论著

文章编号:1000-5404(2005)10-1020-03

VEGF-A与卵巢癌淋巴管和血管生成的关系研究

邱 敏,梁志清,熊光武,王 丹,肖颖丽 (第三军医大学西南医院妇产科,重庆 400038)

提 要:目的 探讨上皮性卵巢癌组织中血管内皮生长因子(VEGF-A)与肿瘤内微血管密度(MVD)、淋巴管密度(LVD)的关系。**方法** 采用免疫组化的方法检测VEGF-A在良性上皮性卵巢肿瘤、交界性上皮性卵巢肿瘤和上皮性卵巢癌中的的表达。人工计数MVD与LVD,分析VEGF-A与MVD及LVD是否存在相关性。**结果** 在恶性、交界性和良性卵巢肿瘤组织中VEGF-A蛋白阳性表达率从高至低,且VEGF-A的表达与MVD、LVD显著相关(P值分别为0.001和0.002)。**结论** VEGF-A高表达与上皮性卵巢癌血管生成及淋巴管生成相关。

关键词:内皮生长因子A;免疫组织化学;淋巴管密度;微血管密度;卵巢肿瘤

中图法分类号:R349.21;R730.23;R737.31 **文献标识码**:A

Relationship of vascular endothelial growth factor A expression in lymphangiogenesis and angiogenesis

QIU Min, LIANG Zhi-qing, XIONG Guang-wu, WANG Dan, XIAO Ying-li (Department of Obstetrics and Gynecology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To investigate the relationship of vascular endothelial growth factor A in lymphangiogenesis (LVD) and angiogenesis (MVD). **Methods** Immunohistochemistry was used to investigate the VEGF-A expression in 48 samples of ovarian carcinoma, 11 samples of borderline ovarian tumor, 32 samples of benign ovarian tumor. LVD and MVD were counted by manual counting. The relationship of vascular endothelial growth factor A in LVD and MVD was analyzed. **Results** The VEGF-A expression in ovarian carcinoma was significantly higher than that in borderline ovarian tumor, and that in borderline ovarian tumor was significantly higher than that in benign ovarian tumor. Furthermore, there was a significantly positive correlation between the VEGF-A expression and LVD, MVD. **Conclusion** The expression of VEGF-A appears involved in the promotion of lymphangiogenesis and angiogenesis in epithelial ovarian carcinoma.

Key words: VEGF-A; immunohistochemistr; LVD; MVD; ovarian cancer

血管内皮生长因子(VEGF-A)是一种内皮细胞选择性生长因子,包括卵巢癌在内的人类多种肿瘤中VEGF-A有过度表达。目前国内对VEGF-A的研究仅限于其与肿瘤内微血管密度(MVD)与卵巢癌患者不良预后的关系。然而近年来国外有报道[1]:VEGF-A同时促进淋巴管的生成的作用同血管生成的作用一样强大。而且生成的淋巴管具有管壁大,无功能瓣膜,淋巴液流动缓慢及淋巴清除率低特点,这同高表达VEGF-A的肿瘤中的淋巴管特点极其相似。VEGF-A在卵巢癌淋巴管生成中的作用少有报道。本研究分析了VEGF-A与上皮性卵巢癌血管生成及淋巴管生成的相关性,探讨其理论和临床意义。

作者简介:邱 敏(1979-),女,四川省攀枝花市人,硕士研究生,主要从事卵巢癌淋巴管及血管的生成方面的研究。电话:(023)65399063

通讯作者:梁志清,电话:(023)68754409

收稿日期:2005-01-31;修回日期:2005-04-04

1 资料与方法

1.1 标本

收集2001年至2004年6月我院病理科上皮性卵巢肿瘤手术标本存档蜡块共95例,连续切片,片厚4~5 μm。上皮性卵巢癌48例,患者平均年龄49岁。交界性卵巢肿瘤12例,患者平均年龄53岁。卵巢囊腺瘤35例,患者平均年龄41岁。恶性肿瘤患者均为原发性,术前未经放疗和化疗。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学方法 多克隆抗VEGF-A(Santa cruz公司)抗体标记组织中VEGF-A分子,兔VEGFR-3多抗(Santa cruz公司)和CD34单抗(Dako公司)分别标记微淋巴管和微血管内皮细胞,每次染色均设置阴性和阳性对照。CD34为工作液,VEGFR-3工作浓度为1:100。

1.2.2 阳性判定 肿瘤细胞及血管内皮细胞胞浆出现棕黄色颗粒分别代表VEGF-A及CD34阳性,VEGFR-3以胞浆中见出现棕黄色颗粒为阳性。VEGF-A根据阳性细胞占肿瘤细胞比例

不同分级：0% ~ 5% 肿瘤细胞着色为 - ；6% ~ 10% 的肿瘤细胞着色为 + ；11% ~ 50% 的肿瘤细胞着色为 + + ；> 50% 的肿瘤细胞着色为 + + + 。+ 及其以上计为阳性。

1.2.3　MVD 及 LVD 的计数　　40 倍镜下寻找毗邻肿瘤细胞、微血管最为丰富的间质"热点"区，尽量避开肿瘤坏死区和血管硬化区。有平滑肌纤维包绕的或管腔直径大于 6 个红细胞直径之和的较大血管不在微血管计数范围。分别计数 5 个 400 倍视野范围内微血管数量，取其均值作为各标本的 MVD[2,3]，淋巴管密度(LVD)计数方法同上。

1.3　统计学处理

数据经 SPSS10.0 统计软件包处理，计数资料采用 χ^2 检验和校正 χ^2 检验，计量资料用 t 检验。

2　结果

2.1　VEGF-A 在卵巢肿瘤中的表达及分布形式

阳性染色物为棕黄色细颗粒，主要定位于肿瘤细胞的细胞浆及部分基质血管内皮内，其阳性细胞呈局灶性或弥漫性分布，见图 1。恶性、交界性和良性卵巢肿瘤组织中 VEGF 蛋白阳性表达率从高至低，三者比较差异均有统计学意义($P < 0.05$)，见表 1。

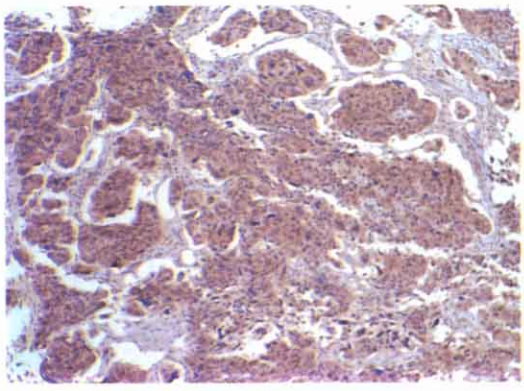


图 1　VEGF-A 在卵巢癌中的强表达　(S-P × 100)

Fig 1　Positive expression of VEGF-A in ovarian carcinoma　(S-P × 100)

表 1　VEGF-A 在上皮性卵巢肿瘤中的表达

Tab 1　Expression of VEGF-A in epithelial ovarian tumors

Tissue	VEGF-A		VEGF-A(%)
	+	-	
Carcinoma	42	6	91.30
Borderline tumor	7	5	58.33
Benign tumor	11	24	31.42

2.2　卵巢肿瘤与 MVD 值的关系

以 CD34 标记，卵巢癌组织中毛细血管、小静脉、小动脉的内皮细胞被染成棕色。微血管密集区"热点"位于肿瘤细胞毗邻的或肿瘤细胞巢周围的间质区(图 2)。48 例上皮性卵巢癌 MVD 平均为(47.13 ± 8.44)，交界性和良性卵巢肿瘤组织中分别为(39.10 ± 5.53)及(29.41 ± 5.99)，由高到低，三者之间比较差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

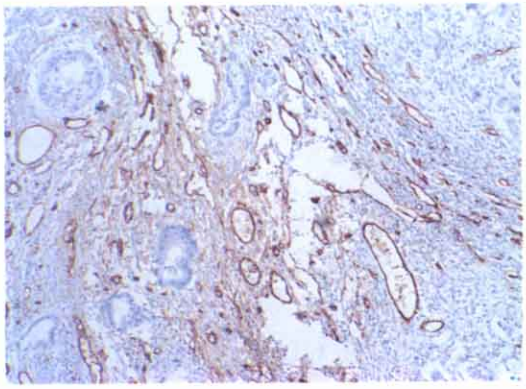


图 2　CD34 标记的卵巢癌组织血管　(S-P × 200)

Fig 2　Positive expression of microvessel labelled with CD34 in ovarian carcinoma　(S-P × 200)

2.3　卵巢癌中 VEGF-A 的表达与淋巴管和微血管密度的关系分析

淋巴管主要位于癌周组织，数量较血管明显减少，约为其总数的 1/3 ~ 1/2(图 3)，MVD 和 LVD 在 VEGF-A 阳性表达组明显高于阴性表达组。二者间有显著性差异($P < 0.01$，表 2)。

表 2　VEGF-A 的表达与淋巴管和微血管密度的关系

Tab 2　Relationship of expression of vascular endothelial growth factor A between lymphangiogenesis and angiogenesis

Tissue	VEGF-A		P
	+	-	
LVD	15.95 ± 4.65	9.00 ± 4.24	0.001
MVD	48.50 ± 7.81	37.56 ± 6.69	0.002

2.4　VEGF-A 与临床病理指标之间的关系

VEGF-A 与有淋巴结转移组的表达高于无淋巴结转移组，二者间有显著性差异($P < 0.05$)。在有腹转移组的表达高于无腹膜转移组($P < 0.05$)，并与 FIGO 分期相关($P < 0.01$)，与组织学类型、年龄及远处转移无明显相关性(表 3)。

表 3　VEGF-A 在卵巢癌中的阳性表达与临床病理指标之间的关系

Tab 3　Correlation of positive expressions of VEGF-A in epithelial ovarian carcinomas with clinical pathological indexes

Clinicopathological indexes	n	VEGF-A(%)	P
Lymph node metastasis			
+	30	29(96.7)	0.029
-	18	13(72.2)	
Peritoneal metastasis			
+	32	31(96.8)	0.021
-	16	11(68.7)	
Clinic staging			
Early period (Ⅰ + Ⅱ)	13	8(61.5)	0.005
Late period (Ⅲ + Ⅳ)	35	34(97.1)	
Distant metastasis			
+	10	9(90)	1.000
-	38	33(86.8)	
Years			
< 50	25	20(80)	0.230
> 50	23	22(95.6)	
Histological type			
Serous	32	28(87.5)	1.000
Nonserous	16	14(87.5)	

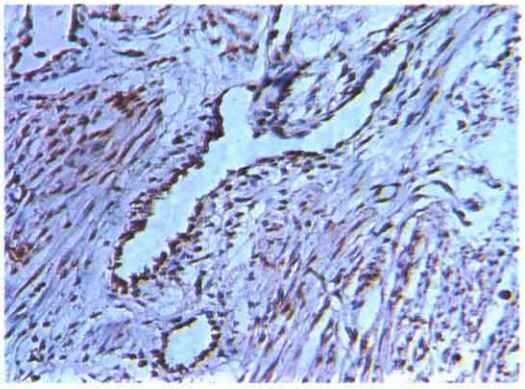


图3 卵巢癌组织淋巴管 (S-P×200)

Fig 3 Positive expression of lymphatic vessel labelled with VEGFR-3 in ovarian carcinoma (S-P×200)

3 讨论

本研究结果表明 VEGF-A 与卵巢癌血管生成及淋巴管生成显著相关。在淋巴管生成方面起作用的血管内皮生长因子家族,目前已经鉴定的淋巴管生长因子有 VEGF-C 和 VEGF-D,包括卵巢癌在内的人类多种肿瘤中 VEGF-C 和 VEGF-D 有过度表达而且和淋巴管生成有相关性[4]。目前国内研究也主要集中在 VEGF-C 和 VEGF-D 对淋巴管生成的作用研究。然而,Nagy 等[1]将表达 VEGF-A 的腺病毒导入小鼠,在不存在 VEGF-C 和 VEGF-D 表达的情况下发现其发挥强大的促血管和淋巴管生成的作用。而且生成的淋巴管具有管壁大,无功能瓣膜,淋巴液流动缓慢及淋巴清除率低特点,这同高表达 VEGF-A 的肿瘤中的淋巴管特点极其相似[5]。本研究也证实了 VEGF-A 有促进卵巢癌中淋巴管生成的作用。

在没有新血管形成以前,肿瘤只生长到 1 ~ 2 mm^3,不会发生转移,而在新血管形成后肿瘤成数倍增长,转移机会随之增高[6],所以研究肿瘤的血管生成在肿瘤的防治中有重要意义。促血管生成的细胞因子和生长因子很多,其中 VEGF-A 是最重要的一种。本研究表明 VEGF-A 与卵巢癌血管生成显著相关,而且随肿瘤恶性程度的增加,其表达也显著增加,与淋巴转移、FIGO 分期、及腹膜转移显著相关,这同 Wong 等[7]报道一致。近年还有人研究发现卵巢肿瘤患者血清中 VEGF-A 表达量也是判断患者预后的指标[8]。本研究表明了 VEGF-A 与卵巢癌淋巴管和血管生成显著相关。我们将在以后的工作中重点研究 VEGF-A 与卵巢癌淋巴管生成的具体机制。

参考文献:

[1] Nagy J A, 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.

[2] Abulafia O, Triest W E, Sherer D M. Angiogenesis in malignancies of the female genital tract[J]. Gynecol Oncol, 1999, 72(2): 220 - 231.

[3] 万小平, 苏应宽, 刘新民, 等. 彩色多普勒超声对卵巢肿瘤内血管的定量分析[J]. 中华医学杂志, 2000, 80(9): 672 - 674.

[4] Mandriota S J, Jussila L, Jeltsch M, *et al*. Vascular endothelial growth factor C-mediated lymphangiogenesis promotes tumour metastasi[J]. EMBO-J, 2001, 20(4): 672 - 682.

[5] Sundberg C, Nagy J A, Brown L F, *et al*. Glomeruloid microvascular proliferation follows adenoviral vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor-164 gene delivery[J]. Am J Pathol, 2001, 158(3): 1145 - 1160.

[6] 卢运萍, 张阿丽, 王世宣, 等. 卵巢癌血管内皮生长因子过度表达及肿瘤浸润转移机制的探讨[J]. 中华妇产科杂志, 2002, 37(5): 294 - 297.

[7] Wong C, Wellman T L, Lounsbury K M. VEGF and HIF-1 alpha expression are increased in advanced stage's of epithelial ovarian cancer[J]. Gynecol Oncol, 2003, 91(3): 513 - 517.

[8] Alvarez Secord A, Sayer R, Snyder S A, *et al*. The relationship between serum vascular endothelial growth factor, persistent disease, and survival at second-look laparotomy in ovarian cancer[J]. Gynecol Oncol, 2004, 94(1): 74 - 79.

(编辑 王 红)

作者书写数字须知

根据《关于出版物上数字用法的规定》,本刊采用三位分节法(即从小数点算起,向左每满3位分1节,节间留出一定空隙),废除千分撇分节法(如2,431改为2 431)。年月日、号数、部队编号、仪表型号、标准号等用阿拉伯数字。中文出现的数字,凡是计数或度量,一律使用阿拉伯数字表示。

本刊编辑部