

# 食管鳞状细胞癌中 VEGF 和 nm23 表达和临床意义

鲍正齐<sup>1</sup>, 陶仪声<sup>2</sup>, 马莉<sup>2</sup>, 汪国文<sup>3</sup>, 唐劲天<sup>4</sup>, 柴大敏<sup>2</sup>

1. 蚌埠医学院第一附属医院, 安徽蚌埠 233003
2. 蚌埠医学院第一附属医院病理科, 蚌埠医学院病理学教研室, 安徽蚌埠 233003
3. 蚌埠医学院第一附属医院胸心外科, 安徽蚌埠 233003
4. 清华大学医学物理与工程研究所, 北京 100084

**摘要** 探讨 VEGF 和 nm23 基因产物表达与食管鳞状细胞癌 (ESCC) 临床病理指标及预后的关系, 应用免疫组织化学 Elivision 法对食管癌组织和癌旁正常食管黏膜组织中 VEGF 蛋白和 nm23 蛋白进行检测。结果表明, 90 例食管癌组织中 VEGF 蛋白 56 例高表达, 19 例低表达, 15 例不表达, 阳性率为 83.33%, 在 28 例正常黏膜组织中 6 例低表达, 阳性率为 21.42%, 两者比较具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 90 例食管癌组织中 nm23 蛋白 24 例高表达, 23 例低表达, 43 例不表达, 阳性率为 52.22%, 在 28 例正常食管黏膜组织中 23 例表达, 5 例不表达, 阳性率为 82.14%, 两者比较具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。无食管癌旁淋巴结转移组的 nm23 阳性表达率 64% (32/50) 较有转移组的表达率 37.5% (15/40) 高, 有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。VEGF 和 nm23 的表达与分化程度、浸润深度无关 ( $P > 0.05$ )。由此表明, VEGF 阳性伴 nm23 阴性表达的患者发生淋巴结转移的可能性大, VEGF 和 nm23 在食管癌中的表达与食管癌的发生、发展、浸润、转移和预后密切相关, 可作为临床预测浸润转移和估计预后的重要参考指标。

**关键词** 食管癌; 免疫组化; 血管内皮生长因子; 转移抑制基因 23

**中图分类号** R735

**文献标识码** A

**文章编号** 1000-7857(2010)22-0095-05

## Expressions of Vascular Endothelial Growth Factor and Non-Metastasis 23 in Esophageal Squamous Cell Carcinoma and Their Clinical Significance

BAO Zhengqi<sup>1</sup>, TAO Yisheng<sup>2</sup>, MA Li<sup>2</sup>, WANG Guowen<sup>3</sup>, TANG Jintian<sup>4</sup>, CHAI Damin<sup>2</sup>

1. The First Affiliated Hospital of Bengbu Medical Collge, Bengbu 233003, Anhui Province, China
2. Department of Pathology of Bengbu Medical Collge, Pathology Department of the First Affiliated Hospital of Bengbu Medical Collge, Bengbu 233003, Anhui Province, China
3. Department of Cerebral Surgery of the First Affiliated Hospital of Bengbu Medical Collge, Bengbu 233003, Anhui Province, China
4. Institute of Medical Physics and Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084, China

**Abstract** This paper investigates the expressions of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and non-metastasis 23 in esophageal squamous cell carcinoma and their clinical significance. The expressions of VEGF and nm23 proteins were detected by Elivision immunohistochemical method. The positive rate of VEGF protein in 90 cases of ESCC was 83.33%, with 56 cases of high expression, 19 cases of low expression and 15 cases of no expression. The positive rate of VEGF protein in 28 cases of normal esophageal epithelium was 21.42% (6/28) ( $P < 0.05$ ). The positive rate of nm23 protein in 90 cases of ESCC was 52.22%, with 24 cases of high expression, 23 cases of

收稿日期: 2010-09-27, 修回日期: 2010-11-02

基金项目: 安徽省高等学校优秀青年人才基金项目 (2009SQRZ130)

作者简介: 鲍正齐, 住院医师, 研究方向为外科, 电子信箱: baozhengqi@163.com; 柴大敏 (通信作者), 讲师, 研究方向为肿瘤病理, 电子信箱: msautumn@163.com

low expression, and 43 cases of no expression. The positive rate of nm23 protein in 28 cases of normal esophageal epithelium was 82.14% (23/28) ( $P<0.05$ ). The positive rate of nm23 protein in ESCC was 64% (32/50) with lymph node metastasis. The rate of nm23 protein positive expression was 37.5% (15/40) in the carcinomas without lymph node metastasis ( $P<0.05$ ). Their expressions were not correlative with differentiation degree and depth of invasion ( $P>0.05$ ). The results indicate that the positive expression of VEGF protein with nm23 negative expression means a higher possibility of LNM. The expressions of VEGF and nm23 proteins are correlated with the depth of invasion, lymph node metastasis and clinical staging in ESCC ( $P<0.05$ ), but not with differentiation. They both have a close correlation with carcinogenesis, development, infiltration, metastasis and prognosis and might have predictive value for prognosis of human ESCC.

**Keywords** carcinoma of esophagus; immunohistochemical; vascular endothelial growth factor; non-metastasis23

食管癌(carcinoma of esophagus)是由食管黏膜上皮或腺体发生的恶性肿瘤,在10大恶性肿瘤中居第4位。全世界每年有30万人死于食管癌,其中约一半是中国人。患者以中年男性居多,41~60岁者占76.6%。临床上表现为不同程度的吞咽困难。食管癌以中段最为多见(63.33%),下段次之(24.95%),上段最少(11.72%)<sup>[1]</sup>。大体可分为髓质型、蕈伞型、溃疡型、缩窄型。组织学上包括鳞状细胞癌、腺癌等,其中以鳞状细胞癌最为多见,约占食管癌的90%。食管鳞状细胞癌早期症状不明显,且容易局部浸润、转移,所以食管癌的浸润、转移机制问题一直是人们关注和研究的热点。本研究采用免疫组织化学染色的方法对内皮生长因子(Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF)和转移抑制基因23(non-metastasis 23, nm23)基因产物表达情况,并探讨其与食管鳞状细胞癌临床病理指标及预后的关系。

## 1 资料与方法

### 1.1 资料

收集2007-2008年蚌埠医学院病理教研室食管鳞状细胞癌存档石蜡标本90例,其中男69例,女21例;组织学分级:高分化30例,中至高分化60例;浸润浅肌层20例,深肌层或外膜70例;淋巴结转移者40例,无转移者50例,并选取距离癌组织5cm以外的远端食管黏膜28例做正常对照。

### 1.2 免疫组化染色方法及结果评定

鼠抗人单克隆抗体VDFD(JH121):SC-57496,购自Santacruz公司,浓度为1:100;即用型鼠抗人单克隆抗体nm23(克隆号:NM301)购自福州迈新公司。两种抗体均采用胃癌标本作为阳性对照,磷酸缓冲液(PBS)代替一抗作为阴性对照。免疫组化结果判定标准:VEGF和nm23蛋白阳性信号呈棕黄色颗粒样物质,位于细胞浆内。高倍镜下随机选取5个视野(每个视野观察细胞数 $\geq 200$ 个),按阳性细胞所占百分比及着色深浅进行结果判定<sup>[2-3]</sup>。采用评分制判定。按照阳性细胞比例: $\leq 10\%$ 为1分, $10\% \sim 50\%$ 为2分, $>50\%$ 为3分;按染色强弱:阴性为0分,淡黄色染色为1分,中度黄色染色为2分,棕黄色染色为3分。两种评分系统得分相乘的得总分。总分0为阴性组,总分1~4为阳性组, $>4$ 为强阳性。

### 1.3 统计学分析

采用SPSS 13.0对计数资料进行 $\chi^2$ 检验,计量资料进行等级相关分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 VEGF蛋白在食管鳞状细胞癌和正常食管组织的表达及其与临床病理参数的关系

VEGF在食管鳞状细胞癌(ESCC)中阳性率为83.33%,显著高于正常食管黏膜组织的阳性率21.42%( $P<0.05$ )(表1,图1~图5),结果与刘冰华等<sup>[4]</sup>研究结论相一致。VEGF的表达与有无淋巴结转移、临床分期具有相关性( $P<0.05$ ),而与分化程度、浸润深度无明显相关性( $P>0.05$ )(表2)。

表1 不同组织中VEGF蛋白的表达情况

Table 1 Expression of VEGF protein in normal tissue and ESCC

组织类型	例数(n)	VEGF			$\chi^2$	P
		-	+	++		
正常组织	28	22	6	0		
癌组织	90	15	19	56	43.52	<0.01
合计	118	37	25	56		

表2 食管鳞状细胞癌中VEGF蛋白的表达水平与临床病理参数的关系

Table 2 Expression of VEGF protein in ESCC and the relation with clinicopathological parameters

参数	n	VEGF			$\chi^2$	P
		-	+	++		
分化程度						
高分化	30	7	7	11		
中至低分化	60	8	12	45	5.29	>0.05
浸润深度						
黏膜层或浅肌层	21	5	4	15		
深肌层或外膜层	69	10	15	41	0.648	>0.05
淋巴结转移						
无	50	13	11	26		
有	40	2	8	30	7.81	<0.05
临床分期						
IIa	29	8	10	11		
IIb	40	5	6	29	9.60	<0.05
III-IV	21	2	3	16		

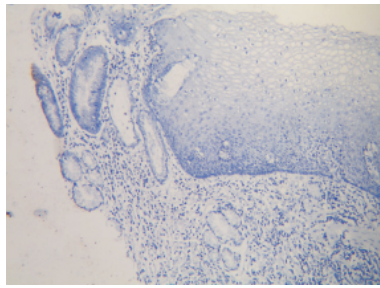


图 1 VEGF 在正常食管黏膜中的表达 (-, 100x)

Fig. 1 Expression of VEGF protein in normal tissue (-, 100x)

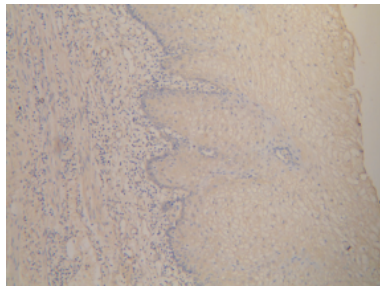


图 2 VEGF 在正常食管黏膜中的表达 (+, 100x)

Fig. 2 Expression of VEGF protein in normal tissue (+, 100x)

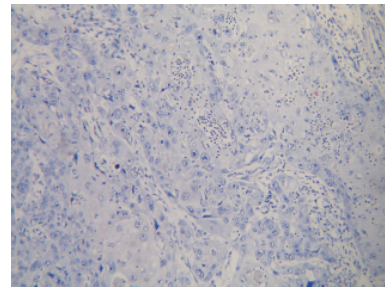


图 3 VEGF 在食管癌中的表达 (-, 400x)

Fig. 3 Expression of VEGF protein in ESCC (-, 400x)

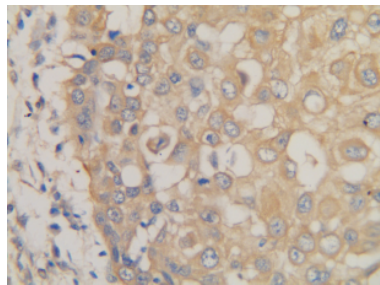


图 4 VEGF 在食管癌中的表达 (+, 400x)

Fig. 4 Expression of VEGF protein in ESCC (+, 400x)

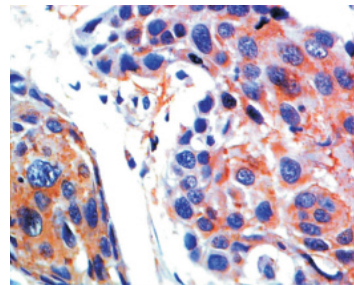


图 5 VEGF 在食管癌中的表达 (++, 400x)

Fig. 5 Expression of VEGF protein in ESCC (++, 400x)

2.2 nm23 蛋白在食管鳞状细胞癌和正常食管黏膜组织中的表达及其与临床病理参数的关系

nm23 在食管癌组织中的表达率为 82.14%，显著高于正常食管黏膜组织的表达率 52.22%，具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。其实验结果与冯旭等<sup>[9]</sup>的研究结果较接近。结果显示，nm23 蛋白阳性染色为浅黄、棕黄或棕褐色颗粒，定位于细胞浆中(图 9~图 11)。nm23 表达与分化程度及浸润程度无关 ( $P > 0.05$ )；无食管癌旁淋巴结转移组的 nm23 阳性表达率 (64%，32/50) 较有转移组的表达率高 (37.5%，15/40)，且有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。IIa 期、IIb 期和 III~IV 期 nm23 阳性表达率分别为 72.4%、47.5% 和 33.3%，之间有显著性差异 ( $P < 0.05$ ) (表 3 和表 4)。

表 3 不同组织中 nm23 蛋白的表达情况  
Table 3 Expression of nm23 protein in normal tissue and ESCC

组织类型	n	nm23			$\chi^2$	P
		-	+	++		
正常组织	28	5	11	12	7.93	<0.05
癌组织	90	43	23	24		
合计	118	48	34	36		

表 4 食管鳞状细胞癌中 nm23 蛋白的表达水平与临床病理参数的关系

Table 4 Expression of nm23 protein in ESCC and the relation with clinicopathological parameters

参数	n	nm23			$\chi^2$	P
		-	+	++		
分化程度						
高分化	30	10	11	11		
中至低分化	60	33	12	45	4.33	>0.05
浸润深度						
黏膜层或浅肌层	21	9	3	15		
深肌层或外膜层	69	34	20	41	4.19	>0.05
淋巴结转移						
无	50	18	14	26		
有	40	25	9	30	7.20	<0.05
临床分期						
IIa	29	8	11	11		
IIb	40	21	7	29	10.15	<0.05
III-IV	21	14	5	16		

3 讨论

肿瘤生长和转移与肿瘤的血管形成密切相关，而血管

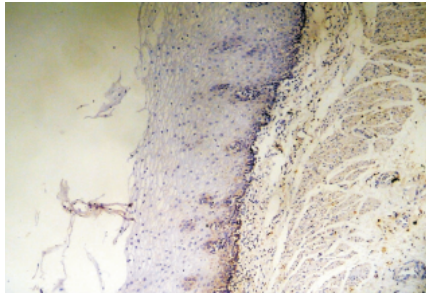


图6 nm23 在正常食管黏膜中的表达(-, 100x)

Fig. 6 Expression of nm23 protein in normal tissue (-, 100x)

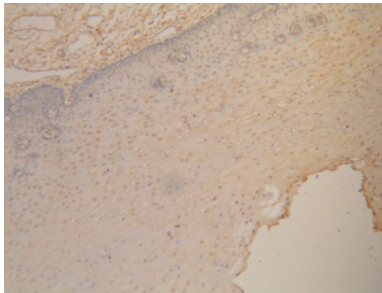


图7 nm23 在正常食管黏膜中的表达(+, 100x)

Fig. 7 Expression of nm23 protein in normal tissue (+, 100x)

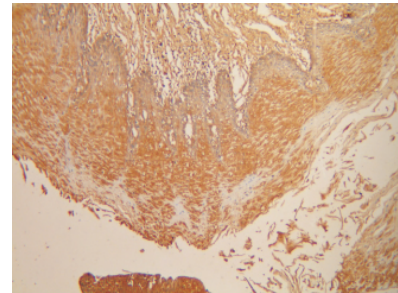


图8 nm23 在正常食管黏膜中的表达(++ , 400x)

Fig. 8 Expression of nm23 protein in normal tissue (++, 400x)

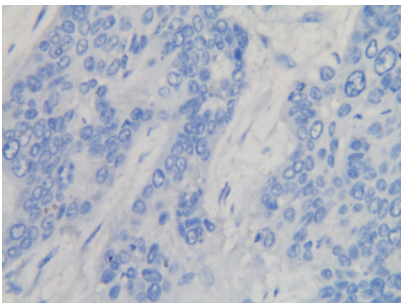


图9 nm23 在食管癌黏膜中的表达(-, 400x)

Fig. 9 Expression of nm23 protein in ESCC (-, 400x)

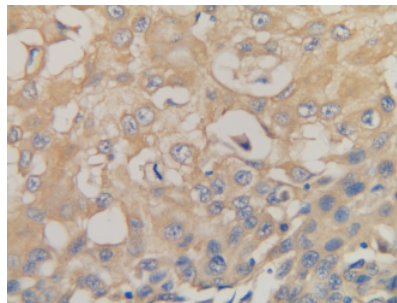


图10 nm23 在食管癌黏膜中的表达(+, 400x)

Fig. 10 Expression of nm23 protein in ESCC (+, 400x)

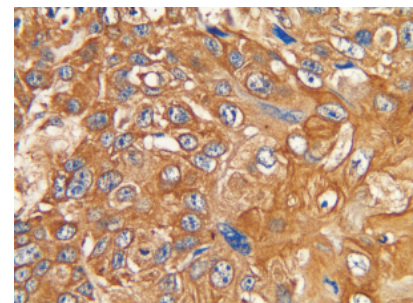


图11 nm23 在食管癌黏膜中的表达(++ , 400x)

Fig. 11 Expression of nm23 protein in ESCC (++, 400x)

VEGF 是已证实的对血管形成具有特异性的重要生长因子,其功能为:促进血管内皮细胞增殖、血管生成;增加血管通透性;作用于不同来源的内皮细胞使其形状改变并刺激增殖,且可刺激单核细胞及成骨细胞的迁移。实体肿瘤的血管新生与瘤细胞分泌的多种血管生长因子有关。这些生长因子通过调节内皮细胞整合素及蛋白酶激活因子的表达激活细胞内信号传导通路,增加微血管通透性等途径而诱导内皮细胞增殖和迁移,并参与肿瘤性基质形成及新生血管形成<sup>[6]</sup>。本研究显示在 90 例食管鳞状细胞癌中 VEGF 蛋白在 56 例食管癌组织中高表达,阳性率为 83.33%,在 28 例食管癌癌旁组织中低表达或不表达,阳性率为 21.42%,具有统计学意义 ( $P < 0.05$ );50 例无淋巴结转移的食管癌病例中有 37 例阳性表达,阳性率为 74%,40 例淋巴结转移的病例中 38 例阳性表达,阳性率为 83.3%,具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

nm23 基因是 1988 年由美国国立癌症研究所的 Steeg 等应用差示克隆杂交技术,从 7 个转移潜能不同的 K-1735 鼠的黑色素瘤细胞中分离得到。体外实验发现, nm23 在转移能力不同的肿瘤中表达不一致。在某些肿瘤中, nm23 的 mRNA 水平与肿瘤尤其是乳腺癌的转移能力呈负相关<sup>[7-8]</sup>, nm23 基因定位于人类染色体 17q22, 编码区为 533bp, 产物为 152 个氨基酸组成的 17kD 核内及胞浆蛋白, 与二磷酸核苷激酶 (Nucleotide Diphosphate Kinase, NDPK) 的氨基酸序列具有

高度同源性。人类 nm23 基因有两个亚型, 即 nm23 H1 和 nm23 H2。nm23 H1 编码蛋白的氨基酸与 nm23 H2 基因产物有 88% 的同源性。目前认为 nm23 可能是一种具有 NDPK 功能的基因。人类红细胞 NDPK 由两条多肽链组成, 其中 A 链与 nm23 H1 编码的氨基酸序列一致, B 链与 nm23 H2 编码的氨基酸序列一致, 因此 nm23 蛋白很可能通过与 NDPK 相似的途径在调节细胞信号的传递、细胞分化等过程中发挥作用。有实验结果表明, nm23 H1 在无食管癌旁淋巴结转移组的阳性表达率较有转移组的表达率高<sup>[9]</sup>。本研究显示 nm23 表达与分化程度及浸润深度无关 ( $P > 0.05$ ); 与有无食管癌旁淋巴结转移和临床分期呈负相关, 无淋巴结转移的 nm23 阳性表达率 (64%, 32/50) 较有转移组的表达率高 (37.5%, 15/40), 有显著性差异 ( $P < 0.05$ ); IIa 期、IIb 期和 III~IV 期 nm23 阳性表达率分别为 72.4%、47.5% 和 33.3%, 之间有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。

#### 4 结论

综上所述, VEGF 在食管癌旁淋巴结转移组和临床分期为 IIb 期和 III~IV 期组高表达, 而在无食管癌旁淋巴结转移组和临床分期为 IIa 期低表达; nm23 的表达与之相反, 但两者在分化程度、浸润深度等相关指标中表达无显著区别。VEGF 和 nm23 在食管癌中的表达与食管癌的发生发展、浸润



转移和预后密切相关,可能在食管癌淋巴结转移中起拮抗作用,检测其表达水平可作为临床预测浸润转移和估计预后的重要参考指标。

#### 参考文献 (References)

- [1] 刘彤华. 诊断病理学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006.  
Liu Tonghua. Diagnostic pathology [M]. Beijing: The People's Medical Publishing House, 2006.
- [2] Meng N, Li Y, Zhang H, *et al.* RECK, a novel matrix metalloproteinase regulator[J]. *Histol Histopathol*, 2008, 23(8): 1003-1010.
- [3] Kazumasa T, Shinya I, Yozo K, *et al.* Expression of a novel matrix metalloproteinase regulator, RECK, and its clinical significance in resected non-small cell lung cancer [J]. *Eur J Cancer*, 2004, 40(10): 1617-1623.
- [4] 刘冰华, 张彧婷, 姜杨, 等. VEGF 和 D2-40 在食管鳞癌中的表达及其临床意义[J]. 解剖科学进展, 2010, 16(4): 354-356.  
Liu Binghua, Zhang Yuting, Jiang Yang, *et al.* *Progress of Anatomical Sciences*, 2010, 16(4): 354-356.
- [5] 冯旭, 覃家锦, 苏乃伟. Bcl-2, nm23 在广西地区食管癌中的表达及其

相关性研究[J]. 广西医科大学学报, 2009, 26(6): 862-864.

Feng Xu, Qin Jiajin, Su Naiwei. *Journal of Guangxi Medical University*, 2009, 26(6): 862-864.

- [6] Duyndam M C, Hilhorst M C, Schluper H M, *et al.* Vascular endothelial growth factor overexpression stimulates angiogenesis and induces cyst formation and macrophage infiltration in human ovarian cancer xenografts[J]. *Am J Pathol*, 2002, 160(2): 537-548.
- [7] 曾益新, 吕有勇, 朱明华. 肿瘤学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006.  
Zeng Yixin, Lu Youyong, Zhu Minghua. *Oncology* [M]. Beijing: The People's Medical Publishing House, 2006.
- [8] 梁春林, 肖钟迪, 马越, 等. DNA 修复基因 *Hrad51* 和转移抑制基因 *nm23* 在乳腺肿瘤中的表达及生物学意义 [J]. 中国老年学杂志, 2008, 28(16): 1623-1625.  
Liang Chunlin, Xiao Zhongdi, Ma Yue, *et al.* *Chinese Journal of Gerontology*, 2008, 28(16): 1623-1625.
- [9] 陈峰, 蒋耀光, 高奉寻. 食管癌组织中 nm23-H1 蛋白表达及其临床意义[J]. 实用癌症杂志, 1998, 13(6): 243-245.  
Chen Feng, Jiang Yaoguang, Gao Fengxun. *The Practical Journal of Cancer*, 1998, 13(6): 243-245.

(责任编辑 王芷)

# 2011年全国第一届水下安保技术学术交流会

时间: 2011年3月1日  
地点: 北京

主办: 中国声学学会

通信地址: 北京市北四环西路21号  
中国科学院声学研究所图像声纳技术实验室 (100190)  
电话: 010-62565804-809; 电子信箱: yangjuan@mail.ioa.ac.cn  
网址: <http://www.aschina.org>

