

· 临床研究 ·

105 例鼻咽癌组织 VEGF 和存活蛋白表达的临床意义

蒋伟¹, 张成^{2△}, 罗元³, 黄启芳², 朱小东²

(1. 桂林医学院附属医院放疗科, 广西桂林 541001;

广西医科大学附属肿瘤医院:2. 放疗科;3. 病理科, 南宁 530021)

摘要:目的 联合检测鼻咽癌组织中血管内皮生长因子(VEGF)和存活蛋白表达的相关性及与预后的关系。方法 应用免疫组织化学法检测 105 例患者鼻咽癌组织放疗前 VEGF 和存活蛋白的表达情况, 随访 5~7 年, 所有资料经 SPSS13.0 软件统计包处理, 进行 χ^2 检验、spearman 相关分析、生存分析。结果 (1)105 例鼻咽癌组织中 VEGF 和存活蛋白阳性表达率分别为 76% 和 58%, 显著高于正常鼻咽组织中阳性表达。(2)VEGF 和存活蛋白同时表达与鼻咽癌患者的年龄、T 分期、TNM 分期、颅底侵犯有明显相关性($P < 0.05$); VEGF 和存活蛋白的表达呈明显正相关性($P < 0.05$)。 (3)VEGF 和存活蛋白同时阴性表达的患者较二者同时高表达的患者有较高的 5 年生存率($P < 0.05$)。结论 VEGF 和存活蛋白在鼻咽癌组织中高表达, 二者之间有密切相关性, 且均与患者的生存率呈负相关。

关键词:鼻咽肿瘤; 血管内皮生长因子; 存活蛋白; 免疫组织化学;

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.19.011

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2012)19-1926-03

The clinical significance about expressions of VEGF and survivin protein in nasopharyngeal carcinoma in 105 casesJiang Wei¹, Zhang Cheng^{2△}, Luo Yuan³, Huang Qifang², Zhu Xiaodong²

(1. Department of Radiation Oncology, Affiliated Hospital of Guilin Medical University, Guilin, Guangxi 541001, China;

2. Department of Radiotherapy; 3. Department of Pathology, Affiliated Cancer

Hospital of Guangxi Medical University, Nanning, Guangxi 530021, China)

Abstract: Objective Combined detection of the expression of VEGF and survivin protein of nasopharyngeal carcinoma were done to study the correlation about two proteins and the prognosis in nasopharyngeal carcinoma. **Methods** Immunohistochemistry was used to determinate the expression of VEGF and survivin protein in tissue in 105 nasopharyngeal carcinoma patients. Followed up from 5 to 7 years, the rate of following up was by 95%. The methods that were used to analyze the data were chi-square test, spearman rank correlation, survival analysis. The analysis was done by SPSS13.0 software. **Results** (1) The positive expression of VEGF and survivin protein in nasopharyngeal carcinoma were 76%, 58%, respectively, which had statistical significance between carcinoma group and normal tissue group. (2) VEGF and survivin expression were significant correlation with the age, T stage, TNM stage and skull base invasion in patients with nasopharyngeal carcinoma. There was a significant positive correlation between the expression of VEGF and survivin ($P < 0.05$). (3) The negative expression of VEGF and survivin proteins at the same time had better 5 years survival rate than high positive expression of them ($P < 0.05$). **Conclusion** There is an abnormal high expression and significant positive correlation of VEGF and srnivin in nasopharyngeal carcinoma, high expression of two proteins at the same time has negative correlation with the survival rate in patients.

Key words: nasopharyngeal neoplasms; VEGF; survivin; immunohistochemistry

血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是一种可促进血管生成的内皮细胞有丝分裂原^[1]。在肿瘤血管生成的各个环节中起重要作用,其表达与肿瘤患者生存期、转移有关。存活蛋白是凋亡抑制蛋白(inhibitor of apoptosis protein, IAP)家族的一员^[2]。在多种恶性肿瘤组织中呈高表达且与肿瘤细胞的增殖及浸润转移密切相关。本研究采用免疫组织化学方法检测 VEGF 和存活蛋白在鼻咽癌及正常鼻咽黏膜组织中的表达,探讨二者与鼻咽癌临床生物学行为的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 病例选自广西医科大学附属肿瘤医院放疗科 1998 年 1 月至 2000 年 12 月,随访 5 年以上的 105 例鼻咽癌患者。所有标本均为放射治疗前鼻咽肿瘤组织标本,经病理诊断为鼻咽低分化鳞癌,无放疗禁忌证,有完整病历资料。其中男 83 例,女 22 例;年龄 15~72 岁,中位 43 岁。临床分期:I 期 3

例、II 期 37 例、III 期 34 例、IV 期 31 例。其中 T₁、T₂、T₃、T₄ 期分别为 14、43、29、19 例;N₀、N₁、N₂、N₃ 期分别为 25、35、31、14 例;M₀、M₁ 期分别为 100、5 例。另取 10 例正常鼻咽黏膜标本做对照。105 例鼻咽癌患者均行根治性放疗。采用直线加速器 8MV-X 线或 Co⁶⁰- γ 线常规分割照射,5 次/周,每次 2 Gy。鼻咽部照射剂量 65~80 Gy/6~8 周。

1.2 试剂与方法 本组实验使用的一抗为鼠抗人 VEGF、存活蛋白单克隆抗体,一抗、二抗、链霉卵白素-过氧化物酶(S-P)试剂盒和 DAB 试剂盒均购自福州迈新生物技术开发公司。S-P 免疫组织化学法:石蜡切片经脱蜡、水化等常规处理,并进行抗原热修复,按 S-P 法进行流程染色,用磷酸盐缓冲液(PBS)代替一抗作阴性对照。

1.3 结果判断 由 2 位有经验的病理医生在不知道任何临床和病理资料的情况下,对免疫组织化学切片结果进行判断。观察染色切片并计数 10 个具有代表性的选染色均匀的高倍视

△ 通讯作者, Tel:13768118096; E-mail: zhangcheng2008@163.com。

野,在 400 倍镜下观察着色细胞占视野细胞总数,<5%为阴性(-),5%~25%为阳性(+),25%~50%为(++),>50%为(+++)。联合检测鼻咽癌患者 VEGF 和存活蛋白表达情况,以 VEGF 和存活蛋白同时为一时,为阴性;VEGF 和存活蛋白同时++以上为高表达;二者其余的表达方式组合为低表达。

1.4 随访 全部患者放疗结束时鼻咽部肉眼检查均无肿瘤残留。生存时间自患者开始治疗之日算起,随访截止日期为 2005 年 12 月 31 日。随访方式包括返院复查、电话和信访。随访 5~7 年,失访 5 例,失访者自失访之日起按死亡计算,随访率为 95% (100/105)。

1.5 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计软件进行统计学处理,各指标间的相互关系采用 χ^2 检验和 Spearman 秩相关分析,Kaplan-Meier 法描述各组的生存曲线,Log-rank 法行显著性检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 鼻咽癌组织 VEGF 和存活蛋白表达情况 105 例鼻咽癌标本中,VEGF 染色可见细胞膜和细胞质染色,以细胞质染色为主;VEGF 的表达情况:25 例(-)、28 例(+)、38 例(++),14 例(+++),阳性率为 76%。存活蛋白染色可见细胞质和细胞核染色,以细胞核染色为主;存活蛋白的表达情况:44 例(-)、25 例(+),18 例(++),18 例(+++),阳性率为 58%。10 例正常鼻咽黏膜组织 VEGF 和存活蛋白表达均为阴性,与鼻咽癌组织中阳性表达率比较,差异均有统计学意义($P<0.01$),见表 1、封 2 图 1。

表 1 VEGF 和存活蛋白在鼻咽癌与正常鼻咽黏膜组织中的表达

分组	n	VEGF		P	存活蛋白		P
		阴性	阳性		阴性	阳性	
鼻咽癌组织	105	25	80	<0.01	44	61	<0.01
正常鼻咽黏膜组织	10	10	0		10	0	

2.2 联合检测 VEGF 和存活蛋白与鼻咽癌临床病理特征相关性比较 经 Spearman 相关分析,VEGF 和存活蛋白的同时表达强度与鼻咽癌患者的年龄、T 分期、TNM 分期、颅底侵犯有明显相关性($P<0.05$),见表 2。

表 2 联合检测 VEGF 和存活蛋白与鼻咽癌临床病理特征相关性比较(n)

参数	n	联合检测 VEGF 和存活蛋白表达情况			P
		阴性	低表达	高表达	
年龄					0.043
50≤	74	15	47	12	
>50	31	3	18	10	
T 分期					0.037
T ₁	14	6	6	2	
T ₂	43	6	29	8	
T ₃	29	5	18	6	
T ₄	19	1	12	6	
N 分期					0.261
N ₀	25	6	12	7	
N ₁	35	5	27	3	

续表 2 联合检测 VEGF 和存活蛋白与鼻咽癌临床病理特征相关性比较(n)

参数	n	联合检测 VEGF 和存活蛋白表达情况			P
		阴性	低表达	高表达	
N ₂	31	5	21	5	
N ₃	14	2	5	7	
TNM 分期					0.007
I	3	3	0	0	
II	37	5	29	3	
III	34	7	18	9	
IV	31	3	18	10	
颅底侵犯					0.005
无侵犯	83	17	53	13	
侵犯	22	1	12	9	
颅神经麻痹					0.208
无麻痹	93	17	58	18	
麻痹	12	1	7	4	
VCA-IgA					0.663
<1/80	74	14	42	18	
>1/80	31	4	23	4	

2.3 VEGF 和存活蛋白在鼻咽癌组织中表达情况相关性比较 105 例鼻咽癌患者组织中,VEGF 和存活蛋白经 S-P 法检测同时表达-18 例、+11 例、++9 例、+++7 例,经双变量相关性分析,VEGF 和存活蛋白呈正相关,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 3。

表 3 鼻咽癌组织中 VEGF 和存活蛋白表达情况相关性比较(n)

存活蛋白	VEGF				合计
	-	+	++	+++	
-	18	11	12	3	44
+	2	11	10	2	25
++	3	4	9	2	18
+++	2	2	7	7	18
合计	25	28	38	14	105

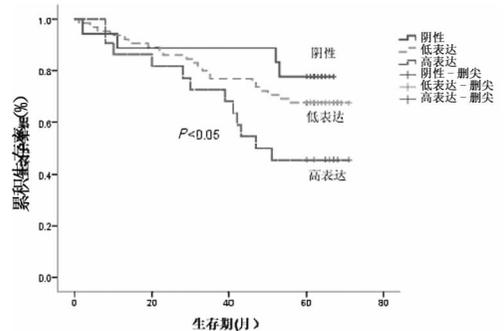


图 2 联合检测鼻咽癌患者 VEGF 和存活蛋白表达的生存曲线

2.4 VEGF 和存活蛋白表达情况与生存率的关系 联合检测

鼻咽癌患者 VEGF 和存活蛋白表达情况,阴性、低表达、高表达患者的 5 年生存率分别为 77.8%、67.7%、45.5%;Log-rank 检验阴性患者与高表达患者间生存率比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),见图 2。

3 讨论

3.1 鼻咽癌组织中 VEGF 和存活蛋白表达的相关性 肿瘤的发生发展是个多基因参与的过程,癌基因之间或者癌基因与抑癌基因之间相互调控,是癌变过程中的关键事件之一。O'Connor 等^[3]利用 VEGF 刺激存活蛋白低表达的静止期血管内皮细胞,实验结果表明 VEGF 诱导存活蛋白表达为血管新生中维持内皮细胞的生存能力提供了先决条件。Mesri 等^[4]利用存活蛋白的反义核苷酸抑制血管内皮细胞中存活蛋白的表达,发现 VEGF 保护内皮细胞功能减低。Tran 等^[5]研究发现,存活蛋白可有效地维持微小血管网的结构,促进的内皮细胞保护功能,抵抗化疗药物对血管内皮细胞的致凋亡作用。在国内,秦建伟等^[6]在研究乳腺癌存活蛋白定量表达时,发现癌组织中存活蛋白表达水平与 VEGF 有明显相关性。结合国外的基础研究,作者选取了致癌机制完全不同的 VEGF 和存活蛋白作为研究对象,结果发现鼻咽癌组织中 VEGF 表达与存活蛋白表达呈显著正相关,提示二者在肿瘤的发生、发展中有可能起着协同作用,彼此之间可能存在着相互调控机制,可进一步展开研究。

3.2 联合检测鼻咽癌组织中 VEGF 和存活蛋白的临床意义 由于肿瘤组织中存活蛋白的高表达对增生的血管内皮起着保护作用,作者联合检测了鼻咽组织中 VEGF 和存活蛋白的表达情况,发现 VEGF 和存活蛋白的表达强度与鼻咽癌患者的年龄、T 分期、TNM 分期、颅底侵犯有明显相关性,说明 VEGF 和存活蛋白的表达与肿瘤发展有一定关系。同时,比较了鼻咽癌组织中 VEGF 和存活蛋白同时阴性、低表达、高表达的生存率,结果显示,二者阴性表达的患者 5 年生存率优于二者高表达患者,差异有统计学意义 ($P = 0.036$)。肿瘤的形成是一个多基因变异、多步骤、多阶段的过程,不同的肿瘤基因之间彼此相互调控,形成一个巨大的调控网络,所以在肿瘤标志物与肿瘤相关性研究中,需要将不同的肿瘤分子指标放在一起研究,选择彼此最好的搭配。在作者的前期研究中,分别比较了 VEGF 和存活蛋白与鼻咽癌患者的生存率,发现二者不同表达对生存率没有明显的影响。本研究中发现 VEGF 和存活蛋白表达都是阴性的患者 5 年生存率明显优于均为高表达的患者,低表达患者 5 年生存率居于二者之间,准确地反映了肿瘤的生物学规律。可以这样说,选择的癌基因越多且癌基因在癌变通路中的作用越重要,得到的结果就越能准确的反映肿瘤的预后。

有学者在甲状腺癌、舌癌、大肠癌、肺癌、食管癌、宫颈癌等的研究中,得到了与本研究相似的结果^[7-12]。Luo 等^[13]在喉鳞癌的研究中发现 VEGF 和存活蛋白均为低表达患者的生存率较二者均高表达患者的生存率要高,为独立影响预后因素,对预后的判断有重要价值。周慷等^[14]研究了存活蛋白和 VEGF 在多发性骨髓瘤中的表达及它们之间表达的相关性后,认为二者可作为判断多发性骨髓瘤预后的重要参考指标,联合检测存活蛋白和 VEGF 的表达对了解多发性骨髓瘤肿瘤血管形成的机制有一定意义。刘敏等^[15]探讨存活蛋白和 VEGF 在涎腺腺样囊性癌组织中的表达及二者的相关性,认为存活蛋白

和 VEGF 可能参与涎腺腺样囊性癌的发生、发展。

总之,联合检测 VEGF 和存活蛋白的表达,能够较好地判断鼻咽癌的预后情况。

参考文献:

- [1] Ferrara N, Henzel WJ. Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1989, 161(2): 851-858.
- [2] Ambrosini G, Adida C, Altieri DC. A novel anti-apoptosis gene, survivin expressed in cancer and lymphoma [J]. *Nature Med*, 1997, 3(8): 917-921.
- [3] O'Connor DS, Schechner JS, Adida C, et al. Control of apoptosis during angiogenesis by survivin expression in endothelial cells [J]. *Am J Pathol*, 2000, 156(2): 393-398.
- [4] Mesri M, Morales-Ruiz M, Ackermann EJ, et al. Suppression of vascular endothelial growth factor-mediated endothelial cell protection by surviving targeting [J]. *Am J Pathol*, 2001, 158(5): 1757-1765.
- [5] Tran J, Master Z, Yu J, et al. A role for survivin in chemoresistance of endothelial cells mediated by VEGF [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(7): 4349-4354.
- [6] 秦建伟, 张建, 唐金海, 等. 乳腺癌组织中 survivin 表达水平的定量检测及其临床价值 [J]. *中国肿瘤临床*, 2008, 35(24): 1407-1410.
- [7] Zhang HY, Meng X, Du ZX, et al. Significance of survivin, caspase-3 and VEGF expression in thyroid carcinoma [J]. *Clin Exp Med*, 2009, 9(3): 207-213.
- [8] 王智明, 管新明, 魏巍, 等. Survivin 在舌鳞癌中的表达及其与血管内皮生长因子的相关性 [J]. *口腔颌面外科杂志*, 2008, 18(2): 92-94.
- [9] 欧阳晓晖, 牛剑祥, 赵海平, 等. 大肠癌组织中及 survivin 与 VEGF 的表达及其意义 [J]. *内蒙古医学院学报*, 2008, 30(5): 313-317.
- [10] 张胜辉, 王铁灵, 王明松, 等. 血管内皮生长因子表达与肺癌预后的关系 [J]. *重庆医学*, 2010, 39(16): 2157-2158.
- [11] 谢颂平, 黄杰. Survivin、VEGF 在食管鳞癌中表达的临床意义 [J]. *四川医学*, 2009, 30(11): 1692-1694.
- [12] 唐郢, 周琦, 叶学正, 等. survivin 基因与子宫颈癌发生及预后的关系 [J]. *重庆医学*, 2007, 36(14): 1400-1402.
- [13] Luo R, Kong WJ, Wang YJ. Elevated expressions of Survivin and VEGF proteins are strong independent predictors of survival in advanced nasopharyngeal carcinoma larynx [J]. *J Transl Med*, 2008, 6(10): 661-665.
- [14] 周慷, 邓建川, 娄世锋, 等. 多发性骨髓瘤 survivin 与 VEGF 表达的相关性及临床意义 [J]. *肿瘤防治研究*, 2009, 36(7): 593-595.
- [15] 刘敏, 李萍, 兰显国, 等. Survivin 和 VEGF 在涎腺腺样囊性癌中的表达及临床意义 [J]. *重庆医学*, 2010, 39(10): 1231-1234.