

人脑胶质瘤中 VEGF 和整合素 3 的表达及相关性研究

艾文兵,陶胜忠,薛德麟

Study on Expression and Relationship between Vascular Endothelial Growth Factor and Integrin 3 in Human Gliomas

AI Wen-bing,TAO Sheng-zhong,XUE De-lin

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

Abstract: **Objective** To study the expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and integrin 3 (INT 3) in different pathological grade human gliomas, and the relationship between them. **Methods** The expression of VEGF and INT 3 in 65 cases human gliomas were detected with SABC immunohistochemical technique and image analysis system. **Results** The average light density of VEGF and INT 3 in different grade gliomas were 0.05177 ± 0.019683 , 0.07399 ± 0.02798 , 0.09168 ± 0.03671 and 0.04872 ± 0.01869 , 0.06065 ± 0.02998 , 0.08189 ± 0.03953 , respectively. The difference of VEGF and INT 3 in different grade gliomas were significant ($P < 0.05$). The expression of VEGF was correlated with the expression of INT 3 ($r = 0.835$, $P < 0.01$). **Conclusion** The expression of VEGF and INT 3 in different pathological grade human gliomas were associated with malignant degree of human gliomas and the expression of VEGF correlated with the expression of INT 3, which suggest both of them play import role in malignant biological behaviors of human gliomas.

Key words: Vascular endothelial growth factor; Integrin 3; Human glioma

摘要:目的 研究血管内皮生长因子(VEGF)和整合素 3 (INT 3)在不同病理级别人脑胶质瘤中的表达,并探讨两者之间的关系。方法 采用免疫组化 SABC 法和图像分析技术检测 65 例不同病理级别人脑胶质瘤标本中 VEGF 和 INT 3 的表达水平。结果 VEGF 在不同级别胶质瘤中表达的平均光密度值(ALD)分别为 0.05177 ± 0.019683 , 0.07399 ± 0.02798 和 0.09168 ± 0.03671 , INT 3 在不同级别胶质瘤中表达的平均光密度值(ALD)分别为 0.04872 ± 0.01869 , 0.06065 ± 0.02998 和 0.08189 ± 0.03953 。差异均有显著性意义 ($P < 0.05$), 二者的表达水平呈正相关 ($r = 0.835$, $P < 0.01$)。结论 VEGF 和 INT 3 在人脑胶质瘤中的表达水平与胶质瘤的恶性程度密切相关,两者之间呈正相关,提示二者在人脑胶质瘤的恶性生物学行为中起重要作用。

关键词: 血管内皮生长因子; 整合素 3; 脑胶质瘤

中图分类号: R730.264 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-8578(2005)02-0070-03

0 引言

研究已分别发现血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和整合素 3 (integrin 3, INT 3)在人脑胶质瘤中异常表达,且其表达的强度与胶质瘤恶性程度呈正相关,表明二者与胶质瘤的恶性生物学行为有密切关系^[1,2]。而同时检测 VEGF 和 INT 3 在人脑胶质瘤中的表达及相关性研究,国内外尚未见报道。我们采用免疫组化法和图像分析技术对 65 例人脑胶质瘤石蜡标本中 VEGF 和 INT 3 的表达进行了检测,并对二者之间的相关性进行探讨。

1 资料与方法

1.1 一般资料 人脑胶质瘤石蜡标本取自同济医院病理科,取材于 2003 年 1 月~2003 年 11 月手术切除并经病理证实的 65 例胶质瘤患者。其中男 35 例,女 30 例,年龄 11~72 岁,平均 40.5 岁。根据 2000 年 WHO 制订的中枢神经系统肿瘤分类标准,低度恶性 ~ 级 34 例(毛细胞型星形细胞瘤 9 例,纤维型星形细胞瘤 9 例,原浆型星形细胞瘤 7 例,肥胖细胞型 4 例,少枝胶质瘤 3 例,室管膜瘤 2 例),中度恶性 级 19 例(间变性星形细胞瘤 11 例,间变性少枝星形细胞瘤 5 例,间变性少枝胶质瘤 3 例),高度恶性 级 12 例(胶质母细胞瘤 8 例,髓母细胞瘤 3 例,室管膜母细胞瘤 1 例)。

1.2 方法 脑胶质瘤标本常规石蜡包埋,作 5μm

收稿日期:2004-01-15;修回日期:2004-05-20
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



连续切片,1 张作 HE 染色用于重新确认病理结果,其余切片作免疫组化染色。羊抗人 INT 3 单抗为 Santa Cruz 公司产品,即用型鼠抗人 VEGF 单抗购自北京中山生物技术公司,SABC 试剂盒及其他试剂均购自武汉博士德公司。INT 3 抗体及 VEGF 抗体工作浓度分别为 1:100 和 1:50,采用 SABC 法,操作步骤严格按照试剂盒要求进行,以 PBS 代替一抗作为阴性对照,用已知的阳性片作为阳性对照。

1.3 结果判定 INT 3 阳性染色镜下为棕黄色,每张切片在高倍视野(×400)下随机选取 5 个不同视野,将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值(average light density,ALD),代表 INT 3 的表达水平;VEGF 阳性染色镜下呈棕黄色或棕褐色,用同样的方法得到每张切片 VEGF 阳性染色的 ALD,代表 VEGF 的表达水平。ALD 越大,表达水平越高。

1.4 统计学处理 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS10.0 统计软件包处理数据。多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较行 *q* 检验,VEGF 与 INT 3 的关系采用直线相关分析, $P < 0.05$ 表示有统计学意义。

2 结果

2.1 VEGF 和 INT 3 的表达 镜下呈棕黄色或棕褐色 VEGF 阳性染色局限于胶质瘤细胞胞浆,偶见周围结缔组织及血管内皮细胞呈阳性染色;镜下为棕黄色 INT 3 阳性染色颗粒,主要分布于胞膜和胞浆。随着胶质瘤病理分级的升高,两者的 ALD 随之明显增高,不同病理级别之间差异均有显著性意义($P < 0.05$),表明胶质瘤的恶性程度越高,VEGF 和 INT 3 的表达水平随之升高,见表 1。

表 1 VEGF 和 INT 3 在各级胶质瘤中的表达水平($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	VEGF 表达水平 (ALD)	INT 3 表达水平(ALD)
胶质瘤 ~ 级	34	0.05177 ± 0.01968	0.04872 ± 0.01869
胶质瘤 级	19	0.07399 ± 0.02798 #	0.06065 ± 0.02998 #
胶质瘤 级	12	0.09168 ± 0.03671 # *	0.08189 ± 0.03953 # *

与胶质瘤 ~ 级比较, # $P < 0.05$;与胶质瘤 级, * $P < 0.05$

2.2 VEGF 与 INT 3 表达的相关性 两者的 ALD 呈显著正相关($r = 0.817, P < 0.01$),表明

VEGF 和 INT 3 的表达水平呈正相关关系。

3 讨论

VEGF 是一种重要的选择性的促血管生成因子,以旁分泌方式作用于血管内皮细胞,促进其增殖并诱导血管生成^[3]。许多恶性肿瘤细胞均能高表达 VEGF,高表达的 VEGF 与其相应的受体特异性结合后,诱发肿瘤血管生成;持续和广泛的新生血管生成满足了肿瘤细胞生长所需的营养成分,促进了肿瘤细胞的恶性增殖和侵袭性生长^[4]。VEGF 还是已知最强的血管通透剂^[5]。肿瘤新生血管本身结构缺乏完整性,管壁薄弱,这使它们比正常成熟血管更容易被肿瘤细胞穿透,VEGF 导致的血管通透性增加进一步促进了肿瘤的侵袭性生长和转移。人脑胶质瘤主要的恶性生物学行为为新血管生成、恶性增殖和侵袭性生长。已有研究表明 VEGF 在人脑胶质瘤中异常表达,且与胶质瘤的病理级别呈正相关关系^[1]。本研究结果亦发现,随着胶质瘤病理级别的增高,VEGF 的表达水平随之明显升高($P < 0.05$),表明 VEGF 的表达与胶质瘤的恶性程度密切相关。以上研究结果提示 VEGF 参与了胶质瘤大量新血管生成,促进瘤细胞的恶性增殖。侵袭性生长是导致人脑胶质瘤治疗效果差的重要原因。胶质瘤最常见的侵袭途径是沿血管基底膜侵袭,故 VEGF 诱导的新血管生成不仅促进了胶质瘤的恶性增殖,还参与了胶质瘤的侵袭性生长。

INT 3 分子是由 和 两种亚单位通过非共价键连接而成的异二聚体,是一种跨膜糖蛋白,是一类重要的细胞黏附分子,其在细胞与基质、细胞与细胞之间的黏附及信息传递中发挥很重要的作用。INT 3 参与了肿瘤的发生、发展过程,肿瘤的无限制性生长、低分化和侵袭转移均与 INT 3 分子的表达及其在细胞表面的分布有关。INT 3 又称玻璃体结合蛋白受体,在多种生长因子的激活及其与他们的受体相互作用的过程中起介导作用,是一种具有多种功能的整合素分子,可表达于多种不同组织来源的恶性肿瘤。研究表明,INT 3 是恶性肿瘤新血管形成过程中必不可少的物质,在多种恶性肿瘤的新血管生成和侵袭转移过程中起重要作用^[6-8]。体外的实验研究已表明 INT 3 在胶质瘤细胞和血管内皮细胞的增殖和侵袭过程中起重要作用^[9,10]。本研究采用免疫组化 SABC 法和图像分析系统检测 INT 3 在人脑胶质瘤中的表达水平,发现随着脑胶质瘤病理分级的增高,INT 3 表达水平明显升高,差异有显著性意义($P < 0.05$)。这与国外的研究结果基本一致^[2],提示 INT 3 与人脑胶质瘤的

恶性生物学行为有密切关系。

本研究还发现 VEGF 与 INT 3 的表达水平呈显著正相关 ($P < 0.05$),表明随着 VEGF 表达水平的升高,胶质瘤细胞 INT 3 的表达随之增高,提示 VEGF 和 INT 3 在人脑胶质瘤恶性生物学行为中可能存在紧密的内在联系。VEGF 在人脑胶质瘤中的异常表达可能对 INT 3 的表达具有上调作用,两者之间存在协调关系,共同促进胶质瘤的血管新生,促进肿瘤细胞的恶性增殖和侵袭性生长。由此,我们认为 VEGF 和 INT 3 二者密切相关,在人脑胶质瘤的恶性生物学行为中起重要作用。VEGF 和 INT 3 的联合检测可能会更有利于对脑胶质瘤的恶性生物学行为进行评价与判断,而且两者在人脑胶质瘤中的表达规律及其与肿瘤血管生成、侵袭性生长等恶性生物学行之间的关系,为临床提供评价预后、靶向治疗的新思路,值得进一步研究和探索。

参考文献:

[1] 蔡强,叶应湖,王国安,等. 血管内皮生长因子在人脑胶质瘤侵袭中的作用[J]. 肿瘤防治研究,2002,29(6):447-449.

[2] Bello L, Francolini M, Marthyn P, et al. 3 and 5 integrin expression in glioma periphery [J]. Neurosurgery, 2001, 49

(2):380-390.

[3] Dvorak HF, Brown LF, Detmar M, et al. Vascular permeability factor 3 vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability and angiogenesis [J]. Am J Pathol, 1995, 146(5):1029-1039.

[4] 李春海,李克勤. 肿瘤微血管生成的机制与肿瘤侵袭与转移[J]. 中华肿瘤杂志, 2000, 22(3):181-183.

[5] Holash J, Watson K, Ingber D, et al. Vessel cooption, regression and growth in tumors mediated by angiopoietins and VEGF [J]. Science, 1999, 284(6):1994-1998.

[6] Friedlander M, Brooks PC, Shaffer, et al. Definition of two angiogenic pathways by distinct integrins [J]. Science, 1995, 270(5):1500-1502.

[7] Brooks pc. Role of integrins in angiogenesis [J]. Eur J Cancer, 1996, 32(10):2423-2429.

[8] Li X, Regezi J, Ross FP, et al. Integrin alphavbeta3 mediates k1735 murine melanoma cell motility in vivo and in vitro [J]. J Cell Sci, 2001, 114(14):2665-2672.

[9] Friedlander DR, Zagzag D, Shiff B, et al. Migration of two brain tumor cells on extracellular matrix proteins in vitro correlates with tumor type and grade and involves 1 and 1 integrins [J]. Cancer Res, 1996, 56(6):1939-1947.

[10] Rusnati M, Tanghetti E, Gualandris, et al. 3 integrin mediates the cell-adhesive capacity and biological activity of basic fibroblast growth factor in cultured endothelial cells [J]. Mol Boil Cell, 1997, 8(9):2449-2461.

[编辑校对: 刘红武]