

视网膜母细胞瘤 VEGF、PCNA 表达研究

姜 影,杜金荣,张艳梅

AStud yofPCNA、VEGFEx pressioninRetinoblastoma

JIANGYin g,DUJin -rong,ZHANGYan -mei

Department of Pathology, The Second Affiliated Hospital of Harbin Medical Universit y, Harbin 150086, China

Abstract: Objective Toinvesti gatetheex pressionofPCNA、VEGFinretinoblastomaandtherelationshi pbe -
tweenthemandthedifferentiation,opticnerveinfiltration. **Methods** Theex pressionofPCNA、VEGFin22
casesofRbtissuewereanalyzed byusin gS-Pimmunohistochemicalmethod. **Results** Thepositiveratesof
PCNAandVEGFwere 58.2% and 63.6% respectively,andallthe expression weresignificantlyrelatedto
thedifferentiationdegree ($P < 0.05$) andnerveinfiltration ($P < 0.05$).Theex pressionofPCNAwas
markedlycorrelatedwiththeex pressionofVEGF ($P < 0.01$). **Conclusion** Determinin gPCNAandVEGF
playimportantroleinevaluatingthehistologicalcharacteristicsandbiologicalbehaviorofRb.

Keywords: Retinoblastoma;PCNA;VEGF;Immunohistochemistr y

摘 要:目的 探讨 PCNA(增殖细胞核抗原)、VEGF 在视网膜母细胞瘤 (retinoblastoma,Rb) 中的表达及其与 Rb 分化程度和视神经浸润的关系。方法 应用 PCNA 单克隆抗体、VEGF 多克隆抗体、采用 S-P 免疫组化法,对 22 例 Rb 常规石蜡标本行 PCNA、VEGF 表达的测定。结果 PCNA、VEGF 在 Rb 中表达阳性率分别为 58.2% 和 63.6%,均与 Rb 的分化程度、视神经浸润有关 ($P < 0.05$),而且 PCNA 与 VEGF 的表达有明显相关性 ($P < 0.01$)。结论 测定 PCNA、VEGF 对于确定 Rb 的组织特性和生物学行为具有重要意义。

关键词: 视网膜母细胞瘤;增殖细胞核抗原;血管内皮细胞生长因子;免疫组织化学

中图分类号:R739.7 文献标识码:A 文章编号:1000-8578(2004)05-0255-02

0 引言

视网膜母细胞瘤 (retinoblastoma,Rb) 是婴幼儿较为常见的眼内恶性肿瘤,恶性度高,严重危害患者的视力和生命。近年来有关 VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor, 血管内皮生长因子) 在肿瘤生长浸润中作用的研究越来越多,但对 Rb 中 VEGF 的作用了解甚少。PCNA (proliferating cell nuclear antigen, 增殖细胞核抗原) 免疫组化染色能够反映细胞的增殖状态。我们对手术切除的 22 例 Rb 标本进行研究,探讨 Rb 中 PCNA、VEGF 表达情况及与 Rb 分化程度、视神经浸润的关系。

1 材料与方法

1.1 材料 收集哈医大附属第一医院和附属第二医院病理科 1999 年 1 月 1 日~2002 年 12 月 31 日手术切除的 Rb 标本 22 例,标本经 10% 中性福尔马林固定,石蜡包埋。22 例 Rb 术前均未行化疗或放疗。取 Rb 周围正常视网膜组织作为正常对照。

1.2 主要试剂及方法 鼠抗人 PCNA 单克隆抗体

(购自武汉博士德公司)、兔抗人 VEGF 多克隆抗体、S-P 试剂盒、DAB 显色剂均购自福州迈新公司。

将 Rb 组织块行 4 μ m 连续切片,采用 S-P 免疫组化染色方法进行 PCNA、VEGF 染色,其中 VEGF 抗原在加一抗前对组织块行高温高压抗原修复,其余步骤按说明书进行。用已知 VEGF 阳性的肺癌组织、已知 PCNA 阳性的卵巢癌组织作为阳性对照,用 PBS 代替一抗作为阴性对照。

1.3 结果判定

1.3.1 PCNA 染色结果判定^[1] PCNA 阳性染色为细胞核着棕黄色或棕褐色,选择每张切片中具有代表性的 5~8 个视野,计数 500 个以上肿瘤细胞,以细胞核着棕黄色或棕褐色为 PCNA 阳性细胞,计算其标记指数 (labelling index, LI)。

$PCNALI = \frac{\text{PCNA 阳性细胞数}}{\text{计测肿瘤细胞总数}} \times 100\%$

计算出平均 LI,将高于平均 LI 的 Rb 定为高 LI 表达,低于平均 LI 的定为低 LI 表达。

1.3.2 VEGF 阳性染色标准^[2] 为细胞浆着淡黄色至棕褐色颗粒。计数 5 个视野,阳性细胞数 < 5%、5%~25%、26%~50%、51%~75%、>75% 分别为 -、+、++、+++ 和 ++++。为统计方便,将无表达和 + 定为阴性,余为阳性。

收稿日期:2003-02-24;修回日期:2003-06-11

作者单位:150086 哈尔滨医科大学附属第二医院病理科

科

1.4 统计学处理 本文数据采用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 临床病理特点 22 例 Rb 患者年龄为 2 个月~5 岁,平均 2.4 岁,按照 Rb 中有无菊形团排列分为分化型和未分化型,其中分化型 8 例,未分化型 14 例;瘤细胞浸润视神经者 8 例,无浸润者 14 例。

2.2 PCNA、VEGF 免疫组化染色 Rb 周围正常视网膜组织除 1 例 PCNA 和 VEGF 弱阳性外,其余均为阴性。PCNA、VEGF 在 Rb 中表达的阳性率分别为 58.2% 和 63.6%。PCNA、VEGF 表达与肿瘤分化程度及视神经浸润明显相关,见表 1。PCNA 与 VEGF 在 Rb 中表达呈正相关性,见表 2。

表 1 PCNA、VEGF 表达与肿瘤分化程度的关系

分组	PCNA		VEGF	
	高 LI	低 LI	+	-
分型				
未分化型	12	2*	12	2*
分化型	3	5	2	6
视神经浸润				
+	8	0*	8	0*
-	7	7	6	8

* $P < 0.05$

表 2 PCNA、VEGF 在 Rb 中表达的相关性

PCNA	VEGF		P
	+	-	
高 LI	13	2	< 0.01
低 LI	1	6	

3 讨论

肿瘤的生长和转移是一个复杂的过程,且受诸多因素的影响。实体瘤的持续生长和侵袭转移有赖于充足的微血管生成和血液供应^[3]。在调控血管生成的诸多因子中,血管内皮生长因子(VEGF)是最近几年研究的热点之一,它一方面可以增加血管通透性,有利于血浆蛋白、纤维蛋白原外渗,促进血管生成和新基质形成,另一方面,VEGF 促进血管内皮细胞有丝分裂,刺激血管内皮细胞增殖^[4]。

本文研究表明,VEGF 表达与 Rb 的组织学分型相关,未分化型 Rb 细胞 VEGF 表达明显高于分化型,且有视神经浸润组的 Rb 组织中,VEGF 表达明显高于视神经未浸润组($P < 0.05$),说明 VEGF 的表达与肿瘤的分化、浸润能力有关^[5]。即分化越差、浸润能力越强的 Rb 中,VEGF 的表达越强,这一结果与傅涛等^[6]的研究结果一致。所以对肿瘤组织进行 VEGF 检测,不仅可以判断肿瘤的生物行为,也为探讨肿瘤治疗提供了一个新思路。

评价细胞的增殖状态对阐明肿瘤的生物特性具有重要意义。增殖细胞核抗原(PCNA)是一种仅在增殖细胞中合成表达的核内多肽,能与 DNA 多聚酶辅助蛋白结合,参与细胞 DNA 复制,其表达与细胞周期有关,主要表达于增殖周期的 S 期、G₁ 期、G₂ 初期,可作为判断各种恶性肿瘤细胞增殖和其恶性度及预后的估价指标^[7]。我们的研究表明:PCNA 表达与 Rb 的组织学分型相关,未分化型 Rb 细胞 PCNA 明显高于分化型,反映肿瘤细胞增殖活性与分化程度间的相关性。同时本试验显示肿瘤细胞浸润视神经组的 Rb 组织,平均 PCNA 明显高于视神经未浸润组($P < 0.05$),这表明 Rb 的浸润能力与肿瘤细胞的增殖活性有关,增殖活性越高,其浸润度越大^[8,9]。由于 PCNA 的免疫组化测定简单易行,结果稳定,可作为判断肿瘤预后的检测指标之一。

在 Rb 组织中,PCNA 的表达与 VEGF 的表达具有明显的正相关性($P < 0.01$),即随 VEGF 表达增强,PCNA 值增高,说明 VEGF 有促进肿瘤细胞增殖的作用,这一作用可能是通过促进肿瘤血管生成而促进肿瘤细胞增殖的,这为我们进一步认识肿瘤的生长、浸润提供了依据。

参考文献:

- [1] Kitamoto M, Nakanishi K, Kira S, et al. The assessment of proliferating cell nuclear antigen immunohistochemical stain in small hepatocellular carcinoma and its relationship to histological characteristics and prognosis [J]. Cancer, 1993, 72 (6): 1859-1865.
- [2] Volm M, Kooma G, Matter J. Prognostic value of vascular endothelial growth factor and its receptor Flt-1 in squamous cell lung cancer [J]. Int J Cancer, 1997, 74 (1): 64-68.
- [3] Detmar M, Velasco P, Richard L, et al. Expression of vascular endothelial growth factor induces an invasive phenotype in human squamous cell carcinomas [J]. Am J Pathol, 2000, 156 (1): 159-167.
- [4] Saaristo A, Karanen T, Alitalo K. Mechanism of angiogenesis and their use in the inhibition of tumor growth and metastasis [J]. Oncogene, 2000, 19 (53): 6122-6129.
- [5] Folkman J. Angiogenesis and angiogenesis inhibition: an overview [J]. EXS, 1997, 79 (1): 1-8.
- [6] 傅涛, 宋绣雯. 视网膜母细胞瘤中血管内皮生长因子的免疫组织化学研究 [J]. 中华眼底病杂志, 1999, 15 (4): 238-240.
- [7] Lipponen PK. Relationship between expression of p53, proliferating cell nuclear antigen and C-erbB-2 in bladder cancer [J]. Pathology, 1993, 61 (3-4): 178-181.
- [8] Kvant A, Steen B, Seregard S. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) in retinoblastoma and posterior uveal melanoma [J]. Exp Eye Res, 1996, 63 (5): 511-518.
- [9] 杨相军, 张振国. 视网膜母细胞瘤 p53、C-myc 及增殖细胞核抗原表达的研究 [J]. 中华眼科杂志, 1999, 35 (4): 252-254.

[编辑:安凤;校对:刘红武]