

• 论 著 •

eIF4E、VEGF-A 和 VEGF-C 在胃癌组织中的表达及其与淋巴结侵袭转移的相关性^{*}

赵世巧¹, 陈忠余^{1△}, 邓 玮², 胡仁智¹, 黎 敏¹

(1. 重庆市中医院检验科, 重庆 400021; 2. 重庆市第五人民医院病理科, 重庆 400062)

摘 要:目的 通过检测真核细胞起始因子 4E(eIF4E)、血管内皮生长因子(VEGF)-A 和 VEGF-C 蛋白在胃癌组织中的表达,探讨它们在肿瘤侵袭和淋巴结转移过程中的作用。方法 采用免疫组织化学 SP 法检测 58 例胃癌组织和 25 例正常胃黏膜组织中 eIF4E、VEGF-A 和 VEGF-C 蛋白的表达。结果 eIF4E、VEGF-A 和 VEGF-C 在胃癌组织中蛋白表达阳性率分别为 89.7%(52/58)、65.5%(38/58)、60.3%(35/58),明显高于它们在正常胃黏膜组织中的阳性表达率 4.0%(1/25)、12.0%(3/25)、8.0%(2/25),差异均有统计学意义($P<0.05$)。eIF4E、VEGF-A 和 VEGF-C 的阳性表达率与患者的年龄、性别均无明显相关性($P>0.05$),而与肿瘤的浸润深度、淋巴转移及临床分期有关($P<0.05$)。eIF4E 和 VEGF-C 还与肿瘤分化程度有关。胃癌中 eIF4E 的阳性表达与 VEGF-A 和 VEGF-C 均呈正相关。结论 eIF4E 在胃癌的发生、发展中起关键调控作用,VEGF-A 和 VEGF-C 有助于肿瘤浸润和淋巴结转移。联合检测有助于对胃癌恶性程度的判定和评估。

关键词:侵袭; 转移; 真核细胞起始因子 4E; 血管内皮生长因子

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.20.007

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)20-2937-03

The expression of eIF4E, VEGF-A and VEGF-C in gastric carcinoma tissues and their correlation with lymph node invasion and metastasis^{*}

Zhao Shiqiao¹, Chen Zhongyu^{1△}, Deng Wei², Hu Renzhi¹, Li Min¹

(1. Department of Clinical Laboratory, Hospital of Traditional Chinese Medicine of Chongqing, Chongqing 400021, China;

2. Department of Pathology, the 5th People's Hospital of Chongqing City, Chongqing 400062, China)

Abstract:Objective To investigate the expression of eukaryotic initiation factor 4E(eIF4E), vascular endothelial growth factor (VEGF)-A and VEGF-C in gastric cancer tissues and their correlation with invasion and metastasis of gastric carcinoma. **Methods** The expressions of eIF4E, VEGF-A and VEGF-C were detected in tissues of 58 gastric carcinomas and 25 normal gastric mucosa by using immunohistochemical method. **Results** The positive rate of eIF4E, VEGF-A and VEGF-C protein expression were 89.7%(52/58), 65.5%(38/58), 60.3%(35/58) in gastric carcinoma, which were higher than those in normal gastric mucosa tissues which were 4.0%(1/25), 12.0%(3/25), 8.0%(2/25) respectively. Expressions of eIF4E, VEGF-A and VEGF-C were significantly correlated with the depth of invasion and lymph node metastasis($P<0.05$), but not with the age, sex of patients($P>0.05$). Expressions of eIF4E and VEGF-C were significantly correlated with tumor differentiation. The expression of eIF4E was being found positively correlated with VEGF-A and VEGF-C. **Conclusion** eIF4E may play certain roles in the oncogenesis and progression of gastric carcinoma. VEGF-A and VEGF-C may be helpful in lymph metastasis. Combined detection of eIF4E, VEGF-A and VEGF-C may be helpful to assess the malignant degree and prognosis of gastric carcinoma.

Key words: invasion; metastasis; eukaryotic initiation factor 4E; vascular endothelial growth factor

浸润和转移是恶性肿瘤最基本的生物学特征,也是肿瘤患者死亡的主要原因。胃癌亦是如此,肿瘤浸润深度、是否有淋巴结转移或远处转移是决定患者生存时间与治疗方案最重要的因素^[1-2]。本课题以真核细胞起始因子 4E(eIF4E)作为切入点,采用免疫组化同时检测 eIF4E、血管内皮生长因子(VEGF)-A 和 VEGF-C 在不同胃癌组织及正常胃黏膜中的表达及相关性,从而研究 eIF4E 对 VEGF-A 和 VEGF-C 等与侵袭转移有关指标的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料 采用重庆市中医院和重庆市第五人民医院病理科 2012 年 8 月至 2014 年 12 月胃癌手术患者标本 58 例,术前均未经任何治疗,均有完整的病理资料。患者年龄 33~87 岁,中位年龄 63 岁,其中男 37 例、女 21 例。按组织学类型分

为中高分化胃癌 26 例,低分化胃癌 32 例。淋巴结转移 30 例,未转移 28 例。浸及深度:累及浆膜者 31 例,未累及浆膜者 27 例。另通过胃镜取材的正常胃黏膜组织 25 例作正常对照。经 10%甲醛溶液固定,常规石蜡包埋,制成 4 μm 厚切片多张,其中 1 张切片苏木素-伊红(HE)染色后进行病理形态学观察,其余用于免疫组化染色。

1.2 试剂 eIF4E 为鼠抗人单克隆抗体,VEGF-A 和 VEGF-C 为兔抗人多克隆抗体,试剂购自武汉博士德公司,SP 试剂盒和 DAB 试剂盒均购自北京中杉金桥公司。

1.3 免疫组化及判断标准 免疫组化主要步骤参照免疫组化 SP 检测试剂盒说明进行操作。免疫组化染色分析以已知阳性的乳腺癌为阳性对照,以 PBS 替代一抗为阴性对照。eIF4E、VEGF-A 和 VEGF-C 表达的判断标准:选染色均匀的区域,显

^{*} 基金项目:重庆市中医院院内课题培育基金资助项目(2012-1-18)。 作者简介:赵世巧,女,副主任检验技师,主要从事肿瘤学基础研究。

[△] 通讯作者, E-mail: czy904798@sohu.com。

显微镜下随机选择 10 个高倍视野计数,计数 200 个瘤细胞,以阳性瘤细胞占全部瘤细胞的百分比判断。阳性细胞数不少于 10%为阳性(+) ,阳性细胞数小于 10%为阴性(-) 。eIF4E 蛋白阳性细胞为细胞膜和细胞质呈棕黄色染色,主要在细胞质, VEGF-A 和 VEGF-C 主要在肿瘤细胞胞膜和细胞质表达,以细胞质表达为主。

1.4 统计学处理 采用 Excel2003 和 SPSS17.0 软件进行数据处理,计数资料以百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验,相关性采用 Spearman 等级相关分析法, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 eIF4E、VEGF-A 和 VEGF-C 在正常胃黏膜和胃癌中的表达 eIF4E 在胃癌组织中表达率为 89.7%,位于胞膜和胞质中,明显高于在正常胃黏膜的表达,二者差异具有统计学意义($P<0.05$);VEGF-A 和 VEGF-C 在胃癌组织中表达率分别为 65.5%和 60.3%,主要在胞膜和细胞质表达,以细胞质表达为主,明显高于在正常胃黏膜中的表达,二者比较差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 eIF4E、VEGF-A 和 VEGF-C 在正常胃黏膜和胃癌中的表达				
组织类型	n	阳性表达率[% (n/n)]		
		eIF4E	VEGF-A	VEGF-C
正常胃黏膜	25	4.0(1/25)	12.0(3/25)	8.0(2/25)
胃癌组织	58	89.7(52/58)*	65.5(38/58)*	60.3(35/58)*
*: $P<0.05$,与正常胃黏膜比较。				

2.2 胃癌组织中 eIF4E、VEGF-A 和 VEGF-C 与转移的关系 eIF4E、VEGF-A 和 VEGF-C 的阳性表达率与患者是否转移相关,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

表 4 eIF4E、VEGF-A 和 VEGF-C 与胃癌组织病理特征的关系										
指标	n	eIF4E		P	VEGF-A		P	VEGF-C		P
		阳性	阳性率(%)		阳性	阳性率(%)		阳性	阳性率(%)	
年龄(岁)										
<60	28	25	89.3	>0.05	18	64.3	>0.05	17	60.7	>0.05
≥60	30	27	90.0	>0.05	20	66.7	>0.05	18	60	>0.05
性别										
男	37	33	89.2	>0.05	24	64.9	>0.05	22	59.5	>0.05
女	21	19	90.5	>0.05	14	66.7	>0.05	13	61.91	>0.05
组织类型										
中高分化	26	21	80.8	<0.05	17	65.4	>0.05	13	50.0	<0.05
低分化	32	31	96.9	<0.05	21	65.6	>0.05	22	68.8	<0.05
淋巴结转移										
有	30	30	100.	<0.05	24	80.0	<0.05	25	83.3	<0.05
无	28	22	78.6	<0.05	14	50.0	<0.05	10	35.7	<0.05
FIGO 分期										
I ~ II	20	15	75.0	<0.05	10	50.0	<0.05	10	50.0	<0.05
III ~ IV	38	37	97.4	<0.05	28	73.7	<0.05	25	65.8	<0.05
浸润深度										
累及浆膜	31	31	100	<0.05	25	80.6	<0.05	24	77.42	<0.05
未及浆膜	27	21	77.8	<0.05	13	48.1	<0.05	11	40.72	<0.05

表 2 胃癌组织中 eIF4E、VEGF-A 和 VEGF-C 与转移的关系				
有无转移	n	阳性表达率[% (n/n)]		
		eIF4E	VEGF-A	VEGF-C
有	30	100.0(30/30)*	76.7(23/30)*	70.0(21/30)*
无	28	78.5(22/28)	53.6(15/28)	50.0(14/28)
*: $P<0.05$,与无转移比较。				

2.3 胃癌组织中 eIF4E 与 VEGF-A 和 VEGF-C 的相关性 eIF4E 阳性者的 VEGF-A 阳性表达率高于 eIF4E 阴性者($P<0.05$)。eIF4E 阳性者的 VEGF-C 阳性表达率高于 eIF4E 阴性者($P<0.05$)。eIF4E 与 VEGF-A 和 VEGF-C 呈正相关。见表 3。

表 3 胃癌组织中 eIF4E 与 VEGF-A 和 VEGF-C 表达的关系						
eIF4E	VEGF-A			VEGF-C		
	阳性	阴性	合计	阳性	阴性	合计
阳性	36	16	52	34	18	52
阴性	2	4	6	1	5	6
合计	38	20	58	35	23	58

2.4 eIF4E、VEGF-A 和 VEGF-C 的表达与胃癌组织病理特征的关系 eIF4E、VEGF-A 和 VEGF-C 的阳性表达率与患者的性别、年龄均无相关性,与浸润深度、淋巴结转移、临床分期呈正相关。eIF4E 和 VEGF-C 的阳性表达率与肿瘤的分化程度有关。见表 4。

3 讨 论

恶性肿瘤细胞的侵袭和转移是一个多环节多阶段共同调节的过程。肿瘤细胞间血管和淋巴管的生成是肿瘤侵袭转移的关键环节。在恶性肿瘤形成过程中,细胞的增殖需要大量的蛋白合成,eIF4E 作为翻译起始因子,其表达增高是一个必然的事件^[3-4]。eIF4E 的过度表达不仅促进细胞的增生反应,而且更能促进细胞的恶性转化。eIF4E 作为蛋白质生物合成的翻译始动因子,在正常情况下,对翻译水平调控起主要作用。正常情况下,eIF4E 的表达量主要用于维持细胞正常生命活动所需 mRNA 的翻译表达;当过表达时,可以促进各种编码癌蛋白和促癌因子的 mRNA 翻译表达增强,从而促进肿瘤的发生和进展。eIF4E 在肿瘤的侵袭和转移中可能起到中枢性作用,其通过多方面调控恶性肿瘤相关的 mRNA 的翻译,包含细胞有丝分裂过程、激活原癌基因、血管形成、增强自分泌、细胞存活、侵袭及与细胞外环境的交通^[5-6]。本研究结果显示:eIF4E 在胃癌中的表达率明显高于在正常胃组织中的表达率,提示 eIF4E 表达水平对胃黏膜的恶性转化有一定价值。本研究显示 eIF4E 与患者的年龄、性别均无明显相关性($P>0.05$),而与肿瘤的浸润深度、淋巴转移、肿瘤分化程度及临床分期有关($P<0.05$),且其阳性表达率随着肿瘤浸润深度加深、淋巴转移产生、临床分期提高而升高。因此,eIF4E 的过度表达与胃癌的发生及发展相关,其过度表达可以作为胃癌恶性程度的一个分子标志。

癌细胞的过度生长需要足够氧气和其他营养物质支持,因此丰富的肿瘤血管为实体肿瘤的快速生长和侵袭提供了便利的条件。VEGF-A 是迄今为止发现的特异性最高、作用最强的血管生长因子。VEGF-A 的生物学功能包括增强血管内皮细胞有丝分裂,促进血管内皮细胞增殖、刺激新血管生成并增加血管通透性,同时还促进肿瘤淋巴管生长,维持血管正常状态和结构的完整性,进而引起肿瘤细胞生长和转移^[7-10]。VEGF-C 是新发现的一种与 VEGF-A 同源的內皮细胞生长因子,主要作用是诱导淋巴管内皮细胞的增殖、迁徙、并增加淋巴管的通透性。VEGF-C 是首要的淋巴管生长因子,能促进淋巴內皮细胞的增殖。VEGF-C 与 VEGFR-3 结合后形成 VEGF-C-VEGFR-3 信号通道,进而调节淋巴管的生长并促进淋巴转移,另外 VEGF-C 还能使淋巴管扩张,增大肿瘤细胞和淋巴管的接触面积,从而使肿瘤细胞容易进入淋巴管,促进肿瘤细胞发生转移^[11-12]。VEGF-C 还可诱导新生淋巴管与已存淋巴管融合,使肿瘤细胞从新生淋巴管进入淋巴结,发生淋巴结转移,通过淋巴系统向全身其他器官扩散。VEGF-C 还可以促进血管与淋巴管融合,增加肿瘤与血管的接触面积,以便更好地提供氧和营养;还可以增加血管的通透性,有利于肿瘤细胞从血管中穿出到达转移部位。

本研究显示,VEGF-A、C 主要表达于胃癌细胞质和细胞膜,而且实验表明,VEGF-A、C 在胃癌的阳性表达率明显高于在正常胃黏膜组织中的阳性率。且本研究还显示:VEGF-A、C 表达与胃癌患者的年龄和性别无关,而与胃癌组织的临床分期、浸润深度、有无淋巴结转移有关。VEGF-C 表达还与胃癌的分化程度有关。

eIF4E、VEGF-A 和 VEGF-C 在一些肿瘤的血管生成及浸

润转移过程中具有某种内在联系。本研究显示:eIF4E 的表达与 VEGF-A 和 VEGF-C 呈正相关。提示 eIF4E 作为翻译起始因子,能上调 VEGF-A 和 VEGF-C 蛋白的表达。eIF4E 是细胞恶性转化的关键调控因子。有效抑制 eIF4E,进而下调 VEGF-A 和 VEGF-C 的表达,对防治胃癌的淋巴道侵袭转移有重要意义。

综上所述,eIF4E、VEGF-A 和 VEGF-C 在胃癌的发生、发展和侵袭转移中起着重要的作用。联合检测 eIF4E、VEGF-A 和 VEGF-C 有助于对胃癌恶性程度的判断及淋巴道侵袭转移能力的评估,进而为胃癌的预后分析和进一步治疗提供依据。

参考文献

- [1] Graff JR, Konicek BW, Lynch RL, et al. eIF4E activation is commonly elevated in advanced human prostate cancers and significantly related to reduced patient survival[J]. *Cancer Res*, 2009, 69(9): 3866-3873.
- [2] Liang S, Guo R, Zhang Z, et al. Upregulation of the eIF4E signaling pathway contributes to the progression of gastric Cancer, and targeting eIF4E by perifosine inhibits cell growth[J]. *Oncol Rep*, 2013, 29(6): 2422-2430.
- [3] Zhang B, Zhu C, Chen B, et al. Expression and its clinical significance of eIF4E in non-small cell lung Cancer[J]. *Zhongguo Fei Ai Za Zhi*, 2010, 13(12): 1132-1135.
- [4] Wang XL, Cai HP, Ge JH, et al. Detection of eukaryotic translation initiation factor 4E and its clinical significance in hepatocellular carcinoma[J]. *World J Gastroenterol*, 2012, 18(20): 2540-2544.
- [5] Li W, Jin X, Deng X, et al. The putative tumor suppressor microRNA-497 modulates gastric Cancer cell proliferation and invasion by repressing eIF4E[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 449(2): 235-240.
- [6] 杨家佳, 张琳, 郑茂金, 等. 胃癌中 VEGF、NRP1 和干细胞标志物 CD44 的表达及相关性[J]. *临床与实验病理学杂志*, 2015(2): 124-127.
- [7] Wei B, Shi H, Lu X, et al. Association between the expression of T-cadherin and vascular endothelial growth factor and the prognosis of patients with gastric Cancer[J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(2): 2075-2081.
- [8] Dodd KM, Yang J, Shen MH, et al. mTORC1 drives HIF-1 α and VEGF-A signalling via multiple mechanisms involving 4E-BP1, S6K1 and STAT3[J]. *Oncogene*, 2015, 34(17): 2239-2250.
- [9] Bilgic CI, Tez M. Serum VEGF levels in gastric Cancer patients: correlation with clinicopathological parameters[J]. *Turkish Journal Of Medical Sciences*, 2015, 45(1): 112-117.
- [10] 葛艳丽, 张俊杰, 王志荣, 等. 胃癌组织中血管內皮生长因子 C 的表达及其临床意义[J]. *实用癌症杂志*, 2015(2): 159-161.
- [11] 李利义, 罗越, 刘海斌, 等. CXCR4、VEGF-C 和 MMP-9 在胃癌淋巴结转移中的作用及意义[J]. *浙江医学*, 2015, 37(2): 107-110.
- [12] Wang CA, Tsai SJ. The non-canonical role of vascular endothelial growth factor-C axis in Cancer progression[J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2015, 240(6): 718-724.

(收稿日期:2015-05-20)