

22(1):19-22.

838-840.

15 刘成伟,陈雅棠,李文桂,等. 扫描电镜观察双氢青蒿素对大鼠体内卡氏肺孢子虫表面形态的影响[J]. 重庆医学,2004,33(6): [收稿日期 2011-05-22][本文编辑 韦挥德 吕文娟]

课题研究·论著

VEGF 及 nm23 在广西地区食管癌中的表达及其相关性研究

苏乃伟, 冯 旭, 覃家锦

基金项目: 广西自然科学基金资助项目(编号:桂科青 0640047),项目得到广西大型仪器网测试资助

作者单位: 530003 南宁,广西壮族自治区妇幼保健院外科(苏乃伟); 530021 南宁,广西医科大学第一附属医院心胸外科(冯 旭,覃家锦)

作者简介: 苏乃伟(1978-),男,医学硕士,主治医师,研究方向:心胸外科疾病诊治。E-mail:sunaiwei2408@sina.com

通讯作者: 冯 旭(1971-),男,博士,硕士研究生导师,副主任医师,教授,研究方向:心胸外科疾病诊治。E-mail:feng_xudr@sina.com.cn

[摘要] 目的 探讨血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factors, VEGF)及 nm23 在广西地区食管癌中的表达及其与临床病理因素的关系。方法 用免疫组织化学链霉素亲生物素-过氧化物酶(Streptavidin-Peroxidase, SP)法检测 80 例食管癌及 10 例正常食管黏膜组织中 VEGF、nm23 的表达。结果 VEGF 在食管癌组织中的阳性表达显著高于正常食管黏膜组织($P < 0.05$); VEGF 的高表达与食管癌患者的年龄、性别、组织学类型无关($P > 0.05$),而与分化程度、浸润程度、区域淋巴结转移情况及 TNM 分期有关($P < 0.05$)。nm23 在食管癌组织中的阳性表达显著低于正常食管黏膜组织($P < 0.05$); nm23 的表达与患者的性别、年龄、组织学类型、分化程度、浸润程度无关($P > 0.05$),而与有无淋巴结转移及 TNM 分期有关($P < 0.05$)。VEGF、nm23 之间呈负相关($r = 0. -0.520, P < 0.05$)。结论 VEGF 在广西地区食管癌的发生、侵袭、淋巴结转移过程中起一定的作用; nm23 的表达缺失与食管癌的发生密切相关,可作为评价食管癌预后良好的指标之一; VEGF、nm23 在参与食管癌的发生过程中起相互抑制的作用。

[关键词] 食管癌; VEGF; nm23; 免疫组织化学

[中图分类号] R 735.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2011)10-0916-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2011.10.02

Expression of VEGF and nm23 in esophageal cancer in Guangxi and the relationship between them SU Naiwei, FENG Xu, QIN Jia-Jin. Department of Surgery, the Maternal and Children's Health Care Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530003, China

[Abstract] **Objective** To investigate the level of VEGF and nm23 expression in esophageal cancer and normal esophageal mucosa in Guangxi, and detect their relationships with clinical predictive indicators. **Methods** The levels of VEGF and nm23 expression in 80 cases of esophageal cancer and 10 cases of normal esophageal mucosa were detected by SP immunohistochemical method. **Results** VEGF positive expression rate in esophageal cancer was significantly higher than that of normal esophageal mucosa ($P < 0.05$). VEGF positive expression rate had no significant correlation with the patient's age, sex, and histological type ($P > 0.05$), but was correlation with degree of the differentiation, tumors invade depth, clinical stage, and lymph node metastasis ($P < 0.05$). nm23 positive expression in esophageal cancer significantly lower than that of normal esophageal mucosa ($P < 0.05$). nm23 positive expression had no significant correlation with the patient's age, sex, histological type, degree of the differentiation, and tumors invade depth ($P > 0.05$), but it was correlation with lymph node metastasis and clinical stage ($P < 0.05$). VEGF had negative correlation with nm23 ($r = 0. -0.520, P < 0.05$). **Conclusion** The over-expression of VEGF and The

lower-expression of nm23 were significantly correlated with the carcinogenesis of esophageal cancer in Guangxi. And they had negative affection with each other.

[Key words] Esophageal cancer; VEGF; nm23; Immunohistochemistry

食管癌的发生、发展是一个多基因参与的多步骤过程,随着分子生物学的发展,基因及其产物的表达与肿瘤的关系成为食管癌研究的重点。本研究分析了血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factors, VEGF)及 nm23(non-metastasis23)在食管癌中的表达情况,探讨其与临床病理的关系以及他们之间的相关性。

1 材料与方法

1.1 一般资料 收集广西医科大学第一附属医院及其他附属医院 2006-10~2008-06 术前未经放疗、化疗的食管癌根治术标本 80 例,其中男 58 例,女 22 例,年龄 40~72(55.2±7.4)岁,均为广西患者。其中鳞癌 72 例,腺癌 8 例;高分化 17 例,中分化 41 例,低分化 22 例;浸润黏膜下层 2 例,浸润肌层 40 例,浸润食管外膜 38 例;伴有区域淋巴结转移者 44 例,无淋巴结转移者 36 例。临床分期(根据 UICC 分期标准): I 期 2 例, II a 期 31 例, II b 期 22 例, III 期 25 例。正常食管黏膜组织 10 例(均为广西人),标本均取自同期非肿瘤病例的食管黏膜纤维镜活检组织。

1.2 试剂与方法 即用型 VEGF、nm23 鼠抗人单克隆抗体,即用型快捷免疫组化 Maxvision™ 鼠/兔-HRP 广谱检测试剂盒, DAB 显色试剂盒,免疫组化 SP 检测试剂盒,均购自福建迈新生物技术有限公司。所有标本均经 10% 中性福尔马林固定、石蜡包埋, 4 μm 切片, HE 染色,免疫组织化学染色按 SP 试剂盒说明书进行。用已知的各个蛋白的阳性切片作为阳性对照。用 PBS 代替一抗作阴性对照。

1.3 结果判断标准 两个抗体阳性定位均位于细

胞质,镜下观察各组免疫组化片进行综合评分。肿瘤细胞表达面积:阳性表达细胞数为 0 计为 0 分; ≤25% 计为 1 分; 26%~50% 计为 2 分; 51%~75% 计为 3 分; >75% 计为 4 分。肿瘤细胞表达强度:阳性信号强烈,呈棕褐色,小块状,计为 3 分;呈棕色,粗颗粒状,计为 2 分;呈淡棕色,细颗粒状,计为 1 分;无阳性信号,计为 0 分。两项相加, 0~1 分为阴性(-), 2~3 分为弱阳性(+), 4~5 分为中度阳性(++), 6~7 分为强阳性(+++)。

1.4 统计学方法 应用 SPSS13.0 统计软件进行数据处理,两样本率、多样本率的比较采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法,两者相关性用 Spearman 秩和相关分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 阳性表达情况 10 例正常食管黏膜组织中 1 例 VEGF 阳性,阳性率为 10%, 80 例食管癌组织中 53 例 VEGF 表达阳性,阳性率为 62.25%,两者差异有统计学意义($\chi^2 = 9.422, P = 0.002$); 10 例正常食管黏膜中 9 例 nm23 表达阳性,阳性率 90%, 80 例食管癌组织中 31 例 nm23 表达阳性,阳性率 38.75%,两者差异有统计学意义($\chi^2 = 7.494, P = 0.006$)。

2.2 VEGF 及 nm23 表达与食管癌患者临床病理指标的关系 VEGF 的表达与食管癌患者的年龄、性别、组织学类型无关($P > 0.05$),而与分化程度、浸润程度、区域淋巴结转移及 TNM 分期有关($P < 0.05$); nm23 的表达与食管癌患者的年龄、性别、组织学类型、分化程度、浸润程度无关($P > 0.05$),而与区域淋巴结转移情况及 TNM 分期有关($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 VEGF 及 nm23 表达与食管癌患者临床病理指标的关系

| 临床病理指标 | 例数 | VEGF 的表达水平 | | χ^2 | P | nm23 的表达水平 | | χ^2 | P | |
|--------|----------|------------|----|----------|-------|------------|----|----------|-------|-------|
| | | 阳性 | 阴性 | | | 阳性 | 阴性 | | | |
| 性别 | 男 | 58 | 41 | 17 | 1.859 | 0.173 | 24 | 34 | 0.614 | 0.433 |
| | 女 | 22 | 12 | 10 | | | 7 | 15 | | |
| 年龄 | ≥60 岁 | 17 | 12 | 5 | 0.182 | 0.670 | 8 | 9 | 0.628 | 0.428 |
| | <60 岁 | 63 | 41 | 22 | | | 23 | 40 | | |
| 组织学类型 | 鳞状细胞癌 | 72 | 48 | 24 | 0.055 | 0.814 | 28 | 44 | 0.006 | 0.939 |
| | 腺癌 | 8 | 5 | 3 | | | 3 | 5 | | |
| 分化程度 | 高分化 | 17 | 7 | 10 | 8.673 | 0.013 | 10 | 7 | 4.188 | 0.123 |
| | 中分化 | 41 | 27 | 14 | | | 15 | 26 | | |
| | 低分化 | 22 | 19 | 3 | | | 6 | 16 | | |
| 浸润程度 | 黏膜-肌层 | 42 | 23 | 19 | 5.219 | 0.022 | 20 | 22 | 2.930 | 0.087 |
| | 食管外膜 | 38 | 30 | 8 | | | 11 | 27 | | |
| 淋巴结转移 | 有淋巴结转移 | 44 | 34 | 10 | 5.788 | 0.016 | 12 | 32 | 5.427 | 0.020 |
| | 无淋巴结转移 | 36 | 19 | 17 | | | 19 | 17 | | |
| TNM 分期 | I~II a | 33 | 16 | 17 | 7.928 | 0.005 | 19 | 14 | 8.388 | 0.004 |
| | II b~III | 47 | 37 | 10 | | | 12 | 35 | | |

2.3 VEGF 及 nm23 的相关性 VEGF 与 nm23 在食管癌中的共同表达阳性者有 12 例,表达阴性者有 8 例,一表达阳性一表达阴性者有 60 例。应用 Spearman 秩和相关分析两者之间的关系, $r = -0.520$, $P = 0.000$, 两者异常表达存在负相关。见表 2。

表 2 食管癌中 VEGF 及 nm23 的表达关系

| VEGF 表达 | nm23 表达 | | | | 合计 |
|---------|---------|---|----|-----|----|
| | - | + | ++ | +++ | |
| - | 8 | 1 | 11 | 7 | 27 |
| + | 12 | 0 | 5 | 0 | 17 |
| ++ | 18 | 3 | 3 | 0 | 24 |
| +++ | 11 | 1 | 0 | 0 | 12 |
| 合计 | 49 | 5 | 19 | 7 | 80 |

3 讨论

3.1 VEGF 是最重要的血管源性生长因子, 新血管形成是保证肿瘤生长和转移的组织学基础, 受多种促血管因子和抗血管生成因子的双重调节。肿瘤细胞能产生大量 VEGF, VEGF 通过自分泌或旁分泌途径与受体结合, 使细胞有丝分裂增加, 诱导淋巴管内皮细胞增殖, 增加血管的通透性, 促进淋巴管内皮细胞生长, 从而使淋巴管扩张或增生, 形成新生的淋巴管, 促进纤维蛋白的排出, 形成血管内皮细胞粘附移行的新基质, 加大了肿瘤细胞自淋巴管转移的机会^[1]。VEGF 表达与肿瘤侵袭性相关, 可作为许多实体恶性肿瘤的不良预后因子^[2]。国内外有研究发现^[3,4] VEGF 在食管癌组织中高表达, 并与肿瘤淋巴结转移之间关系密切。Sung 等^[5]认为 VEGF-CmRNA 和 VEGFR-3mRNA 可以作为临床诊断食管癌淋巴结转移新的常规检测手段。Kimura 等^[6]提出食管癌患者术前血清高水平的 VEGF-C 含量是肿瘤复发的独立危险因素。李牧等^[7]研究发现 VEGF 的表达食管癌组织中高于正常食管黏膜组织, 并与淋巴结转移及浸润有关。尹惠卿等^[8]实验发现食管癌患者 VEGF 表达情况与临床分期密切相关。本实验结果显示, 食管癌组的 VEGF 阳性表达率为 66.25%, 显著高于正常食管黏膜组, 提示 VEGF 的表达与食管的发生密切相关; 食管癌组织中的 VEGF 的表达与患者性别、年龄、组织学类型无关 ($P > 0.05$), 而与组织学分级情况、浸润程度、区域淋巴结转移情况、TNM 分期有关 ($P < 0.05$), 随着分化程度的降低、浸润深度的增加、淋巴结的转移、TNM 分期升高, VEGF 阳性表达率增高。表明在食管癌的发展过程中, VEGF 的表达水平与肿瘤的恶性程度、

浸润、转移密切相关, 与近期周明等^[9]报道相似。其机理可能是由于 VEGF 高表达, 肿瘤血管生成增多, 肿瘤细胞得到更多的氧和营养, 增殖加快, 从而促进癌细胞的生长和浸润。同时, 不成熟的新生血管增加, 血管通透性增高, 促进淋巴管内皮增生, 淋巴管数目增多, 增大了癌细胞与淋巴管内皮接触的面积, 在毛细血管静脉端游离出的癌细胞进入淋巴管, 导致淋巴转移, 使食管癌淋巴和远处转移的机会增加。

3.2 nm23 是目前最引人注目的肿瘤转移抑制基因之一^[10], 故临床上研究最多。目前认为其作用机制是通过 nm23-H1 基因的编码产物核苷二磷酸激酶 (Nucleoside diphosphate kinase, NDPK) 实现的, nm23-H1 等位基因发生突变、缺失或表达异常可导致 NDPK 发生改变, 一方面引起核苷三磷酸产生不足, 影响微血管的聚合, 使细胞减少分裂时释放垂体形成障碍, 出现染色体畸形和非整倍体细胞, 从而驱动肿瘤转移; 另一方面通过影响细胞骨架而引起细胞运动, 从而参与浸润和转移过程, nm23 所具有的功能一旦被破坏, 便有可能导致细胞分化受阻而影响细胞发育和促进肿瘤发展。Szumilo 等^[11]研究发现 nm23 在中、高分化食管癌的表达高于低分化组, 有淋巴结转移组显著低于无淋巴结转移组。犹东等^[12]研究发现 nm23-H1 与食管癌的浸润深度、TNM 分期、有无淋巴结转移相关。本实验结果显示, 食管癌组织中 nm23 的阳性表达率为 38.75%, 显著低于正常食管黏膜组的 nm23 阳性表达率的 90%, 提示 nm23 的低表达与食管癌的发生密切相关。食管癌组织中的 nm23 的表达与患者性别、年龄、组织学类型、浸润程度、组织学分级无关, 而与区域淋巴结转移情况、TNM 分期有关, 与魏华兵等^[13]研究发现相似。随着淋巴结的转移及 TNM 分期的升高, nm23 表达降低。表明在食管癌的发展过程中, nm23 有部分抑瘤活性, 可抑制食管癌的发生及转移, 该基因的缺失或突变可诱导食管癌的发生及发展, nm23 的表达水平与肿瘤的浸润、转移密切相关, nm23 作为食管癌淋巴结转移和预后的评估指标是非常有意义的。

3.3 有研究显示在肺癌^[14]组织及大肠癌组织^[15]中 VEGF 与 nm23 表达呈负性相关。本实验发现 VEGF 的表达与 nm23 在食管癌组织中的表达呈负相关 ($r = -0.520$, $P = 0.000$), 提示 nm23 低表达可能促进 VEGF 高表达, 从而促使癌间质血管新生, 为肿瘤的浸润进展提供氧和营养物质; 在食管癌细胞

分化、转移和临床进展过程中, VEGF 和 nm23 基因都以各自不同的方式参与了食管癌的发生、发展与转移, VEGF 与 nm23 之间可能具有相互诱导或信息传递的负调节作用。也预示联合检测两项指标有助于食管癌生物行为的判断和预后的估计。这为以后的临床工作中判断食管癌的预后带来了新的希望。

参考文献

- 1 Saintigny P, Kambouchner M, Ly M, et al. Vascular endothelial growth factor-C and its receptor VEGFR-3 in non-small-cell lung cancer: concurrent expression in cancer cells from primary tumour and metastatic lymph node[J]. Lung Cancer, 2007, 58 (2): 205 - 213.
- 2 Tanimoto S, Fukumori T, El-Moula G, et al. Prognostic significance of serum hepatocyte growth factor in clear cell carcinoma: comparison with serum vascular endothelial growth factor [J]. J Med Invest, 2008, 55 (1-2): 106 - 111
- 3 Möbius C, Freire J, Becker I, et al. VEGF-C expression in squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of the esophagus [J]. World J Surg, 2007, 31(9): 1768 - 1772.
- 4 卢培, 陆慧琦, 韩焕兴, 等. 两种检测 VEGF-C 和 VEGFR-3 基因表达的方法在诊断食管癌淋巴结转移中的价值[J]. 检验医学, 2009, 24(6): 446 - 449.
- 5 Sung JY, Lee S, Kim YW, et al. Vascular endothelial growth factor receptor-3 is a favorable prognostic factor in advanced gastric carcinoma[J]. Oncol Rep, 2008, 19(4): 939 - 944.
- 6 Kimura H, Kato H, Tanaka N, et al. Preoperative serum vascular en-

dothelial growth factor-C (VEGF-C) levels predict recurrence in patients with esophageal cancer[J]. Anticancer Res, 2008, 28(1A): 165 - 169.

- 7 李牧, 宋剑非, 梁岳培, 等. 端粒酶、VEGF 基因蛋白在食管癌中的表达及临床意义[J]. 重庆医学, 2010, 39 (20): 2755 - 2758.
- 8 尹惠卿, 孙莉, 段昱, 等. 食管鳞癌患者血清 VEGF 水平检测及临床意义分析[J]. 实用全科医学, 2008, 6(5): 527 - 528.
- 9 周明, 徐岗, 邵中夫, 等. VEGF-C 及其受体 Flt4 表达与食管癌临床病理的相关性研究[J]. 广西医学, 2009, 31 (5): 635 - 637.
- 10 Garzia L, Roma C, Tata N, et al. H-prune-nm23-H1 protein complex and correlation to pathways in cancer metastasis[J]. J Bioenerg Biomembr, 2006, 38(3-4): 205 - 213.
- 11 Szumilo J, Skomra D, Chibowski D, et al. Immunoeexpression of nm23 in advanced esophageal squamous cell carcinoma [J]. Folia Histochem Cytobiol, 2002, 40(4): 377 - 380.
- 12 犹东, 高平. 食管癌中 P53 与 nm23 - H1 基因表达的临床意义[J]. 宁夏医学杂志, 2007, 29(10): 869 - 870.
- 13 魏华兵, 曹子昂, 刘强, 等. 食管鳞癌组织中 nm23-H1 的表达及临床意义[J]. 现代医学, 2010, 38(5): 501 - 504.
- 14 Ohta Y, Nozaki Z, Nozawa H, et al. The predictive value of vascular endothelial growth factor and nm23 for the diagnosis of occult metastasis in non-small cell lung cancer [J]. Jpn J Cancer Res, 2001, 92 (3): 361 - 366.
- 15 王从玉, 邓跃华, 刘弋, 等. nm23 VEGF-C 及 VEGFR-3 在食管癌中的表达及意义[J]. 中国肿瘤临床, 2008, 35(19): 1117 - 1121.

[收稿日期 2011-07-04][本文编辑 宋卓孙 刘京虹]

本刊严正声明

根据有关读者举报并经本刊初步查证,近一段时间来有人冒充本刊名义和盗用本刊的合法刊号 (ISSN1674 - 3806/CN45 - 1365/R) 进行非法出版活动 (该非法出版物的编辑部地址为:北京市 100036 信箱 27 分箱; 邮政编码: 100036; 联系电话: 010 - 87013678; 网址: <http://www.zglcxyx010.com>; E-mail: zglcxyx010@126.com, ZGLCXYX@163.com), 严重地侵犯本刊的合法权益, 损害了本刊的名义, 在社会上造成了极坏的不良影响。为此, 本刊特严正声明如下:

(一) 冒充本刊名义和盗用本刊合法刊号的违法者必须立即停止一切侵权行为和非法出版活动, 并对已发生的侵权行为和非法出版活动承担法律和经济责任。

(二) 本刊已委托律师通过法律手段追诉侵权和非法出版者的法律责任和经济赔偿责任。

(三) 本刊一贯严格遵守和执行新闻出版的有关法律、法规和管理规定, 从未在全国任何地方设立过分支机构、分部和代办点; 从未委托本编辑部以外的任何人进行组稿、征稿业务活动。

(四) CN45 - 1365/R 的标准刊号为出版物和编辑部设在广西的特定登记号, 凡在广西以外出现的 CN45 - 1365/R 刊号的出版物和编辑出版机构都是非法的。

(五) 本刊合法的编辑部地址为: 广西南宁市桃源路 6 号广西壮族自治区人民医院内。邮政编码为: 530021。电话号码为: 0771 - 2186013。网址为: <http://www.zglcxyxzz.com>。E-mail: zglcxyxzz@163.com。

(六) 敬请广大作者、读者务必认准本刊的标准刊号和编辑部地址, 谨防上当受骗。

· 本刊编辑部 ·