

文章编号:1005-6947(2005)06-0465-03

· 简要论著 ·

# VEGF-C, Flt4 在胰腺癌中的表达及临床意义

孙维佳<sup>1</sup>, 肖君<sup>2</sup>, 谢虹<sup>3</sup>

(1. 中南大学湘雅医院 普通外科, 湖南 长沙 410008; 2. 湖南省岳阳市一医院 胸外科, 湖南 岳阳 414000;  
3. 湖南省岳阳市湘岳医院 麻醉科, 湖南 岳阳 414000)

**摘要:**为探讨胰腺癌组织中 VEGF-C 及其受体 Flt4 的表达并探讨其临床意义。笔者应用免疫组织化学 SP 法, 以 VEGF-C 单克隆抗体标记 34 例胰腺癌组织, 检测其表达并分析与临床病理及预后的关系。结果显示, VEGF-C 在胰腺癌组织中阳性表达率 61.76%, 在正常胰腺组织中阳性表达率为 20.00%, 两者相比差异有显著性意义 ( $P < 0.01$ )。胰腺癌组织中, VEGF-C 在有淋巴结转移组的阳性表达明显强于无淋巴结转移组 ( $P < 0.05$ ), 其表达与 Flt4 蛋白表达呈正相关 ( $P < 0.05$ )。VEGF-C 表达阳性组的生存时间较阴性组缩短。提示 VEGF-C 在胰腺癌组织中表达增强且与胰腺癌淋巴结转移相关。

**关键词:**胰腺肿瘤/病理学; 腺癌/病理学; 血管内皮生长因子

**中图分类号:** R735.9; Q58

**文献标识码:** B

血管内皮生长因子 C (vascular endothelial growth factor C, VEGF-C) 是 1996 年 Joukov 等<sup>[1]</sup> 克隆并分离出 VEGF/PDGF 家族的一个新成员, VEGFR3/Flt4 是其特异性受体。Skobe<sup>[2]</sup> 等研究发现 VEGF-C 可以诱导肿瘤组织周围的淋巴管和肿瘤内部形成新生淋巴管, 并可增强肿瘤细胞的淋巴道转移, 而局部浸润和区域淋巴结转移是胰腺癌最主要且最先出现的转移方式。本研究对 VEGF-C 在胰腺癌中的表达及其与临床病理参数的关系进行了探讨, 现报告如下。

## 1 材料和方法

### 1.1 标本来源与临床资料

34 例胰腺癌组织均为 2000 年 3 月 ~ 2003 年 10 月中南大学湘雅医院普外科手术切除标本, 术后均经病检证实为胰腺癌。其中男 23 例, 女 11 例; 年龄 36 ~ 72 岁, 中位数年龄 58.5 岁。临床病理分期按国际抗癌协会 1997 年 UICC 分期法<sup>[3]</sup>: I 期 7 例, II 期 5 例, III 期 9 例, IV 期 13 例。组织学分型: 高分化 20 例, 中分化 7 例, 低分化 7 例。另

取 10 例正常胰腺组织标本, 均为移植供体 (肾) 患者经手术切取标本, 术后经均病理诊断证实为正常胰腺组织。上述标本均术后即经 10% Formalin 固定, 常规石蜡包埋, 5  $\mu$ m 连续切片, 一张 HE 染色复述病理学诊断。

### 1.2 检测项目及方法

1.2.1 试剂 兔抗 VEGF-C 多克隆抗体、SPkit 免疫组织化学试剂盒均购自北京中山生物技术有限公司。兔抗 Flt4 多克隆抗体购自武汉博士德生物工程技术有限公司。

1.2.2 VEGF-C 的检测和结果判断 采用免疫组织化学 SP 法, 阳性对照由试剂公司提供, 阴性对照以 PBS 取代一抗。VEGF-C 阳性表达为肿瘤细胞胞浆或胞膜被染成棕黄色, 每张切片高倍镜下随机观察 10 个视野, 采用双评分半定量法: 阳性细胞染色深度 (未见染色为 0, 轻度染色为 1, 中度染色为 2, 深度染色为 3) 和阳性细胞百分率 (0% ~ 5% 细胞着色为 0 分, 5% ~ 25% 细胞着色为 1 分, 26% ~ 50% 细胞着色为 2 分, 51% ~ 75% 细胞着色为 3 分, > 75% 细胞着色为 4 分)。综合评分: 以阳性细胞百分比计分和染色强度计分之之和所得总分进行结果判定。0 ~ 1 分为阴性 (-), 2 ~ 3 分为弱阳性 (+), 4 ~ 5 分为阳性 (++) , > 6 分为强阳性 (+++)。

收稿日期: 2005-01-29; 修订日期: 2005-04-08。

作者简介: 孙维佳 (1956-), 男, 山西介休人, 中南大学湘雅医院教授, 博士研究生, 主要从事肝胆胰脾外科方面的研究。

通讯作者: 肖君

1.2.3 Flt4 的检测和结果判断 Flt4 阳性表达为细胞膜染成棕黄色。评分标准同上述。

### 1.3 统计学分析方法

本组数据的等级资料采用 Wilcoxon 法秩和检验,用  $\chi^2$  检验和 Spearman 作相关分析,用 Kaplan-Meier 法作生存分析,检验水准  $\alpha = 0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 VEGF-C 与 Flt4 的表达

2.1.1 VEGF-C 的表达 胰腺癌组织中 VEGF-C 在胞浆内表达,阳性细胞内可见棕黄色颗粒呈弥漫性全浆分布(图1),在正常胰腺组织中 VEGF-C 主

要为阴性或弱阳性表达。34 例胰腺癌组织中 VEGF-C 表达阳性 21 例,阳性率为 61.76%,其中(++) 13 例(38.23%),(+++) 8 例(23.53%)。正常胰腺组织中 2 例阳性,阳性率为 20.00%,两者间有显著性差异( $P = 0.004$ ,表1)。

2.1.2 Flt4 的表达 Flt4 主要在胰腺癌组织间质的淋巴管内皮细胞膜上表达,表现为,胞膜染成棕黄色(图2)。34 例胰腺癌组织中 Flt4 表达阳性 19 例,阳性率为 55.88%,其中(++) 13 例(38.23%),(+++) 6 例(17.65%)。10 例正常胰腺组织中仅 1 例(10.00%)阳性表达。两者表达有显著性差异( $P = 0.006$ ,表2)。

图1 VEGF-C 蛋白阳性表达,胞浆染成棕黄色(SP × 400)

图2 Flt4 蛋白阳性表达,胞膜染成棕黄色(SP × 400)

表1 VEGF-C 和 Flt4 蛋白的表达

分组	例数	VEGF-C				P 值	Flt4				P 值
		(-)	(+)	(++)	(+++)		(-)	(+)	(++)	(+++)	
正常胰腺组	10	5	3	2	0	0.004	6	3	1	0	0.006
胰腺癌组	34	3	10	13	8		7	8	13	6	

注:正常胰腺组织与胰腺癌组织比较, $P < 0.05$

表2 VEGF-C 表达与 Flt4 表达之间的关系

表达	例数	Flt4 蛋白		P 值
		阴性	阳性	
VEGF-C 蛋白	阴性	13	3	0.012
	阳性	21	15	

2.1.3 VEGF-C 与 Flt4 表达的相关性 在胰腺癌组织 21 例中,VEGF-C 表达阳性组中 Flt4 有 15 例(71.43%)阳性表达,在 VEGF-C 表达阴性组 13 例

中 Flt4 有 10 例(76.92%)阴性表达,两者表达阳性率差异有显著性意义( $P = 0.012$ ),再根据 VEGF-C 表达及 Flt4 表达结果进行等级相关分析( $r = 0.506$ , $P < 0.01$ ),表明两者呈正相关。

### 2.2 VEGF-C 表达与临床、病理特征的关系

胰腺癌组织中 VEGF-C 的表达与年龄、性别、组织分化程度、病理分期(UICC)无关( $P > 0.05$ ),但在有、无淋巴结转移组之间的表达阳性率差异有显著性意义( $P < 0.05$ )(表3)。

表3 VEGF-C表达与胰腺癌临床病理特征关系的比较

分组	总例数	VEGF-C		$\chi^2$	P值
		阳性例数	%		
性别分组					
男	23	15	65.22	0.471	>0.05
女	11	6	54.55		
年龄分组					
<60	22	13	59.09	0.727	>0.05
>60	12	8	66.67		
组织分					
高	20	12	60.00	1.000	>0.05
中~低	14	9	64.28		
淋巴结转移					
有	24	18	75.00	0.022	<0.05
无	10	3	30.00		
UICC分期					
I,II	12	9	75.00	0.292	>0.05
III,IV	22	12	54.55		

### 2.3 随访

34例患者中获随访26例,随访率76.47%。26例中VEGF-C阳性表达17例,0.5,1年生存率分别为64.70%(11/17)和5.88%(1/17);VEGF-C阴性表达9例,0.5,1年生存率分别为77.78%(7/9)和33.33%(3/9)。两组的0.5,1年生存率差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )

### 3 讨论

近年来,许多研究认为VEGF-C不仅参与正常淋巴管生成,尤其在促进肿瘤淋巴管的生成和肿瘤细胞的淋巴转移方面起了重要作用<sup>[4]</sup>。笔者采用免疫组化SP法分别检测了胰腺癌和正常胰腺组织中的VEGF-C的表达,发现VEGF-C在胰腺癌组织中表达明显增强,在正常胰腺组织中仅少数弱阳性表达,两者差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),且其表达与胰腺癌淋巴结的转移有关,有淋巴结转移的胰腺癌组织中VEGF-C阳性表达较无淋巴结转移胰腺癌组织中表达明显增多( $P < 0.05$ )。本研究还发现VEGF-C受体—Flt4蛋白在胰腺癌组织中的表达亦明显增强,主要表达在间质的淋巴管内皮细胞上,同时其表达与VEGF-C蛋白的表达有关( $P < 0.05$ ),这与Tsuruaki<sup>[5]</sup>及Akagi<sup>[6]</sup>等在前列腺癌、结肠癌中的研究基本一致,提示VEGF-C在恶性肿瘤中高表达且与肿瘤淋巴结转移有关。由此笔者认为,可能由胰腺癌细胞合成分泌VEGF-C,通过作用

于淋巴管内皮细胞上的受体VEGFR-3/Flt4促进淋巴管形成,使癌组织周围间质淋巴管增生扩张,淋巴管数量增加,使癌细胞接触淋巴管的机会增多,易于侵入淋巴管,从而促进胰腺癌细胞淋巴转移。认为VEGF-C在胰腺癌细胞的浸润与转移中,促进了胰腺癌细胞的淋巴道转移,是促进胰腺癌转移的主要因素之一。

本研究发现VEGF-C阳性表达与胰腺癌的组织分化程度、临床病理分期(UICC)、患者的性别、年龄无关;但在有淋巴转移胰腺癌患者中VEGF-C阳性表达增多( $P < 0.05$ )。且VEGF-C表达阳性组的0.5,1年生存率明显低于阴性组。说明VEGF-C表达增强的病例预后较差,提示检测VEGF-C的表达可能有助于胰腺癌淋巴结转移及预后的判断。

血管生成的抑制被认为是抑制肿瘤生长最有前途的治疗策略之一。但大部分恶性肿瘤主要的扩散方式是通过淋巴管道而不是通过血管。本研究在胰腺癌病理组织标本中证实了VEGF-C基因表达增强,因此可通过对VEGF-C表达的阻滞,抑制淋巴管的生成且促肿瘤细胞凋亡,从而抑制肿瘤细胞的局部浸润和淋巴转移。由此笔者认为对VEGF-C/VEGFR-3信号通路抑制的研究可能是抗肿瘤淋巴道转移治疗的一种新方法。

### 参考文献:

- [1] Joukov V, Pajusola K, Kaipainen A, *et al.* A novel vascular endothelial growth factor, VEGF-C, is a ligand for the Flt4 (VEGFR-3) and KDR (VEGFR-2) receptor tyrosine kinases [J]. *EMBO J*, 1996, 15(2):290-298.
- [2] Skobe M, Hawighorst T, Jackson DG, *et al.* Induction of tumor lymphangiogenesis by VEGF-C promotes breast cancer metastasis [J]. *Nat Med*, 2001, 7(2):192-198.
- [3] 袁世珍,黄洁夫.胰腺癌[M].上海:上海科学技术出版社,2001.268-273.
- [4] 王天宝,董文广,李兆亭.血管内皮因子-C在胃癌中表达的意义[J].中国普通外科杂志,2004,13(9):202-204.
- [5] Tsurusaki T, Kanda S, Sakai H, *et al.* Vascular endothelial growth factor-C expression in human prostatic carcinoma and its relationship to lymph node metastasis [J]. *Br J Cancer*, 1999, 80(1-2):309-313.
- [6] Akagi K, Ikeda Y, Miyazaki M, *et al.* Vascular endothelial growth factor-C (VEGF-C) expression in human colorectal cancer tissues [J]. *Br J Cancer*, 2000, 83(7):887-891.