文章编号:1000-5404(2012)13-1289-04

论著

Ang-1和Ang-2及其受体Tie-2在鼻咽癌患者血循环中的表达及临床意义

赵萍萍,邹 容,屈元姣,陈 熙,曹轶林,刘陶文 (541002 广西 桂林,广西壮族自治区南溪山医院暨桂林医学院附属南溪山医院肿瘤科)

[摘要] **目的** 探讨Ang-1和Ang-2及其受体Tie-2在鼻咽癌(nasopharyngeal carcinoma,NPC)患者血循环中的表达及其临床意义。**方法** 应用酶联免疫吸附试验检测2009年5月至2010年6月本科收治的低分化鳞状细胞癌患者68例,其中男性52例,女性16例,中位年龄42(19~65)岁(初治32例,完全缓解20例,复发16例)及20例健康对照者血清Ang-1和Ang-2及其受体Tie-2水平。**结果** 初治组和复发组NPC患者血清Ang-1和Ang-2及其受体Tie-2的水平均高于完全缓解组及健康对照组($P<0.01$),而这些分子的含量在完全缓解组和健康对照组比较无明显差异($P>0.05$)。Ang-2及Tie-2的水平在NPC患者不同T分期、临床分期比较有差异($P<0.05$),并随着NPC进展呈上升趋势;Ang-1水平在不同T分期、临床分期比较差异不显著($P>0.05$);Ang-2水平在不同N分期比较有差异($P<0.05$)。转移NPC患者血清Ang-2及其受体Tie-2水平明显高于无转移组($P<0.01$)。Ⅰ+Ⅱ期NPC患者血清Ang-1/Ang-2比值高于Ⅲ+IVa期($P<0.01$)。**结论** Ang-1和Ang-2及其受体Tie-2在鼻咽癌的发生、发展过程中起重要作用,并与肿瘤的侵袭转移有密切关系。

[关键词] 鼻咽癌;促血管生成素1;促血管生成素2;受体Tie-2
[中图法分类号] R392.11; R730.43; R739.6 [文献标志码] A

Serum levels of ang-1, ang-2 and their receptor Tie-2 in nasopharyngeal carcinoma

Zhao Pingping, Zou Rong, Qu Yuanjiao, Chen Xi, Cao Yilin, Liu Taowen (Department of Oncology, Nanxishan Hospital Affiliated to Guilin Medical School, Guilin, Guangxi Zhuang Autonomous Region, 541002, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the serum levels of angiopoietin-1 (Ang-1), angiopoietin-2 (Ang-2) and their receptor, tyrosine kinase with immunoglobulin-like and epidermal growth factor homology domains Tie-2 in patients with nasopharyngeal carcinoma (NPC). **Methods** A total of 68 patients (32 untreated cases, 20 cases with complete remission and 16 recurrent cases) with pathologically identified NPC (all poor differentiated squamous cell carcinoma) who were hospitalized in our department from May 2009 to June 2010 were enrolled in this study. Their serum samples and samples from 20 healthy age- and sex-matched volunteers (control group) were collected. The serum levels of Ang-1, Ang-2 and Tie-2 were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** The serum levels of Ang-1, Ang-2 and Tie-2 in untreated and relapsed NPC groups were significantly increased than those in the complete remission group and normal control ($P<0.01$). But no obvious difference was found in the 2 latter groups ($P>0.05$). Only the levels of Ang-2 and Tie-2 were closely correlated with T and clinical stages ($P<0.05$). The serum levels of Ang-2 and receptor Tie-2 tended to increase with the development of tumor. The serum level of Ang-2 was closely correlated with N stages ($P<0.05$), but not with T and clinical stages ($P>0.05$). Serum levels of Ang-2 and receptor Tie-2 were significantly higher in tumor metastasis group than non-metastasis group ($P<0.01$). Moreover, the ratio of Ang-1 to Ang-2 was higher in NPC patients at Ⅰ+Ⅱ stages than those at Ⅲ+IVa stages ($P<0.01$). **Conclusion** Ang-1, Ang-2 and receptor Tie-2 play important roles in the progress of NPC, and may be involved in the invasion and metastasis of the tumor.

[**Key words**] nasopharyngeal carcinoma; angiopoietin-1; angiopoietin-2; receptor Tie-2

Supported by the Project of Scientific Research and Technology Development of Guangxi Zhuang Autonomous Region (0322025-4) and the Project of Scientific Research and Technology Development of Guilin (20080403). Corresponding author: Liu Taowen, E-mail:rose03850219@sina.com

[基金项目] 广西科学研究与技术开发计划项目(桂科攻0322025-4);桂林市科学研究与技术开发计划项目(20080403)
[通信作者] 刘陶文,E-mail:rose03850219@sina.com

恶性肿瘤生长、浸润和转移依赖新生血管形成。促血管生成素(angiopoietin Ang)及其内皮特异性受体(tyrosine kinase with immunoglobulin-like and epidermal growth factor homology domains,Tie-2)是近年来发现与血管生成密切相关的因子,对血管生成和调节起重要作用。鼻咽癌(nasopharyngeal carcinoma,NPC)是我国南方常见恶性肿瘤之一,经放射治疗或联合放化疗后近期疗效较佳。然而,局部复发和远处转移一直是影响NPC患者长期存活的主要因素。研究发现Ang及其受体Tie-2水平升高促进多种类型肿瘤的血管生成、侵袭、转移,并与预后不良有关[1]。关于NPC患者血循环Ang-1和Ang-2及其受体Tie-2水平方面的报道尚缺乏,本实验通过对Ang-1和Ang-2及受体Tie-2水平的测定,初步探讨这些分子在NPC患者血循环中的表达及其临床意义。

1 资料与方法

1.1 研究对象

68例标本均为2009年5月至2010年6月本科收治的鼻咽癌患者,病理类型均为低分化鳞状细胞癌,按2008年中国鼻咽癌TNM分期标准进行分期。其中男性52例,女性16例,中位年龄42岁(19~65岁)。初治者32例,其中Ⅰ期1例,Ⅱ期9例,Ⅲ期14例,Ⅳa期8例;T分期为T_1期4例,T_2期8例,T_3期15例,T_4期5例;N分期为N_0期4例,N_1期9例,N_2期12例,N_3期7例。完全缓解组20例。复发组16例:其中单纯原发灶和(或)颈部复发5例,远处转移11例(以骨、肝、肺为主)。初治者均未接受化放疗及其他抗肿瘤治疗,并排除患者在观察期间存在明显炎症或组织创伤。

健康对照20例为同期在该院健康体检合格者,并排除近期组织创伤、感染以及糖尿病和妊娠期等,均无肿瘤病史。其中男性15例,女性5例,中位年龄41岁(23~59岁)。

1.2 标本采集

取清晨空腹外周静脉血2 ml,置室温自然凝固后离心(2 000 r/min,10 min)分离血清,置-70℃冰箱保存,备测。所有标本无溶血、黄疸、脂浊。实验前30 min取出平衡至室温。

1.3 血清Ang-1和Ang-2及其受体Tie-2的测定方法

严格按照商品化的检测人类Ang-1和Ang-2及其受体Tie-2试剂盒(美国Cusabio公司产品,购自武汉华美生物工程有限公司)说明书进行操作。每份标本均采用复孔检测。该检测原理是采用酶联免疫吸附试验(ELISA)测定游离状态的人Ang-1和Ang-2及其受体Tie-2蛋白,于450 mm处测光密度值[$D(450)$]。据标准曲线计算出相应的测定值。

1.4 统计学分析

数据以$\bar{x} \pm s$表示,采用SPSS 17.0统计学软件。两组间差异采用t检验,多组间差异采用方差分析、q检验;参数间的关系采用Spearman相关分析。

2 结果

2.1 NPC患者与健康对照组血清Ang-1和Ang-2及其受体Tie-2水平

初治组和复发组NPC患者血清Ang-1和Ang-2及其受体Tie2水平均高于完全缓解组及健康对照组($P<0.01$);完全缓解组NPC患者血清Ang-1和Ang-1及其受体Tie2水平略高于健康对照组($P>0.05$)。初治组和复发组NPC患者血清Ang-1/Ang-2比值与健康对照组比较有统计学意义($P<0.01$);完全缓解组患者血清Ang-1/Ang-2比值略高于健康对照组($P>0.05$),见表1。

表1 NPC患者与健康对照血清Ang-1和Ang-2及其受体Tie2水平、Ang-1/Ang-2比值的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Ang-1(ng/ml)	Ang-2(ng/ml)	Tie-2(ng/ml)	Ang-1/Ang-2
健康对照组	20	23.79±8.80	0.79±0.31	24.67±8.97	30.45±5.87
初治组	32	37.21±10.61[ab]	2.68±1.01[ab]	39.44±11.61[ab]	15.18±6.68[a]
复发组	16	36.93±9.53[ab]	3.41±0.92[ab]	43.87±8.69[ab]	13.05±3.72[a]
完全缓解组	20	25.89±9.28	0.86±0.47	26.92±7.32	31.99±8.29

a:$P<0.01$,与健康对照组比较; b:$P<0.05$,与完全缓解组比较

2.2 初治者NPC患者血清Ang-1和Ang-2及其受体Tie-2水平与临床病理特征的关系

不同性别、年龄组的初治NPC患者血清Ang-1和Ang-2及其受体Tie-2水平比较差异不显著($P>0.05$);Ang-2及Tie-2水平在不同T分期及临床分期间比较、Ang-2水平在不同N分期间比较差异显著($P<0.05$);Ang-1水平在不同T分期及临床分期间比较不显著($P>0.05$),见表2。

表2 初治NPC患者血清Ang-1、Ang-2和Tie-2水平临床病理特征的关系($\bar{x} \pm s$)

临床特征	n	Ang-1(ng/ml)	Ang-2(ng/ml)	Tie2(ng/ml)
性别				
男	24	38.08±11.71	2.71±1.14	38.01±10.97
女	8	34.57±8.87	2.60±0.48	43.72±13.32
年龄(岁)				
≥42	22	38.05±11.27	2.83±1.10	40.75±13.42
<42	10	35.33±9.29	2.35±0.73	36.55±5.81
T分期				
T_1+T_2	12	34.79±10.08	2.08±0.95	33.83±7.76
T_3+T_4	20	38.65±10.91	3.04±0.89[a]	42.81±12.43[b]
N分期				
N_0+N_1	13	34.87±7.61	2.00±0.56	37.97±8.48
N_2+N_3	19	38.80±12.21	3.15±1.00[c]	40.45±13.53
临床分期				
Ⅰ+Ⅱ期	10	34.17±7.28	1.84±0.45	33.66±8.30
Ⅲ+Ⅳa期	22	38.58±11.72	3.06±0.96[d]	42.07±12.15[e]

a:$P<0.01$,b:$P<0.05$,与T_1+T_2比较;c:$P<0.01$,与N_0+N_1比较,d:$P<0.01$,e:$P<0.05$,与Ⅰ+Ⅱ期比较

2.3 无转移和转移组NPC患者血清Ang-1和Ang-2及其受体Tie-2水平比较

以32例初治NPC作为无转移组,而11例发生远处转移NPC为转移组,转移组患者血清Ang-2及Tie-2水平显著高于无转移组[(3.41±0.92) *vs* (2.68±1.01),(46.41±7.07) *vs* (39.44±11.61),$P<0.05$];其Ang-1和Ang-2及其受体Tie-2

水平均明显高于健康对照组($P<0.01$)。

2.4 初治NPC患者不同临床分期中Ang-1/Ang-2比值比较

初治NPC患者在Ⅰ+Ⅱ期、Ⅲ+Ⅳa期血清中Ang-1/Ang-2比值的测定值分别为[(20.65±9.69)、(12.69±2.24)ng/ml,$P<0.01$]。

2.5 NPC患者血清Ang-1和Ang-2及其受体Tie-2水平变化的关系

相关分析结果显示:Ang-2与Tie-2显著正相关($r=0.476$,$P<0.01$);而Ang-1与Tie2、Ang-2均无相关性($r=0.129$,$P>0.05$;$r=0.146$,$P>0.05$)。

3 讨论

目前认为Ang家族包括Ang-1、Ang-2、Ang-3和Ang-4,其中Ang-1和Ang-2最具特异性,二者均通过与受体Tie-2结合调节血管生成、成熟等过程。人类Ang-1主要由管周细胞、血管平滑肌细胞和肿瘤细胞分泌;而Ang-2主要由血管内皮细胞表达,并以自分泌的方式作用于内皮细胞。Tie-2受体是特异性表达于血管内皮细胞和某些激酶型造血祖细胞的酪氨酸激酶型受体。Ang-1与受体Tie-2结合后可影响血管周围支持细胞与内皮细胞的黏附而维持血管成熟和稳定。Ang-2是Ang-1的天然拮抗剂,通过抑制Ang-1的稳定血管作用而促发血管新生[2]。但Ang/Tie2途径促发的新生血管结构不完整,需要经Ang-1加固、稳定后才能形成正常的血管形态[3]。因此,Ang-2主要在血管新生发芽的早期起作用,而Ang-1在血管新生过程中的中后阶段起生物学效应。此外,Ang-2对血管生成的影响与血管内皮生长因子(vascular endothelial cell growth factor,VEGF)关系密切,Ang-2发挥作用依赖于VEGF,并且VEGF可加强Ang-2的促血管生成[4]。

本实验结果显示,NPC患者血清Ang-1和Ang-2及其受体Tie-2水平均高于健康对照组。最近有学者[5]应用ELISA测定宫颈癌患者血清Ang-1和Ang-2及其受体Tie-2水平的结果显示,这些分子水平明显高于健康对照者。Moon等[6]应用免疫组织组化学技术观察到Ang-1在胃癌中呈高表达。但Ang-1的生物学效应随肿瘤类型的不同而差异悬殊,在甲状腺癌、膀胱癌中呈低表达[7-8]。然而Ang-2在多种恶性肿瘤中表达比较一致,如在食管癌、舌癌等可检测到高水平的Ang-2[9-10]。最近,Hu等[11]应用小鼠异种移植模型观察到Tie-2在肿瘤血管生成及肿瘤的发生、发展中起重要作用。本组NPC患者血清Ang-1和Ang-2及其受体Tie-2水平升高的机制是由于肿瘤细胞产生过量上述分子释放入血循环所致。完全缓解组患者血清Ang-1和Ang-2及其受体Tie-2水平仍然略高于较健康对照,推测也许与患者残留微量肿瘤负荷以及机体应激反应抑或旁分泌有关。

本研究尚观察到,Ang-2及其受体Tie-2在NPC患者不同T分期、临床分期间比较差异有统计学意义,并随着肿瘤进展而上升,表明NPC患者这些分子水平的升高与NPC病情进展相关,这与文献[12]报道一致。此外,本组患者血清Ang-2及Tie-2水平在肿瘤转移者(亚组)明显高于无转移组(亚组),且两分子水平间存在正相关,提示Ang-2促进鼻咽癌侵袭转移的机制是通过结合Tie-2受体而发挥作用。文献[13]报道,Ang-2及其受体Tie-2水平对非小细胞肺癌的预后意义不大。此外,值得注意的是,本研究患者血清Ang-2水平在肿瘤N_2+N_3期高于N_0+N_1期,推测Ang-2与淋巴管新生有关。最近也有学者认为Ang-2参与胰腺癌的淋巴结转移过程[14],但其确切机制未明,有待进一步研究。

在Ang/Tie2系统作用下,血管生成保持动态平衡。缺氧、炎症及基因突变等条件下,Ang-2和Tie2在内皮细胞的表达增加,而Ang-1表达降低,这种不平衡促进了肿瘤血管新生。在肿瘤血管新生阶段,Ang-1和Ang-2及其受体Tie-2的表达均增加;Ang-1/Ang-2比值增加见于血管成熟阶段[15-16]。本结果显示,初治组和复发组患者血清Ang-1/Ang-2比值低于健康对照组,原因可能为血管处于不同生长时段或是与两分子释放量的差异有关。而且Ⅰ+Ⅱ期患者血清Ang-1/Ang-2比值高于Ⅲ+IVa期,推测其机制为在Ⅰ+Ⅱ期肿瘤中血管成熟阶段居优势,而在肿瘤晚期则血管生成占主要地位。有学者研究发现Ang-1/Ang-2比值可作为判断多发性骨髓瘤患者预后的独立指标[17]。

可见,鼻咽癌患者血循环存在高水平的Ang-1和Ang-2及其受体Tie-2,其中Ang-2及其受体Tie-2可能参与了鼻咽癌侵袭、转移等某些恶性生物学行为的调节,并有效反映NPC患者病情的进展,此对评价治疗效果有一定意义。随着研究的深入,将有助于研发特异抗Ang-2及其受体Tie-2的制剂,并为肿瘤抗血管生成提供新的方向和策略[18]。

参考文献:

[1] Ochiumi T, Tanaka S, Oka S, *et al*. Clinical significance of angiopoietin-2 expression at the deepest invasive tumor site of advanced colorectal carcinoma[J]. Int J Oncol, 2004, 24(3): 539-547.

[2] Hansen T M, Singh H, Tahir T A, *et al*. Effects of angiopoietins-1 and -2 on the receptor tyrosine kinase Tie2 are differentially regulated at the endothelial cell surface[J]. Cell Signal, 2010, 22(3): 527-532.

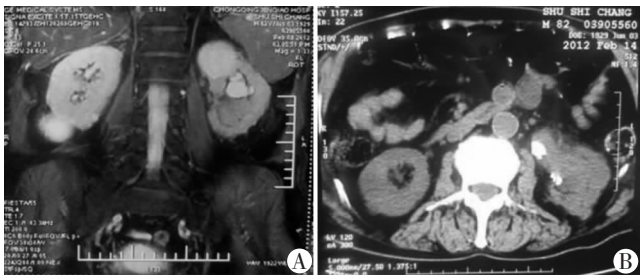
[3] Thomas M, Augustin H G. The role of the Angiopoietins in vascular morphogenesis[J]. Angiogenesis, 2009, 12(2): 125-137.

[4] Andersen S, Donnem T, Al-Shibli K, *et al*. Prognostic impacts of angio-

poietins in NSCLC tumor cells and stroma: VEGF-A impact is strongly associated with Ang-2[J]. PLoS One, 2011, 6(5): e19773.
[5] Kopczynska E, Makarewicz R, Biedka M, *et al*. Plasma concentration of angiopoietin-1, angiopoietin-2 and Tie-2 in cervical cancer[J]. Eur J Gynaecol Oncol, 2009, 30(6): 646-649.
[6] Moon W S, Park H S, Yu K H, *et al*. Expression of angiopoietin 1, 2 and their common receptor Tie2 in human gastric carcinoma: implication for angiogenesis[J]. J Korean Med Sci, 2006, 21(2): 272-278.
[7] Niedzwiecki S, Sterpien T, Kopec K, *et al*. Angiopoietin 1 (Ang-1), angiopoietin 2 (Ang-2) and Tie-2 (a receptor tyrosine kinase) concentrations in peripheral blood of patients with thyroid cancers[J]. Cytokine, 2006, 36(5/6): 291-295.
[8] Szarvas T, Jager T, Totsch M, *et al*. Angiogenic switch of Angiopietins-Tie2 system and its prognostic value in bladder cancer[J]. Clin Cancer Res, 2008, 14(24): 8253-8262.
[9] Zhou Y Z, Fang X Q, Li H, *et al*. Role of serum angiopoietin-2 level in screening for esophageal squamous cell cancer and its precursors[J]. Chin Med J (Engl), 2007, 120(14): 1216-1219.
[10] Chen H H, Shi Z J, Wang S Q, *et al*. The effects of angiopoietin-2 on the growth of tongue carcinoma[J]. Br J Oral Maxillofac Surg, 2009, 47(1): 14-19.
[11] Hu A, Wu X, Li Z, *et al*. A novel gene delivery system targeting Tie2 for cancer gene therapy[J]. Anticancer Res, 2010, 30(6): 1999-2004.
[12] Imanishi Y, Hu B, Xiao G, *et al*. Angiopoietin-2, an angiogenic regulator, promotes initial growth and survival of breast cancer metastases to the lung through the integrin-linked kinase (ILK)-AKT-B cell lymphoma 2 (Bcl-2) pathway[J]. J Biol Chem, 2011, 286(33): 29249-29260.
[13] Naumnik W, Chyczewska E, Ossolinska M. Serum levels of angiopoietin-1, angiopoietin-2, and their receptor tie-2 in patients with nonsmall cell lung cancer during chemotherapy[J]. Cancer Invest, 2009, 27(7): 741-746.
[14] Schulz P, Fischer C, Detjen K M, *et al*. Angiopoietin-2 drives lymphatic metastasis of pancreatic cancer[J]. FASEB J, 2011, 25(10): 3325-3335.
[15] Shim W S, Ho I A, Wong P E. Angiopoietin: a TIE(d) balance in tumor angiogenesis[J]. Mol Cancer Res, 2007, 5(1): 655-665.
[16] Naumov G N, Folkman J, Straume O, *et al*. Tumor-vascular interactions and tumor dormancy[J]. APMIS, 2008, 116(7/8): 569-585.
[17] Terpos E, Anargyrou K, Katodritou E, *et al*. Circulating angiopoietin-1 to angiopoietin-2 ratio is an independent prognostic factor for survival in newly diagnosed patients with multiple myeloma who received therapy with novel antimyeloma agents[J]. Int J Cancer, 2012, 130(3): 735-742.
[18] Joshi S, Khan R, Sharma M, *et al*. Angiopoietin-2: a potential novel diagnostic marker in multiple myeloma[J]. Clin Biochem, 2011, 44(8/9): 590-595.

(**收稿**:2011-11-04;**修回**:2011-12-18)
(编辑 汪勤俭)

(上接1264页)



A:双肾磁共振影像;B:双肾CT扫描
图1 左肾盂肉瘤样癌核磁共振与CT扫描表现

2 讨论

肉瘤样癌最早被认为和癌肉瘤为同一种肿瘤[1],实际上,这2种肿瘤的起源是不一样的。癌肉瘤同时含有上皮成分和肉瘤(软骨肉瘤或横纹肌肉瘤)成分,肉瘤样癌主要起源于上皮成分,但却具有肉瘤的形态学特点。由于二者在形态学上的相似性,显微镜下通过HE染色很难将两种肿瘤区分开来,但免疫组化可将二者区分开;肉瘤样癌能表达上皮细胞的特异蛋白,如细胞角蛋白、EMA等,而不能表达间叶细胞特异蛋白[2]。肉瘤样癌可发生于乳腺、咽喉部、肺和膀胱等不同的器官[3],其预后也各不相同。膀胱的尿路上皮肉瘤样癌约占膀胱肿瘤的0.17%,预后通常较差,而肾盂的尿路上皮肉瘤样癌更是罕见,国内外相关文献报道极少[4];肾盂肉瘤样癌在影像学上无明显特异性,易被诊断为肾盂移行细胞癌,因此,对于其诊断主要依赖于病理检查。有研究认为共表达角蛋白和波形蛋白对诊断肾盂肉瘤样癌非常有用[5]。本例患者肾盂肿瘤免疫组化提示共表达角蛋白和波形蛋白。肉瘤样癌对放疗和化疗都不敏感,因此肾盂肉瘤样癌主要靠手术治疗,虽然手术切除了患侧的肾及肾盂,而且残余的输尿管无瘤,但是残余的输尿管往往是其复发的根源。手术治疗能否改善肾盂肉瘤样癌生存率尚需进一步研究[6]。肉瘤癌患者的预期寿命都比较短,多数患者在诊断后半年内死亡。

参考文献:

[1] Sekido Y, Satoh F, Usui Y, *et al*. Sarcomatoid carcinoma of the renal pelvis: a case report[J]. Pathol Int, 2000, 50(7): 562-567.
[2] Wick M R, Brown B A, Young R H, *et al*. Spindle-cell proliferations of the urinary tract. An immunohistochemical study[J]. Am J Surg Pathol, 1988, 12(5): 379-389.
[3] Travis W D. Sarcomatoid neoplasms of the lung and pleura[J]. Arch Pathol Lab Med, 2010, 134(11): 1645-1658.
[4] Chen G M, Chen S W, Xia D, *et al*. Sarcomatoid carcinoma of the renal pelvis in duplex kidney[J]. Chin Med J (Engl), 2011, 124(13): 2074-2076.
[5] Lopez-Beltran A, Escudero A L, Cavazzana A O, *et al*. Sarcomatoid transitional cell carcinoma of the renal pelvis. A report of five cases with clinical, pathological, immunohistochemical and DNA ploidy analysis[J]. Pathol Res Pract, 1996, 192(12): 1218-1224.
[6] Hisataki T, Takahashi A, Taguchi K, *et al*. Sarcomatoid transitional cell carcinoma originating from a duplicated renal pelvis[J]. Int J Urol, 2001, 8(12): 704-706.

(**收稿**:2012-05-13;**修回**:2012-06-02)
(编辑 龙 亮)