

文章编号:1005-6947(2007)04-0381-03

· 简要论著 ·

EPO-R 在结肠癌组织中的表达及 MVD 测定的意义

刘卫平, 蒲永东, 何建苗, 宋晶莹

(解放军总医院第二附属医院 普通外科, 北京 100091)

摘要:为探讨促红细胞生成素(EPO-R)的表达及微血管密度(MVD)与结肠癌组织中血管生成、侵袭和转移的关系。笔者应用免疫组化方法检测32例结肠癌组织及13例正常结肠组织中EPO-R的表达,并对血管进行CD34相关抗原的免疫组化染色,计数MVD。结果显示,EPO-R表达及MVD值与肿瘤分化、Dukes分期、淋巴结转移有关($P < 0.05$)。EPO-R表达阳性组织中,MVD计数显著高于EPO-R表达阴性者($P < 0.05$)。提示EPO-R表达及MVD值与结肠癌侵袭转移有密切关系,可能成为结肠癌治疗的标靶和预后指标。

[中国普通外科杂志,2007,16(4):381-383]

关键词: 结肠肿瘤; EPO-R; MVD

中图分类号: R735.35

文献标识码: B

癌细胞的侵袭、转移与肿瘤的促血管生成能力密切相关。最新研究表明:促红细胞生成素(EPO-R)在人类肿瘤细胞中表达具有重要作用,可以调节肿瘤细胞的生长发育,引起恶性肿瘤新

生血管的生长。肿瘤微血管密度(MVD)是衡量肿瘤血管生成程度的标志,可以反映肿瘤血管生成的活跃程度。我们采用免疫组织化学染色方法,通过检测结肠癌组织中EPO-R的表达及计算MVD值,探讨其在肿瘤血管形成、侵袭和转移的作用及它们之间的关系,从而对结肠癌的浸润、转移和预后判断以及寻求新的治疗途径提供依据。

收稿日期:2006-12-15; **修订日期:**2007-03-19。

作者简介:刘卫平,男,北京人,解放军总医院第二附属医院硕士,主要从事胃肠道肿瘤方面的研究。

通讯作者:刘卫平 E-mail:doctor301301@sohu.com

本研究发现 β -Cat与NF- κ B在胃癌中高表达与胃癌患者5年生存率有关。多因素分析表明 β -Cat与NF- κ B的过表达以及TNM分期是患者预后的独立危险因素。它们可能作为胃癌患者预后的指标。

综上所述,NF- κ B和 β -Cat参与了胃癌的发生,发展转移的整个过程。此结果为胃癌早期诊断和临床判断预后提供理论依据,并可能为临床治疗提供新的依据。目前用腺病毒做载体将IkB α 超级抑制因子导入小鼠的模型中,显示降低了肿瘤对化疗的拮抗作用。这些研究的进一步深入和发展,有可能会为治疗肿瘤带来新的希望。

参考文献:

[1] 涂刚,姚榛祥,董蒲江.核因子在人乳腺癌组织中的表达及其意义[J].中国普通外科杂志,2003,12(5):348-350.
[2] He TC, Sparks AB, Rago C, et al. Identification of c-myc

as a target of the APC pathway [J]. Science, 1998, 281(5328):1509-1512.
[3] Mann B, Geles M, Siedow A, et al. Target genes of β -catenin-T cell-factor/lymphoid-enhance-factors signal in human colorectal carcinomas [J]. Proc Natl Acad sci. USA, 1999, 96(4):1603-1608.
[4] Anton Novak, Shu Chi Hsu, Chungyee Leung-Hagesteijn, et al. Cell adhesion and the integrin-linked kinase regulated the Lef-1 and β -catenin signaling pathway [J]. Pro Natl Acad Sci USA, 1998, 95(8):4374-4379.
[5] 童强,王国斌,卢晓明,等.胃癌组织中核因子- κ B, ICAM-1和COX-2的表达及其临床意义[J].中国普通外科杂志,2005,14(10):736-739.
[6] Sasaki N, Morisaki T, Hashizume K, et al. Nuclear factor-kappaB p65 (RelA) transcription factor is constitutively activated in human gastric carcinoma tissue [J]. Clin Cancer Res, 2001, 7(12):4136-4142.
[7] Lamberti C, Lin KM, Yamamoto Y, et al. Regulation of beta-catenin function by the IkappaB kinases [J]. Biol Chem, 2001, 276(45):42276-42286.

1 资料与方法

1.1 一般资料

1.1.1 结肠癌组(32例) 收集我院2004年12月—2006年9月临床资料完整的32例结肠癌标本。患者年龄22~78(平均60.5)岁;男21例,女11例。所有患者术前未进行化疗、放疗或其他针对肿瘤的治疗。术后病理诊断证实为结肠癌。其中乳头状腺癌8例,管状腺癌18例,黏液腺癌4例,印戒细胞癌2例。Dukes分期:A期9例,B期10例,C期7例,D期6例。分化程度:高、中分化癌22例,低分化和未分化癌共13例。有淋巴结转移者14例,无淋巴结转移者18例。升结肠癌、横结肠癌11例,降结肠、乙状结肠癌共21例。

1.1.2 正常对照组(13例) 标本取自上述病例例行结肠癌根治术中,切除标本的距肿瘤边缘10cm以外的结肠组织。

1.2 试剂和方法

试剂CD34和EPO-R单克隆抗体、DAB显色试剂盒均购自北京中杉生物技术有限公司。标本均用10%中性福尔马林溶液固定,石蜡包埋,厚4 μ m连续切片;脱蜡水化后,3%过氧化氢阻断内源性过氧化物酶,进行抗原热修复后,滴加一抗;4 $^{\circ}$ C冰箱过夜后滴加二抗;磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗3次;孵育冲洗后用DAB染色,苏木素复染、脱水、封片。

1.3 结果判断

促红细胞生成素受体(EPO-R)阳性判定:主要表达于肿瘤细胞胞浆,以细胞浆呈棕色颗粒状染色为标准,且着色明显高于背景或背景不着色而细胞着色者为阳性细胞染色。MVD值计数:按照Weidner等的评判标准进行,CD34阳性以血管内皮细胞呈棕色或棕黄色染色为标准;微血管计数以被染成棕黄色的单个内皮细胞或内皮细胞簇作为1个血管计数;低倍($\times 40$)镜下观察切片。选择微血管分布最高密度区,在高倍($\times 200$)镜下计数3个视野的微血管数,然后取其平均值为该例的MVD值。

1.4 统计学处理

采用奇思统计软件进行统计学分析。分别用 χ^2 检验,方差分析。

2 结果

2.1 EPO-R的表达与临床病理因素的关系

EPO-R表达与肿瘤分化程度有关,即高、中分化肿瘤组织中EPO-R的表达率低于低、未分化者($P < 0.01$);与肿瘤浸润深度有关,即浸润越深,其表达越强($P < 0.05$);有淋巴结转移者,其EPO-R表达率明显高于无淋巴结转移者($P < 0.05$)(表1)。

2.2 MVD与临床病理因素的关系

MVD值与肿瘤分化程度有关,即高、中分化肿瘤组织中MVD值低于低、未分化者($P < 0.05$);与结肠癌组织浸润深度也有关,即肿瘤浸润越深,其MVD值越高($P < 0.05$);有淋巴结转移者,其MVD值显著高于无淋巴结转移者($P < 0.05$)(表1)。

2.3 EPO-R与MVD的关系

结肠癌组织中EPO-R阳性表达的MVD值显著高于阴性组($P < 0.01$)。提示EPO-R与结肠癌血管生成有关(表2)。

表1 EPO-R表达及MVD与各临床病理因素的关系

临床病理因素	n	EPO-R		MVD	
		阳性	P值	$\bar{x} \pm s$	P值
分化程度					
高、中分化	22	17		36.70 \pm 7.35	
			<0.01		<0.05
低、未分化	10	9		41.28 \pm 5.30	
Dukes分期					
A	9	7		32.89 \pm 4.38	
B	10	8		35.65 \pm 6.35	
			<0.05		<0.05
C	7	7		39.70 \pm 5.22	
D	6	6		43.28 \pm 4.54	
淋巴结转移					
有	14	14		40.85 \pm 5.45	
			<0.05		<0.01
无	18	12		33.23 \pm 6.32	
正常结肠组织	13	3		11.21 \pm 4.23	

表2 EPO-R与MVD之间的关系

分组	n	MVD	P值
EPO-R(+)	26	40.3 \pm 5.6	
EPO-R(-)	6	30.5 \pm 4.2	<0.01

3 讨论

结肠肿瘤发生、侵袭、转移能力与肿瘤的促血管形成密切相关^[1]。研究^[2]表明,肿瘤直径达 1~2mm 后,要继续发展,必须有足够的营养供应,这样便需要形成供应肿瘤生成的新生血管。肿瘤血管的新生,一方面为肿瘤生长提供营养,另一方面增加了血管的通透性,有利于肿瘤细胞转移。肿瘤微血管数量愈多,肿瘤细胞进入血液循环的机会愈大。持续无规则的新生血管的形成促进了肿瘤的生长、侵袭与转移^[3]。最新研究^[4]表明:EPO-R 在人类肿瘤细胞中表达具有重要作用,可以调节肿瘤细胞的生长发育,引起恶性肿瘤新生血管的生长。而新生血管管壁薄弱,发育欠佳,可能是恶性肿瘤细胞血行转移的原因之一。MVD 是衡量血管生长的定量指标。CD34 是位于血管簇内皮细胞的抗原决定簇。用抗-CD34 抗体标记肿瘤组织的 CD34 可以作为肿瘤组织内微血管的标记,且 CD34 抗原在对组织冷冻、脱蜡处理过程中比较稳定^[5]。研究^[6]表明,肿瘤组织中 MVD 值高是预后差的一个指标。

Ribatti 等^[4]研究了胃癌组织内皮细胞 EPO-R 的表达与微血管密度的关系,发现 IV 期胃癌组织中新生血管、内皮细胞和肿瘤细胞 EPO-R 的表达明显强于其他各期,而且 EPO-R 的表达与新生血管生成程度具有相关性。另有报道^[7]EPO-R 与前列腺癌血管形成密切相关;随肿瘤恶性程度的增高,肿瘤新生血管的数量也增多。提示在前列腺癌中 EPO-R 的高表达可能在前列腺癌的发生发展及转移过程中起重要作用。

本研究通过检测结肠癌组织中 EPO-R 的表达及计算 MVD 值,探讨其在肿瘤血管形成、侵袭和转移的作用及它们之间的关系,从而对结肠癌的浸润、转移和预后判断以及寻求新的有效治疗方法提供依据。本研究显示,26 例(81.25%)结肠癌组织中 EPO-R 呈阳性表达,与结肠癌的分化侵袭转移有密切关系。EPO-R 的表达与新生血

管生成程度也有关,且其表达强度同血管生成以及结肠癌的临床分期有关。本研究表明:MVD 值与 Dukes 分期、淋巴结转移、分化程度有关。同时,EPO-R 表达阳性的结肠癌组织 MVD 值显著高于阴性组。提示 EPO-R 在结肠癌中的促进新生血管形成的作用。这与血管形成促进肿瘤生长、转移的理论相符^[8]。

笔者认为 EPO-R 表达和 MVD 值均与肿瘤分化程度、Dukes 分期和淋巴结转移有关,可作为恶性肿瘤生长、浸润、转移的重要指标,对临床估计预后,尤其是在手术时未发现有明确的淋巴结转移或转移灶时,在无法估计是否有潜在的浸润转移的情况下,提供一个较传统的方法,并且是可靠的指标。也可提供一条治疗恶性肿瘤的新思路,即针对抗肿瘤血管形成及促进因子的作用,抑制结肠癌组织的血管形成。此策略有望成为恶性肿瘤靶向治疗的新途径。

参考文献:

- [1] Gupta K, Zhang J. Angiogenesis: accurse or cure? [J]. Post Med J, 2005, 81(954):236-242.
- [2] ZagZag D. Angiogenic growth factors in neural embryogenesis and neoplasia [J]. Am J Pathol, 1995, 146(2):293-309.
- [3] 李占霞,杨翔,张国锋. 结肠癌抗血管生成治疗研究进展[J]. 中国普通外科杂志, 2006, 15(9):707-709.
- [4] Ribatti D, Marzullo A, Nico B, et al. Erythropoietin as an angiogenic factor in gastric carcinoma [J]. Histopathology, 2003, 42(3):246-250
- [5] Traweek ST, Kandalaft PL, Mehta P, et al. The human hematopoietic progenitor cell antigen (CD34) in vascular neoplasia [J]. Anatomic Pathol, 1991, 96(1):25-31.
- [6] Schlingemann RO, Rietveld FJ, Waal RMW, et al. Leukocyte antigen CD34 is expressed abluminal microprocesses in the tumor stroma [J]. Lab Invest, 1990, 62(6):690-696.
- [7] Arcasoy MO, Jiang X, Haroon ZA. Expression of erythropoietin receptor splice variants in human cancer [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2003, 307(4):999-1007.
- [8] Zheng S, Han MY, Xiao ZX, et al. Clinical significance of vascular endothelial growth factor expression and neovascularization in colorectal carcinoma [J]. World Gastroenterol, 2003, 9(6):1227-1230.