

CD105、COX-2 和 VEGF 在结直肠癌中的表达及其与血管新生的关系

蔡瑞霞, 盛霞, 袁志浩, 叶增强

Expression of CD105, COX-2 and VEGF and Their Relationship with Angiogenesis in Colorectal Carcinoma

CAI Rui-xia, SHENG Xia, YUAN Zhi-hao, YE Zeng-qiang

Department of Pathology, Putuo Hospital Affiliated of Shanghai Traditional Chinese Medicine University, Shanghai 200062, China

Abstract: **Objective** To investigate the expression CD105 in newborn vessel of COX-2 and VEGF in colorectal carcinoma and their relationship with angiogenesis. **Methods** Immunohistochemical staining (S-P method) for CD105, COX-2 and VEGF was performed in 58 cases of colorectal carcinoma; the microvessel density (MVD) was marked by CD105. **Results** The value of MVD with marked CD105 was (36.50 ± 9.59) , the positive rate of COX-2 and VEGF were respectively 69% and 67.2%. The MVD in COX-2 positive group or VEGF positive group was significantly higher than that in COX-2 negative group or VEGF negative group ($P < 0.01$). The MVD in the group of both COX-2 and VEGF positive was significantly higher than that in both negative groups. There was a significant positive correlation between the expression of COX-2 and VEGF. **Conclusion** CD105 was a specific marker of newborn vessel in colorectal carcinoma; COX-2 was correlated to angiogenesis and VEGF may be an important mediator in this process.

Key words: Colorectal cancer; CD105; COX-2; VEGF; Microvessel density (MVD)

摘要: **目的** 探讨结直肠癌中 CD105 在新生血管中的表达, 环氧化酶(COX-2)和血管内皮生长因子(VEGF)表达及其与血管生成的关系。 **方法** 应用免疫组化 SP 法检测 58 例结直肠癌 CD105 表达的微血管密度, 以及 COX-2、VEGF 的表达。 **结果** 58 例结直肠癌中, CD105 表达的 MVD 值为 (36.50 ± 9.59) , COX-2 和 VEGF 的阳性表达率分别为 69% 和 67.2%。 COX-2 或 VEGF 表达阳性组的 MVD 值显著高于 COX-2 或 VEGF 表达阴性组 ($P < 0.05$)。 COX-2 和 VEGF 均阳性组的 MVD 值显著高于均阴性组 ($P < 0.01$)。 COX-2 与 VEGF 表达显著正相关; COX-2、VEGF 表达均与 MVD 显著正相关 ($P < 0.01$)。 **结论** CD105 是结直肠癌新生血管的特异性标记物, COX-2 表达与结直肠癌血管生成有关, VEGF 可能是 COX-2 诱导血管生成的重要介质。

关键词: 结直肠癌; CD105; COX-2; VEGF; 微血管密度

中图分类号: R735.3⁺4; R735.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-8578(2007)01-0125-03

0 引言

肿瘤的生长和转移依赖于肿瘤组织中新生血管的形成。CD105 是近年来新发现的肿瘤组织新生血管特异性标记物。COX-2 在多种肿瘤组织中过度表达, 参与肿瘤的发生发展, 并与血管生成有关。VEGF 是重要的血管生成因子。本文应用免疫组化技术, 检测结直肠癌中 CD105、COX-2 和 VEGF 的表达, 探讨 COX-2 和 VEGF 与 CD105 表达的新生血管的关系。

1 资料与方法

1.1 资料 收集我院 2003 年 1 月 ~ 2004 年 6 月间手术切除并经病理证实为结直肠癌的根治标本 58 例, 其中男性 31 例, 女性 27 例。年龄 27 ~ 90 岁, 平均 61.7 岁。患者术前未接受过化疗或放疗。

1.2 方法 本组标本均经 10% 中性福尔马林固定, 常规石蜡包埋, 5 μ m 连续切片。免疫组化采用 SP 法。CD105 和 COX-2 均为鼠抗人单克隆抗体, 购自北京中山生物技术公司。VEGF (鼠抗人单克隆抗体) 及 SP 试剂盒购自福州迈新生物技术公司。

1.3 结果判定 CD105 阳性判定以血管内皮细胞呈棕黄色为标准。微血管密度 (Microvessel density, MVD) 计数按 Weindner 评判标准进行: 凡棕黄色单个内皮细胞或内皮细胞簇均为 1 个血管计数;

收稿日期: 2006-01-27; 修回日期: 2006-06-27

作者单位: 200062 上海中医药大学附属普陀医院病理科

作者简介: 蔡瑞霞 (1945-), 女, 本科, 主任医师, 主要研究胃肠道肿瘤病理

肌层较厚及管腔 > 8 个红细胞直径的血管不计数。每张切片在低倍镜下计数 3 个视野,取其平均值为该例的 MVD 值。VEGF 和 TGF-β1 的阳性判定为 10 %以上的瘤细胞质和(或)细胞膜呈棕黄色者为标准。

1.4 统计学处理 MVD 值以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 10.0 软件包进行 *t* 检验和 Spearman 等级相关分析, *P* < 0.05 有统计学意义。

2 结果

2.1 CD105 和 COX-2、VEGF 在结直肠癌中的表达

CD105 显示的新生血管分布不均匀,大多局限于肿瘤实质边缘的间质(见图 1)。新生血管呈点、线、簇状结构,有管腔样结构形成,腔不规则,壁薄无平滑肌形成,癌旁正常组织的血管内皮大多呈阴性,极少数血管呈微弱的阳性。

58 例结直肠癌中,CD105 表达的 MVD 为 21.3 ~ 60.0,平均 36.50 ± 9.59 。结直肠癌 COX-2 表达阳性率为 69.0 % (40/58),阳性染色主要集中在癌细胞的胞质(见图 2),血管内皮细胞、纤维细胞和平滑肌细胞亦有散在的阳性表达。VEGF 在结直肠癌的阳性表达率为 67.2 % (39/58),阳性染色主要位于癌细胞胞质内(见图 3),且在肿瘤边缘的癌细胞表达较强,某些血管内皮细胞也有阳性表达。

2.2 COX-2、VEGF 表达与 MVD 的关系

结直肠癌组织 COX-2 或 VEGF 表达阳性组的 MVD 值显著高于 COX-2 或 VEGF 表达阴性组 (*P* < 0.05)。COX-2 和 VEGF 均阳性组的 MVD 值显著高于均阴性组 (*P* < 0.01)。

表 1 COX2、VEGF 和 MVD 的关系

指标	VEGF(+) MVD	VEGF(-) MVD	合计
COX-2(+)	31 (41.14 ± 8.61) *	9 (39.97 ± 12.29)	40 (38.6 ± 9.53) **
COX-2(-)	8 (38.26 ± 7.79)	10 (29.15 ± 5.55) *	18 (31.83 ± 8.14) **
合计	39 (38.79 ± 8.46) ***	19 (31.8 ± 10.27) ***	58 (36.5 ± 9.59)

注:两组间比较: * *P* < 0.01, ** *P* < 0.05, *** *P* < 0.01

2.3 COX-2、VEGF 和 MVD 之间的相互关系

经 Spearman 等级相关分析发现,COX-2 与 VEGF 表达显著正相关(*r* = 0.28, *P* < 0.01),COX-2 与 MVD 表达显著正相关(*r* = 0.33, *P* < 0.01),VEGF 与 MVD 表达显著正相关(*r* = 0.27, *P* < 0.01)。

3 讨论

20 世纪 70 年代初,Folkman 首先提出肿瘤血管生成的理论,认为肿瘤在新生血管形成以前,只能生长到 1 ~ 2mm³,不会发生转移;在新生血管形成以后,肿瘤会成倍增长,转移的机会随之增加。现已公认,肿瘤血管生成是肿瘤生长和转移的必要条件。

微血管密度是衡量肿瘤血管生成的量化指标,一般应用 F Ag、CD31、CD34 来标记肿瘤血管。CD105 基因位于人染色体 9q34,其蛋白是一种同型二聚体的膜结合糖蛋白,分子量为 180kd,是转化生长因子(TGF-β)受体复合物的成分之一,其功能是参与血管生成^[2-4]。CD105 是一种内皮细胞标志物,与其他内皮标记物不同,其仅在处于增殖状态的肿瘤组织血管内皮细胞上(即新生的血管内皮细胞)上强表达,而在正常的组织血管上无表达^[1]。有文献研究表明,CD105 检测肿瘤组织中的新生血管与 CD34 等比较,具有更高的特异性^[5,6]。我们的研究结果表明,CD105 表达的微血管大多分布于肿瘤实质边缘,新生血管呈点线状,管腔不明显,管壁薄弱,在正常组织血管无表达。说明 CD105 标记新生血管的特异性,其分布边缘的特点也提示可能与细胞周期有关^[7]。

环氧化酶(COX)是催化花生四稀酸合成前列腺素的关键限速酶,其存在 COX-1 和 COX-2 两个亚型。COX-2 是一种诱导性即刻反应基因,大多数正常组织不表达,但在细胞因子、生长因子、癌基因及各种促癌因素的刺激下迅速上调,参与肿瘤的发生发展^[8,9]。本研究发现,69.0 % 的结直肠癌组织 COX-2 阳性表达,提示 COX-2 参与结直肠癌的发生发展。另外,COX-2 与血管生成的关系最近受到人们的关注。研究发现,COX-2 不仅在恶性肿瘤的细胞内高表达,而且在肿瘤组织中新生血管的内皮细胞,基质的单核巨噬细胞及纤维母细胞内强表达,提示 COX-2 可能参与血管生成。我们的研究结果表明:(1) COX-2 阳性染色不仅见于肠癌细胞,而且肠癌组织中的血管内皮细胞也有表达;(2) COX-2 阳性组的 MVD 明显高于阴性组,有显著性差异 (*P* < 0.05);(3) COX-2 的表达与 CD105 表达的 MVD 呈显著正相关,与文献报道相似^[10]。上述结果均提示 COX-2 高表达与诱导结直肠癌血管生成有密切关系。

肿瘤血管生成受许多血管生成因子与抑制因子的调节。血管内皮细胞生长因子(VEGF)是最强有力的血管生成因子,其是一种糖基化分泌性多肽因子,是高度特异的血管内皮分裂素。VEGF 的功能主要是使内皮细胞分裂增殖、血管构建和升高血管

的通透性。一些血管生成因子的血管生成作用是通过增强 VEGF 的表达及生成作用来实现的。有资料证实,转染 COX-2 基因的结直肠癌细胞株,在体外使 VEGF 的生成量比未转染的细胞株增加 4~8 倍,而 COX-2 抑制剂可使 VEGF 的量恢复到基础水平^[11]。本研究中,COX-2 表达与 VEGF 呈正相关($P<0.01$);COX-2、VEGF 均表达阳性的结直肠癌 MVD 明显高于两者均阴性组($P<0.01$);提示 COX-2 可能通过诱导 VEGF 表达上调,参与结直肠癌的血管生成,从而促进结直肠癌生长。

综上所述,CD105 是结直肠癌新生血管的特异性标记物,COX-2 与结直肠癌血管生成有关,而 VEGF 可能是使 COX-2 促进结直肠癌血管生成的重要介质。因此,抑制 COX-2 活性的药物,对结直肠癌患者的治疗可能有新的前景^[12]。

(本文图见插页)

参考文献:

[1] Wikstrom P, Lissbrant LF, Stattin P, et al. Endoglin (CD105) is expressed on immature blood vessels and is a marker for survival in prostate cancer[J]. Prostate, 2002, 51(4): 268-275.
[2] Fosnatti E, Sigalotti L, Arslan P, et al. Emerging role of endoglin (CD105) as a marker of angiogenesis with clinical in human malignancies[J]. Curr cancer drug targets, 2003, 3(6): 427-432.
[3] Li C, Gardy R, Seon BK, et al. Both high intratumoral microvessel density determined using CD105 antibody and elevated

plasma levels of CD105 in colorectal cancer patients correlate with poor prognosis[J]. Br J cancer, 2003, 88(9): 1424-1431.
[4] Saad RS, Liu YL, Nathan G, et al. Endoglin (CD105) and vascular endothelial growth factor as prognostic markers in colorectal cancer[J]. Mod Pathol, 2004, 17(2): 197-203.
[5] Akagi K, Ikeda Y, Sumiyoshi Y, et al. Estimation of angiogenesis with anti-CD105 immunostaining in the process of colorectal cancer development[J]. Surgery, 2002, 131: s109-113.
[6] Kumar S, Ghellal A, Li C, et al. Breast carcinoma vascular density determined using CD105 antibody correlates with tumor prognosis[J]. Cancer Res, 1999, 59(4): 856-861.
[7] Miller DW, Graulich W, Karges B, et al. Elevated expression of endoglin a component of the TGF-beta-receptor complex, correlates with proliferation of tumor endothelial cells[J]. Int J Cancer, 1999, 81(4): 568-572.
[8] 罗伟仁, 陈小毅. 环氧化酶-2 与肿瘤的关系[J]. 肿瘤防治研究, 2006, 33(1): 62-64.
[9] 汪洋, 林从尧, 周夏. 大肠癌中 β -catenin 表达及与 COX-2、VEGF 表达的关系[J]. 肿瘤防治研究, 2006, 33(1): 20-22.
[10] Masunaga R, Kahmo H, Dhar Dk, et al. cyclooxygenase-2 expression correlates with tumor neovascularization and prognosis in human colorectal carcinoma patients[J]. Clin Cancer Res, 2000, 6(10): 4064-4068.
[11] Tsujii M, Kawano S, Tsuji S, et al. Cyclooxygenase regulates angiogenesis induced by clone cancer cells[J]. cell, 1998, 93(5): 705-716.
[12] Masferrer JL, Leane KM, Koki AT, et al. Antiangiogenic and antitumor activities of cyclooxygenase-2 inhibitors[J]. Cancer Res, 2000, 60(3): 1306-1311.

[编辑:周永红]

(上接第 108 页)

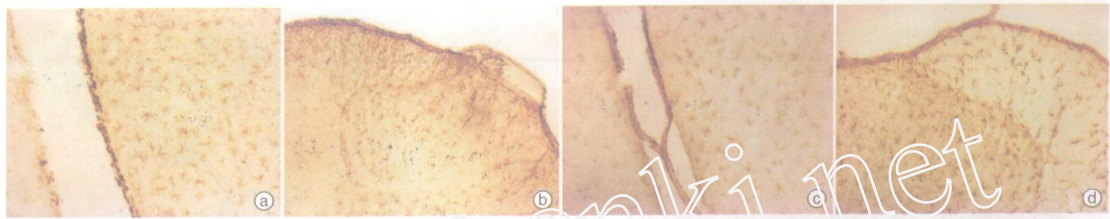
[4] Eid H, Geczi L, Magori A, et al. Drug resistance and sensitivity of germ cell testicular tumors: evaluation of clinical relevance of MDR1/ P-gp, P53, and metallothionein(MT) proteins[J]. Anticancer Res, 1998, 18(4c): 3059-3064.
[5] Xu M, Li J, Xia Q. Expression of multidrug resistance-associated protein gene in non-small cell lung cancer[J]. Zhonghua jiehe he huxi za zhi(Chinese journal of tuberculosis and respiratory diseases), 1999, 22(5): 268-270.
[6] Wright SR, Boag AH, Valdimarsson G, et al. Immunohistochemical detection of multidrug resistance protein in human lung cancer and normal lung[J]. Clinical cancer reserch, 1998, 4(9): 2279-2289.
[7] Doubre H, C sari D, Mairovitz A, et al. Multidrug resistance-associated protein (MRP1) is overexpressed in DNA aneuploid carcinomatous cells in non-small cell lung cancer (NSCLC)[J]. Int J Cancer, 2005, 113(4): 568-574.
[8] Ikerda K, Dka M, Narasaki F, et al. Lung resistance-related protein gene expression and drug sensitivity in human gastric and cancer cells[J]. Anticancer Res, 1998, 18(4c): 3077-3080.
[9] Berger W, Elbling L, Micksche M. Expression of the major

vault protein LRP in human non-small cell lung cancer cells: activation by short-term exposure to antineoplastic drugs[J]. Int J Cancer, 2000, 88(2): 293-300.
[10] Ryb áov áS, Hajdukov áM, Hodorov áI, et al. Expression of the multidrug resistance-associated protein 1 (MRP1) and the lung resistance-related protein (LRP) in human lung cancer[J]. Neoplasma, 2004, 51(3): 169-174.
[11] Nakanishi Y, Kawasaki M, Bai F, et al. Expression of p53 and glutathione S-transferase-pi relates to clinical drug resistance in non-small cell lung cancer[J]. Oncology, 1999, 57(4): 318-323.
[12] Unsal M, Akpolat I, Kandemir B. Glutathione-S transferase-pi expression in non-small cell lung cancer in the assessment of response to chemotherapy[J]. Saudi Med J, 2003, 24(5): 493-498.
[13] Kreisholt J, Sorensen M, Jensen PB, et al. Immunohistochemical detection of DNA topoisomerase alpha, P-glycoprotein and multidrug resistance protein(MRP) in non-small-cell lung cancer[J]. British Journal of Cancer, 1998, 77(9): 1469-1473.

[编辑:刘红武]

长春新碱致神经病理性疼痛模型中胶质细胞及IL-1 β 、GDNF表达的变化

(正文见 93 页)



a. GFAP 在中央导水管周围灰质中的表达 b. GFAP 在脊髓背角中的表达
c. OX-42 在中央导水管周围灰质中的表达 d. OX-42 在脊髓背角中的表达
图 2 给药组胶质细胞在中央导水管周围灰质及脊髓背角中的活化 (DAB $\times 100$)

应用自制组织芯片研究抑癌基因 PTEN 在口腔鳞癌中的表达

(正文见 100 页)

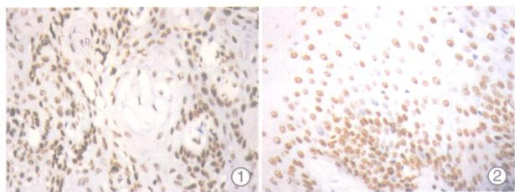


图 1 PTEN 在口腔鳞癌中的表达 (SP $\times 200$)
图 2 PTEN 在正常口腔粘膜中的表达 (SP $\times 200$)

脆性组氨酸三联体基因及 p53 基因在肺癌组织中的表达及意义

(正文见 109 页)

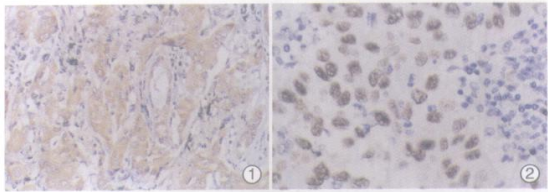


图 1 FHIT 在肺癌组织中的表达 (SP $\times 400$)
图 2 p53 在肺癌组织中的表达 (SP $\times 400$)

CD105、COX-2 和 VEGF 在结直肠癌中的表达及其与血管新生的关系

(正文见 125 页)

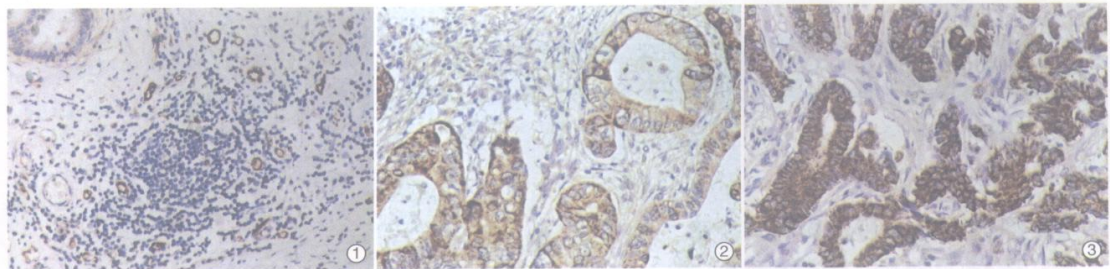


图 1 CD105 在结直肠癌微血管中的表达 (SP $\times 100$) 图 2 COX-2 在结直肠癌中的表达 (SP $\times 200$)
图 3 VEGF 在结直肠癌中的表达 (SP $\times 200$)