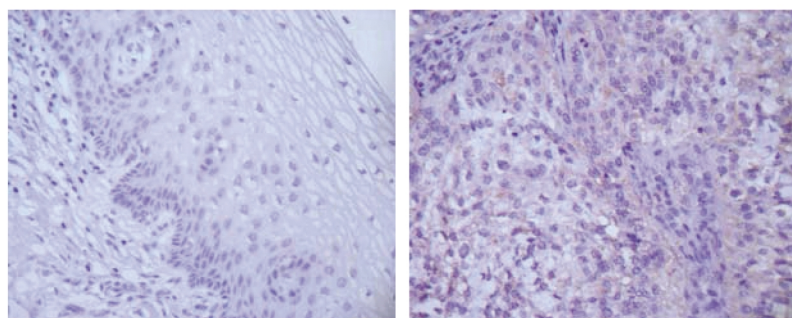


图1 PDGF-D在正常宫颈组织和宫颈鳞癌组织中的表达(×200)

Fig.1 PDGF-D expression in normal cervical tissue and cervical squamous cell carcinoma (×200)

2.2 PDGF-D和VEGF表达与宫颈鳞癌临床病理参数的关系

PDGF-D和VEGF的表达与肿瘤分化程度及有无淋巴结

转移密切相关($P<0.05$),与年龄、临床分期无关($P>0.05$),见表2。

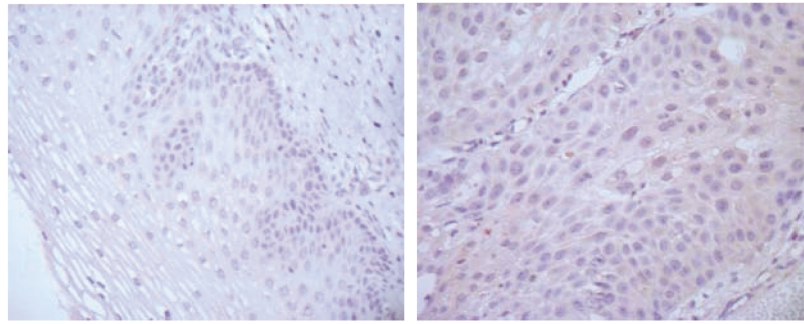


图 2 VEGF 在正常宫颈组织和宫颈鳞癌组织中的表达(× 200)

Fig.2 VEGF expression in normal cervical tissue and cervical squamous cell carcinoma (× 200)

表 2 PDGF-D 与 VEGF 表达与宫颈鳞癌临床病理参数的关系

Table 2 PDGF-D and VEGF expression and cervical squamous cell carcinoma clinicopathological parameters relations

Group	Number	PDGF-D		Positive ratio	P value	VEGF		Positive ratio	P value
		+	-			+	-		
Age									
< 50 years	19	10	9	52.6	P>0.05	10	9	52.6	P>0.05
≥ 50years	21	10	11	47.6		14	7	66.7	
Clinical staging									
I period	24	11	13	45.8	P>0.05	13	11	54.2	P>0.05
II period	16	9	7	56.3		11	5	68.8	
Degree of differentiation									
High-differentiation	19	5	14	26.3	P<0.05	6	13	31.6	P<0.05
Low differentiation	21	15	6	71.4		18	3	85.7	
Lymph node metastasis									
Yes	14	6	8	42.9	P<0.05	7	7	50	P<0.05
No	26	14	12	53.8		17	9	65.4	

2.3 宫颈鳞癌组织中 PDGF-D 与 VEGF 表达的关系

在 40 例宫颈鳞癌中,PDGF-D 阳性表达占 20 例,VEGF 阳性表达占 24 例。在宫颈鳞癌组织中 PDGF-D 与 VEGF 表达共为阳性者为 13 例,共为阴性者为 9 例。相关分析提示,PDGF-D 与 VEGF 在宫颈鳞癌组织中表达程度呈正相关 ($r=0.346$, $P<0.05$),见表 3。

表 3 PDGF-D 与 VEGF 在宫颈鳞癌组织中表达的关系

Table 3 PDGF-D and VEGF expression in cervical squamous cell carcinoma of the relationship

VEGF	Number PDGF-D(+)		Total
	+	-	
+	13	11	24
-	7	9	16
Total	20	20	40

3 讨论

肿瘤在生长过程中可以分泌多种物质来促进新生血管的形成。有研究发现,人体多种肿瘤均有血管生成活性,如肺癌、胃癌等。宫颈癌亦具有血管生成作用。血小板衍生生长因子(

platelet-derived growth factor,PDGF)是一种由多种细胞产生并分泌的活性多肽,对肿瘤的侵袭、转移、血管形成都有促进作用。PDGF 亦是一种重要的间叶组织来源细胞的有丝分裂原,在胚胎的发育过程及多种病理过程,如多种组织器官的纤维化、动脉粥样硬化,以及肿瘤的发生中都起着重要作用^[6]。血小板源性生长因子 D (platelet-derived growth factor-D, PDGF-D) 是 PDGF 家族的新成员,PDGF-D 在正常组织中不表达或者低表达,并在多种肿瘤中都有表达。PDGF 参与调节细胞功能,是通过两种受体 PDGFR- α 与 PDGFR- β 传导信号而实现的。研究发现,PDGF-D 可与 PDGFR β 受体特异性结合,激活下游的信号通路。在胰腺癌细胞系中,PDGF-D 与 PDGFR- β 受体特异性结合后,激活下游的 NF- κ B 信号传导通路,增加其转录活性,并使 NF- κ B 转录下游的 CyclinD1,VEGF 等因子的表达增加,从而调节肿瘤血管的生长。用 RNA 干扰的方法使 PDGF-D 基因的表达下调,对降低胰腺癌细胞的促血管形成作用具有显著意义^[7]。本研究发现,PDGF-D 在正常宫颈组织和宫颈鳞癌组织中的阳性表达率分别为 0%(0/10)和 50%(20/40),这提示 PDGF-D 在宫颈鳞癌的发生、发展过程中可能起着一定的作用。这一结果与相关研究 PDGF-D 在胃癌和肾癌等的高表达研究结果是一致的^[8,9]。同时本研究还发现,PDGF-D 表达与宫颈鳞癌的分化程度及淋巴结转移有关,其差异有统计学意义($P<$

0.05)。PDGF-D与宫颈鳞癌的浸润、转移密切相关,可以作为一种监测宫颈向恶性病变转化的重要指标。

VEGF(vascular endothelial growth factor,VEGF)是重要的血管内皮生长因子之一,它是促血管生长作用最强、对内皮细胞特异性最高的有丝分裂素,并在多种血管生长因子中可能起着中心调控作用^[10]。目前已经发现VEGF几乎在所有的肿瘤中高表达^[11,12],且与肿瘤的发生、侵袭和转移过程均密切相关。有研究表明VEGF与预后相关^[13]。在肿瘤等病理生理状态下,VEGF能增加血管内皮的通透性^[14],参与创伤愈合以及肿瘤血管的形成。VEGF通过介导肿瘤内皮细胞的增殖和肿瘤微血管的生成,从而促进肿瘤的侵袭和转移^[15,16]。本实验结果显示VEGF在正常宫颈组织中 and 宫颈鳞癌组织中的阳性表达率分别为10%(1/10)和60%(24/40),两者差异有统计学意义。并且在宫颈鳞癌组织中VEGF表达与肿瘤分化程度及有无淋巴结转移密切相关,与年龄、及临床分期无关。这提示VEGF在宫颈鳞癌的早期诊断和治疗中具有重要意义。

有些细胞因子对VEGF的表达有正调控作用^[17],如血小板源性生长因子、肿瘤坏死因子- α 、成纤维细胞生长因子、前列腺素E等均能使VEGF及其受体表达上调,并使其生物学活性提高^[18]。Salven等证实了在鳞癌、淋巴瘤、乳腺癌等多种肿瘤中有不同形式的VEGF的表达^[19]。有报道发现对VEGF和PDGF-D的联合检测为临床实际应用提供了重要的参考^[20]。本研究证实宫颈鳞癌组织中PDGF-D与VEGF表达正相关,提示PDGF-D通过调节VEGF的表达促进宫颈鳞癌的血管形成及其恶性进展。

综上所述,我们通过研究发现PDGF-D和VEGF在宫颈鳞癌中的表达高于正常宫颈组织中的表达,二者表达水平的高低与宫颈鳞癌的分化程度及淋巴结转移有关;与年龄及临床分期无关。且两者呈正相关,这提示PDGF-D和VEGF可能对宫颈鳞癌的发生、发展起到了促进的作用,从而为确定宫颈鳞癌血管生成的相关因素,提供了理论依据。联合检测PDGF-D和VEGF对于评价宫颈鳞癌的恶性程度及其转移潜能具有参考价值,但其在宫颈鳞癌演变中的机制还有待进一步深入研究。随着对肿瘤血管生成相关因素的深入研究,有助于不断发现有效的抗肿瘤药物,为宫颈癌的治疗提供新的措施。

参考文献(References)

- [1] ParKin DM, Brag F, Ferlay J, et al. Estimating the world cancer burden: globoccen[J]. Int J Cancer, 2001, 94(2): 153
- [2] Erlandsson A, Biannvall K, Gustafsdottir S, et al. Autocrine/Paracrine Platelet Derived Growth Factor Regulates Proliferation of Neural Progenitor Cells[J]. Cancer Res, 2006, 66(16): 8042-8048
- [3] Xu L, Tong R, Cochran DM, et al. Blocking platelet-derived growth factor-D/platelet derived growth factor receptor betasignaling inhibits human renal cell carcinoma progression in an orthotopic mouse[J]. Cancer Res, 2005, 65(13): 5711-5719
- [4] Fischer A N, Fuchs E, Mikula M, et al. PDGF essentially links TGF-beta signaling to nuclear β -catenin accumulation in hepatic carcinoma progression[J]. Oncogene, 2007, 26(23): 3395-3405
- [5] LaRochelle W J, Jeffers M, Corvalan JR, et al. Platelet-derived growth factor D, tumorigenicity in mice and dysregulated expression in human cancer[J]. Cancer Res, 2002, 62(9): 2468-2473
- [6] J Yu, Ustach C, Kim HR. Platelet-derived growth factor signaling and human cancer[J]. Biochem Mol Biol, 2003, 36(1): 49-59
- [7] Wang Zhi-wei, Kong De-juan, Banerjee S, et al. Down-regulation of platelet derived growth factor-D inhibits cell growth and angiogenesis through inactivation of Notch-1 and Nuclear Factor- κ B Signaling[J]. Cancer Res, 2007, 67(23): 11377-11385
- [8] 丁苏宁, 李莉华, 王晓燕, 等. PDGF对胃癌细胞株SGC7901的作用[J]. 暨南大学学报, 2011, 32(4): 400-404
- [9] Ding Su-ning, Li Li-hua, Wang Xiao-yan, et al. The expression and significance of PDGF-D and PDGFR β in gastric cancer cell line SGC7901[J]. Journal of Jinan University, 2011, 32(4): 400-404
- [9] 戎赞华, 齐钊, 史永红, 等. PDGF-D在儿童IgA肾病中的表达增加[J]. 基础医学与临床, 2008, 28(12): 1313-1314
- [10] Rong Zan-hua, Qi Zhao, Shi Yong-hong, et al. Up-regulated expression of PDGF-D in children IgA nephropathy [J]. Basic and Clinical Medicine, 2008, 28(12): 1313-1314
- [10] Ferrara N. The biology of vascular endothelial growth factor [J]. Endocr Rev, 1997, 18(1): 4-25
- [11] Hou Hui, Ren Qiu-hua, Zheng Jing, et al. The expression of VEGF in colorectal cancer and its clinical pathology meaning [J]. Br J Surg, 2009, (2): 151
- [12] Zafirellis K, Agogiannis D, Zachaki A, et al. Prognostic significance of VEGF expression evaluated by quantitative immunohistochemical analysis in colorectal cancer[J]. J Surg Res, 2008, 147(1): 99-170
- [13] Iwasaki A, Kuwahara M, Yoshinaga Y, et al. Basic fibroblast growth factor(bFGF) and vascular endothelial growth factor (VEGF) levels, as prognostic indicators in NSCLC[J]. Eur J Cardiothorac Surg, 2004, 25(3): 443-448
- [14] 高炜, 盛琴慧, 朱国英, 等. 血管内皮生长因子基因的表达及血管生成作用[J]. 基础医学与临床, 2000, 20(5): 58-60
- [14] Gao Wei, Sheng Qin-hui, Zhu Guo-ying, et al. The Expression and angiogenesis Effect of VEGF gene [J]. Basic & clinical medicine, 2000, 20(5): 58-60
- [15] Zhang T, Liu M, Wang C, et al. Down-regulation of MiR-206 promotes proliferation and invasion of laryngeal cancer by regulating VEGF expression[J]. Anticancer Res, 2011, 31(11): 3859-3863
- [16] Bruce D, Tan PH. Vascular endothelial growth factor receptors and the therapeutic targeting of angiogenesis in cancer: where do we go from here[J]. Cell Commun Adhes, 2011, 18(5): 85-103
- [17] Nagy JA, Vasile E, Feng D, et al. Vascular permeability factor/Vascular endothelial growth factor induces lymphangiogenesis as well as angiogenesis[J]. J Exp Med, 2002, 196(11): 1497-1506
- [18] Affek DG, Bull DA, Bailey SH, et al. PDGF (BB) increases myocardial production of VEGF: shift in VEGF mRNA splice Variants after direct injection of bFGF, PDGF(BB) and PDGF(AB)[J]. J Surg Res, 2002, 107(2): 203-209
- [19] Ferrara N. The biology of Vascular endothelial growth factor [J]. Endocr Rev, 1997, 18(1): 4-25
- [20] 唐森龙, 周希科. PDGF-D和VEGF在乳腺癌中的表达及其意义[J]. 中国医药指南, 2012, 10(5): 173-174
- [20] Tang Miao-long, Zhou Xi-ke. PDGF-D and VEGF expression in breast cancer and its significance[J]. Guide Of China Medicine, 2012, 10(5): 173-174