

甲状腺乳头状癌微血管密度与 VEGF、PD-ECGF 表达的研究

张 矛¹, 吴凯南²

Study on microvessel density and expression of VEGF, PD-ECGF of papillary thyroid carcinoma

ZHANG Mao, WU Kai-nan

The First Hospital of Chongqing Medical University, Wuhan 430030, China

Abstract: Objective To investigate the angiogenesis and expression of VEGF, PD-ECGF of PTC, and discuss the clinical significance. **Methods** Detection of the MVD and expression of VEGF, PD-ECGF in 43 PTC, 10 thyroid adenoma and 10 normal thyroid tissue by immunohistochemistry. **Results** MVD and expression of VEGF, PD-ECGF of PTC were significantly higher than those of normal thyroid tissue ($P < 0.05$); MVD and expression of VEGF and PD-ECGF of PTC were significantly higher than those of thyroid adenoma ($P < 0.05$); MVD and expression of VEGF, PD-ECGF of thyroid adenoma were significantly higher than those of normal thyroid tissue ($P < 0.05$). Lymph node metastasis of PTC were positively correlated with MVD and expression of VEGF ($P < 0.05$). **Conclusion** Angiogenesis plays an important role in the development of PTC.

Keywords: PTC; Angiogenesis; MVD; VEGF; PD-ECGF

摘要:目的 研究甲状腺乳头状癌(PTC)的血管生成及 VEGF、PD-ECGF 的表达,并探讨其临床意义。方法 运用免疫组化方法检测 43 例 PTC, 10 例甲状腺腺瘤和 10 例正常甲状腺组织的 MVD 值和 VEGF、PD-ECGF 的表达。结果 PTC 的 MVD 值和 VEGF、PD-ECGF 的表达明显高于正常甲状腺组织($P < 0.05$); PTC 的 MVD 值和 VEGF 的表达明显高于甲状腺腺瘤($P < 0.05$); 甲状腺腺瘤的 MVD 值和 VEGF、PD-ECGF 的表达明显高于正常甲状腺组织($P < 0.05$)。PTC 的淋巴结转移状况与 MVD 值及 VEGF 的表达成正相关($P < 0.05$)。结论 血管生成在 PTC 的发生、发展中占有重要的地位。

关键词: PTC; 血管生成; MVD; VEGF; PD-ECGF

中图分类号: R736.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-8578(2003)05-0385-03

0 引言

甲状腺乳头状癌(PTC)是最常见的甲状腺恶性肿瘤,血管生成对于肿瘤的发生和发展有重要的作用。目前对于 PTC 血管生成的研究尚少。本实验运用免疫组化方法检测了 PTC 组织的微血管密度(MVD),以及血管内皮生长因子(VEGF),血小板源性内皮细胞生长因子(PD-ECGF)的表达,并对它们与 PTC 生物学行为的相关性及临床意义进行探讨。

1 材料和方法

1.1 研究对象

全组 43 例均系我院普外科 1984 年 1 月至 1991 年 3 月收治的经手术切除治疗、病理确诊的初发 PTC 患者,男女比例为 1.4.4。年龄中位数 37 岁(17~69 岁),选择同期伴有乳头状增生的甲状腺腺

瘤和瘤旁正常甲状腺组织各 10 例。

1.2 试剂

免疫组化 SP 试剂盒,抗 CD34 单克隆抗体和抗 PD-ECGF 单克隆抗体购自福州迈新公司。抗 VEGF 单克隆抗体和 DAB 显色剂购自北京中山生物制品公司。

1.3 方法

将所入组的 PTC、甲状腺腺瘤和正常甲状腺组织经甲醛固定,石蜡包埋,5 μ m 厚度进行连续切片,分别行 HE 和免疫组化染色。HE 染色行组织学分级^[1]。免疫组化采用 SP 法,按照 SP 试剂盒说明书进行。MVD 人工计数方法,由两位实验者分别在 Olympus 镜下($\times 400$ 倍),每张切片选择 3 个血管着色密集区进行计数,单个或呈簇状棕黄染色定为一条血管(除血管腔内有 8 个以上红细胞者),并求出均数 $MVD = (n_1 + n_2 + n_3) / 3$,结果取整数。VEGF、PD-ECGF 参照 Klein^[2] 和 Dhar^[3] 判断标准,阳性细胞染成棕黄色,作半定量评分:(a) 根据染色

收稿日期:2002-11-28; 修回日期:2003-02-17

作者单位:1.400016 重庆医科大学附属第一医院外科内泌外科;2. 重庆医科大学附属第一医院内分泌外科

的甲状腺细胞所占百分比评分(整个甲状腺细胞无染色评 0 分;染色的细胞 <30% 评 1 分;30% ~ 60% 评 2 分;>60% 评 3 分);(b) 根据甲状腺细胞染色的强度评分(无染色评 0 分;轻度染色评 1 分;中度染色评 2 分;强染色评 3 分);最后评分 = (a) + (b)。取已知 VEGF、PD-ECGF 阳性的大肠癌组织作阳性对照,PBS 代替一抗作阴性对照。

1.4 统计学处理

定量资料(MVD)两组间比较时用 *t* 检验,多组间比较时用方差分析;半定量资料(VEGF、PD-ECGF)两组间比较时用 Mann-Whitney 秩和检验,多组间比较时用 Kruskal-Wallis 秩和检验。

2 结果

2.1 CD₃₄染色结果

CD₃₄阳性表达位于内皮细胞,所有标本均有着色,但染色密度不均匀,乳头状结构分枝多的区域染色密度较大(图略)。癌组以平均值62.88 作为分界,MVD ≤ 62 为低微血管密度组,MVD > 62 为高微血管密度组。各组 MVD 值显示:PTC、甲状腺瘤和正常甲状腺组织之间 MVD 值差异有显著性 ($P < 0.05$); PTC 明显高于甲状腺瘤和正常甲状腺组织 ($P < 0.05$);甲状腺瘤明显高于正常甲状腺组织 ($P < 0.01$),见表 1。不同临床病理情况 PTC 组织 MVD 值显示:有淋巴结转移的 PTC 明显高于无淋巴结转移者 ($P < 0.01$);男性 PTC 的 MVD 明显高于女性 ($P < 0.05$),其余临床病理情况无统计学差异,见表 2。

2.2 VEGF 免疫组化结果

VEGF 阳性表达位于肿瘤细胞及间质细胞的细胞浆和细胞膜(图略)。各组 VEGF 的表达显示:PTC、甲状腺瘤和正常甲状腺组织之间 VEGF 的表达有显著性差异 ($P < 0.05$);PTC 明显高于甲状腺瘤和正常甲状腺组织 ($P < 0.01$);甲状腺瘤明显高于正常甲状腺组织 ($P < 0.05$),见表 1。不同临床病理情况 PTC 组织 VEGF 的表达显示:有淋巴结转移的 PTC 明显高于无淋巴结转移者 ($P < 0.05$);高微血管密度组 PTC 明显高于低微血管密度组 ($P < 0.025$);其余临床病理情况无统计学差异,见表 2。

2.3 PD-ECGF 免疫组化结果

PD-ECGF 阳性表达位于肿瘤细胞及间质细胞的细胞浆或细胞核,或同时出现(图略)。各组 PD-ECGF 的表达显示:PTC、甲状腺瘤和正常甲状腺组织之间 PD-ECGF 的表达有显著性差异 ($P < 0.05$);PTC 和甲状腺瘤明显高于正常甲状腺组织 ($P < 0.01$);PTC 高于甲状腺瘤,但无统计学差异 ($P > 0.05$),见表 1;不同临床病理情况 PTC 组织 PD-ECGF 的表达显示:高微血管密度组 PTC 明显高于低微血管密度组 ($P < 0.05$);其余临床病理情况无统计学差异,见表 2。

3 讨论

MVD 是反映肿瘤诱导血管生成能力的主要指标,对肿瘤的发生、发展、转移和预后具有重要价值。恶性肿瘤 MVD 明显高于正常组织^[4,5]。本实验发现,PTC 中的 MVD 明显高于正常甲状腺组织 ($P < 0.01$),反映了 PTC 有很强的诱导血管生成能力。

表 1 各组 MVD 值和 VEGF、PD-ECGF 表达的比较

指标	例数	MVD 值	VEGF 评分(例数)	PD-ECGF 评分(例数)
PTC	43	62.88 ±20.10	0(3) 2(2) 3(6) 4(18) 5(11) 6(3)	0(0) 2(2) 3(7) 4(15) 5(12) 6(7)
甲状腺瘤	10	50.20 ±6.51	0(1) 2(2) 3(3) 4(4) 5(0) 6(0)	0(0) 2(0) 3(2) 4(4) 5(3) 6(1)
正常甲状腺	10	20.40 ±4.12	0(6) 2(1) 3(2) 4(1) 5(0) 6(0)	0(2) 2(3) 3(3) 4(2) 5(0) 6(0)

表 2 不同临床病理情况 PTC 组织的 MVD 值和 VEGF、PD-ECGF 表达的比较

分组方式	组别	例数	MVD 值	VEGF 评分(例数)	PD-ECGF 评分(例数)
淋巴结转移	有	31	68.08 ±20.06	0(2) 2(1) 3(3) 4(12) 5(10) 6(3)	0(0) 2(2) 3(5) 4(10) 5(8) 6(6)
	无	12	49.32 ±13.05	0(1) 2(1) 3(3) 4(6) 5(1) 6(0)	0(0) 2(0) 3(2) 4(5) 5(4) 6(1)
性别	男	8	79.50 ±17.59	0(0) 2(1) 3(1) 4(5) 5(1) 6(0)	0(0) 2(1) 3(0) 4(5) 5(2) 6(0)
	女	35	59.20 ±19.12	0(3) 2(1) 3(5) 4(13) 5(10) 6(3)	0(0) 2(1) 3(7) 4(10) 5(10) 6(7)
年龄	40	26	63.38 ±19.96	0(3) 2(1) 3(4) 4(11) 5(5) 6(2)	0(0) 2(2) 3(2) 4(10) 5(8) 6(4)
	>40	17	62.06 ±20.88	0(0) 2(1) 3(2) 4(7) 5(6) 6(1)	0(0) 2(0) 3(5) 4(5) 5(4) 6(3)
组织学分级		21	64.71 ±21.05	0(1) 2(1) 3(5) 4(8) 5(3) 6(3)	0(0) 2(1) 3(2) 4(8) 5(6) 6(4)
		18	61.22 ±19.95	0(2) 2(1) 3(1) 4(9) 5(5) 6(0)	0(0) 2(1) 3(4) 4(6) 5(4) 6(3)
		4	60.05 ±19.89	0(0) 2(0) 3(0) 4(1) 5(3) 6(0)	0(0) 2(0) 3(1) 4(1) 5(2) 6(0)
MVD 值大小	>62	21		0(0) 2(1) 3(2) 4(9) 5(6) 6(3)	0(0) 2(1) 3(1) 4(8) 5(5) 6(6)
	62	22		0(3) 2(1) 3(4) 4(9) 5(5) 6(0)	0(0) 2(1) 3(6) 4(7) 5(7) 6(1)

以同期伴有局部乳头状增生的甲状腺腺瘤作为对照,其乳头状结构与 PTC 非常相似:即一根中心性的纤维血管蒂,外覆肿瘤上皮细胞;结果显示:PTC 的 MVD 明显高于甲状腺腺瘤,反映了血管生成在良、恶性肿瘤中的不同地位。

VEGF 又称血管通透性因子(VPF),是已知最有力的促血管生成的因子,提高血管内皮细胞的通透性,有利于血管内皮细胞的迁移和肿瘤细胞的转移。大多数肿瘤细胞均表达高水平的 VEGF,其表达量与肿瘤的恶性程度呈正相关^[2,6]。本实验结果与 Soh 等^[6]的发现一致,提示 VEGF 对 PTC 的形成和维持有重要作用。

PD-ECGF 又称为胸苷磷酸化酶(TP),能催化胸苷降解成胸腺嘧啶和 1-磷酸脱氧核糖,因为胸苷能抑制内皮细胞生长,而脱氧核糖具有促血管生成活性,所以 PD-ECGF 通过减少胸苷浓度和增加脱氧核糖浓度来促进血管生成。在多种恶性肿瘤中,PD-ECGF 的表达及活性明显强于周围非瘤组织,Usuki 等^[7]发现,培养的甲状腺癌细胞株可产生 PD-ECGF,而后者能促进内皮细胞有丝分裂。Dhar 等^[8]曾报道 PD-ECGF 在分化型甲状腺癌中有增强的表达。本实验结果提示 PD-ECGF 在甲状腺肿瘤的形成和维持中有重要作用。

如上所述,MVD 的明显增高,VEGF、PD-ECGF 的过度表达,反映了 PTC 有强烈的血管生成活动,提示血管生成对 PTC 有重要作用。

Saito 等^[9]发现进展期胃癌的 VEGF 表达与 MVD 有关。Dhar 等^[8]曾指出高分化甲状腺癌 PD-ECGF 的表达与 MVD 明显相关。本实验发现,PTC 中的 MVD 与 VEGF 的表达明显相关($P < 0.025$),与 PD-ECGF 的表达也有相关性($P < 0.05$),提示 PTC 中 VEGF 是较重要的血管生成因子;PD-ECGF 也参与 PTC 的血管生成,但 Usuki^[7]指出,PD-ECGF 可能在血管生成的早期对重塑微血管有重要作用,此后,其它血管生成因子的作用才可能表现得更显著。

PTC 的颈淋巴结转移率很高,有时原发灶很小,但颈部淋巴结已广泛转移,甚至可成为本病的第一临床症状。本组病例的颈淋巴结转移率为 72.1%,这一生物学行为的机理仍未阐明。目前认为,肿瘤细胞的淋巴结转移可能有两途径:通过血液循环进入淋巴管。肿瘤的血管生成可能促进淋巴结转移^[10];通过肿瘤对淋巴管的直接入侵。肿瘤在血管生成的同时,可能伴随着“淋巴管生成”,新生的淋巴管可成为肿瘤淋巴结转移的途径^[10]。在乳腺癌、食管癌、膀胱癌等恶性肿瘤中,MVD 与

淋巴结转移有密切关系。本实验研究发现,有淋巴结转移 PTC 的 MVD 明显高于无淋巴结转移者,其差别的意义非常显著。提示 MVD 的增加在 PTC 的淋巴结转移诊断中有重要的意义。Ohta 等^[10]通过实验发现,有淋巴结转移的肺癌 VEGFmRNA 表达水平较无淋巴结转移的肺癌明显增高,提示 VEGF 有可能作用于淋巴内皮细胞,导致淋巴管生成。Klein 等^[2]报道,有淋巴结、骨、肺转移的分化型甲状腺癌 VEGF 表达高于无转移的甲状腺癌,并建议把 VEGF 高水平表达作为分化型甲状腺癌有转移危险性的标志。本实验结果显示,伴淋巴结转移 PTC 的 VEGF 有明显增强的表达,提示 VEGF 可能促进 PTC 的淋巴结转移。本实验对 PD-ECGF 与甲状腺癌淋巴结转移的关系进行了分析,未发现二者有明确的相关性。综上所述,PTC 的 MVD 和 VEGF 表达都与淋巴结转移密切相关,提示血管生成可能促进 PTC 淋巴结转移。

针对血管生成的抗肿瘤治疗正成为国际上研究的热点,有的已开始应用于临床。血管生成在 PTC 的形成和淋巴结转移中有重要作用,抗血管生成的治疗手段有望成为治疗 PTC 的一种新的有效方法。

参考文献:

- [1] 刘科,曾懿,李树玲. 甲状腺乳头状癌病理组织学亚型及其临床意义[J]. 中国肿瘤临床,1994,21(1):37-39.
- [2] Klein M, Picard E, Vignaud JM, et al. Vascular endothelial growth factor gene and protein: strong expression in thyroiditis and thyroid carcinoma[J]. J Endocrinol, 1999, 161(1):41-49.
- [3] Dhar DK, Kubota H, Kotoh T, et al. Tumor vascularization predicts recurrence in differentiated thyroid carcinoma[J]. Am J Surg, 1998, 176(5):442-447.
- [4] Akslen LA, Livolsi VA. Increased angiogenesis in papillary thyroid carcinoma but lack of prognostic importance[J]. Hum Pathol, 2000, 31(4):439-442.
- [5] Goldenberg JD, Portuga LG, Wenig BL, et al. Well-differentiated thyroid carcinomas: p53 mutation status and microvessel density[J]. Head Neck, 1998, 20(2):152-158.
- [6] Soh EY, Duh QY, Sobhi SA, et al. Vascular endothelial growth factor expression in poorly differentiated thyroid cancer than in normal benign thyroid[J]. J Clin Endocrinol Metab, 1997, 82(11):3741-3747.
- [7] Usuki K, Heldin NE, Miyazono K, et al. Production of platelet-derived endothelial cell growth factor by normal and transformed human cells in culture[J]. Proc Natl Acad Sci, 1989, 86(19):7427-7431.
- [8] Dhar DK, Kubota H, Kotoh T, et al. Tumor vascularization predicts recurrence in differentiated thyroid carcinoma[J]. Am J Surg, 1998, 176(5):442-447.
- [9] Saito H, Tsujitani S, Oka S, et al. The expression of transforming growth factor-beta is significantly correlated with the expression of vascular endothelial growth factor and poor prognosis of patients with advanced gastric carcinoma[J]. Cancer, 1999, 86(8):1455-1462.
- [10] Ohta Y, Watanabe Y, Murakami S, et al. Vascular endothelial growth factor and lymph node metastasis in primary lung cancer[J]. Br J Cancer, 1997, 76(8):1041-1045.

(安凤校对)