

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.20.021

EphB4 和 VEGF 在食管癌中表达与其胸腔镜下根治术疗效的相关性研究

张明灿¹, 游凯¹, 黄一¹, 张明静², 陈虎平¹, 裴家强¹, 龚文清¹, 游振飞¹

(1. 解放军三二四医院心胸外科, 重庆 400000; 2. 解放军后勤工程学院医院门诊部, 重庆 400000)

摘要:目的 探讨促红细胞生成素的肝细胞癌 B4 受体(EphB4)、血管内皮生长因子(VEGF)在食管癌中的表达及其与血管密度的关系,并分析行胸腔镜下根治术的疗效。方法 采用免疫组织化学法检测 76 例食管癌和癌旁组织中 EphB4、VEGF 的表达,使用微血管密度(MVD)值(免疫组织化学 CD34 染色判断)判断组织的血管密度,比较之间的关系。根据 EphB4、VEGF 表达情况分析其与患者在行胸腔镜下根治术淋巴结转移率、复发率和 5 年生存率的关系。结果 EphB4、VEGF 在癌组织的阳性表达率分别为 57.89%、61.84%均显著高于癌旁组织的 0 和 7.89%($P < 0.05$)。MVD 高的患者 EphB4、VEGF 阳性表达率分别为 67.44%和 76.19%,显著高于 MVD 低的患者 45.45%和 44.11%($P < 0.05$)。伴有淋巴结转移组和伴有复发组的 EphB4、VEGF 表达阳性率均显著高于无淋巴结转移组和无复发组的($P < 0.05$);且大于或等于 5 年生存率的患者中 EphB4、VEGF 表达阳性率分别为 45.00%和 45.45%,显著低于小于 5 年生存率的患者 80.36%和 85.19%,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 EphB4 和 VEGF 在食管癌中高表达,与血管密度密切相关,与淋巴结转移、复发及患者 5 年生存率有关;EphB4 和 VEGF 阳性表达者术后疗效较差。

关键词:血管内皮生长因子;食管肿瘤;肝细胞癌 B4 受体;血管密度

中图分类号:R735.1

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2014)20-2600-03

Expression of EphB4 and VEGF in esophageal cancer tissues and their relationship with microvessel density and the curative effect under thoracoscope

Zhang Mingcan¹, You Kai¹, Huang Yi¹, Zhang Mingjing², Chen Huping¹, Pei Jiaqiang¹, Gong Wenqing¹, You Zhenfei¹

(1. Department of Cardiothoracic Surgery, PLA 324 Hospital, Chongqing 400000, China;

2. Outpatient Department, Logistical Engineering University of PLA Hospital, Chongqing 400000, China)

Abstract: Objective To explore the expression of EphB4 and VEGF in esophageal cancer tissues and their relationship with microvessel density (MVD), and analysis the curative effect of postoperative esophageal cancer radical under thoracoscope.

Methods The expression of EphB4 and VEGF was detected by immunohistochemistry in tumor specimens from 76 cases of esophageal squamous cell carcinoma and paratumor normal specimens, used CD34 as marker to count MVD. According to the situation of expression of EphB4 and VEGF, we analysis their relationship with lymph node metastasis rate, recurrence and 5-year survival rate.

Results The positive expression rate of EphB4 and VEGF in cancerous tissue (57.89% and 61.84%), were significantly higher than that in tissue adjacent to carcinoma (0 and 7.89%) ($P < 0.05$). The positive expression rate of EphB4 and VEGF in high MVD values of patients (67.44% and 76.19%), were significantly higher than that in low MVD values of patients (45.45% and 44.11%) ($P < 0.05$). The positive expression rate of EphB4 and VEGF in the patients with lymph node metastasis group and associated with recurrence, were significantly higher than that of group without lymph node metastasis and group without recurrence ($P < 0.05$). The positive expression rate of EphB4 and VEGF in patients of greater than or equal to 5 years of survival rate (45.00% and 45.45%), were significantly lower than in patients of Less than 5 years of survival rate (80.36% and 85.19%) ($P < 0.05$).

Conclusion EphB4 and VEGF are highly expressed in esophageal cancer tissue, which may be closely associated with microvessel density, and lymph node metastasis, recurrence and 5 years survival rate; the curative effect of positive expression rate of EphB4 and VEGF is poor.

Key words: vascular endothelial growth factor; esophageal naolpasms; EphB4; microvessel density

食管癌是临床上较常见的消化道肿瘤,其发病率和致死率都较高。我国是食管癌的高发地区之一,每年的死亡人数在 13 万人以上。寻找食管癌的特异性表达因子不管是对临床疗效、预后的评定,还是对新的治疗方案的选择都具有非常重要的临床价值^[1]。目前,肿瘤微血管密度(MVD)与实体肿瘤的关系越来越受到有关学者的关注。促红细胞生成素的肝细胞癌 B4 受体(EphB4)属于酪氨酸激酶受体家族的一员,在肿瘤的发生、发展过程中用起到重要的作用;血管内皮生长因子(VEGF)被认为是直接参与肿瘤血管生成的基因;MVD 是反映肿瘤生物学行为的指标之一^[2]。但是,食管癌组织中 EphB4

和 VEGF 的表达与 MVD 的关系仍尚未阐明,有关文献报道较少^[3]。因此,本研究旨在探讨 EphB4、VEGF 在食管癌中的表达及其与血管密度的关系,并分析胸腔镜下行根治术的疗效,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2008 年 5 月至 2013 年 8 月经行胸腔镜改良 Ivor-Lewis 根治术治疗的食管癌患者 76 例,其中男 41 例,女 35 例,年龄 38~72 岁,平均(56.24±17.35)岁。病理诊断为鳞癌 50 例,腺癌 18 例,腺鳞癌 8 例;TNM 分期为 I 期 15 例,II 期 20 例,III 期 30 例,IV 期 11 例。并于术中采集全部患

者食管癌组织标本及其对应的癌旁组织。

1.2 试剂与操作方法 EphB4 兔抗人多克隆抗体(1:50)由上海领成生物科技有限公司提供,VEGF 单克隆抗体(1:50)由福州迈新生物技术开发有限公司提供,CD34 鼠抗人单克隆抗体(1:50)由北京翰谱医药生物研究所提供,操作均按说明书进行。采用免疫组织化学法检测癌组织标本及癌旁组织中 EphB4、VEGF、CD34 的表达。用已知阳性标本作阳性对照,用 PBS 代替一抗作阴性对照。实验步骤按试剂盒说明书进行, DAB 显色后用苏木素复染。

1.3 结果判断 EphB4、VEGF 表达:以细胞质、细胞膜和血管内皮细胞中出现棕褐色颗粒为阳性细胞。MVD 表达:参照 Weidner^[4]的方法,先用低倍镜寻找“热点”(血管密集区),换用高倍镜,随机选择 5 个不同视野以计数微血管数(直径大于 50 μm 或管壁含有肌层则不计入范畴),算出平均值为 MVD 值。

1.4 统计学处理 采用 SPSS15.0 统计软件进行分析,计数资料以率表示,采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 EphB4 和 VEGF 在食管癌及癌旁组织中的表达情况 EphB4、VEGF 的阳性表达主要位于细胞质,其次为细胞膜和血管内皮细胞,见图 1、2。EphB4、VEGF 在癌组织的阳性表达率分别为 57.89%、61.84%显著高于癌旁组织的 0 和 7.89% ($P < 0.05$)。见表 1。

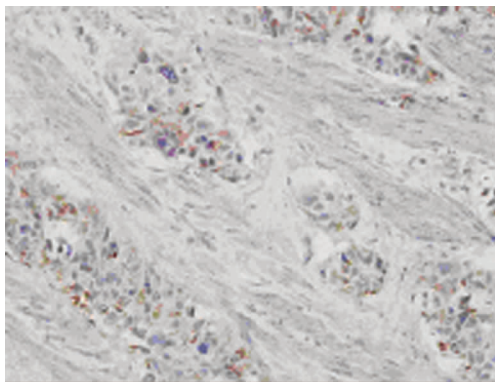


图 1 EphB4 在食管癌组织中的表达(×200)

2.2 EphB4、VEGF 表达与 MVD 的关系 食管癌 EphB4 表达阳性率为 57.89%(44/76),200 倍视野下,MVD 为(28.24±6.32)个,以 28 个为界,评定大于 28 个为 MVD 高组,小于或等于 28 个为 MVD 低组;VEGF 表达阳性率为 61.84%(47/

76),200 倍视野下,MVD 为(36.15±8.73)个,以 36 个为界,评定大于 36 个为 MVD 高组,小于或等于 36 个为 MVD 低组。其中高组的 EphB4、VEGF 阳性表达率分别为 67.44%、76.19%显著高于低组的 45.45%、44.11% ($P < 0.05$)。见表 2。

表 1 EphB4 和 VEGF 在食管癌及癌旁组织中的表达情况

| 组别 | EphB4 | | | VEGF | | |
|------|-------|-------|--------|-------|-------|--------|
| | 阴性(n) | 阳性(n) | 阳性率(%) | 阴性(n) | 阳性(n) | 阳性率(%) |
| 癌组织 | 32 | 44 | 57.89 | 29 | 47 | 61.84 |
| 癌旁组织 | 76 | 0 | 0.00 | 71 | 6 | 7.89 |

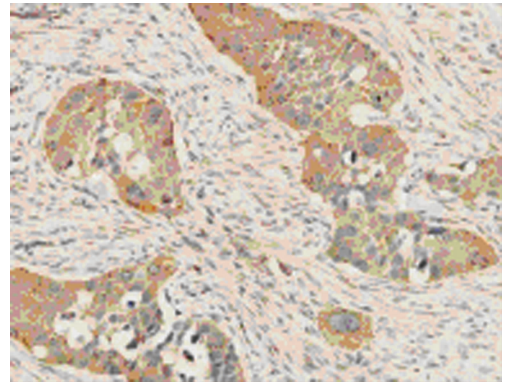


图 2 VEGF 在食管癌组织中的表达(×200)

表 2 EphB4、VEGF 表达与 MVD 的关系

| 组别 | EphB4 | | | VEGF | | |
|--------|-------|-------|--------|-------|-------|--------|
| | 阴性(n) | 阳性(n) | 阳性率(%) | 阴性(n) | 阳性(n) | 阳性率(%) |
| MVD 高组 | 29 | 14 | 67.44 | 32 | 10 | 76.19 |
| MVD 低组 | 15 | 18 | 45.45 | 15 | 19 | 44.11 |

2.3 EphB4、VEGF 表达与患者临床疗效的关系 有淋巴结转移组和有复发组的 EphB4、VEGF 表达阳性率分别为 80.00%、82.22%和 65.21%、72.00%,显著高于无淋巴结转移组和无复发组的 45.16%、58.06%和 32.08%、37.25%,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);大于或等于 5 年生存率的患者中 EphB4、VEGF 表达阳性率分别为 45.00%和 45.45%,显著低于小于 5 年生存率的患者 80.36%和 85.19%,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 EphB4、VEGF 表达与患者临床疗效的关系

| 项目 | EphB4 表达 | | | | VEGF 表达 | | | |
|--------|----------|-------|-------|--------|---------|-------|-------|--------|
| | n | 阴性(n) | 阳性(n) | 阳性率(%) | n | 阴性(n) | 阳性(n) | 阳性率(%) |
| 淋巴结转移 | | | | | | | | |
| 有 | 45 | 36 | 9 | 80.00 | 45 | 37 | 8 | 82.22 |
| 无 | 31 | 14 | 17 | 45.16 | 31 | 18 | 13 | 58.06 |
| 复发 | | | | | | | | |
| 有 | 23 | 15 | 8 | 65.21 | 25 | 18 | 7 | 72.00 |
| 无 | 53 | 17 | 36 | 32.08 | 51 | 19 | 32 | 37.25 |
| 5 年生存率 | | | | | | | | |
| 5 年 | 56 | 45 | 11 | 80.36 | 54 | 46 | 8 | 85.19 |
| ≥5 年 | 20 | 9 | 11 | 45.00 | 22 | 10 | 12 | 45.45 |

3 讨 论

目前已有文献报道, EphB4 在多种癌组织中呈高表达,但在对应的癌旁组织中却低表达,甚至不表达,如:前列腺癌、卵巢癌、子宫内腺癌及膀胱癌等^[5-6]。本研究中,应用免疫组织化学法对 76 例食管癌和癌旁组织中 EphB4 的表达进行检测,结果发现,癌组织中 44 例呈阳性表达,而癌旁组织中阳性表达为 0 例,这与上述报道相吻合。但 VEGF 除了在癌组织中高表达外,还在癌旁组织呈少量表达。本研究结果显示,VEGF 在癌组织中的阳性表达主要位于细胞质和细胞膜,阳性表达率为 61.84%,在癌旁组织的阳性表达率为 7.89%。这与产松苗等^[7]的报道相似。EphB4 和 VEGF 不仅参与食管癌血管的生成,还与淋巴结转移、复发及术后 5 年生存率有关^[8]。本研究结果显示,EphB4 和 VEGF 阳性表达组的淋巴结转移和复发的发生率均显著高于 EphB4 和 VEGF 阴性表达组;大于或等于 5 年生存率的患者中 EphB4、VEGF 表达阳性率分别为 45.00% 和 45.45%,显著低于小于 5 年生存率的患者的 80.36% 和 85.19%。说明,胸腔镜下根治术后 EphB4 和 VEGF 阳性表达的患者,易出现淋巴结转移和复发,且 5 年生存率较低;亦提示 EphB4 和 VEGF 阳性表达者术后疗效较差^[9]。MVD 在肿瘤生长、侵袭及转移的过程中起着重要的作用。CD34 是血管内皮细胞的特异性标志物,通过免疫组织化学 CD34 染色判断可测定 MVD,从而可反映肿瘤组织血管密度的表达水平,且特异性和敏感性更强^[10]。本研究结果发现,MVD 高的患者 EphB4、VEGF 阳性表达率分别为 67.44% 和 76.19%,显著高于 MVD 低的患者 45.45% 和 44.11%。说明 EphB4 和 VEGF 均可促进食管肿瘤血管生成^[11]。

综上所述,EphB4 和 VEGF 在食管癌中高表达,与血管密度密切相关,与淋巴结转移、复发及患者 5 年生存率有关;EphB4 和 VEGF 阳性表达者术后疗效较差。

参考文献:

- [1] Zampeli E, Karamanolis G, Morfopoulos G, et al. Increased expression of VEGF, COX-2, and Ki-67 in Barrett's esophagus; does the length matter[J]. *Dig Dis Sci*, 2012, 57(5): 1190-1196.
- [2] Das A, Shergill U, Thakur L, et al. Ephrin B2/EphB4 pathway in hepatic stellate cells stimulates Erk-depend-

ent VEGF production and sinusoidal endothelial cell recruitment[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2010, 298(6): 908-915.

- [3] 郑庆丰, 柳硕岩, 王海燕, 等. EphB4 及其配体 EphrinB2 在食管鳞癌中表达及其与血管生成的关系[J]. *中国肿瘤临床*, 2013, 20(10): 579-582.
- [4] Weidner N. Current pathologic methods for measuring intratumoral microvessel density within breast carcinoma and other solid tumors[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 1995, 36(2): 169-180.
- [5] 肇丽杰, 王永来. EphB4 受体及其配体 EphrinB2 mRNA 在子宫内腺癌组织中的表达及意义[J]. *中国妇幼保健*, 2008, 23(35): 5049-5051.
- [6] 韩景田, 马玉珍, 张诗武, 等. 酪氨酸蛋白激酶 EphB4 受体在几种癌组织中的表达[J]. *武警医学院学报*, 2006, 15(1): 35-36, 39.
- [7] 产松苗, 欧希龙, 孙为豪, 等. 食管癌组织血管内皮生长因子的表达与血管生成的关系[J]. *江苏医药*, 2011, 37(17): 2034-2037.
- [8] Hasina R, Mollberg N, Kawada I, et al. Critical role for the receptor tyrosine kinase EPHB4 in esophageal cancers[J]. *Cancer Res*, 2013, 73(1): 184-194.
- [9] Jadowiec CC, Feigel A, Yang C, et al. Reduced adult endothelial cell EphB4 function promotes venous remodeling[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2013, 304(7): 627-635.
- [10] Gray RT, O'Donnell ME, McGuigan JA, et al. Quantification of tumour and circulating vascular endothelial growth factor (VEGF) in patients with oesophagogastric cancer: a long-term follow-up study[J]. *Br J Biomed Sci*, 2012, 69(2): 71-75.
- [11] Martiny-Baron G, Holzer P, Billy E, et al. The small molecule specific EphB4 kinase inhibitor NVP-BHG712 inhibits VEGF driven angiogenesis[J]. *Angiogenesis*, 2010, 13(3): 259-267.

(收稿日期: 2014-02-11 修回日期: 2014-03-03)

(上接第 2599 页)

- 防医学, 2012, 39(16): 4301-4303.
- [8] 董平栓, 邢适颖, 王红雷, 等. 血栓抽吸联合替罗非班在急诊冠状动脉介入治疗中的应用[J]. *临床心血管病杂志*, 2011, 27(11): 849-851.
- [9] 郭来敬, 唐强, 胡大一. 国产盐酸替罗非班在急诊经皮冠状动脉介入治疗中临床应用的研究[J]. *临床荟萃*, 2006, 21(23): 1697-1700.
- [10] 宗振方, 董平栓. 急性心肌梗死 PCI 术中慢血流或无复流现象的防治现状[J]. *河南科技大学学报: 医学版*, 2013, 32(1): 73-78.
- [11] 姜红菊, 李润智, 王营, 等. 血栓抽吸导管和替罗非班在急性 ST 段抬高心肌梗死中的应用[J]. *现代医学*, 2009(1): 60-61.

[12] 逢忠利, 梁军涛, 赵永茂, 等. 盐酸替罗非班与硝酸甘油对 AMI 急诊 PCI 术中无复流的影响[J]. *中国疗养医学*, 2010, 18(8): 748-749.

[13] 贾大林, 李丽丽, 齐国先. AMI 急诊 PCI 支架术后无复流现象的临床分析[J]. *医学临床研究*, 2008, 24(11): 1942-1945.

[14] 王瑜, 黄雪汝, 吴伟. 替罗非班及血栓抽吸导管联合应用在急诊 PCI 中的优势探讨[J]. *现代预防医学*, 2012, 39(16): 4301-4303.

[15] 姜红菊, 李润智, 王营, 等. 血栓抽吸导管和替罗非班在急性 ST 段抬高心肌梗死中的应用[J]. *现代医学*, 2009(2): 114-116.

(收稿日期: 2014-02-12 修回日期: 2014-03-15)