

VEGF 及其受体 KDR 在垂体腺瘤中的表达与肿瘤血管形成的关系

沈晓黎, 雷 霆, 万 锋, 舒 凯, 薛德麟

Correlation between the Expression of Vascular Endothelial Growth Factor and Its Receptor KDR and Angiogenesis in Human Pituitary Adenomas

SHEN Xiao-li, LEI Ting, WAN Feng, SHU Kai, XUE De-lin

Department of Neurosurgery, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China

Abstract: **Objective** To investigate the correlation between the expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptor KDR and angiogenesis in human pituitary adenomas. **Methods** VEGF and KDR were detected in 58 cases pituitary adenomas by immunohistochemical S-P technique. Microvessel density was determined by immunostaining for factor CD₃₄ related antigen. **Results** VEGF was expressed in 54 cases (93.1%), mainly located at cytoplasm or the membrane of pituitary adenomas cells; KDR was expressed in 47 cases (81.0%), it was located in the vascular endothelial cell of pituitary adenomas tissues and in the cytoplasm or the membrane of the pituitary adenomas cell. Both VEGF expression and KDR were well correlated with the invasiveness. The microvascular density (MVD) was significantly greater in VEGF and KDR higher expression groups than in lower groups ($P < 0.01$). **Conclusion**

VEGF promotes angiogenesis synergism KDR by paracrine or autocrine in pituitary adenomas, and take part in tumor invasiveness.

Key words: Pituitary adenomas; Vascular endothelial growth factor; Receptor; Growth factor; Immunohistochemistry; Angiogenesis

摘 要: **目的** 探讨血管内皮生长因子 (VEGF) 及其受体 (KDR) 的表达与垂体腺瘤血管生成的关系。 **方法** 应用免疫组织化学 S-P 法检测 58 例人垂体腺瘤中的 VEGF 及 KDR 的表达, 并对血管进行染色、计数。 **结果** 其中 54 例有 VEGF 的表达 (占 93.1%), 阳性表达主要位于肿瘤细胞胞膜及胞浆; KDR 在 47 例中有阳性表达 (占 81.0%), 阳性表达位于肿瘤血管内皮细胞、肿瘤细胞胞膜及胞浆。 VEGF 和 KDR 表达与垂体腺瘤的侵袭性密切相关; VEGF 和 KDR 高表达组微血管密度明显高于低表达组 ($P < 0.01$)。 **结论** VEGF 以旁分泌、自分泌形式协同 KDR 促进垂体腺瘤血管的生成, 并与垂体腺瘤的侵袭密切相关。

关键词: 垂体腺瘤; 血管内皮生长因子; 受体; 生长因子; 免疫组织化学; 血管形成

中图分类号: R736.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-8578(2005)01-0008-03

0 引言

血管生成 (angiogenesis) 是新生血管形成的过程, 与肿瘤的生长密切相关。在众多诱导血管生成的因子中, 血管内皮生长因子 (VEGF) 被认为是其中最重要的一种^[1]。VEGF 通过其特异性受体 (KDR) 的介导作用既可以提高血管通透性, 有利于血浆蛋白外渗, 又可特异地促使血管内皮细胞分裂增殖^[2]。本研究旨在探讨 VEGF 及其受体在人垂体腺瘤中的表达与血管形成的关系。

1 材料与方法

1.1 标本

选取 2002 年 3 月 ~ 2003 年 1 月间, 在我院神经外科行垂体腺瘤手术切除标本 58 例, 其中男 22 例, 女 36 例, 年龄 18 ~ 67 岁, 平均 39.7 岁。所有患者术前均行全套垂体激素检查; 全部病例经口鼻蝶入路手术并常规取鞍底硬膜送病检。

1.2 肿瘤的病理类型

58 例垂体腺瘤均经病理证实, 鞍底硬膜病检有肿瘤侵袭 47 例。结合临床表现、垂体激素水平和免疫组化诊断无功能腺瘤 15 例, 泌乳素腺瘤 21 例, 生长激素腺瘤 13 例, 促肾上腺皮质激素腺瘤 4 例, 泌乳素和生长激素混合腺瘤 3 例, 泌乳素和促肾上腺皮质激素混合腺瘤 2 例, 正常垂体腺取自非垂体内分泌疾病死亡的尸解标本 2 例。

1.3 肿瘤侵袭程度的分级^[3]

收稿日期: 2003-09-30; 修回日期: 2003-11-21

作者单位: 430030 武汉, 华中科技大学同济医学院附属同济医院神经外科

0 级:病检鞍底硬膜无肿瘤细胞侵袭,影像学无侵袭表现,11 例;1 级:病检鞍底硬膜有肿瘤细胞侵袭,但肿瘤向两侧未包绕颈内动脉,未突入邻近鼻窦,13 例;2 级:肿瘤部分包绕单侧或双侧颈内动脉(不超过颈内动脉海绵窦内段和床突上段横断面外侧壁连线),未突入邻近鼻窦,19 例;3 级:肿瘤大部分包绕或完全包绕单侧或双侧颈内动脉,或肿瘤突入邻近鼻窦,15 例。

1.4 试剂和染色方法

抗 CD34(鼠抗人)和 KDR(兔抗人)抗体均购自武汉博士德公司,工作浓度分别为 1:100 和 1:200;抗 VEGF₁₂₁(鼠抗人)抗体和 S-P 试剂盒购自福州迈新公司,前者工作浓度 1:100。免疫组化染色采用链霉素抗生物素蛋白-过氧化物酶连接法(S-P 法),操作均按说明书进行。用 PBS 代替一抗做阴性对照,用试剂盒中已知阳性切片做阳性对照。

1.5 结果判定

以细胞浆或细胞膜呈棕黄色者为 VEGF 阳性细胞,微血管内皮细胞有棕黄色着色者为 KDR 表达阳性。每张切片在光学显微镜(Olympus, B H₂) 200 ×(0.72mm²) 视野范围选取 5 个不同视野,所见视野输入计算机,经 HPIAS-1000 型全自动医学彩色图像分析系统(华中科技大学同济医学院病理教研室)分析处理,得到 5 个视野的平均光密度(Average Light Density, ALD),代表 VEGF 和 KDR 的表达水平。ALD 越大,表达水平越高。以 CD34 阳性血管数作为微血管密度(MVD),并用 $\bar{x} \pm s$ 表示。

1.6 统计学处理

应用 SPSS11.5 统计软件包,两个均数之间的比较用 student *t* 检验,对 VEGF 和 KDR 的 ALD 值进行直线相关与回归分析。

2 结果

2.1 VEGF 及其受体 KDR 在垂体腺瘤中的表达分布特点

垂体腺瘤组织中,VEGF 及 KDR 免疫反应阳性物质呈棕黄色,VEGF 阳性表达主要位于肿瘤细胞的胞膜和/或胞浆。KDR 的阳性表达主要位于肿瘤组织的血管内皮细胞以及肿瘤细胞的胞膜和/或胞浆。

2.2 垂体腺瘤中 VEGF 及其受体 KDR 的表达与侵袭性的关系

58 例垂体腺瘤中 54 例有 VEGF 表达(占 93.1%),ALD 最低值 0.01547,最高值 0.14660,平均值 0.06470;KDR 在 47 例中有阳性表达(占 81.0%),ALD 最低值 0.00354,最高值 0.07752,平

均值 0.04169。垂体腺瘤侵袭程度与 VEGF 和 KDR 的表达关系,见表 1。正常垂体组织及空白和替代对照切片中几乎未见免疫反应阳性信号。侵袭性 1 级垂体腺瘤 VEGF 的 ALD 高于无侵袭性垂体腺瘤($P < 0.001$),侵袭性 1、2 级垂体腺瘤 VEGF 的 ALD 值差异无显著性意义($P > 0.05$),但侵袭性 3 级与 2 级垂体腺瘤的 VEGF 的 ALD 差异有显著性意义($P < 0.001$)。

表 1 不同侵袭程度垂体腺瘤中 VEGF 和 KDR 的表达

侵袭程度	n	ALD($\bar{x} \pm s$)	
		VEGF	KDR
0	11	0.03217 ± 0.00803 *	0.02413 ± 0.00942
1	13	0.06009 ± 0.00961	0.03771 ± 0.00504
2	19	0.06159 ± 0.00833	0.03962 ± 0.00461
3	15	0.09649 ± 0.02137	0.06063 ± 0.00243

注:经方差齐性检验后,进行 *t* 检验,与 * 相比 $P < 0.001$,与 相比 $P > 0.05$,与 相比 $P < 0.001$

2.3 VEGF 与 KDR 表达的相关性

经直线相关性分析发现,VEGF 与 KDR 的表达呈正相关,对回归方程作方差分析: $F = 156.69, P < 0.001$;直线回归方程为 $Y = 0.01166X + 0.464$,标准化系数 $b = 0.858, P < 0.001$ 。

2.4 VEGF 及其受体 KDR 表达与微血管密度(MVD)的关系

以 VEGF 和 KDR 表达的中位数为界分成高、低表达组,比较两组间的 MVD 值,结果如表 2 所示,VEGF 及其受体 KDR 高表达组的微血管密度明显高于低表达组, $P < 0.01$ 。

表 2 VEGF 和受体 KDR 的表达与微血管密度(MVD)的关系

组别	n	MVD(个/0.72mm ²)	F	t	P
VEGF					
高表达组	23	57.087 ± 13.3346	0.182	6.352	< 0.01
低表达组	31	34.290 ± 12.8224			
KDR					
高表达组	17	59.647 ± 16.1707	0.027	4.037	< 0.01
低表达组	30	40.100 ± 15.8274			

3 讨论

实体肿瘤的生长、浸润和转移有赖于新生血管的形成。血管形成是血管内皮细胞增殖刺激因子和抑制因子之间精细平衡作用的结果,多种因素可能影响肿瘤与非肿瘤性垂体腺血管形成^[4]。VEGF 作为刺激肿瘤血管形成最主要的因子^[5],一方面可与细胞膜表面靶受体相结合诱发钙离子快速内流,引起相关因子释放,增加内皮细胞磷脂酶 C 的活性,

通过肌醇脂的水解促进第二信使形成,诱导内皮细胞分裂、增殖,促进血管形成;另一方面可使血管通透性增加,导致血管内大分子物质的漏出,这样有利于血管外基质的形成,从而为血管内皮细胞的增殖、血管的形成提供支架,辅助血管形成。

VEGF 通过与其两种共轭受体 flt-1 和 KDR 结合,在肿瘤血管生成中起着重要作用。KDR 或 flt-1 与 VEGF 结合后均有明显的 VEGF 依赖性 Ca^{2+} 外流。但其激活后效用有所不同:KDR 激活后可引起内皮细胞的分裂、迁移;而 flt-1 激活后无明显促有丝分裂作用,该受体作用可能与调节内皮细胞间作用及内皮细胞与基底膜作用相关。从而,这两类受体在血管发育及血管通透性调节中可能起协同作用。但与内皮细胞的增殖和血管形成有关的只有 KDR^[6]。

本研究结果表明:VEGF 不仅表达于肿瘤组织的血管内皮细胞,而且也表达于肿瘤细胞的胞膜和/或胞浆。另外,不仅肿瘤组织中血管内皮细胞有 KDR 表达,且肿瘤细胞本身也有 KDR 表达。提示,VEGF 既可通过旁分泌又可通过自分泌途径对垂体腺瘤的生长、进展、侵袭起着促进作用。

在肿瘤组织中,血管形成因子与血管形成抑制因子之间平衡状态的改变导致肿瘤从静止状态发展到伴随肿瘤血管新生的侵袭状态。正是因为这种状态受到破坏,诱发了血管新生,新生血管的形成便构成了肿瘤发生、发展的病理基础。本研究结果显示 VEGF 和 KDR 高表达组 MVD 明显高于低表达组,并且 VEGF 和 KDR 二者表达呈正相关,提示二者协同参与垂体腺瘤血管形成过程。统计学分析结果

表明,VEGF 和 KDR 的表达随着侵袭性分级的增高而明显增高。由此认为 VEGF 及其受体 KDR 在促进垂体腺瘤血管形成同时也促进腺瘤的侵袭。

因此,我们认为 VEGF 通过受体 KDR 的介导可促进垂体腺瘤血管形成,同时也促进垂体腺瘤的侵袭性生长;检测 VEGF 和 KDR 的表达可作为判定垂体腺瘤血管生成、侵袭等生物学行为的可靠指标;以 VEGF/ KDR 的作用为共同靶点将有望成为垂体腺瘤新的治疗途径。

参考文献:

- [1] Dvorak HF, Brown LF, Detmar M, et al. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability, and angiogenesis[J]. *Am J of Pathol*, 1995, 146(5):1029-1039.
- [2] Ferrara N. Molecular and biological properties of vascular endothelial growth factor[J]. *J Mol Med*, 1999, 77(7):527-543.
- [3] 万锋,舒凯,雷霆,等.整合素 α_1 、局灶粘附激酶的表达与垂体腺瘤的侵袭性[J]. *中国临床神经外科杂志*, 2002, 7(5):265-267.
- [4] Vidal S, Kovacs K, Horvath E, et al. Microvessel density in pituitary adenomas and carcinomas[J]. *Virchows Arch*, 2001, 438(6):595-602.
- [5] Ping Guo, Li Xu, Shi Pan, et al. Vascular endothelial growth factor isoforms display distinct activities in promoting tumor angiogenesis at different anatomic sites[J]. *Cancer Res*, 2001, 61(23):8569-8577.
- [6] Witte L, Hicklin DJ, Zhu Z, et al. Monoclonal antibodies targeting the VEGF receptor-2 (Flk1/ KDR) as an antiangiogenic therapeutic strategy[J]. *Cancer Metastasis Rev*, 1998, 17(2):155-161.

[编辑:安凤;校对:贺文]