

· 论著 ·

血管内皮生长因子受体-1 对肝癌侵袭转移的影响

艾军华 郑树国 曾永毅 张雷达 董家鸿

【摘要】 目的 通过检测血管内皮生长因子受体-1 (vascular endothelial growth factor receptor-1, VEGFR-1) 在肝癌组织中的表达, 探讨 VEGFR-1 在肝癌侵袭、转移中的作用。**方法** 共取 82 例肝癌组织和癌旁肝组织的石蜡标本, 采用免疫组织化学方法检测 VEGFR-1、上皮标志物 E-钙黏蛋白和间叶标志物波形蛋白的表达情况, 并分析其关系。对肝癌患者临床病理学指标和 HBV 感染中 VEGFR-1 的表达进行分析。**结果** 癌旁肝组织中无 VEGFR-1 表达, 肝癌组织中 VEGFR-1 的表达率为 89% (73/82)。VEGFR-1 的表达在肿瘤分期、门静脉癌栓、肿瘤包膜、肿瘤直径、分化程度差异有统计学意义 ($\chi^2 = 22.192, 15.934, 16.751, 20.154, 6.487, P < 0.05$); 对术后 1、2 年的复发率和术后 2 年生存率有影响 ($\chi^2 = 0.983, 0.958, 0.847, P < 0.05$); 对术后 1 年的生存率无影响 ($\chi^2 = 0.359, P > 0.05$)。VEGFR-1 与 E-钙黏蛋白的表达呈负相关 ($r = 0.765, P < 0.01$), 而与波形蛋白的表达呈正相关 ($r = 1.469, P > 0.05$)。**结论** VEGFR-1 可能在肝癌的侵袭、转移中发挥作用, 其促肝癌侵袭转移可能与肝癌细胞发生上皮-间叶样表型转化有关。

【关键词】 肝肿瘤; 血管内皮细胞生长因子受体-1; 侵袭转移

【中图分类号】 R735.7

【文献标识码】 A

Effects of vascular endothelial growth factor receptor-1 on the invasion and metastasis of hepatocellular carcinoma Ai Jun-hua, ZHENG Shu-guo, ZENG Yong-yi, ZHANG Lei-da, DONG Jia-hong. Institute of Hepatobiliary Surgery & Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China
Corresponding author: DONG Jia-hong, E-mail: dongjh301@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the effects of vascular endothelial growth factor receptor-1 (VEGFR-1) in the invasion and metastasis of hepatocellular carcinoma (HCC) by detecting the expression of VEGFR-1 in HCC tissues. **Methods** Paraffin-embedded tissue which containing HCC tissues and adjacent tissues were prepared from patients ($n = 82$) with HCC, then were analyzed by immunohistochemical technique for the expression of VEGFR-1, epithelial marker E-cadherin and mesenchymal marker Vimentin. The relationship between the expression of VEGFR-1 and pathological parameters, and the correlation between VEGFR-1 and E-cadherin, VEGFR-1 and Vimentin were analyzed. **Results** The expression rates of VEGFR-1 in HCC tissues and adjacent tissues were 89% (73/82) and 0, respectively. The difference of VEGFR-1 expression in portal vein tumor thrombus, tumor capsule, stage, size and differentiation grade of tumor had statistical significance ($\chi^2 = 22.192, 15.934, 16.751, 20.154, 6.487, P < 0.05$). The expression of VEGFR-1 had effect on the 1-, 2-year recurrence rate and 2-year survival rate ($\chi^2 = 0.983, 0.958, 0.847, P < 0.05$), but not on 1-year survival rate ($\chi^2 = 0.359, P > 0.05$). The expression of VEGFR-1 was negatively correlated with that of E-cadherin ($r = 0.765, P < 0.01$) but positively with that of Vimentin ($r = 1.469, P > 0.05$). **Conclusions** VEGFR-1 may play an important role in invasion and metastasis of HCC. Epithelial-mesenchymal transition that induced by VEGFR-1 may contribute to the invasion and metastasis of HCC.

【Key words】 Liver neoplasm; Vascular endothelial growth factor receptor-1; Invasion and metastasis

血管内皮生长因子受体-1 (vascular endothelial growth factor receptor-1, VEGFR-1) 是血管内皮生长因子的特异性受体, 与相应的血管内皮生长因子结

合, 刺激血管内皮细胞增殖、迁移, 促进新生血管的生成。新近研究发现, 血管内皮细胞表达的 VEGFR-1 在机体多种恶性肿瘤中也有表达, 其活化通过诱导上皮-间叶表型转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT), 与多种恶性肿瘤的发病及侵袭转移有密切的关系^[1]。本研究旨在探讨 VEGFR-1 在原发性肝癌中的表达及其在肝癌侵袭、转移中的作用。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30500495)

作者单位: 400038 重庆, 第三军医大学西南医院全军肝胆外科研究所、中国人民解放军西南肝胆外科医院

通讯作者: 董家鸿, E-mail: dongjh301@163.com

1 材料与方法

1.1 材料

收集我所 2005 年 1 月至 12 月手术切除的原发性肝癌标本 82 例,均经病理检查证实。其中男 63 例,女 19 例;平均年龄 42 岁(36~67 岁)。患者手术前未经任何抗癌治疗。每例标本均包括肝癌组织及癌旁肝组织。以肿块长径作为肿瘤直径,肿瘤数目多于 1 个者,取直径最大的肿瘤及癌旁肝组织,取材标本经分装后液氮保存并石蜡包埋,记录患者病历号并编号,由病理科医生进行诊断和病理分级。病理分级参照 WHO 制定的分级标准^[2]。肝癌分期参照中国抗癌协会肝癌专业委员会制定的标准^[3]。SP 羊超敏试剂盒和兔浓缩型超敏试剂盒购自福州迈新生物技术公司;VEGFR-1 兔抗人多抗为美国 Labvision 公司产品;羊抗人上皮标志物 E-钙黏蛋白和间叶标志物波形蛋白购自美国 Santa Cruz 公司。

1.2 方法

根据文献[4]方法进行制备。每个标本做 4 张连续切片,其中 1 张常规苏木精-伊红染色,另 3 张分别以 VEGFR-1、E-钙黏蛋白和波形蛋白为一抗做免疫组织化学染色,操作严格按试剂盒说明书进行。分别以抗 VEGFR-1、E-钙黏蛋白和波形蛋白的阳性片子为阳性对照,以 PBS 代替一抗作阴性对照。

1.3 结果判断

高倍显微镜下观察细胞着色情况,对每张切片的阳性细胞率及阳性细胞着色强度分别进行分级记分,然后根据两项之和确定其阳性表达强度。每张切片任意选 5 个视野,观察其细胞着色情况,无表达为阴性(0 分)、阳性颗粒呈浅黄色为可疑阳性(1 分)、浅棕色为弱阳性(2 分)、棕黄色为阳性(3 分)、棕褐色为强阳性(4 分)。计算阳性细胞百分数(5 个视野的平均数),无表达为阴性(0 分)、1%~15%为可疑阳性(1 分)、16%~50%为弱阳性(2 分)、51%~85%为阳性(3 分)、86%~100%为

强阳性(4 分)。强度指数 = 阳性细胞表达强度 × 阳性细胞百分数 × 50%。

1.4 统计学方法

采用两样本率比较的 χ^2 检验,相关性分析行 Spearman 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肝癌组织及癌旁肝组织 VEGFR-1、E-钙黏蛋白和波形蛋白表达

73 例不同程度地表达 VEGFR-1(图 1),主要表达于细胞膜,呈棕褐色颗粒状,阳性表达率为 89%(73/82)。癌旁肝组织中均没有检测到 VEGFR-1(表 1)。在肝癌组织和癌旁肝组织中 VEGFR-1 的表达差异有统计学意义($\chi^2 = 34.941, P < 0.01$)。此外,E-钙黏蛋白在肝癌组织中随着 VEGFR-1 表达的增强而有所减少,呈负相关($r = 0.765, P < 0.01$)。表达的 E-钙黏蛋白位于细胞膜或细胞质近细胞膜处,呈棕褐色颗粒状(图 2)。波形蛋白在肝癌组织随着 VEGFR-1 表达的增强而增强,呈正相关($r = 1.469, P > 0.05$)。表达的波形蛋白主要位于细胞质内,呈棕色颗粒(图 3)。

2.2 临床病理指标中 VEGFR-1 表达的情况

VEGFR-1 的表达在肿瘤直径、包膜、分期、分化程度和门静脉癌栓方面差异有统计学意义($P < 0.01$),而在 HBV 感染、肿瘤数目差异无统计学意义($P > 0.05$),结果见表 2。

2.3 VEGFR-1 对预后的影响

在 VEGFR-1 表达阳性的患者中,1 年生存率 78%(57/73),1 年复发率 59%(43/73),2 年生存率 64%(47/73),2 年复发率 68%(50/73);表达阴性患者分别为 78%(7/9)、55%(5/9)、67%(6/9)、55%(5/9),两者的 1 年复发率、2 年生存率、2 年复发率差异有统计学意义($\chi^2 = 0.983, 0.847, 0.958, P < 0.05$)。

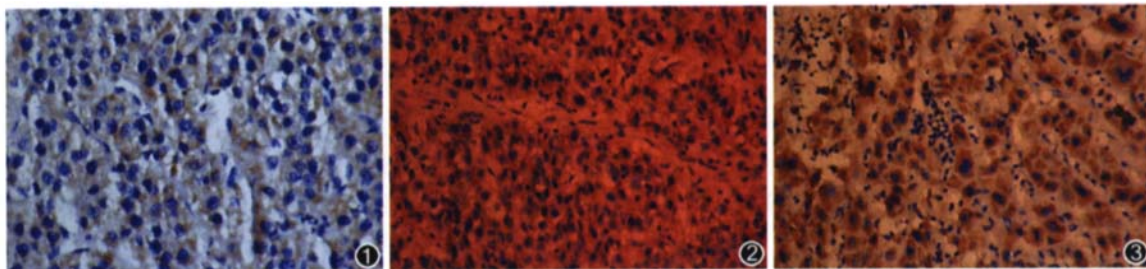


图 1 VEGFR-1 在肝癌细胞膜呈阳性表达 (免疫组织化学染色 ×400) 图 2 E-钙黏蛋白在肝癌细胞膜或细胞质近细胞膜呈阳性表达 (免疫组织化学染色 ×400) 图 3 波形蛋白在肝癌细胞质呈阳性表达 (免疫组织化学染色 ×400)

表 1 肝癌组织及癌旁肝组织中 VEGFR-1、E-钙黏蛋白和波形蛋白的表达(例)

组织	例数	VEGFR-1				阳性率 (%)	E-钙黏蛋白				阳性率 (%)	波形蛋白				阳性率 (%)
		-	+	++	+++		-	+	++	+++		-	+	++	+++	
肝 癌 组 织	82	9	21	28	24	89	52	17	8	5	37	38	23	16	5	54
癌旁肝组织	82	82	0	0	0	0 ^a	29	29	14	10	65	76	5	1	0	7

a: P <0.01, 与肝癌组织比较

表 2 各临床病理指标中 VEGFR-1 表达的情况

指标	例数	χ ² 值	P 值
HBV 感染			
HBsAg 阳性	68		
HBsAg 阴性	14	0.005	>0.05
肿瘤直径			
≤5 cm	19		
>5 cm	63	20.154	<0.05
肿瘤数目			
1 个	64		
>1 个	18	0.084	>0.05
肿瘤包膜			
完整	48		
不完整	34	16.751	<0.05
肿瘤分期			
I 或 II	28		
III a 或 III b	54	22.192	<0.05
分化程度			
低	34		
中	26	6.487	<0.05
高	22		
门静脉癌栓			
有	25		
无	57	15.934	<0.05

3 讨论

肝癌组织中表达血管内皮生长因子并具有促肿瘤血管生成等作用已达成共识,但对其受体表达和功能的认识尚不一致。这可能与各学者使用的检测方法和评判标准不同有关。

在原发性肝癌组织中 VEGFR-1 的阳性表达率达 89%,而癌旁肝组织中没有 VEGFR-1 表达。肿瘤包膜完整与否、肿瘤分期和分化程度高低、门静脉有无癌栓是评价肿瘤恶性程度高低、肿瘤是否容易发生侵袭转移的重要指标。我们发现,VEGFR-1 表达在肿瘤直径、包膜、分期、分化程度和门静脉癌栓方面差异有统计学意义,而在 HBV 感染、肿瘤数目差异无统计学意义。这说明 VEGFR-1 表达对肝癌

的侵袭、转移有一定的作用。

在结肠癌、胰腺癌等恶性实体肿瘤中表达的 VEGFR-1 活化后通过诱导 EMT 促进恶性肿瘤侵袭和转移^[1]。EMT 是胚胎发育和各种组织的形态发生事件中建立细胞层所必需的过程,也是癌转移和病理性纤维化的主要机制^[5]。在该过程中细胞失去上皮细胞特性并获得间叶细胞的特性如细胞迁移和侵袭能力增加,上皮标志物如 E-钙黏蛋白表达下降,间叶标志物如波形蛋白等表达上调。在本研究中,E-钙黏蛋白在肝癌组织中的表达随着 VEGFR-1 表达的增强而减弱,呈负相关;而波形蛋白则随着 VEGFR-1 的表达增强而增强,呈正相关。VEGFR-1 促肝癌侵袭、转移可能是通过诱导 EMT 而实现的。

越来越多的证据表明 EMT 在原发肿瘤转移到血循环的过程中发挥特殊的作用,并且为开发更为有效的抗癌治疗提供理论依据^[6]。如果 VEGFR-1 活化能通过诱导 EMT 促进肝癌侵袭、转移,那 VEGFR-1 及其下游信号转导通路中的某些关键转录因子将成为治疗原发性肝癌侵袭、转移的有效靶点,也为防治肝癌复发、转移提供新的思路。

参考文献

[1] Bates RC, Goldsmith JD, Bachelder RE, et al. Flt-1-dependent survival characterizes the epithelial-mesenchymal transition of colonic organoids. *Curr Biol*,2003,13(19):1721-1727.

[2] Paul K, Webster KC. Ganglioglioma and gangliocytoma. *Pathology & Genetics Tumor(WHO)*. Lyon: IARC Press,2000:96.

[3] 中国抗癌协会肝癌专业委员会. 原发性肝癌的临床诊断与分期标准. *中华肝脏病杂志*,2001,9(6):324.

[4] 文灿,黄世武,余汇洋. 人胃癌组织中 fibulin-5 的表达及其临床意义. *消化外科*,2006,5(6):463-465.

[5] Iwano M, Plieth D, Danoff TM, et al. Evidence that fibroblasts derive from epithelium during tissue fibrosis. *J Clin Invest*,2002,110(3):341-350.

[6] Huber MA, Kraut N, Beug H. Molecular requirements for epithelial-mesenchymal transition during tumor progression. *Curr Opin Cell Biol*,2005,17(5):548-558.

(收稿日期: 2007-11-08)
(本文编辑: 张玉琳)