维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253-3626(2004)06-0722-03

食管鳞状细胞癌 VEGF-C、VEGFR-3 的表达及其与淋巴结转移的关系

曹友德,李圆圆,林 晓

(重庆医科大学基础医学院病理学教研室,重庆 400016)

【摘 要】目的:研究食管鳞状细胞癌组织中血管内皮细胞生长因子-C(VEGF-C)及其受体 VEGFR-3 的表达。方法:免疫组织化学 SABC 法研究 72 例食管鳞状细胞癌根治术组织中 VEGF-C 和 VEGFR-3 的表达、与淋巴结转移的关系。结果:(1)癌细胞 VEGF-C 阳性组 VEGFR-3 脉管数为 5.02±2.24/高倍视野(HPF),明显高于 VEGF-C 阴性组(2.82±0.16/HPF,$P<0.01$))。(2)转移组中 VEGF-C 表达"++~+++"比率明显高于无转移组($P<0.01$)。转移组 VEGFR-3 脉管数 6.20±2.77/HPF,无转移组为 3.40±1.09/HPF,有非常显著性差异($P<0.01$)。(3)VEGF-C 阴性组 5 年生存率为 63.67%,而 VEGF-C 阳性组 5 年生存率为 14.92%,明显差异($P<0.01$)。结论:食管鳞状细胞癌高表达 VEGF-C,能诱导淋巴管生成、促进癌细胞转移。VEGF-C 是食管癌预后的因素之一。

【关键词】食管癌;血管内皮细胞生长因子-C;血管内皮细胞生长因子受体-3

【中国图书分类法分类号】R730.5 【文献标识码】A 【收稿日期】2003-06-21

The expression of VEGF-C and VEGFR-3 and the correlation with the lymph node metastasis in esophagus squamous cell carcinoma

CAO Youde, et al

(*Department of Pathology, College of Basic Medicine, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate the expression of vascular endothelial growth factor-C(VEGF-C) and vascular endothelial growth factor receptor 3(VEGFR-3) and the correlation with the lymph node metastasis in esophagus squamous cell carcinoma. *Methods*: 72 esophagus squamous cell carcinoma cases with complete clinical, pathological and following-up data were included in this study. Immunohistological method SABC was used to detect the expression of VEGF-C and VEGFR-3. *Results*: (1)The VEGF-C positive rate in esophagus squamous cell carcinomas is 59.72%(43/72). The mean number of VEGFR-3 vessel in VEGF-C positive group is 5.02±2.24 per high power field(HPF), while is 2.82±0.16 per HPF in VEGF-C negative group. The former is significantly higher than the later ($P<0.01$). (2)The VEGF-C density in group with lymph node metastasis is stronger than that in group non-metastasis ($P<0.01$). The mean number of VEGFR-3 vessel in group with lymph node metastasis is 6.20±2.77 per HPF, but is 3.40±1.09 per HPF in group without metastasis. The VEGFR-3 vessel number is significantly different between them ($P<0.01$). (3)Survival curves determined by the Kaplan-Meier method demonstrated that the 5 year survival rate in VEGF-C positive group is 14.92%, but is 63.67% in VEGF-C negative group. The survival rate is significantly different between them($P<0.01$). *Conclusion*: High expression of VEGF-C in esophagus squamous cell carcinoma can promote lymphangiogenesis and lymph node metastasis. VEGF-C is one of the prognostic factors in esophagus squamous cell carcinoma.

【Key words】Esophagus squamous cell carcinoma; Vascular endothelial growth factor-C(VEGF-C); Vascular endothelial growth factor receptor-3(VEGFR-3)

食管癌重要的恶性行为是癌细胞经淋巴管发生淋巴结转移,淋巴结的转移直接影响治疗方式、局部复发和远期生存。近来,对癌组织中淋巴管生成机制及其调节因子的研究是肿瘤研究中的热点。有研究报道血管内皮细胞生长因子-C(vascular endothelial growth factor-C, VEGF-C)是促进淋巴管生成的重要因素[1,2]。它作用于相应受体,VEG-

作者介绍:曹友德(1964-),男,副教授,博士,主要研究方向:肿瘤病理学。

维普资讯 http://www.cqvip.com

FR－3，促进淋巴管生成，为癌细胞转移提供途径。食管癌组织中 VEGF－C、VEGFR－3 的表达情况文献报道较少。本文就食管鳞状细胞癌组织中 VEGF－C、VEGFR－3 的表达及其意义进行研究。

1 材料与方法

1.1 材料

收集我室有完整临床、病理及随访资料的食管鳞状细胞癌根治术标本 72 例。其中男性 49 例，女性 23 例；年龄 41－72 岁（中位年龄 62 岁）；组织学分级高分化 13 例，中分化 48 例，低分化 11 例。72 例中有淋巴结转移 30 例，无淋巴结转移 42 例。浸润深度 T1 5 例，T2 40 例，T3 27 例。随访时间：食管癌根治术后 3－68 个月，中位随访时间 52 月。

1.2 方法

食道癌组织及相临正常食管粘膜 10% 甲醛固定，标本 4μm 连续石蜡切片，采用 SABC 免疫组织化学染色法。多克隆抗体 VEGF－C、VEGFR－3 为 Santa Cruz 公司产品，SABC 试剂盒购自北京中山生物技术有限公司。染色程序按 SABC 试剂盒说明进行，以 PBS 液代替一抗设立阴性对照。

1.3 结果判断

VEGF－C 免疫组化以胞浆内出现特异性染色深浅参考文献评分[3]：0 分无色，1 分为淡黄色，2 分棕黄色，3 分为棕褐色；再将染色细胞所占百分比打分：无阳性细胞＝0 分，1%－10%＝1 分，11%－50%＝2 分，≥51%＝3 分。两项乘积即为该例免疫组化得分。乘积≥3 分定为阳性。其中 3－4 分（＋），5－7 分（＋＋），8－9 分（＋＋＋）。

VEGFR－3 免疫组化结果判断，首先低倍镜下确定脉管着色最密集区（热区），然后在高倍视野（High power field，HPF）下记数 5 个高倍视野中阳性脉管密度，取均数作为淋巴管数。

1.4 统计学处理

两个独立样本均数比较采用 t 检验，两个变量相关性分析采用双变量相关分析；生存期分析采用 Kaplan－Meier 法和 Log－rank 检验。$P<0.05$ 为相关有显著性。

2 结 果

2.1 VEGF－C、VEGFR－3 在食管癌组织中的表达

VEGF－C 阳性颗粒主要位于鳞状细胞癌细胞浆，部分间质细胞中也有表达。72 例食管癌组织中，43 例癌细胞 VEGF－C 阳性，阳性率 59.72%（43/72）（图 1）。其中 VEGF－C（＋）8 例，VEGF－C（＋＋）20 例，VEGF－C（＋＋＋）15 例。72 例正常食管粘膜上皮 10 例 VEGF－C 阳性，阳性率为 13.89%（10/72），阳性强度均为（＋），余 62 例阴性。正常食管粘膜鳞状上皮 VEGF－C 阳性率明显低于食管癌组织（$P<0.01$）。

VEGFR－3 阳性细胞主要位于脉管内皮细胞浆内。正常食管粘膜内 VEGFR－3 阳性脉管数为（1.62±0.07）/HPF，而食管癌组织中 VEGFR－3 阳性脉管数均数为（4.12±1.76）/HPF。二者有显著性差异（$P<0.01$）。在食管癌组织中 VEGF－C 表达强度与 VEGFR－3 阳性脉管数关系见表 1。VEGF－C 表达阴性者，VEGFR－3 阳性脉管数均数为（2.82±0.16）/HPF；而 VEGF－C 阳性表达者，VEGFR－3 阳性脉管数均数为（5.02±2.24）/HPF，两者有非常显著差异（$P<0.01$），随着 VEGF－C 表达强度增强 VEGFR－3 脉管数有增加趋势（$r=0.832$，$P<0.01$）。在 VEGF－C 阳性病例的淋巴管较易见到癌栓形成（图 2）。

2.2 VEGF－C、VEGFR－3 表达与淋巴结转移关系

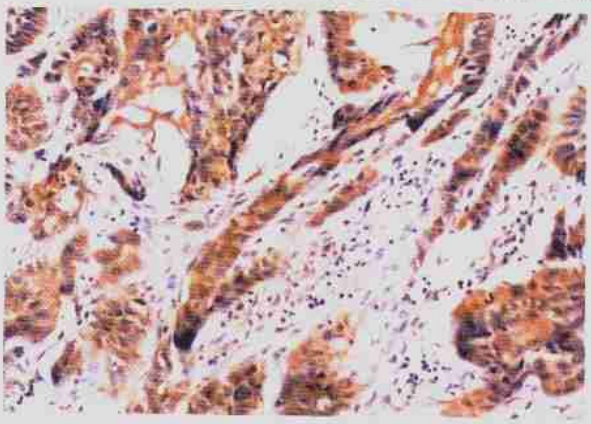


图 1 食管鳞状细胞癌组织中 VEGF－C 阳性表达（SABC 法×400）

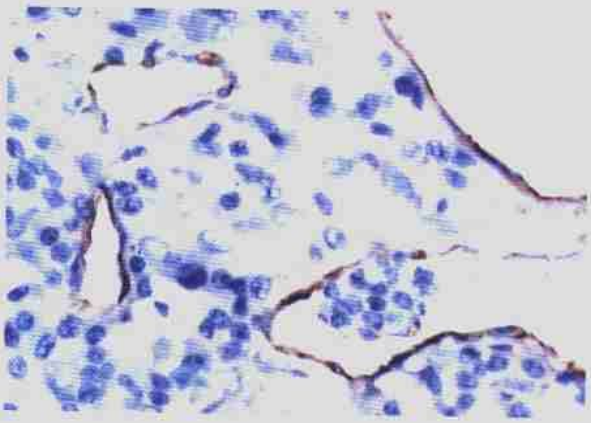


图 2 食管鳞状细胞癌组织中 VEGFR－3 阳性淋巴管，个别管腔中见癌栓（SABC 法×400）

维普资讯 http://www.cqvip.com

表 1 VEGF－C 表达强度与 VEGFR－3 阳性脉管数关系

VEGF－C	例数	VEGFR－3 脉管数(/HPF)
－	29	2.82±0.16
＋	8	4.23±1.85*
＋＋	20	5.31±2.38*
＋＋＋	15	6.58±3.11*

注：*与"－"比较，$P<0.01$

表 2 VEGF－C、VEGFR－3 表达与淋巴结转移关系

淋巴结状况	例数	VEGF－C(%)		VEGFR－3
		－～＋	＋＋～＋＋＋	(/HPF)
无转移组	42	28(66.67)	14(33.33)	3.40±1.09
转移组	30	9(30.00)*	21(70.00)*	6.20±2.77*

注：*与无转移组比较 $P<0.01$

食管癌病例中无淋巴结转移组和有淋巴结转移组的 VEGF－C、VEGFR－3 表达见表 2。转移组中 VEGF－C 表达"－～＋"比率为 30.00%，明显低于无转移组的 66.67%($P<0.01$)，但表达"＋＋～＋＋＋"比率为 70.00%，明显高于无转移组的 33.33%($P<0.01$)。转移组中 VEGFR－3 脉管数为(6.20±2.77)/HPF，无转移组为(3.40±1.09)/HPF。转移组中 VEGFR－3 脉管数明显高于无转移组($P<0.01$)。

2.3 VEGF－C 表达与患者生存率的关系

VEGF－C 阴性组中位生存时间为 64 月，5 年生存率为 63.67%；VEGF－C 阳性组中位生存时间 45 月，5 年生存率为 14.92%。两者生存率有显著差异($P<0.01$)(图 3)。

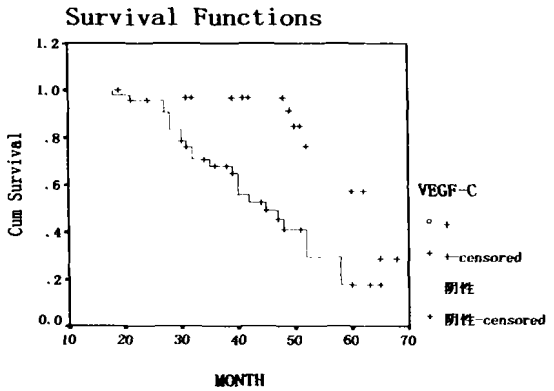


图 3 食管鳞状细胞癌 VEGF－C 表达对患者生存率的影响

3 讨 论

食管癌是最常见恶性肿瘤之一，严重危害人类健康。食管癌淋巴结转移直接影响临床治疗方式和病人预后。伴有淋巴结转移病例生存率明显低于无淋巴结转移的病人。因此研究癌细胞淋巴管转移机制有着重要意义。

近年来，肿瘤淋巴管生成的分子机制成为癌细胞淋巴管转移的热点。研究发现，血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor C，VEGF－C)是肿瘤淋巴管的生成的主要因子。VEGF－C 属于 VEGF 家族，VEGF－C 的主要作用是激活血管内皮细胞生长因子受体－3(vascular endothelial growth factor receptor 3，VEGFR－3)。VEGFR－3 是目前发现的淋巴管生成的主要受体，也是淋巴管内皮细胞的重要分子标志[4,5]。VEGFR－3 与相应配体结合后进行信号传递，诱导细胞增殖、增殖细胞可能来源于肿瘤组织中原始间叶细胞、原有的淋巴管或静脉内皮细胞。在生长、分化信号刺激下，这些细胞分化成为淋巴管内皮细胞并形成淋巴管。目前认为这一途径是淋巴管生成的主要途径。研究发现多种肿瘤细胞有 VEGF－C 较高表达，其表达强度与淋巴管数量及癌细胞转移成正相关[6-8]。

本研究发现，在 72 例食管鳞形细胞癌组织中，42 例 VEGF－C 阳性，阳性率为 59.72%。其中 VEGF－C(＋)8 例，VEGF－C(＋＋)20 例，VEGF－C(＋＋＋)15 例。而正常食管粘膜上皮细胞中仅 10 例 VEGF－C 阳性，阳性率为 13.89%，阳性强度均为(＋)。两者有显著性差异($P<0.01$)。随着 VEGF－C 表达强度增加，VEGFR－3 脉管数增加，两者成正相关($P<0.01$)。进一步研究发现，在伴有淋巴结转移组中 VEOFR－3 脉管数为 6.20±2.77/HFP，无转移组为 3.40±1.09/HPF。转移组 VEGFR－3 脉管数明显高于无转移组($P<0.01$)。在 VEGF－C 强阳性病例中脉管内易于见到癌栓。结果提示食管癌中癌细胞高表达 VEGF－C，能诱导淋巴管生成、促进癌细胞转移。

本研究发现食管癌细胞表达 VEGF－C 阳性者，其 5 年生存率为 14.92%，明显低于 VEGF－C 阴性组 5 年生存率 63.67%($P<0.01$)，提示 VEGF－C 表达可以是食管癌预后的因素之一。研究报道，VEGF－C 表达与癌细胞增值能力成正相关，而与癌细胞分化成负相关[9,10]。VEGF－C 过量表达患者，预后较差，除与癌组织中淋巴管生成增多有关外，可能与 VEGF－C 促进癌细胞增生、干扰癌细胞分化有关。

以上结果显示，食管鳞状细胞癌(下转第 729 页)

维普资讯 http://www.cqvip.c

邻岛叶,这些部位的出血几乎均会影响到岛叶或其传出纤维所致。

本研究提示,大脑半球岛叶和其邻近部位卒中患者可并发心电图异常和心肌结构性损害(CK-MB活性升高),心脏副交感神经活性降低、交感神经活性增加可能为其主要病理生理机制,对这些患者应加强心电监护、CK-MB检查和心脏保护。

参 考 文 献

[1] Cheung RTF, Hachinski V. The insular and cerebrogenic sudden death[J]. Arch. Neurol, 2000; 57: 1685-1688.

[2] Sander D, Winbeck K, Klingelhofer J, et al. Prognostic relevance of pathological sympathetic activation after acute thromboembolic stroke[J]. Neurology, 2001; 57: 833-838.

[3] 全国第四届脑血管病学术会议通过. 脑卒中患者临床神经功能缺损程度评分标准[J]. 中华神经科杂志, 1996; 29: 381-383.

[4] Damasio H. A computed tomographic guide to the identification of cerebral ascular territories[J]. Arch Neurol, 1983; 40: 138-142.

[5] Mayer SA, LiMandri G, Sherman D, et al. Electrocardiographic markers of abnormal left ventricular wall motion in acute subarachnoid hemorrhage[J]. J Neurosurg, 1995; 83: 889-896.

[6] 陈运贞,雷 寒,谢 杨,等. 检测心脏植物神经活性的定量方法[J]. 中华心血管病杂志, 1992; 20: 101-103.

[7] 李长清,董为伟. 心率变异性的混沌特征与脑卒中患者猝死[J]. 中华内科杂志, 2001; 40: 216.

[8] Norris JW, Hachinski VC, Myers MG, et al. Serum cardiac enzymes in stroke[J]. Stroke, 1979; 10: 548-553.

[9] Daniele O, Caravaglios G, Fierro B, et al. Stroke and cardiac arrhythmias[J]. J Stroke Cerebrovasc Dis, 2002; 11: 28-33.

[10] 李长清,董为伟. 大脑半球梗塞患者的心脏植物神经活性昼夜节律变化[J]. 中华心律失常学杂志, 2000; 4: 272-275.

[11] Strittmatter M, Meyer S, Fischer C, et al. Location-dependent patterns in cardio-autonomic dysfunction in ischaemic stroke[J]. Eur Neurol, 2003; 50: 30-38.

(上接第 724 页)组织高表达 VEGF-C,促进淋巴管生成和癌细胞转移,影响患者预后。由此提示,如果抑制 VEGF-C 或 VEGFR-3 的表达,可抑制淋巴管生成、阻断癌细胞经淋巴管转移,为临床肿瘤治疗提供新途径。

参 考 文 献

[1] Alitalo K, Carmeliet P. Molecular mechanisms of lymphangiogenesis in health and disease[J]. Cancer Cell, 2002; 1(3): 219-227.

[2] Liu XE, Sun XD, Wu JM. Expression and significance of VEGF-C and FLT-4 in gastric cancer[J]. World J Gastroenterol, 2004; 10(3): 352-355.

[3] 许良中. 乳腺病理学[M]. 第 1 版, 上海: 上海医科大学出版社, 1999; 359.

[4] Shimizu K, Kubo H, Yamaguchi K, et al. Suppression of VEGFR-3 signaling inhibits lymph node metastasis in gastric cancer[J]. Cancer Sci, 2004; 95(4): 328-333.

[5] Nojiri H, Ohhashi T. Immunolocalization of nitric oxide synthase and VEGF receptor in cultured lymphatic endothelial cells[J]. Microcirculation, 1999; 6(1): 75-78.

[6] Kazama S. Expression pattern of vascular endothelial growth factor-C in human colorectal normal mucosa and neoplastic mucosa[J]. Hepatogastroenterology, 2004; 51(56): 391-395.

[7] Onogawa S, Kitadai Y, Tanaka S, et al. Expression of VEGF-C and VEGF-D at the invasive edge correlates with lymph node metastasis and prognosis of patients with colorectal carcinoma[J]. Cancer Sci, 2004; 95(1): 32-39.

[8] Cataldo S, Francesca C, Pedro M, et al. Vascular endothelial growth factor-C expression correlates with lymph node localization of human melanoma metastases[J]. Cancer, 2003; 98(4): 789-797.

[9] 刘 芳,张雅洁. VEGF-C 及其受体 Flt-4 在乳腺癌细胞增殖及转移肿的作用[J]. 癌症, 2003; 22(10): 1053-1056.

[10] Noguchi T, Takeno S, Shibata T, et al. VEGF-C expression correlates with histological differentiation and metastasis in squamaous cell carcinoma of the esophagus[J]. Oncol Rep, 2002; 9(5): 995-999.