维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253－3626(2003)04－0460－03

STAT3 与 VEGF 在非小细胞肺癌中的表达及关系

胥文春[1]，罗春丽[1]，冯文莉[1]，林 晓[2]，唐 敏[1]

(1.重庆医科大学检验系;2.重庆医科大学基础医学院病理教研室,重庆 400016)

【摘 要】目的:探讨非小细胞肺癌中 STAT3 蛋白与 VEGF 表达的关系,以进一步探讨肿瘤的发生及转移机制。方法:利用 SABC 免疫组织化学技术检测 40 例非小细胞肺癌(NSCLC)组织中 STAT3 蛋白和 VEGF 的表达。结果:(1)STAT3 在低分化肺癌组织中的表达明显高于高分化肺癌组织,在有淋巴结转移肺癌组织中的表达明显高于无淋巴结转移肺癌组织,与肿瘤的大小及组织学类型无关。(2)VEGF 在直径≥3cm 肺癌组织中的表达明显高于直径＜3cm 肺癌组织,在有淋巴结转移肺癌组织中的表达明显高于无淋巴结转移肺癌组织,与肿瘤的组织学类型及分化程度无关。(3)STAT3 与 VEGF 表达呈显著正相关。结论:本组资料提示 STAT3 与 VEGF 可能在肺癌的发生及转移中发挥重要作用。二者之间的相关性证实 VEGF 基因直接由 STAT3 蛋白调节的论点。由此也为目前肿瘤抗血管生成治疗的研究提供了新的证据。

【关键词】非小细胞肺癌;STAT3;VEGF;免疫组化

【中国图书分类法分类号】R734.2 【文献标识码】A 【收稿日期】2002－11－04

Relationship of STAT3 and VEGF in non－small cell lung cancer

XU Wenchun, et al

(*Faculty of Clinical Laboratory Medicine, Chongqing Medical University*)

【Abstract】 *Objective*: To explore the expression of STAT3 and vascular endothelial growth factor (VEGF) in non－small cell lung cancer (NSCLC) and their relationship. *Methods*: SABC immunohistochemistry was used to detect the expression of STAT3 and VEGF in non－small tissues of 40 cases. *Results*: (1)The expression of STAT3 in NSCLCs had a obvious relation with the tumor cell differentiation and lymph node metastasis. No obvious difference in STAT3 expression was found among different tumor sizes of tumor types. (2)The expression of VEGF in NSCLCs had a significant relation with tumor size and lymph node metastasis. There was no significant difference between VEGF expression and tumor types and tumor cell differentiation. (3)There was significant positive correlation between the expression of VEGF and STAT3 in NSCLCs. *Conclusion*: STAT3 and VEGF may play an important role in the development of NSCLC. We identify that VEGF gene is regulated directly by STAT3 protein.

【Key words】 Non－small cell lung cancers; Signal transducers and activators of transcription 3; Vascular endothelial growth factor; Immunohistochemistry

肺癌是我国发病率最高的恶性肿瘤之一,侵袭和转移是其最本质的生物学特征,也是导致肺癌死亡的根本原因。而所有肿瘤的发生发展都离不开新生血管生成,以获得肿瘤细胞生长和转移所需的营养物质。因此,抑制肿瘤血管生成已成为当前肿瘤治疗的重要策略。血管内皮生长因子(VEGF)是最重要的血管生成因素之一,最近有报道 VEGF 基因直接由信号转导子与转录活化子 3(signal transducers and transcription activators 3, STAT3)蛋白调节[1]。运用免疫组织化学法,对 40 例手术切除的肺癌标本进行了 VEGF 和 STAT3 表达的检测,以探讨二者之间表达的关系,为肺癌的抗血管生成治疗提供依据。

作者介绍:胥文春(1968－),女,讲师,硕士,主要研究方向:肿瘤研究。

1 材料和方法

1.1 组织材料来源

收集重庆医科大学病理科临床病理资料完整的非小细胞肺癌标本 40 例,其中男性 30 例,女性 10 例,年龄 25－76 岁,中位年龄 63 岁。肿瘤直径≥3cm 者 26 例,＜3cm 者 14 例;磷癌 23 例,腺癌 17 例;高－中分化 19 例,低分化 21 例;有淋巴结转移者 11 例,无淋巴结转移者 29 例。所有标本均为手术切除获得,术前未作任何放疗或化疗。

维普资讯 http://www.cqvip.com

1.2 试剂

STAT3 多抗、VEGF 多抗、SABC 试剂盒及显色剂均购自于武汉博士德公司。

1.3 方法

采用免疫组织化学 SABC 法。玻片预先经防脱片处理，经 10% 福尔马林固定、常规石蜡包埋的组织经 5μm 连续切片，切片常规脱蜡水化后，于 pH 6.0 枸橼酸盐缓冲液中微波加热作抗原修复，用正常兔血清代替一抗作阴性对照，其余操作见试剂盒说明书。结果判断按每张切片的阳性细胞比例及着色深浅划分 −、+、++、+−+四级。

1.4 统计分析

用 SAS 系统软件分析。两个样本率之间的差异用 χ^2 检验，等级资料的两样本比较用秩和检验，双变量资料的等级相关性用等级相关分析。

2 结 果

2.1 STAT3、VEGF 在肺癌组织中的表达

VEGF、STAT 3 阳性信号主要位于细胞浆中，少数位于细胞核中，如图 1b、图 2b。STAT 3、VEGF 在非小细胞肺癌组织中的表达阳性率分别为 67.5% 和 80%。

表 1 40 例肺癌各临床病理因素与 STAT3、VEGF 表达的关系

临床资料	例数	STAT3 的表达				VEGF 的表达			
		−	+	++～+++	P	−	+	++～+++	P
肿瘤大小(cm)									
<3	14	5	6	3		6	3	5	
≥3	26	8	9	9	>0.05	2	10	14	<0.05
组织学类型									
鳞癌	23	9	9	5		6	8	9	
腺癌	17	4	6	7	>0.05	2	5	10	>0.05
组织分化程度									
高－中	19	10	5	4		5	6	8	
低	21	3	10	8	<0.05	3	7	11	>0.05
淋巴结转移									
无	29	11	12	6		8	11	10	
有	11	2	3	6	<0.05*	0	2	9	<0.05*

注：* 为秩和检验结果，其余 P 值均为 χ^2 检验结果。

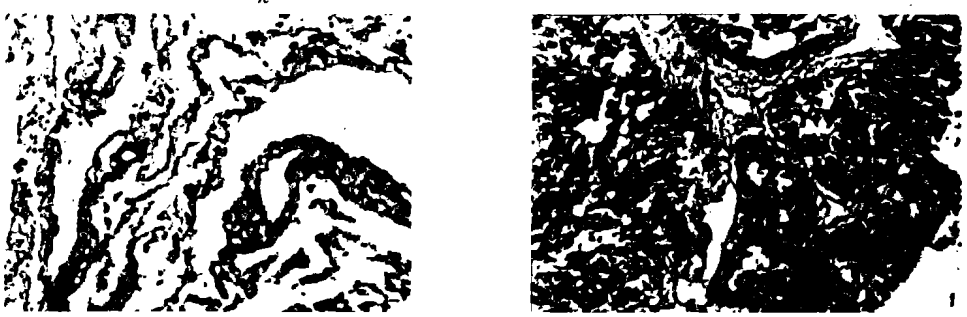


图 1 STAT3 在肺组织中的表达(×100)，SABC

a. 正常肺组织(STAT3−)；b. 肺鳞癌组织(STAT3+++)

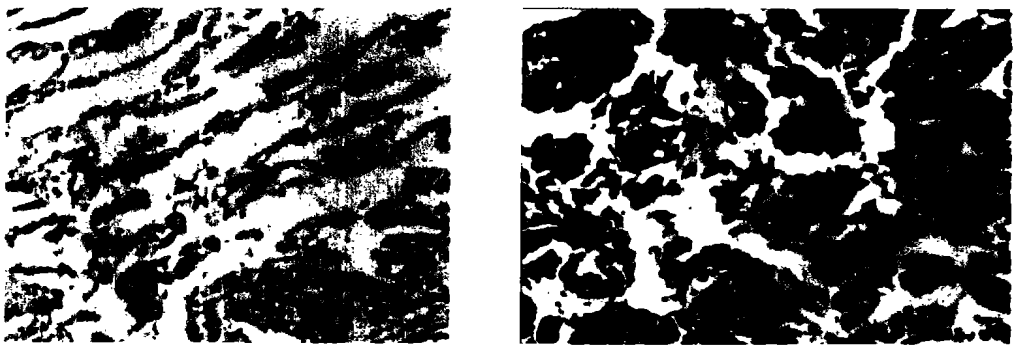


图 2 VEGF 在肺组织中的表达(×100)，SABC

a. 正常肺组织(VEGF−)；b. 肺腺癌组织(VEGF+++)

维普资讯 http://www.cqvip.com

2.2 STAT3、VEGF 的表达与 NSCLC 各临床病理因素的关系 (见表 1)

表中可见 STAT3 的表达与肿瘤组织的大小及组织学类型无关,但与肿瘤的分化程度及有无淋巴结转移有关。尽管低分化肺癌组织与高－中分化的肺癌组织中 STAT3 的表达强度无显著性差异(秩和检验 $P>0.05$),但二者之间 STAT3 的表达阳性率有显著性差异(χ^2 检验 $P<0.05$),即低分化组表达阳性率明显高于高－中分化组,说明 STAT3 的表达与肺癌组织的分化程度有关。有淋巴结转移的肺癌组织与无淋巴结转移的肺癌组织中 STAT3 的表达阳性率虽无显著性差异(χ^2 检验 $P>0.05$),但表达强度却有显著性差异(秩和检验 $P<0.05$),即有淋巴结转移组明显高于无淋巴结转移组,说明 STAT3 的表达与肺癌的淋巴结转移有关。

VEGF 的表达与 NSCLC 的组织学类型、组织分化程度无关,但与肿瘤的大小及有无淋巴结转移有关,直径≥3cm 的 NSCLC 组织中的阳性率显著高于直径<3cm 的肿瘤(χ^2 检验 $P<0.05$),有淋巴结转移组的表达强度显著高于无淋巴结转移组(秩和检验 $P<0.05$)。

2.3 NSCLC 中 STAT3 与 VEGF 表达强度的相关性

通过等级相关分析,同一标本 VEGF 与 STAT3 表达强度之间的 $r_s=20.51184$,$P<0.01$,表明二者之间呈显著正相关。

3 讨 论

大量研究证实,血管生长在肿瘤的生长和转移中发挥重要作用,诱导新生血管生成可促进肿瘤的生长及转移,当肿瘤生长至 $1mm^3$ 时,如缺乏新生血管以供应营养则肿瘤细胞将停止增殖[2]。已知有多种细胞因子和生长因子参与了血管生成的调控,其中 VEGF 可能是最关键的刺激因子[3]。而非受体和受体酪氨酸激酶,如 Src(属于非受体酪氨酸激酶 Src 家族成员)、EGFR 等又是 VEGF 的主要诱导子[4],这些酪氨酸激酶信号通过多种途径传递,STAT3 是这些途径的一个交汇点[5]。STAT3 是在多种细胞因子和生长因子与相应受体结合后,激活 JAK 等酪氨酸激酶,从而被其磷酸化,然后形成二聚体,再转位至核中,与 DNA 上的靶基因结合,激活靶基因的转录。Niu 等[1]用显性阴性的 STAT3 蛋白(即 STAT3β,一种 STAT3 的突变形式,可抑制 STAT3 的活性)及 STAT3 反义寡核苷酸阻断 STAT3 的信号转导,均可下调 VEGF 的表达,同时他们通过染色质免疫沉淀检测,发现 STAT3 蛋白在体内结合于 VEGF 的启动子,且 VEGF 启动子上 STAT3 结合位点的突变会使 V－Src 介导的 VEGF 启动子的活性丧失,因此,他们认为 VEGF 基因是直接通过 STAT3 蛋白来调节的,并且认为 STAT3 在阻断由多种信号途径介导的肿瘤血管生成策略中是一个共同的分子靶。也就是说阻断 STAT3 即可阻断血管生成,阻止肿瘤的生长和转移。

本研究结果显示,NSCLC 中 VEGF 的表达与肿瘤的大小及有无淋巴结转移有关,即肿瘤组织≥3cm 组及有淋巴结转移组中 VEGF 的表达分别比肿瘤组织<3cm 组及无淋巴结转移组高,表明 VEGF 可能在 NSCLC 的生长及转移中发挥重要作用。STAT3 在 NSCLC 中的表达与组织细胞的分化程度及有无淋巴结转移有关,说明 STAT3 与肺癌的恶性程度及转移有关。但本实验中 STAT3 的表达与肿瘤的大小无关,而 VEGF 的表达却与肿瘤的大小有关。这是否说明 VEGF 的表达除受 STAT3 的调节外,还有其它因素的参与,尚需进一步的研究。尽管如此,本实验表明 STAT3 与 VEGF 在 NSCLC 中的表达存在明显的相关性,从而在蛋白水平证实了二者表达的一致性,证实了 Niu 等的观点,为肺癌的抗血管生成治疗提供了证据。

参 考 文 献

[1] Guilian Niu, Kenneth L Wright, Mei Huang, et al. Constitutive Stat3 activity up－regulates VEGF expression and tumor angiogenesis[J]. Oncogene, 2002;21(13):2000－2008.

[2] Folkman J. Clinical applications of research on angiogenesis[J]. N Engl J Med, 1995;333(26):1757－1763.

[3] Dankbar B, Padro T, Leo R, et al. Vascular endothelial

(下转第 466 页)

维普资讯 http://www.cqvip.com

本实验将分离获得的 MSCs 不经过体外诱导，而是直接移植到成年鼠的急性梗死心肌区域和正常鼠的心肌组织中，可以观察到 MSCs 在心肌组织内得以存活，并同宿主心肌细胞间形成了细胞连接，组化检测有心肌特异性抗原的出现，说明其已转化为心肌细胞。究其原因，可能为 MSC 有微环境依赖性诱导的特性，与心肌微环境中存在的信号肽、细胞因子、生长因子和细胞间特殊基质有关[4]。

本实验中细胞标记至关重要，我们采用 DAPI 进行标记，文献[5]报道 DAPI 孵育时间为 30min，而经过实践我们得出最佳的孵育时间为 3～4h，时间过短则标记强度不够，过长则已饱和而无意义。DAPI 为一种荧光染料，能与细胞核中的双链 DNA 结合而发挥标记的作用，在紫外光激发下，DAPI 在波长为 345nm 的条件下荧光强度最高，荧光显微镜观察细胞标记的效率高(几乎为 100%)，且对活细胞无毒副作用。

电镜结果显示移植细胞与宿主心肌细胞间有闰盘的存在，证明两者间存在电生理一致性及机械收缩同步性的物质基础[4]。免疫组化检测是 MSCs 分化为心肌细胞的组织学标志。MSCs 在体内微环境的诱导下两周以后即出现 MHC 的表达，显示其已向成肌细胞方向分化；而 Cx43 是心肌细胞的细胞连接蛋白，为心肌细胞所特有，在移植四周后出现 Cx43 的特异表达，说明其已分化为心肌细胞。

MSCs 植入受体心肌组织后，在体内微环境的诱导下，从形态学和组织学上证实其已初步分化为心肌细胞，但其是否具备心肌细胞的电机械联系及舒缩等功能，能否对衰竭的心肌进行修复并改善衰竭的心功能等问题，需进一步进行实验研究。同时，可对心肌组织内微环境诱导的调控机制、基因水平的整合、有否差异表达基因的表达做更深入的研究，给本课题开拓了更大的外延空间。

参 考 文 献

[1] Pittenger MF, Packay AM, Beck SC, et al. Multilinage potential of adult human mesenchymal stem cell[J]. Sciencse, 1999;284:143－147.

[2] Shinji M, Keiichi F, Shunichirou M, et al. Cardiomyocytes can be generated from marrow strowal cells in vitro[J]. Clin Invest, 1999;103(5):697－705.

[3] Jih SW, Dominique ST, Edger C, et al. The coronary delivery of marrow stromal cells for myocardial regeneration: Pathophysiologic and therapeutic implications[J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 2001;122:699－705.

[4] Jih SW, Dominique ST, Jacques G, et al. Marrow stromal cells for cellular cardiomyoplasty: feasibility and potential clinical advantages[J]. Thorac Cardiovasc Surg, 2000;120:999－1006.

[5] Rajnoch C, Chachques JC, Berrebi A, et al. Cellular therapy reverses myocardial dysfunction[J]. Thorac Cardiovasc Surg, 2001;121:871－878.

(上接第 462 页)

growth factor and interleukin－6 in paracrine tumor－stromal cell interactions in multiple myeloma[J]. Blood, 2000;95(8):2630－2636.

[4] Ellis LM, Staley CA, Liu W, et al. Down－regulation of vascular endothelial growth factor in a human colon carcinoma cell line transfected with an antisense expression vector specific for c－src[J]. J Biol Chem, 1998;273(2):1052－1057.

[5] Funamoto M, Fujio Y, Kunisada K, et al. Signal transducer and activator of transcription 3 is required for glycoprotein 130－mediated induction of vascular endothelial growth factor in cardiac myocytes[J]. J Biol Chem, 2000;275(14):10561－10566.