

大肠癌 VEGF - C 表达与淋巴结转移和预后的关系

牟江洪, 阎晓初, 王东, 吴小华, 李增鹏, 向德兵

牟江洪, 王东, 吴小华, 李增鹏, 向德兵, 中国人民解放军第三军医大学大坪医院野战外科研究所肿瘤中心病理科 重庆市 400042
阎晓初, 中国人民解放军第三军医大学西南医院病理学研究所 重庆市 400038
牟江洪, 男, 1973-05-24 生, 四川省自贡市人, 汉族, 1996 年第三军医大学本科毕业, 2001 级在读硕士, 主治医师, 讲师, 主要从事肿瘤病理研究。
项目负责人: 阎晓初, 400038, 重庆市, 中国人民解放军第三军医大学西南医院病理学研究所. yxchwq@mail.tmmu.com.cn
电话: 023-68754432 传真: 023-68757374
收稿日期: 2003-10-21 接受日期: 2004-01-12

Relationship between VEGF-C expression and lymph node metastasis and prognosis in large intestinal carcinoma

Jiang-Hong Mou, Xiao-Chu Yan, Dong Wang, Xiao-Hua Wu, Zheng-Peng Li, De-Bing Xiang

Jiang-Hong Mou, Dong Wang, Xiao-Hua Wu, Zheng-Peng Li, De-Bing Xiang, Department of Pathology, Daping Hospital, the Third Military Medical University, Chongqing 400042, China
Xiao-Chu Yan, Institute of Pathology, Southwest Hospital, the Third Military Medical University, Chongqing 400038, China
Correspondence to: Dr. Xiao-Chu Yan, Institute of Pathology, Southwest Hospital of the Third Military Medical University, Chongqing 400038, China. yxchwq@mail.tmmu.com.cn
Received: 2003-10-21 Accepted: 2004-01-12

Abstract

AIM: To explore the expression of endothelial growth factors C (VEGF-C) in large intestine carcinoma, and its relationship to clinicopathological features and prognosis.

METHODS: The expression of VEGF-C in 96 cases of large intestine carcinoma was detected by SP immunohistochemical technique and its relationship to clinicopathological features and prognosis were analysed.

RESULTS: The expression of VEGF-C was significantly higher in intratumoral tissue than that in normal mucosa (42/96 vs 19/96, $P < 0.01$). VEGF-C positive expression was significantly correlated with tumor differentiation, Dukes' stage, lymph node metastasis and prognosis in 96 cases of large intestine carcinoma ($P < 0.01$ or $P < 0.05$), but its relationship to age and gender of patient, size, site and depth of invasion of tumour and organ metastasis was not found ($P > 0.05$). The expression of VEGF-C in metastatic lymph nodes was fairly consistent with that in the primary tumour ($P < 0.01$).

CONCLUSION: The overexpression of VEGF-C in large intestine carcinoma can develop lymph node metastasis by inducing lymphangiogenesis, and it may serve as one prognostic factor and guide the treatment.

Mou JH, Yan XC, Wang D, Wu XH, Li ZP, Xiang DB. Relationship between VEGF-C expression and lymph node metastasis and prognosis in large intestinal carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2004;12(5):1061-1064

摘要

目的: 探讨大肠癌组织中血管内皮生长因子-C(VEGF-C)的表达及其与临床病理指标和预后的关系。

方法: 应用免疫组化 SP 法检测 96 例大肠癌组织中 VEGF-C 的表达, 并分析其与大肠癌临床病理指标和预后的关系。

结果: 大肠癌组织 VEGF-C 阳性率明显高于正常大肠组织 (42/96 vs 19/96, $P < 0.01$); 大肠癌 VEGF-C 表达与大肠癌分化程度、Dukes 分期、淋巴结转移及患者预后密切相关 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), 但是与患者年龄、性别、肿瘤大小、部位、浸润深度以及远处器官转移无关 ($P > 0.05$)。41 例有淋巴结转移病例的转移灶和原发灶癌组织的 VEGF-C 表达相当一致 ($P < 0.01$)。

结论: VEGF-C 可能通过诱导淋巴管生成促进大肠癌淋巴结转移, 并且可以作为指导大肠癌治疗和判断预后的一个重要指标。

牟江洪, 阎晓初, 王东, 吴小华, 李增鹏, 向德兵. 大肠癌 VEGF-C 表达与淋巴结转移和预后的关系. *世界华人消化杂志* 2004;12(5):1061-1064
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/1061.asp>

0 引言

大肠癌发病率很高^[1-10], 并且具有较高的淋巴结转移率^[11-14]。血管内皮生长因子-C(VEGF-C)是第一个被发现的能够诱导淋巴管生成的生长因子, 其在肿瘤生长和转移中的作用已经逐渐引起人们的重视。VEGF-C 在大肠癌组织中的表达及其与临床病理指标之间的关系国内尚未见报道, 我们应用免疫组化 SP 法检测 VEGF-C 在人大肠癌组织中的表达并探讨其与临床病理指标和预后之间的关系。

1 材料和方法

1.1 材料 大坪医院 1996/1998 年大肠癌根治术石蜡标本 96 例, 男 50 例, 女 46 例, 年龄 22-83(平均 53 岁, 中位 57 岁); 术前均未进行任何形式的治疗。其中有淋巴结转移的 41 例, 无淋巴结转移的 55 例; 有远处器官转移的 14 例, 无远处器官转移的 82 例。所有患者均有术后随访记录, 总体随访时间 3-83 mo, 总体 5 a 生存率 61.5%。

1.2 方法 所有标本经 40 g/L 中性甲醛液固定, 常规石蜡包埋, 4 μ m 切片, 水化后行免疫组化 SP 法染色,

切片均采用胰酶消化和微波修复的抗原双暴露技术, 其余步骤参照试剂盒说明进行. 每例标本均做癌组织和癌旁正常组织染色, 有淋巴结转移或远处器官转移的病例同时做淋巴结或器官转移灶染色. 抗人 VEGF-C 多克隆抗体购自 Santa Cruz, SP 试剂盒购自北京中山生物技术公司. VEGF-C 表达根据细胞着色强弱和着色细胞比例联合确定^[15]. 着色强弱分为四级: 不着色等于 0, 弱着色等于 1, 中等着色等于 2, 强着色等于 3; 细胞着色比例也分为四级: 无细胞着色等于 0, 着色细胞比例小于 25% 等于 1, 着色细胞比例 25-50% 等于 2, 着色细胞比例大于 50% 等于 3. 细胞着色强弱和着色细胞比例二者积分小于或等于 2 为阴性表达, 大于 2 为阳性表达.

统计学处理 应用 SPSS10.0 统计软件对 VEGF-C 表达与大肠癌临床病理指标之间的关系进行 χ^2 检验; 生存率采用 Kaplan-Meier 法计算, 组间差异用 Log-rank 检验, $P < 0.05$ 表示差异显著有统计学意义.

2 结果

VEGF-C 阳性物质呈棕黄色细颗粒状, 主要定位于大肠癌细胞胞质, 少数病例癌细胞胞核着色, 另外有 2 例癌细胞阴性而间质纤维细胞阳性. (图1-2) 96例大肠癌标本中 VEGF-C 阳性 42 例(43.8%), 阴性 54 例(56.2%); 正常大肠组织 VEGF-C 阳性 19 例(19.8%), 阴性 77 例(80.2%). 大肠癌组织 VEGF-C 阳性率明显高于正常大肠组织(42/96 vs 19/96, $P < 0.01$), 并且同一病例癌细胞着色都强于正常大肠黏膜上皮细胞, 大肠癌 VEGF-C 阴性病例的正常黏膜没有 VEGF-C 表达. 41 例转移至淋巴结的癌组织与原发部位癌组织 VEGF-C 表达相当一致 ($P > 0.05$, 表 1).

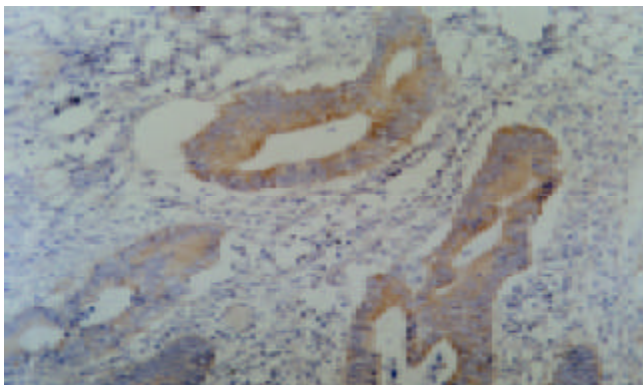


图 1 大肠高分化腺癌 VEGF-C 阳性表达, SP×100.

表 1 淋巴结转移灶与大肠癌原发灶 VEGF-C 表达的关系

	淋巴结转移灶		P 值
	VEGF-C(+)	VEGF-C(-)	
原发灶 VEGF-C(+)	24	3	$P < 0.05$
VEGF-C(-)	7	7	

2.1 大肠癌 VEGF-C 与临床病理指标的关系 经 χ^2 检验 VEGF-C 表达与大肠癌分化程度、Dukes 分期及淋巴结转移密切相关 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$). 低分化腺癌 VEGF-C 阳性率(16.7%)低于高分化腺癌(51.9%); Dukes 分期的 C 和 D 期 VEGF-C 阳性率(63.0%)明显高于 A 和 B 期(26.0%); 有淋巴结转移的病例 VEGF-C 阳性率(65.9%)显著高于无淋巴结转移病例(27.3%). 但是 VEGF-C 表达与患者年龄、性别、肿瘤大小、部位、浸润深度以及远处器官转移没有关系 ($P > 0.05$, 表 2).

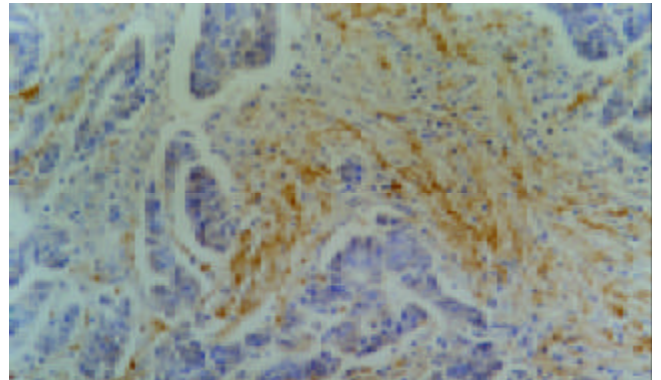


图 2 间质纤维 VEGF-C 阳性表达, 而大肠癌组织阴性表达, SP×100.

表 2 大肠癌 VEGF-C 与临床病理指标的关系

病理指标	n	VEGF-C		
		(+)	(-)	
性别	女	46	19	27
	男	50	23	27
年龄(岁)	≥ 57	48	23	25
	> 57	48	43	19
肿瘤直径	≤ 4 cm	16	29	27
	> 4 cm	53	26	27
肿瘤部位	结肠及盲肠	35	15	20
	直肠	61	27	34
分化程度	高	54	28	26 ^a
	中	30	12	18
	低	12	2	10
浸润深度	未及浆膜	30	9	21
	浆膜及以上	66	33	33
淋巴结转移	有	41	27	14 ^b
	无	55	15	40
远处器官转移	有	14	8	6
	无	82	34	48
Dukes 分期	A+B	50	13	37 ^b
	C+D	46	29	17

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$.

2.2 大肠癌 VEGF-C 与预后的关系 大肠癌患者 96 例术后生存 5 a 及以上者 59 例, 总体 5 a 生存率 61.5%.

VEGF-C 阳性和 VEGF-C 阴性病例的 Kaplan-Meier 生存率曲线图如图 3 所示. 经 Log-rank 检验, 大肠癌 VEGF-C 表达与患者预后显著相关($P < 0.05$), VEGF-C 阳性病例的 5a 生存率为 50.0% 明显低于阴性病例 70.4% 的 5a 生存率, 预后不良.

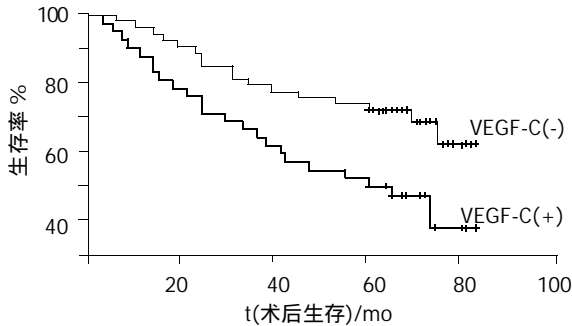


图 3 VEGF-C 阳性和 VEGF-C 阴性病例的 Kaplan-Meier 生存率曲线图.

3 讨论

肿瘤扩散是肿瘤恶性发展和预后差的主要原因之一, 包括局部浸润、血道和淋巴道转移. VEGF 家族中 VEGF-C 具有与 VEGF-A 不同的特性^[16-18]. VEGF-C 的受体为 VEGFR-2 和 VEGFR-3, 尽管两种受体在血管和淋巴管都有表达, 但是 VEGFR-3 主要位于淋巴管内皮细胞, 而且 VEGF-C 与 VEGFR-3 结合的亲和力比 VEGFR-2 要高的多, 所以 VEGF-C 更多地表现出促进淋巴管生成与扩张^[19-21]. 大肠癌是严重威胁我国人民身体健康的恶性肿瘤, 发病率逐年上升, 国内统计已上升至第 4 位^[22], 并且具有较高的淋巴结转移率. 淋巴结转移是大肠癌预后的一个重要指标, 发生淋巴结转移的患者 5a 生存率明显低于未转移者. VEGF-C 诱导淋巴管生成的特性使人们越来越希望了解其在肿瘤生长和转移中的作用. 本研究中 96 例大肠癌有 42 例(43.8%) VEGF-C 阳性, 54 例(56.3%) 阴性; 正常大肠组织 VEGF-C 阳性 19 例(19.8%), 阴性 77 例(80.2%). 大肠癌组织 VEGF-C 阳性率明显高于正常大肠组织($P < 0.01$), 并且同一病例癌细胞着色都强于正常大肠黏膜上皮细胞, 大肠癌 VEGF-C 阴性病例的正常黏膜没有 VEGF-C 表达.

VEGF-C 是一种分泌型蛋白, 研究表明其在肿瘤组织中主要由肿瘤细胞合成. 我们的试验结果显示大肠癌 VEGF-C 的确主要在癌细胞中表达. 但是有意思的是, 有 2 例大肠癌细胞 VEGF-C 阴性, 而间质纤维细胞呈强阳性表达, 并且这 2 例病例均出现了淋巴结转移. 这表明除了肿瘤细胞外, 间质纤维细胞也可以合成分泌 VEGF-C, 至少在大肠癌中是这样. 这印证了 Ristamaki et al^[23] 的观点, 他认为巨噬细胞能够分泌某些细胞因子如 TNF- α 上调肿瘤细胞和纤维母细胞中 VEGF-C 的表达. 我们的研究表明, 42 例 VEGF-C 阳性病例的淋巴结转移率(27/42, 64.3%) 显著高于 VEGF-C 阴性病例(14/54, 25.9%, $P < 0.01$). 同时与患者预后有关的 Dukes 分期也和大肠癌 VEGF-C 表达密切相关($P < 0.01$),

Dukes 分期的 C 和 D 期 VEGF-C 阳性率(63.0%) 明显高于 A 和 B 期(26.0%). 41 例转移至淋巴结的癌组织与原发部位癌组织 VEGF-C 表达相当一致($P < 0.01$). 对于 7 例原发部位 VEGF-C 阴性而转移灶阳性的病例, 我们发现原发部位 VEGF-C 阴性只是根据我们评定 VEGF-C 表达的标准来判定的, 但是其中都有部分癌细胞表达 VEGF-C, 也许正是这些癌细胞转移到了淋巴结. 这似乎可以理解为对于单个癌细胞而言, 表达 VEGF-C 的癌细胞更具有侵袭淋巴管转移至淋巴结的可能性.

尽管很多人类肿瘤 VEGF-C 高表达与淋巴结转移密切相关^[24-28], 但是现在还不完全清楚 VEGF-C 是如何促进肿瘤细胞转移的. 多数学者认为 VEGF-C 促进肿瘤转移的可能的解释是^[29], VEGF-C 通过诱导淋巴管生成, 增加了肿瘤细胞与淋巴管内皮细胞的接触面积, 进而增加转移的可能性; 此外, VEGF-C 也可能通过增加淋巴管通透性、改变淋巴管内皮细胞黏附特性以及调节细胞因子(如肿瘤细胞趋化因子)、化学因子表达等多种方式促进肿瘤转移. 尽管高表达 VEGF-C 的肿瘤有更高的转移倾向, 但是只有部分动物模型发生了肿瘤淋巴结转移. 同时, 我们的研究显示低分化大肠癌 VEGF-C 表达明显低于高分化大肠癌, 这似乎与低分化大肠癌淋巴结转移率高的特性不符合^[30], 表明低分化大肠癌的转移机制中 VEGF-C 并非一个主要因素. 以上事实提示, 大肠癌转移除了与 VEGF-C 有关外, 还存在一些别的重要影响因素. 总之, 肿瘤转移是一个多因素参与的多机制的过程, 对肿瘤转移的机制还有待于更进一步的深入研究.

肿瘤可以通过淋巴道或血道转移至远处器官, 但是我们的研究没有发现大肠癌 VEGF-C 表达与远处器官转移之间的关系($P > 0.05$). 另外, 大肠癌 VEGF-C 表达也与患者年龄、性别、肿瘤大小、部位以及肿瘤浸润深度无关($P > 0.05$).

大肠癌 VEGF-C 表达与淋巴结转移密切相关, 因此对于 VEGF-C 阴性患者, 尤其是高分化大肠癌患者采用肿瘤局部切除的手术方式也许是可行的. 同时, 我们的研究也表明大肠癌 VEGF-C 表达与患者预后显著相关($P < 0.05$), VEGF-C 阳性患者的 5a 生存率为 50% 明显低于阴性病例 70.4% 的 5a 生存率, 预后不良. 尽管大肠癌手术切除、化疗和放疗方法不断改进, 但是其恶性发展并没有得到根本抑制, 预后依然很差^[31], 大肠癌 VEGF-C 可能成为指导手术和放化疗方案以及判断预后的一个重要指标, 具有重要的临床意义.

4 参考文献

- 1 Chen K, Cai J, Liu XY, Ma XY, Yao KY, Zheng S. Nested case-control study on the risk factors of colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2003;9:99-103
- 2 Cai SJ, Xu Y, Cai GX, Lian P, Guan ZQ, Mo SJ, Sun MH, Cai Q, Shi DR. Clinical characteristics and diagnosis of patients with hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2003;9:284-287

- 3 Jiang YA, Fan LF, Jiang CQ, Zhang YY, Luo HS, Tang ZJ, Xia D, Wang M. Expression and significance of PTEN, hypoxia-inducible factor-1 alpha in colorectal adenoma and adenocarcinoma. *World J Gastroenterol* 2003;9:491-494
- 4 Lin LJ, Zheng CQ, Jin Y, Ma Y, Jiang WG, Ma T. Expression of survivin protein in human colorectal carcinogenesis. *World J Gastroenterol* 2003;9:974-977
- 5 Xu XM, He C, Hu XT, Fang BL. Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand gene on human colorectal cancer cell line HT29. *World J Gastroenterol* 2003;9:965-969
- 6 Platell C, Lim D, Tajudeen N, Tan JL, Wong K. Dose surgical sub-specialization influence survival in patients with colorectal cancer? *World J Gastroenterol* 2003;9:961-964
- 7 Kim JI, Park YJ, Kim KH, Kim JI, Song BJ, Lee MS, Kim CN, Chang SH. hOGG1 Ser326Cys polymorphism modifies the significance of the environmental risk factor for colon cancer. *World J Gastroenterol* 2003;9:956-960
- 8 Xu MH, Deng CS, Zhu YQ, Lin J. Role of inducible nitric oxide synthase expression in aberrant crypt foci-adenoma-carcinoma sequence. *World J Gastroenterol* 2003;9:1246-1250
- 9 Xiong B, Sun TJ, Yuan HY, Hu MB, Hu WD, Cheng FL. Cyclooxygenase-2 expression and angiogenesis in colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2003;9:1237-1240
- 10 Zheng S, Han MY, Xiao ZX, Peng JP, Dong Q. Clinical significance of vascular endothelial growth factor expression and neovascularization in colorectal carcinoma. *World J Gastroenterol* 2003;9:1227-1230
- 11 Zhou ZG, Wang Z, Yu YY, Shu Y, Cheng Z, Li L, Lei WZ, Wang TC. Laparoscopic total mesorectal excision of low rectal cancer with preservation of anal sphincter: A report of 82 cases. *World J Gastroenterol* 2003;9:1477-1481
- 12 Zhang JC, Wang ZR, Cheng YJ, Yang DZ, Shi JS, Liang AL, Liu NN, Wang XM. Expression of proliferating cell nuclear antigen and CD44 variant exon 6 in primary tumors and corresponding lymph node metastases of colorectal carcinoma with Dukes' stage C or D. *World J Gastroenterol* 2003;9:1482-1486
- 13 Gu J, Ma ZL, Li Y, Li M, Xu GW. Angiography for diagnosis and treatment of colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2003;9:288-290
- 14 Hu HY, Liu XX, Jiang CY, Zhang Y, Bian JF, Lu Y, Geng Z, Liu SL, Liu CH, Wang XM, Wang W. Cloning and expression of ornithine decarboxylase gene from human colorectal carcinoma. *World J Gastroenterol* 2003;9:714-716
- 15 余细球, 邓长生, 朱尤庆, 程芳洲. 大肠癌组织胸苷磷酸化酶/血小板衍生内皮细胞生长因子的表达及意义. *世界华人消化杂志* 2003;11:1197-1199
- 16 赵敏芳, 毛华, 郑景熙, 袁亚维. 血管内皮细胞生长因子对大肠癌 HT-29 细胞黏附作用的影响. *世界华人消化杂志* 2000;8:646-649
- 17 Joukov V, Pajusola K, Kaipainen A, Chilov D, Lahtinen I, Kukk E, Saksela O, Kalkkinen N, Alitalo K. A novel vascular endothelial growth factor, VEGF-C, is a ligand for the Flt-4 (VEGFR-3) and KDR(VEGFR-2) receptor tyrosine kinases. *EMBO J* 1996;15:290-298
- 18 Neufeld G, Cohen T, Gengrinovitch S, Poltorak Z. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors. *FASEB J* 1999;13:9-22
- 19 Joukov V, Sorsa T, Kumar V, Jeltsch M, Claesson-Welsh L, Cao Y, Saksela O, Kalkkinen N, Alitalo K. Proteolytic processing regulates receptor specificity and activity of VEGF-C. *EMBO J* 1997;16:3898-3911
- 20 Oh SJ, Jeltsch MM, Birkenhager R, McCarthy JE, Weich HA, Christ B, Alitalo K, Wilting J. VEGF and VEGF-C: specific induction of angiogenesis and lymphangiogenesis in the differentiated avian chorioallantoic membrane. *Dev Biol* 1997;188:96-109
- 21 Jeltsch M, Kaipainen A, Joukov V, Meng X, Lakso M, Rauvala H, Schwartz M, Fukumura D, Jain RK, Alitalo K. Hyperplasia of lymphatic vessels in VEGF-C transgenic mice. *Science* 1997;276:1423-1425
- 22 李栓位, 王青波, 赵俭昌, 叶历, 丁金亮. 大肠癌 208 例发病年龄与预后的相关性. *世界华人消化杂志* 1998;6:363-364
- 23 Ristamaki A, Narko K, Enhom B, Joukov V, Alitalo K. Pro-inflammatory cytokines regulate expression of the lymphatic endothelial mitogen vascular endothelial growth factor-C. *J Biol Chem* 1998;273:8413-8418
- 24 Mandriota SJ, Jussila L, Jeltsch M, Compagni A, Baetens D, Prevo R, Banerji S, Huarte J, Montesano R, Jackson DG, Orci L, Alitalo K, Christofori G, Pepper MS. Vascular endothelial growth factor-C-mediated lymphangiogenesis promotes tumour metastasis. *EMBO J* 2001;20:672-682
- 25 Nakamura Y, Yasuoka H, Tsujimoto M, Yang Q, Tsukiyama A, Imabun S, Nakahara M, Nakao K, Nakamura M, Mori I, Kakudo K. Clinicopathological significance of vascular endothelial growth factor-C in breast carcinoma with long-term follow-up. *Mod Pathol* 2003;16:309-314
- 26 Neuchrist C, Erovc BM, Handisurya A, Fischer MB, Steiner GE, Hollemann D, Gedlicka C, Saaristo A, Burian M. Vascular endothelial growth factor C and vascular endothelial growth factor receptor 3 expression in squamous cell carcinomas of the head and neck. *Head Neck* 2003;25:464-474
- 27 Schietroma C, Cianfarani F, Lacal PM, Odorisio T, Orecchia A, Kanitakis J, D' Atri S, Failla CM, Zambruno G. Vascular endothelial growth factor-C expression correlates with lymph node localization of human melanoma metastases. *Cancer* 2003;98:789-797
- 28 Li Q, Dong X, Gu W, Qiu X, Wang E. Clinical significance of co-expression of VEGF-C and VEGFR-3 in non-small cell lung cancer. *Chin Med J (Engl)* 2003;116:727-730
- 29 Nathanson SD. Insights into the mechanisms of lymph node metastasis. *Cancer* 2003;98:413-423
- 30 蒋会勇, 卿三华. 大肠癌淋巴结转移相关因素研究现状. *世界华人消化杂志* 1999;7:982-984
- 31 向德兵, 吴晓华, 李增鹏, 刘友生. beta-catenin, cyclin D1 and c-myc 在大肠癌组织中的表达. *世界华人消化杂志* 2002;10:305-308