

VEGF 及微血管密度 在非小细胞肺癌中的表达及 VEGF 与临床病理特征的关系

张朝清¹, 刘丽², 吴定滨¹, 付春利³, 许锦文¹, 潘永康⁴, 李丽晖¹
(开平市中心医院病理科¹、康复科²、胸外科³、检验科⁴, 广东 开平 529300)

【摘要】 目的 探讨血管内皮生长因子(VEGF)及微血管密度(MVD)在非小细胞肺癌(NSCLC)中的表达及 VEGF 与临床病理特征的关系。方法 选择 2015 年 1 月至 2016 年 12 月期间开平市中心医院胸外科收治的 60 例 NSCLC 患者的癌组织及癌旁组织进行研究,同时选择 50 例肺良性病变组织标本(术后病理证实)纳入对照组。比较不同组织的 VEGF 的阳性表达率及 MVD 表达情况,并且对 VEGF 阳性表达与临床病理特征的关系进行分析。结果 肺癌组织 VEGF 阳性表达率为 73.33%,明显高于癌旁组织的 45.00%,且高于对照组的 14.00%,差异均有统计学意义($P<0.05$);肺癌组织 MVD 明显高于癌旁组织,且高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$);VEGF 阳性表达率在有淋巴结转移者、TNM 分期为 III 期者、中低分化者明显高于无淋巴结转移、TNM 分期为 I~II 期者、分化程度高者,差异均有统计学意义($P<0.05$);VEGF 表达与性别、年龄、是否吸烟、病理分型、肿瘤大小无关($P>0.05$)。结论 VEGF 及 MVD 在 NSCLC 组织中均高表达,其在 NSCLC 的发生发展及转移过程中起着重要作用。

【关键词】 血管内皮生长因子;微血管密度;非小细胞肺癌;临床病理特征;转移

【中图分类号】 R734.2 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2017)14-2254-03

Expression of VEGF and microvessel density in non-small cell lung cancer and relationship of VEGF with clinicopathological features. ZHANG Chao-qing¹, LIU Li², WU Ding-bin¹, FU Chun-li³, XU Jin-wen¹, PAN Yong-kang⁴, LI Li-hui¹. Department of Pathology¹, Department of Rehabilitation², Department of Thoracic Surgery³, Department of Clinical Laboratory⁴, Kaiping Central Hospital of Guangdong, Kaiping 529300, Guangdong, CHINA

【Abstract】 Objective To investigate the expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and microvessel density (MVD) in non-small cell lung cancer (NSCLC) and relationship of VEGF with clinicopathological features. **Methods** Cancer tissue and adjacent tissue samples were collected from sixty patients with NSCLC from January 2015 to December 2016 in the Department of Thoracic Surgery in our hospital, and specimens from 50 cases of benign lung lesions (confirmed pathologically after operation) were selected as the control group. The positive expression rate of VEGF and MVD levels were compared among different tissues, and the relationships of VEGF expression with clinicopathological features were analyzed. **Results** The positive expression rate of VEGF in lung cancer tissue was 73.33%, significantly higher than 45.00% in the adjacent tissues and 14.00% in the control group ($P<0.05$). The MVD level of lung cancer tissue was significantly higher than that in the adjacent tissues and that in the control group ($P<0.05$). The positive expression rates of VEGF in patients with lymph node metastasis, TNM stage III, middle and low differentiation were significantly higher than those in patients with no lymph node metastasis, TNM stage I~II, high differentiation ($P<0.05$). The expression of VEGF was not related with gender, age, smoking, pathological type, tumor size ($P>0.05$). **Conclusion** VEGF and MVD are highly expressed in NSCLC tissues, which play important roles in the development and metastasis of NSCLC.

【Key words】 Vascular endothelial growth factor (VEGF); Microvessel density (MVD); Non-small cell lung cancer (NSCLC); Clinicopathological features; Metastasis

基金项目:广东省开平市科研项目(编号:16A089)

通讯作者:张朝清。E-mail:zcqaotn@126.com

[4] 娄丽璇. 不同腹膜透析液的特点及临床应用评价[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志, 2016, 25(2): 186-190.

[5] Hong FY, Bao JF, Hao J, et al. Methylglyoxal and advanced glycation end-products promote cytokines expression in peritoneal mesothelial cells via MAPK signaling [J]. Am J Med Sci, 2015, 349(2): 105-109.

[6] Sharifpanah F, Behr S, Wartenberg M, et al. Mechanical strain stimulates vasculogenesis and expression of angiogenesis guidance molecules of embryonic stem cells through elevation of intracellular calci-

um, reactive oxygen species and nitric oxide generation [J]. Biochim Biophys Acta, 2016, 1863(12): 3096-3105.

[7] Cho Y, Johnson DW, Badve SV, et al. The impact of neutral-pH peritoneal dialysates with reduced glucose degradation products on clinical outcomes in peritoneal dialysis patients [J]. Kidney Int, 2013, 84(5): 969-979.

[8] 庄薇, 钟宁. VEGF、Ang-2 在腹膜透析大鼠腹膜组织中的表达[J]. 继续医学教育, 2013, 27(10): 50-51.

(收稿日期:2017-04-05)

近年来,肺癌成为严重危害人类健康和生命的最常见恶性肿瘤,其发病率和死亡率在我国也呈现出上升趋势^[1]。虽然很多学者针对肺癌发病机制已经进行了深入研究,并且采用了以手术及放化疗的综合治疗方案,但患者的预后仍然不尽人意,其5年生存率仅为11%^[2]。目前认为患者预后较差的主要原因是肺癌侵袭和转移,其中生成的新生血管不仅为肿瘤的生长提供营养,同时也向宿主输出大量的肿瘤细胞,因而是肿瘤侵袭和转移的形态学基础^[3]。血管内皮生长因子(VEGF)具有特异性诱导肿瘤新生血管生成的作用,微血管密度(MVD)则反映了组织中单位密度的微血管数量。本研究旨在探讨VEGF及MVD在非小细胞肺癌(NSCLC)中的表达及VEGF与临床病理特征的关系,现报道如下:

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2015年1月至2016年12月期间开平市中心医院胸外科收治的60例NSCLC患者,其中男性35例,女性25例;年龄38~73岁,平均(57.8±11.4)岁。纳入标准:①符合NSCLC诊断标准;②未接受过手术和化疗治疗;排除合并急慢性感染、血液系统疾病、自身免疫性疾病、肝肾不全以及合并远处转移的患者。选择同期手术的肺良性病变组织标本(术后病理证实)50例纳入对照组,其中男性28例,女性22例;年龄31~75岁,平均(54.7±12.9)岁。两组患者的年龄、性别比较差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 研究方法 对手术切除的标本进行常规方法处理,甲醛溶固定后采用石蜡包埋、并切片(厚度5 μm),然后脱蜡、水化,使用过氧化氢(浓度为3%)以阻断组织内的内源性过氧化物酶;并且应用枸橼酸缓冲液(0.01 mol/L)进行抗原热修复,然后分别将非免疫性动物血清(1:10)、VEGF(1:200)、生物素化羊抗鼠抗体(1:200)、SP复合物(1:200)加入,各步骤均经恒温箱孵育(37℃)、磷酸盐缓冲液(PBS)洗脱、DAB显色,以及苏木素复染、脱水固定等处理,使用中性树脂封片。空白对照组均运用PBS代替一抗。其中主要试剂包括鼠抗人VEGF单克隆抗体、鼠兔免疫组化试剂盒、DAB显色试剂盒分别购于美国Snataacruz公司、广州深达生物制品技术有限公司、中杉金桥公司。

1.3 结果判读 VEGF主要在细胞膜、细胞浆上定位表达,显示棕黄色颗粒者则为阳性。将切片在100倍镜下进行观察,选择10个视野,每个视野各100个肿瘤细胞,共1 000个肿瘤细胞,每张切片上VEGF阳性率≥10%则判断为VEGF蛋白阳性表达。MVD判定标准:与相邻的肿瘤细胞、微血管和其他结缔组织不相连,分界清楚的棕黄色免疫组化染色细胞群即为一条独立的微血管,每个标本在100倍镜下选出3

个微血管密度最强区,然后在200倍镜下计数5个最强区MVD的平均值。

1.4 统计学方法 应用SPSS19.0统计学软件进行数据分析,计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,计量资料两两比较采用 t 检验,多组均数的比较采用方差分析;采用百分数表示计数资料,两样本率的比较采用 χ^2 检验,均以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组受检者的VEGF阳性表达和MVD比较 60例NSCLC患者中,肺癌组织VEGF阳性表达率及MVD明显高于癌旁组织及对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表1。肺癌组织中VEGF阳性表达及对照组VEGF的阴性表达分别见图1和图2。

表1 各组受检者的VEGF阳性表达和MVD比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	VEGF阳性[例(%)]	MVD ($\bar{x}\pm s$, 根/mm ³)
肺癌组织	60	44 (73.33)	30.34±12.42
癌旁组织	60	27 (45.00) ^a	15.78±4.39 ^a
对照组	50	7 (14.00) ^{ab}	4.25±1.54 ^{ab}
F 值/ χ^2 值		9.968	93.540
P 值		<0.05	<0.05

注:与肺癌组织比较,^a $P<0.05$;与癌旁组织比较,^b $P<0.05$ 。

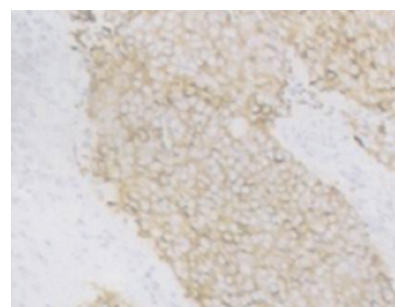


图1 肺癌组织中VEGF阳性表达(×200)

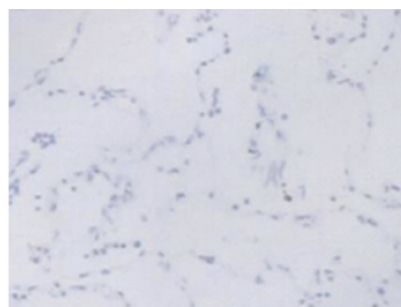


图2 对照组VEGF阴性表达(×200)

2.2 NSCLC组织中VEGF的表达与临床病理特征的关系 单因素分析显示,VEGF阳性表达率在有淋巴结转移者、TNM分期为Ⅲ期者、中低分化者明显高于无淋巴结转移、TNM分期为Ⅰ~Ⅱ期者、分化程度高者,差异均有统计学意义($P<0.05$);VEGF表达与性别、年龄、是否吸烟、病理分型、肿瘤大小无关,差异无统计学意义($P>0.05$),见表2。

表 2 NSCLC 组织中 VEGF 的表达与临床病理特征的关系[例(%)]

临床病理特征	分类	例数	VEGF 阳性表达	χ^2 值	P值
性别	男性	35	26 (74.29)	0.039	>0.05
	女性	25	18 (72.00)		
年龄(岁)	≥60	41	31 (75.61)	0.343	>0.05
	<60	19	13 (68.42)		
吸烟	是	18	15 (83.33)	1.315	>0.05
	否	42	29 (69.05)		
病理分型	鳞癌	39	28 (71.79)	0.135	>0.05
	腺癌	21	16 (76.19)		
淋巴结转移	是	31	28 (90.32)	9.467	<0.05
	否	29	16 (55.17)		
TNM分期	I~II	27	15 (55.56)	7.934	<0.05
	III	33	29 (87.88)		
肿瘤大小(cm)	>3	40	30 (75.00)	0.187	>0.05
	≤3	20	14 (70.00)		
分化程度	中低	39	33 (84.62)	7.253	<0.05
	高	21	11 (52.38)		

3 讨论

肺癌是目前人类发病率最高的恶性肿瘤之一,其中 NSCLC 约占 80%^[4],严重影响患者的身体健康及生活质量。对于早期无远处转移的 NSCLC 患者而言,外科手术是公认的首选治疗手段,但是患者的五年生存率仍然较低,肺癌侵袭和转移是导致治疗失败的主要原因^[5]。新生血管是指机体内皮细胞在某些因素的刺激下分化成为一些新血管,目前研究证明所有的实体肿瘤生长和转移均依赖于不断生产的新生血管,以满足其营养代谢和扩增的需要;肿瘤细胞的增殖率大于其凋亡率时,可出现肿瘤的快速发展阶段以及肿瘤细胞的浸润和转移^[6]。MVD 可以直接检测肿瘤组织内单位面积的血管数量,是评估肿瘤血管生成的重要指标。血管内皮生长因子是一种广泛分布于肾脏、脑垂体、肾上腺等体内各组织的、分子量在 34~45 kD 之间的糖蛋白。VEGF 通过与其受体结合,引起一系列信号转导及释放多种细胞因子,起到特异性调控血管内皮细胞的增殖、水解基膜、迁移和血管构建等过程,是已知的作用最强的促进血管生成作用的调节因子^[7]。研究表明,VEGF 往往在病理情况下,尤其是恶性肿瘤组织中呈现出过量表达^[8]。本研究中,NSCLC 组织中 VEGF 阳性表达率及 MVD 明显高于癌旁组织,且明显高于良性病变组织,说明 NSCLC 的发生与 VEGF 和 MVD 关系密切。

VEGF 在促进新生血管的增加作用之外,还可以为内皮细胞的迁移和肿瘤细胞的转移提供基础。周红凤等^[9]研究发现乳腺癌 VEGF 的表达水平与组织中微血管密度呈正相关性,指出 VEGF 在乳腺癌的发生发展及肿瘤转移中具有重要作用。胡金华等^[10]研究则指出,VEGF 水平与食管癌患者的预后具有相关性。本研究显示 VEGF 表达与性别、年龄、是否吸烟、病理分型、肿瘤大小无关($P>0.05$);但是 VEGF 阳性表达率在有淋巴结转移者、TNM 分期为 III 期者、中低分化者明显高于无淋巴结转移、TNM 分期为 I~II 期者、分化程度高者,差异有统计学意义($P<0.05$)。提示 VEGF 的阳性表达随着 NSCLC 的恶性程度及病程进展和淋巴结转移而增强。

综上所述,VEGF 及 MVD 在 NSCLC 的发生发展及转移过程中起着重要的作用,这对于 NSCLC 的恶性程度判断和预后评估具有重要意义,同时也为 NSCLC 临床治疗提供新的思路。

参考文献

- [1] 姚晓军,张洪伟,蒲强,等. 2000 年与 2010 年四川大学华西医院收治肺癌患者的临床流行病学特征及病理类型分布特点[J]. 四川大学学报(医学版), 2014, 45(2): 309-315.
- [2] 侯量,朱佳龙,顾国军. 非小细胞肺癌患者行胸腔镜下手术治疗的围术期状况及远期生存状况研究[J]. 中国内镜杂志, 2016, 22(8): 70-73.
- [3] 石燕,陈丽,王治宽,等. I~III 期胃癌中 VEGF、HIF-1 α 和 TGF- β 表达的临床意义及其预后价值[J]. 临床肿瘤学杂志, 2013, 18(4): 310-316.
- [4] 张仁锋,张岩,温丰标,等. 6 058 例肺癌患者病理类型和临床流行病学特征的分析[J]. 中国肺癌杂志, 2016, 19(3): 129-135.
- [5] 樊志明,舒祖功,谭江平. 非小细胞肺癌生存分析及预后相关因素研究[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2011, 27(6): 674-675.
- [6] 杨勤航,臧远胜,李兵. 肺癌新生血管生成机制研究进展[J]. 第二军医大学学报, 2013, 34(4): 434-439.
- [7] 龚晓燕,保永亮,黄金玲. 血管内皮生长因子与肿瘤侵袭转移[J]. 安徽医药, 2013, 17(1): 3-5.
- [8] 玄基泽,陈丹,时畅,等. 血管内皮生长因子和 E-cadherin 在胃癌组织中的表达及临床意义[J]. 中国医科大学学报, 2014, 43(4): 324-327, 332.
- [9] 周红凤,吴瑾,陈桂云,等. 乳腺癌组织和血清中 VEGF、bFGF 的表达和微血管密度的关系[J]. 哈尔滨医科大学学报, 2012, 46(3): 248-252, 256.
- [10] 胡金华,张耀晴,朱斌. 食管癌患者血清 VEGF、TNF- α 和 IL-6 表达与预后的相关性[J]. 现代肿瘤医学, 2017, 25(1): 63-66.

(收稿日期:2017-04-26)