

DOI:10. 3971/j. issn. 1000-8578. 2009. 08. 013

结肠癌组织 HIF-1 α 和 VEGF-C 的表达及临床意义

李林海¹,高 青²,王永占²,陈 敏³

Expressions of HIF-1 α and VEGF-C in Colon Carcinoma and Their Clinical Implication

LI Lin-hai¹,GAO Qing²,WANG Yong-zhan²,CHEN Min³

1. Department of Gastroenterology, Three Gorge Central Hospital, Chongqing 404000, China;2. Department of Gastroenterology, The First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University;3. Department of Internal Medicine, Chongqing Cancer Hospital

Abstract: Objective To investigate the expression of hypoxia inducible factor-1 α (HIF-1 α) and vascular endothelial growth factor C (VEGF-C) in colon carcinoma, and to evaluate its clinical implication. **Methods** Immunohistochemistry (SP) was used to detect the expression of HIF-1 α and VEGF-C in 45 tissues of colon carcinoma. The relationship between the expression of HIF-1 α and VEGF-C and the clinicopathological parameters was analyzed. **Results** In 45 cases, the positive rate of HIF-1 α was 66.7%. And the positive rate of HIF-1 α in colon cancer tissue expression with lymph node metastasis was higher than that without lymph node metastasis (84.2% vs. 53.8%). The positive rate of VEGF-C was 53.3% in colon carcinoma. The positive rate of VEGF-C expression with lymph node metastasis and that without lymph node metastasis was 73.7% and 38.5% respectively. The expression of HIF-1 α and VEGF-C was closely correlated with lymph node metastasis and the depth of tumor invasion, but no relationship with tumor size, sex and age. The positive expression of HIF-1 α was consistent with the positive expression of VEGF-C. **Conclusion** The expression of HIF-1 α and VEGF-C is correlated with lymph node metastasis in colon carcinoma.

Key words: Colon carcinoma; HIF-1 α ; VEGF-C; Lymph node metastasis

摘要:目的 探讨结肠癌中缺氧诱导因子 1 α (HIF-1 α)和血管内皮生长因子 C(VEGF-C)的表达及其临床意义。**方法** 应用 SP 免疫组织化学技术检测 45 例结肠癌中 HIF-1 α 和 VEGF-C 的表达,并分析其与临床病理特征的关系。**结果** HIF-1 α 在结肠癌中的阳性表达率为 66.7%,其中淋巴结转移阳性组的阳性表达率为 84.2%,淋巴结转移阴性组的阳性表达率为 53.8%,两者比较差异有统计学意义($P<0.05$)。VEGF-C 在结肠癌中的阳性表达率为 53.3%,其中淋巴结转移阳性组的阳性表达率为 73.7%,淋巴结转移阴性组的阳性表达率为 38.5%,两者比较差异有统计学意义($P<0.05$)。结肠癌中 HIF-1 α 和 VEGF-C 的表达与肿瘤淋巴结转移和浸润深度有关,而与肿瘤大小、患者性别、年龄无关。HIF-1 α 与 VEGF-C 的表达呈正相关。**结论** 结肠癌中 HIF-1 α 和 VEGF-C 的表达与淋巴结转移相关。

关键词: 结肠癌; HIF-1 α ; VEGF-C; 淋巴结转移

中图分类号:R735.3⁺5 文献标识码:A 文章编号:1000-8578(2009)08-0676-03

0 引言

HIF-1 α 是一种转录蛋白,调节着与细胞增殖和脉管形成相关的多种基因的转录。HIF-1 α 通过调节新陈代谢和诱导血管形成在肿瘤的生长和转移方面起着重要的作用。VEGF-C 是一种重要的淋巴管生成因子,研究发现其在多种恶性肿瘤中呈高表达,

与肿瘤的增殖和转移关系密切。本研究通过免疫组化检测 45 例结肠癌组织中 HIF-1 α 与 VEGF-C 的表达及其与临床病理特征的关系。

1 资料和方法

1.1 资料

重庆医科大学附属第一医院 1999 年~2000 年手术切除的结肠癌组织标本 45 例,术后均经病理诊断,其中男 27 例,女 18 例,年龄 29 岁~80 岁,平均年龄 59.2 岁。术前均未接受放疗和化疗。兔抗人 HIF-1 α 多克隆抗体购自武汉博士德生物工程有限公司,

收稿日期:2008-06-27;修回日期:2008-09-27
作者单位:1. 404000 重庆三峡中心医院消化内科;2. 重庆医科大学附属第一医院消化内科;3. 重庆市肿瘤医院内科
作者简介:李林海(1981-),男,硕士,医师,主要从事胃肠道肿瘤的研究

即用型兔抗人 VEGF-C 多克隆抗体和免疫组化 SP 试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.2 方法

免疫组织化学染色采用链酶卵白素-生物素过氧化物酶法(streptavidin peroxidse, SP)。HIF-1 α 抗体稀释倍数为 1:100,DAB 显色,苏木精复染,染色步骤严格按说明书进行。

1.3 结果判定

对每张切片阳性细胞的阳性强度按无着色、淡黄色、棕黄色和棕褐色分别记 0、1、2、3 分,着色面积按无着色、着色<1/3、1/3~2/3、>2/3 分别记 0、1、2、3 分,然后根据两项记分之和判断其结果:<3 为阴性,≥3 为阳性。

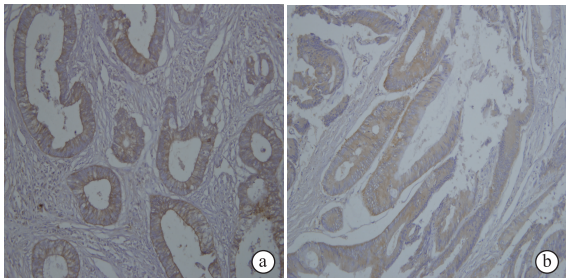
1.4 统计学方法

所有数据应用 SPSS 13.0 软件。HIF-1 α 和 VEGF-C 表达水平的组间比较采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义,HIF-1 α 和 VEGF-C 表达的相关性用 Spearman 等级相关分析。

2 结果

2.1 HIF-1 α 和 VEGF-C 在结肠癌中的表达

HIF-1 α 和 VEGF-C 在结肠癌中阳性表达者分别为 30 例和 24 例。VEGF-C 主要表达于肿瘤细胞的胞质,呈棕黄色,大多数细胞呈弥漫均一染色;HIF-1 α 阳性主要表达于肿瘤细胞的胞质,呈棕黄色,见图 1。



a:The positive expression of HIF-1 α in colon cancer tissue,and it is mainly localized in the cytoplasm of cells;b: The expression of VEGF-C in colon cancer with immunohistochemistry, which is mainly localized in the cytoplasm of cells

图 1 HIF-1 α 、VEGF-C 在结肠癌中的阳性表达(SP×200)
Figure 1 The expression of HIF-1 α and VEGF-C in colon cancer with immunohistochemistry (SP×200)

2.2 HIF-1 α 、VEGF-C 的表达与结肠癌的临床病理因素的关系

在淋巴结转移阳性组中,HIF-1 α 、VEGF-C 的阳性表达率分别为 84.2%(16/19)和 73.7%(14/19),与淋巴结转移阴性组比较差异有统计学意义

($P<0.05$)。T3~T4 期 HIF-1 α 、VEGF-C 的阳性表达率明显高于 T1~T2 期($P<0.05$)。而 HIF-1 α 、VEGF-C 的表达与患者的年龄、性别、肿瘤大小无关($P>0.05$),见表 1。

表 1 HIF-1 α 和 VEGF-C 表达与结肠癌临床病理的关系
Table 1 Relationship between the expression of HIF-1 α , VEGF-C and clinicopathological parameters in colon cancer

Item	n	HIF-1 α expression		VEGF-C expression	
		Positive	P	Positive	P
Age(years)					
≥60	24	15		13	
<60	21	15	0.526	11	0.905
Gender					
Male	27	17		14	
Female	18	13	0.519	10	0.807
Tumor size					
≤4cm	25	15		14	
>4cm	20	15	0.289	10	0.688
Depth of tumor invasion					
T1~T2	9	3		2	
T3~T4	36	27	0.018	22	0.036
Lymph node metastasis					
Positive	19	16		14	
Negative	26	14	0.033	10	0.019

2.3 HIF-1 α 与 VEGF-C 表达的相关性

20 例(44.4%)结肠癌均表达 HIF-1 α 与 VEGF-C,10 例 HIF-1 α 表达阳性而 VEGF-C 表达阴性,4 例 VEGF-C 表达阳性 HIF-1 α 表达阴性。HIF-1 α 与 VEGF-C 表达一致的符合率为 73.3%,两者表达呈正相关,见表 2。

表 2 HIF-1 α 与 VEGF-C 表达的相关性
Table 2 The relationship between the expression of VEGF-C and HIF-1 α in colon cancer

	VEGF-C positive	VEGF-C negative
HIF-1 α positive	20	10
HIF-1 α negative	4	11

$r=0.378,P<0.05$

3 讨论

远处转移是恶性肿瘤的重要生物学特征,也是肿瘤难以彻底根治的主要因素。研究表明:大多数上皮起源的肿瘤以淋巴结转移为主,且发生较早。结肠癌是胃肠道中常见的恶性肿瘤之一,在决定结肠癌预后的众多因素中,淋巴结转移是其中一个因素。

HIF-1 是由 HIF-1 α 和 HIF-1 β 两个亚基组成的异源二聚体蛋白,其中 HIF-1 α 主要控制着 HIF-1 蛋白的稳定和转活。HIF-1 α 在肿瘤中的过度表达

与血管浓度、肿瘤浸润及预后相关。Griffiths EA 等研究发现胃癌浸润边缘 HIF-1 α 的表达与淋巴转移相关^[1]。Kurokawa 等^[2]在对食管癌的研究中也发现,HIF-1 α 的高表达与肿瘤浸润深度、淋巴转移等相关。本研究发现,结肠癌中 HIF-1 α 的阳性表达率在淋巴转移阳性组明显高于淋巴转移阴性组,且随着浸润深度的增加,HIF-1 α 的阳性表达率也明显增加,提示结肠癌中 HIF-1 α 的表达与肿瘤浸润、淋巴转移相关。

VEGF-C 是 VEGF 家族的新成员,被认为是首要的淋巴管内皮细胞特异性调节因子^[3],它可激活淋巴管内皮细胞上的特异受体 VEGFR-3,通过蛋白激酶 C 依赖的 P42/P44 促分裂原活化激酶 (MAPK) 和磷酸肌醇-3 依赖的丝-苏氨酸激酶 (Akt)磷酸化的信号转导通路促进淋巴管内皮的存活与增殖^[4],诱导瘤周淋巴管生成,从而促进肿瘤的淋巴转移。Tsutsumi 等^[5]运用免疫组化分析发现,VEGF-C 的阳性表达与胃癌的浸润深度、淋巴转移明显相关。Skobe 等^[6]通过转基因技术使人乳腺癌细胞株 MDA-MB-435 过表达 VEGF-C,再将其植入免疫缺陷小鼠体内,发现瘤周的淋巴管高度增生、扩张,促进区域淋巴转移。本研究证明,VEGF-C 在淋巴转移阳性的结肠癌中表达的阳性率为 73.7%,而在淋巴转移阴性的阳性率为 38.5%,两者之间差异有统计学意义($P<0.05$),提示结肠癌中 VEGF-C 的表达与淋巴转移相关。同时本研究还发现 VEGF-C 在随结肠癌浸润深度的增加阳性表达率增加。这说明 VEGF-C 在结肠癌的浸润和淋巴转移过程中起着重要的作用。

Tao 等^[7]发现 HIF-1 α 阳性的胰腺癌中 VEGF-C 的阳性表达率明显高于 HIF-1 α 阴性的胰腺癌,HIF-1 α 的表达与 VEGF-C 的表达呈正相关。Katsuta 等^[8]研究发现在食管癌中 HIF-1 α 、VEGF-C 的高表达促进了淋巴转移,且两者的表达密切相关。本研究所得结论与上述研究一致,我们发现在结肠

癌中 HIF-1 α 、VEGF-C 的表达与淋巴转移密切相关,两者的表达呈正相关($r=0.378,P<0.05$)。这提示 HIF-1 α 与 VEGF-C 在促进结肠癌淋巴转移的过程中起协同作用。但其具体机制还有待进一步研究。

总之,本研究证明了 HIF-1 α 与 VEGF-C 的表达与结肠癌淋巴转移密切相关,以 HIF-1 α 、VEGF-C 为靶点的治疗策略能够抑制肿瘤的淋巴转移。

参考文献:

[1] Griffiths EA, Pritchard SA, Valentine HR, et al. Hypoxia-inducible factor-1alpha expression in the gastric carcinogenesis sequence and its prognostic role in gastric and gastro-oesophageal adenocarcinomas[J]. Br J Cancer, 2007, 96(1): 95-103.

[2] Kurokawa T, Miyamoto M, Kato K, et al. Overexpression of hypoxia inducible -factor 1alpha (HIF-1alpha) in oesophageal squamous cell carcinoma correlates with lymph node metastasis and pathologic stage[J]. Br J Cancer, 2003, 89(6): 1042-1047.

[3] Jeltsch M, Kaipainen A, Joukov V, et al. Hyperplasia of lymphatic vessels in VEGF-C transgenic mice[J]. Science, 1997, 276(5317): 1423-1425.

[4] Mäkinen T, Veikkola T, Mustjoki S, et al. Isolated lymphatic endothelial cells transduce growth, survival and migratory signals via the VEGF-C/D receptor VEGFR-3 [J]. EMBO J, 2001, 20(17): 4762-4773.

[5] Tsutsumi S, Kuwano H, Shimura T, et al. Vascular endothelial growth factor C (VEGF-C) expression in pT2 gastric cancer [J]. Hepatogastroenterology, 2005, 52(62): 629-632.

[6] Skobe M, Hawighorst T, Jackson DG, et al. Induction of tumor lymphangiogenesis by VEGF-C promotes breast cancer metastasis[J]. Nat Med, 2001, 7(2): 192-198.

[7] Tao J, Li T, Li K, et al. Effect of HIF-1alpha on VEGF-C induced lymphangiogenesis and lymph nodes metastases of pancreatic cancer[J]. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci, 2006, 26(5): 562-564.

[8] Katsuta M, Miyashita M, Makinoa H, et al. Correlation of hypoxia inducible factor-1a with lymphatic metastasis via vascular endothelial growth factor-C in human esophageal cancer[J]. Exp Mol Pathol, 2005, 78(2): 123-130.

[编辑校对:刘红武]