

血管内皮生长因子表达及微血管密度与鼻咽癌 TNM 分期的关系

刘宜敏,林显敢,罗 铭

关键词:鼻咽癌;分子分期;血管内皮生长因子;微血管密度
中图分类号:R739. 63 文献标识码:A 文章编号:1000-8578(2009)11-0973-03

0 引言

恶性肿瘤的生物学行为特点包括生长、侵袭及转移等过程受到多种因素的影响。近来研究表明肿瘤诱导的血管生成与肿瘤的生长、侵袭及转移密切相关,抑制肿瘤的血管生成已成为结直肠癌、肺癌、头颈部肿瘤等的治疗靶点之一^[1]。为探讨鼻咽癌血管生成与其生物学行为的关系,本研究探索了鼻咽癌微血管密度(Microvessel density,MVD)及血管内皮生长因子(Vascular endothelial growth factor,VEGF)(通用型)表达,探讨其与鼻咽癌分期的关系。

1 材料与方法

1.1 材料

2000~2005 年,选取中山大学附属第二医院 191 例确诊为鼻咽癌患者的临床资料及瘤体活检组织的标本,男 102 例,女 89 例,年龄 25~73 岁,中位年龄 43 岁。其中分化型非角化癌 181 例,角化性鳞状细胞癌 4 例,未分化型非角化癌 4 例,腺癌 2 例。按 UICC 2002 分期,I 期 18 例,II 期 42 例,III 期 61 例,IV 期 70 例。原发灶 T1 27 例,T2 53 例,T3 82 例,T4 29 例;颈部淋巴结转移包括:N0 60 例,N1 44 例,N2 71 例,N3 16 例。远处转移 M0 161 例,M1 30 例。转移组(包括局部区域淋巴结和远处转移)共 131 例,其中男 76 例,女 55 例,年龄 25~73 岁,中位年龄 41 岁。

1.2 试剂

用链霉素抗生物素蛋白-过氧化物酶免疫组织化学方法(SP 法),按试剂盒说明操作。用已知阳性肺癌和食管鳞癌阳性切片作阳性对照,PBS 代替一抗作阴性对照抗,VEGF、F8 多克隆抗体及 SABC

试剂盒购于北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.3 结果判断方法

VEGF 的阳性信号为胞膜上及胞质内出现棕黄色颗粒。计数整张玻片的癌细胞,阳性细胞超过 10%为阳性。微血管密度计数(Microvessel Density,MVD) 根据 Bosari^[2]方法,首先在显微镜(10×10)筛选出最高 MVD 区,然后在(10×20)镜下记录 3 个视野内微血管数,求平均数作为该肿瘤的平均微血管数。孤立的棕色点或圈以及单根棕色线条认为是 1 条血管,管径大于 8 个红细胞直径的血管或有较厚平滑肌的血管不计数。

1.4 统计学方法

用 SPSS13.0 软件,采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 有统计学意义。

2 结果

2.1 VEGF 和 MVD 在鼻咽癌组织中的表达

VEGF 的表达率为 47.1%(90/191),MVD 平均为 22.9。MVD 密度为 15~30 者 132 例(69.1%),31~45 者 32 例(16.8%),46~60 者 27 例(14.1%)。

2.2 VEGF 和 MVD 与肿瘤局部侵袭(T 分期)的关系

在 T1、T2、T3、T4 的鼻咽癌患者中,VEGF 阳性表达率和阴性率分别为 22.2%(6/27)、32.1%(17/53)、54.9%(45/82)、75.9%(22/29)和 77.8%(21/29)、67.9%(36/53)、45.1%(37/82)、24.1%(7/29),不同 T 分期之间的 VEGF 阳性率有统计学意义($\chi^2=41.524,P=0.000$),随着 T 分期变晚其阳性率明显增加,见表 1。不同 T 分期中的 MVD 比例见表 1。不同 T 分期之间的 MVD 有统计学意义($\chi^2=37.957,P=0.000$)。

2.3 VEGF 和 MVD 与区域淋巴结转移(N 分期)的关系

在 N0、N1、N2、N3 的鼻咽癌患者中,VEGF 阳

收稿日期:2008-02-29;修回日期:2008-11-04
作者单位:510120 广州,中山大学附属第二医院肿瘤科
作者简介:刘宜敏(1965-),男,硕士,副主任医师,主要从事头颈肿瘤放疗研究

表 1 VEGF 表达, MVD 与鼻咽癌 T、N、M、TNM 分期的关系(n, %)

Table 1 The relationship of the expression of VEGF, MVD and the T, N, M, TNM staging of nasopharyngeal carcinoma (n, %)

Staging	VEGF		MVD		
	Negetive	Positive	15~30	31~45	31~45
T					
T1	21(77.8%)	6(22.2%)	17(83.0%)	7(25.9%)	3(11.1%)
T2	36(67.9%)	17(32.1%)	32(60.4%)	11(20.8%)	10(18.9%)
T3	37(45.1%)	45(54.9%)	23(28.0%)	38(25.6%)	18(46.3%)
T4	7(24.1%)	22(75.9%)	4(13.8%)	7(24.1%)	18(62.1%)
N					
N0	46(76.7%)	14(23.3%)	42(70.0%)	14(23.3%)	4(6.7%)
N1	25(56.8%)	19(43.2%)	29(65.9%)	8(18.2%)	7(15.9%)
N2	27(38.0%)	54(62.0%)	58(81.7%)	3(4.2%)	10(14.1%)
N3	3(18.8%)	13(81.3%)	3(18.8%)	7(43.8%)	6(37.5%)
M					
M0	92(57.1%)	69(42.9%)	127(78.9%)	21(13.0%)	13(8.1%)
M1	9(30.0%)	21(70.0%)	5(16.7%)	11(36.7%)	14(46.7%)
TNM					
I	13(72.2%)	5(27.8%)	13(9.8%)	3(9.4%)	2(7.4%)
II	24(57.1%)	18(42.9%)	31(23.5%)	6(18.8%)	5(18.5%)
III	34(55.7%)	27(44.3%)	43(32.6%)	10(31.3%)	8(29.6%)
IV	30(42.9%)	40(57.1%)	45(34.1%)	13(40.6%)	12(44.4%)

性表达率和阴性率分别为76.7%(46/60)、56.8%(25/44)、38.0%(27/81)、18.8%(3/16)和23.3%(14/60)、43.2%(19/44)、62.0%(54/81)、81.3%(13/16),不同N分期之间的VEGF阳性率差异有统计学意义($\chi^2=44.831,P=0.000$),随着N分期变晚其阳性率明显增加,见表1。不同N分期中的MVD比例见表1。不同分期之间的MVD差异有统计学意义($\chi^2=34.094,P=0.000$)。

2.4 VEGF 和 MVD 与远处转移(M分期)的关系

M0 患者的 VEGF 阳性表达率和阴性率分别为42.9%(69/161)和57.1%(92/161),M 患者分别为70.0%(21/30)和30.0%(9/30),两者之间差异有统计学意义($\chi^2=7.477,P=0.006$)。MVD 在 15~30、31~45、46~60 的患者无远处转移率(M0)和有远处转移率分别为78.9%(127/161)、13.0%(21/161)、8.1%(13/161)和16.7%(5/30)、36.7%(11/30)、46.7%(14/30),两者之间差异有统计学意义($\chi^2=110.209,P=0.000$)。发生远处转移的患者 VEGF 的阳性率和 MVD 高于无远处转移的患者。

2.5 VEGF 和 MVD 与 TNM 分期的关系

在 I、II、III、IV 期的鼻咽癌患者中,VEGF 阳性

表达率和阴性率分别为72.2%(13/18)、57.1%(24/42)、55.7%(34/61)、42.9%(30/70)和27.8%(5/18)、42.9%(18/42)、44.3%(27/61)、57.1%(40/70),不同分期之间的VEGF阳性率差异有统计学意义($\chi^2=33.705,P=0.000$),随着TNM分期变晚其阳性率明显增加,见表1。不同TNM分期之间的MVD差异有统计学意义($\chi^2=33.272,P=0.000$)。随着鼻咽癌病情变晚,MVD增加。

3 讨论

我们的研究表明 VEGF 的表达、MVD 的水平均和鼻咽癌的分期密切相关,T、N、TNM 分期越晚 MVD 越高,VEGF 呈阳性表达;同样与无远处转移的患者相比,在有远处转移的患者中 MVD 高、VEGF 呈阳性表达。这提示 MVD 和 VEGF 可以作为鼻咽癌分子分期的生物标志。

VEGF 是由巨噬细胞、血管平滑肌细胞、肿瘤细胞产生的,在肿瘤血管生成中有非常重要的作用,而且在恶性肿瘤中的表达与肿瘤预后的相关性已经在骨肿瘤和乳腺癌得已证实。VEGF 家族是一组分泌性糖蛋白,主要功能包括刺激血管或淋巴管的内皮细胞增殖并促进脉管形成,也可以提高微血管的通

透性,增强趋化性,促进肿瘤的新生血管网络的形成^[3]。而 MVD 是量化血管生成程度的指标之一,已有研究证实它与肿瘤的侵袭、转移和预后密切相关,在部分肿瘤如乳腺癌和胃癌中可以作为独立的预后因素^[4]。VEGF 与肿瘤 MVD 有一定的相关性,可能是由于 VEGF 高表达的组织中,其新生血管较多,因而 MVD 也较大,因此,VEGF 和 MVD 均可作为鼻咽癌血管生成的生物标志。

在鼻咽癌的患者中,部分患者以颈部肿块为首发症状。提示肿瘤在早期即发生颈淋巴结转移,因此,需要理想的生物标志来早期诊断或预测鼻咽癌分期。在姚利等^[5]的研究中,鼻咽癌组织中 MVD 平均为 21.92;在 T 分期中,T3、T4 的 MVD 高于 T1、T2;颈部淋巴有转移患者的 MVD 明显高于无颈部淋巴结转移的。同样,Wakisaka 等^[6]的研究也证实 MVD 与鼻咽癌颈淋巴结转移密切相关。在本组研究中,我们的研究结果与上述研究者的结果类似,MVD 平均为 22.9,与鼻咽癌的 T、N、M 及 TNM 分期密切相关,并有统计学意义。提示 MVD 可以作为鼻咽癌分子分期的生物标志。

关于 VEGF 与头颈部肿瘤的关系,在国内外有部分研究结果表明 VEGF 与鼻咽癌的分期相关。Wakisaka 等^[6]研究表明 VEGF 的表达与鼻咽癌的颈淋巴结转移相关,在国内赵国光等^[7]通过免疫组织化学的方法分析 66 例鼻咽癌患者的 VEGF-C 和 VEGF-D 的表达,结果表明仅 VEGF-C 表达水平与鼻咽癌区域淋巴结转移密切相关,也与远期(5 年)生存率密切相关。而在我们的研究中,VEGF 阳性表达患者的 T 分期较晚、N 分期也较晚,出现远处转移比例大于 VEGF 阴性患者;这些结果与上述研

究结果相似。总体提示 VEGF 可作为鼻咽癌分子分期的生物标志。

我们的研究虽然为回顾性研究,在病例的选择上存在一定的偏倚。但是我们的研究表明 VEGF 和 MVD 与鼻咽癌的 T 分期、N 分期、M 分期和 TNM 分期均有密切相关性,VEGF 阳性患者的分期较阴性患者的晚,微血管高的患者分期较 MVD 低的晚,初步表明 VEGF 和 MVD 可以作为鼻咽癌分子分期的生物标志。但是仍需要长期大规模的临床随访验证其与远期疗效的关系,从而为鼻咽癌分子分期提供更有效的证据。

参考文献:

[1] Ma WW, Adjei AA. Novel agents on the horizon for cancer therapy [J]. CA Cancer J Clin, 2009, 59(2): 111-137.

[2] Bosari S, Delellis RA, Healtley GJ. Microvessel quantitation and prognosis in invasive breast carcinoma [J]. Hum Pathol, 1992, 23(4): 755-761.

[3] Veikkola T, Alitalo K. VEGFs, receptors and angiogenesis [J]. Semin Cancer Biol, 1999, (3): 211-220.

[4] Hamahan D, Folkman J. Patterns and emerging mechanisms of the angiogenesis is switch during tumor genesis [J]. Cell, 1997, 86: 354-364.

[5] 姚利, 陆兴, 刘平平, 等. 鼻咽癌间质微血管密度与 MMP-2 表达和肿瘤转移的关系 [J]. 中国耳鼻咽喉头颈外科, 2007, 14(10): 371-373.

[6] Wakisaka N, Wen QH, Yoshizaki T, et al. Association of vascular endothelial growth factor expression with angiogenesis and lymph node metastasis in nasopharyngeal carcinoma [J]. Laryngoscope, 1999, 109(5): 810-814.

[7] 赵国光, 向晓娟, 何友兼. 血管内皮生长因子 C、D 在鼻咽癌组织中的表达及其临床意义 [J]. 癌症, 2007, 26(1): 90-95.

[编辑: 刘红武; 校对: 黄国玲]