维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号：0253-3626(2002)03-0304-03

血管内皮生长因子、细胞角蛋白20在膀胱移行细胞癌表达及临床意义

罗春丽[1]，吴小候[2]，鲍依稀[1]，李园园[3]

（1.重庆医科大学检验系 重庆 400016；2.重庆医科大学临床学院泌尿外科 重庆 400016；
3.重庆医科大学基础医学院病理教研室 重庆 400016）

【摘 要】目的：研究血管内皮生长因子（VEGF）、细胞角蛋白20（CK20）在膀胱移行细胞癌表达及临床意义。方法：采用免疫组化S-P法对30例膀胱移行细胞癌及13例正常膀胱粘膜组织进行VEGF、CK20检测。结果：VEGF、CK20在膀胱移行细胞癌表达的阳性率分别为83.3%（25/30）、63.3%（19/30），正常膀胱粘膜13例VEGF、CK20阳性表达率分别为6.7%（2/30）、0（0/30）；与病理分期、分级有正相关关系；VEGF与CK20表达有相关趋势呈正相关；有远处淋巴结转移患者VEGF与CK20均呈高表达。结论：VEGF、CK20在膀胱移行细胞癌高表达与癌细胞的增殖、分化及转移有关，可作为膀胱移行细胞癌辅助诊断、恶性程度评价、预后判断的指标。

【关键词】内皮生长因子；细胞角蛋白20；膀胱移性细胞癌

【中国图书分类法分类号】R730.45 【文献标识码】A 【收稿日期】2001-07-02

The expression and clinical significance of VEGF、CK20 in transitional cell carcinoma of human bladder

LUO Chunli , et al

(The Faculty of Laboratory Medicine, Chongqing Medical University)

【Abstract】*Objective*: To study the expression and clinical significance of VEGF、CK20 in transitional cell carcinoma (TCC) of bladder. *Methods*: S-P immunohistochemical method was used to evaluate the expression of VEGF、CK20 in 30 TCC of bladder and 13 specimens of normal bladder mucosa. *Results*: The result showed the positive rate of VEGF、CK20 in TCC of bladder was 83.3% (25/30)、63.3% (19/30) respectively and the positive rate in normal bladder mucosa was 6.7% (2/30)、0% (0/30) respectively. Statistically positive expression of VEGF、CK20 was correlated with histological classification and grade. VEGF expression was significantly correlated to the expression of CK20, overexpression of VEGF and CK20 in metastasis of regional lymph node. *Conclusion*: VEGF、CK20 overexpression in TCC of bladder was related to the proliferation、histodifferentiation and metastasis of cancer cells, so it could be used as a useful marker of supplementary diagnosis, evaluation of malignant degrees and prognosis for the patients.

【Key words】Vascular endothelial growth factor (VEGF) ; Cytokeratin 20 (CK20); Transitional cell carcinoma of human bladder (TCC)

新生血管是肿瘤发生、浸润和转移的必要条件。在肿瘤细胞生长过程中分泌的血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor ,VEGF) 则被认为是刺激血管内皮细胞增殖最重要的因子之一[1]。大量实验证明VEGF异常表达与人类肿瘤发生、发展、浸润和转移有关，它高表达与多种恶性肿瘤[2]。细胞角蛋白20 (Cytokeratin 20 ,CK20) 是构成细胞的骨架，实验证明正常膀胱上皮细胞及其绝大多数人体其它组织不表达，在胃、肠及尿路上皮肿瘤均有异常表达，我们用免疫组化的方法对膀胱移行细胞癌(Transitional Cell Carcinoma of bladder, TCC)的VEGF、CK20表达进行观察，旨在探讨其在TCC发生、发展中的作用及临床意义。

作者介绍：罗春丽（1957- ），女，副教授。
主要研究方向：泌尿系统肿瘤的诊断与治疗。

1 材料和方法

1.1 组织来源

30例膀胱癌组织取自重庆医科大学临床学院泌尿外科1999～2000年的手术切除标本，其中男25例，女5例，平均年龄60.3岁。患者术前均未接受过放、化疗。13例正常膀胱粘膜取自前列腺增生手术患者，平均年龄65.1岁，标本经甲

维普资讯 http://www.cqvip.com

醛溶液固定，石腊包埋，连续切片厚度为4μm，作HE染色及VEGF、CK20免疫组化染色。按UICC和WHO标准进行病理分期和分级：T_{is}～T_1 19例，T_2-T_4 11例；Ⅰ级16例，Ⅱ-Ⅲ级14例。

1.2 免疫组化染色方法

主要试剂：第一抗VEGF单克隆抗体和CK20单克隆抗体为即用工作液，第二抗和S-P（链酶素亲生物素过氧化物酶连接法）试剂盒及胰酶消化液均购自福州迈新生物技术公司。基本步骤：染色步骤按S-P试剂盒说明书进行。染色前均用胰酶消化液处理，其中VEGF常规脱腊后，用微波修复抗原。常规进行阴、阳性对照。

1.3 结果判断

阳性细胞判断：VEGF、CK20胞质均有棕黄色颗粒或团块。阳性程度判断：根据阳性细胞数的比例分为3级，少于25%为+，25%～50%为++，大于50%为+++；无阳性细胞为阴性。

1.4 统计学处理

采用x^2检验分析及等级相关分析。

2 结 果

2.1 VEGF、CK20在膀胱移行细胞癌的表达

VEGF、CK20在TCC呈棕黄色阳性颗粒主要表达于胞质，呈弥散性分布，见图1、图2。30例TCC中VEGF、CK20阳性表达率分别为83.3%（25/30）、63.3%（19/30）。正常膀胱粘膜上皮细胞13例VEGF、CK20阳性表达率分别为15.4%（2/30）、0%（0/30）。经x^2检验分析VEGF、CK20在TCC与正常膀胱粘膜上皮细胞差异有显著意义（P均＜0.01）。在30例TCC中，有3例膀胱全层浸润患者发现有远处淋巴结转移，VEGF、CK20表达均为阳性，其阳性程度均＞＋＋，结果1例3个月后死亡，1例半年后复发，1例随访半年未见复发。

2.2 膀胱移行细胞癌VEGF、CK20表达相互间关系

VEGF、CK20在TCC均有较高的表达，为探索两者间的相互关系进行相关性分析，结果见表1。

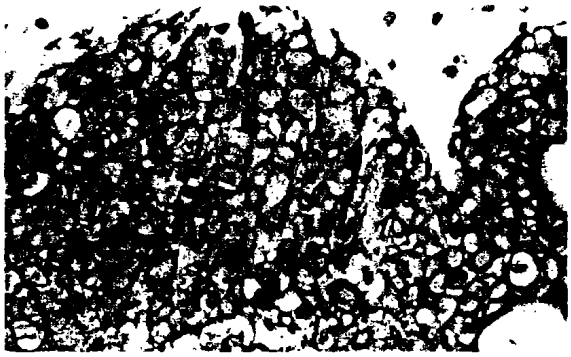


图1 膀胱移行细胞癌VEGF表达 S-P法×400



图2 膀胱移行细胞癌CK20表达 S-P法×100

可以看出，随着VEGF表达增强，CK20表达也增强，经等级相关分析，在TCC中VEGF与CK20表达有相关趋势，呈正相关（r=0.371，P＜0.05）。

2.3 VEGF、CK20在膀胱移行细胞癌的表达与病理分期、分级的关系

将TCC的分级、分期各分为两组，T_{is}～T_1（浅表型）、T_2～T_4（浸润型）；Ⅰ级（高分化癌）、Ⅱ-Ⅲ级（中、低分化癌）。结果VEGF表达阳性率

表1 TCC中VEGF与CK20表达的关系

VEGF	n	CK20			
		－	＋	＋＋	＋＋＋
－	5	3	2	0	0
＋	9	5	3	1	0
＋＋	9	3	3	2	1
＋＋＋	7	0	3	2	2
合计	30	11	11	5	3

表2 VEGF、CK20表达与膀胱移行细胞癌分期、分级的关系

病理分析		n	VEGF						CK20					
			－	＋	＋＋	＋＋＋	r	P	－	＋	＋＋	＋＋＋	r	P
分期	T_{is}－T_1	19	4	7	5	3	0.57	＜0.01	9	6	3	1	0.67	＜0.01
	T_2－T_4	11	1	2	4	4			2	7	1	1		
分级	Ⅰ级	16	3	4	5	4	0.88	＜0.01	8	4	3	1	0.77	＜0.01
	Ⅱ-Ⅲ级	14	2	5	4	3			3	9	1	1		

维普资讯 http://www.cqvip.com

分别为：$T_2 \sim T_4$组90.9%（10/11）＞T_{is}-T_1组78.9%（15/19），Ⅱ～Ⅲ级组85.7%（12/14）＞Ⅰ级81.2%（13/16）；CK20表达阳性率分别为$T_2 \sim T_4$组81.8%（9/11）＞$T_{is} \sim T_1$组52.6%（10/19），Ⅱ-Ⅲ级组78.6%（11/14）＞Ⅰ级50.0%（8/16），采用等级相关分析显示，VEGF、CK20的阴性（-）与阳性（+、++、+++）表达和TCC的病理分期（$T_{is} \sim T_1$与$T_2 \sim T_4$）、分级（Ⅰ级与Ⅱ～Ⅲ级）呈正相关（P均<0.01），结果见表2。

3 讨 论

Folkman研究报道，大于2mm的实体肿瘤的生长和转移必须依赖肿瘤新生血管网络系统的形成。VEGF是一种内皮细胞特有的丝裂原，它可以直接或间接刺激宿主的免疫细胞和基质细胞，以旁分泌的方式特异地作用于血管上皮细胞，促进其增值与迁移。VEGF在胚胎发育中有广泛的表达，当血管在正常生理状态下被关闭时，在很多正常组织也呈低水平表达[3]。VEGF可能会诱导分布于新生血管内皮细胞上的受体基因转录，最终通过促进毛细血管通透性增高，内皮细胞增生和游走，降解细胞基质等机制参与肿瘤血管形成，因而在许多肿瘤都有VEGF的高表达[4]。用免疫组化法对30例TCC检测发现，VEGF表达的阳性率为83.3 %，正常膀胱粘膜组织表达很低，偶有表达其阳性程度也均为＋，与Ogura报道的免疫组化法检测膀胱癌VEGF阳性表达率基本一致[5]。本研究结果表明，VEGF的高表达将有助于肿瘤血管的形成，对调控膀胱肿瘤细胞生长、转移有促进作用，可作为TCC诊断、预后判断的辅助指标。

Moll等研究发现[6]，CK是上皮组织的主要中间丝，它包括至少20个成员，CK20分子量为46KD，含424个氨基酸残基。它具有严格的上皮特异性，在胃、肠粘膜上皮细胞肿瘤，膀胱肿瘤有表达，而在正常膀胱上皮细胞及其绝大多数人体其它组织不表达，Klein研究证实[7]，CK20在膀胱移行上皮细胞癌组织表达，而在培养的肺癌和卵巢癌上皮细胞株中不表达。我们用免疫组化方法检测30例TCC，CK20阳性表达率为63.3%，正常膀胱粘膜不表达，进一步证实了Klein的观点。由于正常膀胱粘膜CK20表达阴性，膀胱肿瘤CK20的过表达说明是CK20基因的表达与调控异常所致，CK20特异的表达于膀胱及胃肠道上皮癌，可能与膀胱肿瘤的发生、发展有关，其机理还有待于进一步探讨。实验结果表明，CK20用于TCC诊断、预后判断具有较高的特异性。

VEGF与CK20在TCC发展过程中的相互关系，目前尚无文献报道，我们研究发现VEGF与CK20在TCC的表达具有相关性($P<0.01$)，表明随着VEGF表达增强，CK20表达也增强，两者相互依赖，与肿瘤的恶性潜能密切有关。在有淋巴结远处转移的3例患者中，两者均同时出现阳性（均为＞++）结果1例3个月后死亡，1例半年后复发，1例随访半年未见复发，还有待进一步随访。由于例数较少，不宜作统计学分析，但可以看出VEGF、CK20在有淋巴结远处转移时同时阳性，有预后较差的趋势，进一步说明VEGF与CK20可能在TCC演进过程中起协同作用，参与肿瘤的发生、发展与转移，两者结合更能反映肿瘤的预后。

研究还发现，VEGF、CK20表达与TCC的分期、分级有关，两者在TCC浸润型的阳性表达率均高于浅表型；两者在Ⅱ-Ⅲ级阳性表达率也高于Ⅰ级，采用等级相关分析显示，VEGF、CK20的阴性与阳性表达和TCC的病理分期、分级呈正相关，研究结果提示VEGF、CK20表达有助对Tcc分期、分级的判断，将有利于制定合理的治疗方案，改善患者的预后。

参 考 文 献

[1] Crew JP. Vascular endothelial growth factor an important angiogenic in bladder cancer [J]. Eur Urol, 1999;35:1-2.

[2] Dvorak HF, Brown LF, Detmar M, et al. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpemeability and angiogenesis[J]. Pathol, 1995;146:1029-1039.

[3] Breier G, Albrcht U, Sterrers, et al. Expression of vascular endothelial growth facoter during embryonic angiogenesis and endothlialial cell differentiation. Development[J]. 1992;114:521.

[4] O' Brien, T. Cranston, D. Fuggle, et al. Different angiogenic pathways characterize superficial and invasive bladder cancer [J]. Cancer Res, 1995;55:510.

[5] Ogura Y, Sato K, Kato T, et al. Immunohistochemical analysis of expression of angiogenic factors and tumour angiogenesis in superficial bladder cancer [J]. Nippon Hinyokika Gakkai Zasshi, 1998;89:(5)529-537.

[6] Moll R, Lowe A, Laufer J,et al.cytockeration 20 in human carcinomas A new histodiagnasistic mark [J]. Pathol, 1992;140: 427.

[7] Ami Klein, Ruth Zemer, Victor Buchumensky, et al. Expression of cytokeratin 20 in urinary cytology of patients with bladder carcinoma[J]. American Cancer, 1998;82(2):349-354.