

EphA2、VEGF 在非小细胞肺癌中的表达及意义

王小莉, 陈金华, 龚兴牡

Expression and Significance of EphA2 and VEGF in Non-small Cell Lung Cancer

WANG Xiao-li, CHEN Jir-hua, GONG Xing-mu

Medical College of Jishou University, Jishou 416000, China

Abstract :Objective To investigate the expression of EphA2 and VEGF in NSCLC and its significance.

Methods The expression levels of EphA2 and VEGF were determined by immunohistochemical analysis in 63 cases of NSCLC. **Results** The expression of EphA2 and VEGF were significantly higher in NSCLC. EphA2 levels did not appear to relate to histological type or differentiation but did relate to clinical stage and metastases. Tumor differentiation, lymph node metastasis and clinical stage correlated with the expression of VEGF. EphA2 level positively correlated with VEGF level. **Conclusion** These data suggest that EphA2 may provide a molecular maker to identify and predict patients who have isolated brain metastases. Moreover, the high levels of EphA2 and VEGF in NSCLC may provide an opportunity for therapeutic targeting.

Key words: Non-small cell lung cancer; Erythropoietin producing hepatoma cell; Vascular endothelial growth factor; Immunohistochemical

摘要:目的 探讨 Eph 受体酪氨酸激酶 A2 (EphA2)和血管内皮生长因子(VEGF)在非小细胞肺癌中的表达及其意义。方法 用免疫组化 SP 法检测 EphA2 和 VEGF 在 63 例非小细胞肺癌中的表达情况。结果 在 NSCLC 中 EphA2 和 VEGF 呈高表达。EphA2 的表达与 NSCLC 病理分型、分化程度无关,但是与临床分期及淋巴结转移密切相关。VEGF 的表达与分化程度、淋巴结转移、临床分期有显著性差异。EphA2 与 VEGF 表达呈正相关。结论 EphA2 可与 VEGF 结合作为判断 NSCLC 恶性程度及预后的指标,及早期诊断指标和治疗的新靶点。

关键词:非小细胞肺癌; Eph 受体酪氨酸激酶 A2;血管内皮生长因子;免疫组织化学

中图分类号:R734.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-8578(2007)05-0334-03

0 引言

酪氨酸蛋白激酶受体在细胞的生长及分化中起重要作用。近来研究表明,作为酪氨酸蛋白激酶受体(RTK)最大亚族 Eph 受体激酶家族中的一员, EphA2 在多种人体肿瘤组织中过表达且其过表达促进肿瘤向恶性表型发展。我们采用免疫组化的方法旨在研究 EphA2 蛋白在肺癌中的表达及其相关性,并探讨其与肺癌临床病理特征的关系及其意义。

1 材料和方法

1.1 材料 63 例 NSCLC 组织取自吉首大学附属医院病理科 2000 ~ 2005 年期间保存的手术后石蜡标本。其中男 48 例,女 15 例,平均年龄 58 岁(38 ~ 75 岁),按组织学分型:鳞癌 37 例,腺癌 20 例,大细胞癌 6 例。根据 WHO 肺癌分级程度:高分化 24 例,中分化 20 例,低分化 19 例。按国际抗癌联盟

(UICC) 2002 年肿瘤 TNM 分期标准: I 期 18 例, II 期 34 例, III ~ IV 期 11 例。所有患者均未接受放疗。

1.2 试剂 VEGF、EphA2 抗体、免疫组化检测盒均购自武汉博士德生物工程有限公司。

1.3 免疫组化 SP 法 步骤均按照 SP 试剂盒的说明进行,VEGF 的工作浓度为 1:100, EphA2 为 1:100。

1.4 结果判定 EphA2 蛋白以细胞胞浆内有棕黄色细颗粒为阳性,肿瘤细胞无阳性反应为阴性(-),高倍镜下(×400)对每张切片随机选择 5 个视野计数 200 个细胞/视野,共计 1 000 个,阳性细胞数 < 1%为阴性(-),阳性细胞数 1% ~ 10%为弱阳性(+),11% ~ 50%为中度阳性(++), > 50%强阳性(+++)。VEGF 染色判定按切片中着色细胞数量的比率分类:< 10%为阴性, 10%为阳性。

1.5 随访 58 例患者获随访,3.3 ~ 52.5 (24.58 ± 14.10)个月,生存时间从第 1 次术后开始计算,最近的一次随访时间是 2006 年 2 月 1 日。

1.6 统计学处理 应用 SPSS 10.0 统计软件对数

收稿日期:2006-05-15;修回日期:2006-12-15
作者单位:416000 湖南吉首大学医学院基础科部
作者简介:王小莉(1978 -),硕士,助教,主要从事呼吸
系统肿瘤的研究

据进行统计学处理,采用²检验和秩和检验。相关性采用 Spearman 等级相关分析。生存分析采用 Kaplan-merier 方法和 Log-rank 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 EphA2 和 VEGF 表达之间的关系 EphA2、VEGF 阳性反应主要为细胞浆内出现棕黄色颗粒。63 例 NSCLC 组织中 EphA2 的表达阳性率为 71.2% (45/63),其表达与 NSCLC 病理分型、分化程度无关,但是与临床分期及转移密切相关。VEGF 在 NSCLC 组织表达阳性率为 79.4% (50/63),其表达与肺癌组织不同分化程度、淋巴结转移、TNM 分期有统计学差异 ($P < 0.01$),见表 1。

表 1 63 例 NSCLC 中 EphA2 和 VEGF 表达之间的关系

VEGF	EphA2				P
	-	+	++	+++	
-	10	2	1	0	$P < 0.01$
+	9	12	15	15	

Spearman 等级相关分析

2.2 EphA2 和 VEGF 病理因素的关系 68 例 NSCLC 组织中 EphA2 和 VEGF 表达均阳性共有 42 例,经 Spearman 等级相关分析显示表达呈显著正相关 ($r = 0.496, P < 0.01$),见表 2。

表 2 63 例 NSCLC 中 EphA2、VEGF 表达与病理因素之间的关系

项目	n	EphA2				P*	VEGF		P#
		-	+	++	+++		-	+	
病理分型									
鳞癌	37	13	9	7	8		6	31	
腺癌	20	3	4	7	6	> 0.05	5	15	> 0.05
大细胞癌	6	2	1	2	1		2	4	
TNM 分型									
期	18	10	4	3	1		8	10	
期	34	7	8	9	10	< 0.01	4	30	< 0.01
~ 期	11	1	2	4	4		1	10	
分化程度									
高	24	7	6	6	5		9	15	
中	20	6	4	6	4	> 0.05	3	17	< 0.01
低	19	5	4	4	6		1	18	
淋巴结转移									
有	41	4	9	14	14		5	36	
无	22	14	5	2	1	< 0.01	8	14	< 0.05

*为秩和检验,#为卡方检验

2.3 EphA2 表达与患者生存的关系 本组 63 例中 58 例获随访,术后 1、3 和 5 年的生存率分别为 75.9%、45.6%和 10.2%。EphA2 强表达组(++ ~ +++) 生存时间为 (34.9 ± 30.5) 个月,弱表达组(-

~ +) 生存时间为 (43.2 ± 25.9) 个月, EphA2 强表达组与弱表达组比较,患者生存时间缩短 ($P = 0.04$)。

3 讨论

肿瘤细胞的侵袭与转移的发生与细胞粘附,细胞与细胞、以及细胞与基质间的信号传导通路异常有关。

酪氨酸激酶受体是信号传导网络中最重要的传导通路之一,几乎所有的生长因子刺激细胞增值的信号,以及大部分细胞因子的信号、抗原结合淋巴细胞表面受体诱导细胞各种反应,都离不开酪氨酸激酶受体通路^[1]。新生血管形成是包括不同系列分子信号传导在内的复杂过程。RTK 的配体在血管形成中起着非常重要的媒介,其配体有 3 个家族: VEGF,血管生成素, Eph 受体作用蛋白,它们通过内皮细胞 RTK 的表达起作用,共同在血管新生中起着重要的作用。

EphA2 是具有酪氨酸激酶活性的受体,是外界刺激信号传递给细胞核,转化成细胞效应的信号通路的关键组成,参与细胞生长、增值、转化及胚胎发育和肿瘤形成,具有重要的生理功能。许多研究表明 EphA2 在人类肿瘤中如:乳腺癌、结肠癌、肺癌、胃癌是高表达的^[2]。在本研究中发现 EphA2 与 NSCLC 病理分型、分化程度无关,但是与临床分期及转移密切相关,特别是存在脑转移的患者 EphA2 明显高于无脑转移,说明 EphA2 与肺癌的恶性程度密切相关。

VEGF 能够促进血管形成和新基质形成,从而为肿瘤生长、侵袭和转移提供基础。王靖华等^[2]应用免疫组化研究显示 VEGF 参与了肺癌新生血管并促进肿瘤转移,可以作为肿瘤转移和预后指标。在本研究中发现 VEGF 在 NSCLC 组织表达的阳性率为 79.4%,坏死区域及肿瘤浸润边缘呈强表达,与淋巴结转移、分化程度及 TNM 分期相关,提示 VEGF 阳性表达在肺癌患者中转移率高,分化程度差,有着较差的病理生物学行为,从而有助于判断预后。

Cheng 等^[4]经实验证实 VEGF 通过诱导 EphA1 而激活 EphA2,从而诱导肿瘤的新生血管形成。Kataoka 等^[5]研究表明 EphA2 在结肠癌中有助于诱导肿瘤的新生血管形成。EphA2 及 VEGF 受体同属于受体型 RTK 家族成员,具有类似的分子结构,而且在恶性肿瘤的血管形成中密切关联。本实验表明,EphA2 和 VEGF 在 NSCLC 中的表达与肿瘤的恶性程度有关,而且两者之间呈正相关。

晚期非小细胞肺癌患者血清酸性谷胱甘肽-S 转移酶的表达及临床意义

韩志刚, 单利, 刘春玲

Expression of the Serum GST Level in Patients with Advanced NSCLC and Its Clinical Significance

HAN Zhi-gang, SHAN Li, LIU Chun-ling

Department of chemotherapy, Affiliated Tumor Hospital, Xingjiang, Wulumuqi 830011, China

Abstract Objective To detect the expression of serum glutathione S-transferase (GST) level in patients with NSCLC, and to investigate its clinical significance. **Methods** GST levels in serum of 46 patients with NSCLC, 19 patients with benign lung diseases and 60 health subjects were detected with ELISA. Forty-six NSCLC patients were given 2 cycles of NVB + DDP chemotherapy and clinical response was evaluated. **Results** The mean serum GST level was significantly higher in patients with NSCLC than in those with benign lung disease and health subjects ($P < 0.05$). Twenty-five of 46 patients with NSCLC (54.34%) showed elevated serum GST levels above a cutoff value of 166.14 ng/ml (mean + two standard deviations in 60 healthy control subjects). The positive rate was significantly higher in patients with NSCLC than in those with benign lung disease 36.84% and heavy subjects 3.33% ($P < 0.05$). The positive rate of serum GST were 57.14% in squamous cell carcinoma and 52.00% in adenocarcinoma ($P > 0.05$). No correlation was observed between the GST level and stage, sex, pathohistology. Of the 46 patients treated with NVB + DDP chemotherapy, 19 patients responded to chemotherapy (overall response rate, 41.30%). For the 25 patients with positive GST expression, 5 patients responded to chemotherapy, response rate was 20%. In the 21 patients with negative GST expression, 14 patients responded to chemotherapy, response rate was 66.67%. This difference was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** The serum GST level may be a valuable tumor marker for NSCLC, There was no correlation between expression of serum GST and stage, sex, pathohistology. The response rate of NSCLC patients with GST-negative expression was higher than those with GST-positive. GST may be a useful predictor of chemotherapy response.

Key words: Nonsmall cell lung cancer; Serum; Glutathione S-transferase

收稿日期:2006-03-30;修回日期:2006-07-25
 作者单位:830011 乌鲁木齐,新疆医科大学附属肿瘤医院化疗二科
 作者简介:韩志刚(1973-),男,硕士,主治医师,主要从事胸部肿瘤的化疗研究

摘要:目的 通过测定非小细胞肺癌(Nonsmall cell lung cancer, NSCLC)患者血清中酸性谷胱甘肽-S 转移酶(GST)的含

由此推断:EphA2 在 NSCLC 的新生血管形成中可能起非常关键的作用。NSCLC 中对肿瘤的恶性生物学作用,可能是通过影响 EphA2 进行信号转导而发挥作用。

综上所述,EphA2 和 VEGF 在 NSCLC 中高表达,两者均与其恶性生物学行为有关,且两者密切相关,这种现象提示 EphA2 蛋白在肿瘤的血管生成方面发挥了一定的作用。目前已有报道证实,阻断 EphA2 受体的活性可以抑制肿瘤的血管生成。因此,EphA2 有望成为抗肺癌治疗的新靶点,因为在抑制肿瘤细胞生长的同时,也直接影响了肿瘤的血管生成。

参考文献:

- [1] 曾益新. 肿瘤学[M]. 第 2 版. 北京:人民卫生出版社,2003. 139-140.
- [2] Kinch MS, Moore MB, et al. Predictive value of the EphA2 receptor tyrosine kinase in lung cancer recurrence and survival [J]. Clin Cancer Res, 2003, 9(2):613-618.
- [3] 王靖华,李桂圆,陈龙邦,等. VEGF、p53、MMP-2 在非小细胞肺癌的表达及与肿瘤血管生成和淋巴结转移关系的研究[J]. 肿瘤防治研究, 2003, 30(1):39-41.
- [4] Cheng N, Brantley DM, Liu H, et al. Blockade of EphA receptor tyrosine kinase activation inhibits vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis [J]. Mol Cancer Res, 2002, 1(1):2-11.
- [5] Kataoka H, Igarashi H, et al. Correlation of EphA2 overexpression with high microvessel count in human primary colorectal cancer [J]. Cancer Sci, 2004, 95(2):136-141.

[编辑:贺文]