

DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.201303004

· 论著 ·

# 鼻咽癌 VEGF-C 和 Flt-4 的表达与 淋巴管生成及淋巴结转移的相关性

李文光<sup>1</sup>, 张娟<sup>2</sup>, 陈永平<sup>2</sup>, 戴志杰<sup>1</sup>

(深圳市第五人民医院 1. 耳鼻咽喉科; 2. 病理科, 广东 深圳 518001)

**摘要:** **目的** 探讨血管表皮生长因子-C (vascular endothelial growth factor-C, VEGF-C) 及其受体酪氨酸激酶-4 (fms-like tyrosine kinases-4, Flt-4) 在鼻咽癌中的表达, 同时探讨其淋巴管生成与鼻咽癌淋巴结转移的关系。 **方法** 采用免疫组化法检测 80 例鼻咽癌组织及 62 例正常对照组织中 VEGF-C、Flt-4 的表达, 计数各组表达的阳性脉管数, 并分析其与临床表现和淋巴结转移的关系。 **结果** 鼻咽癌组织中 VEGF-C、Flt-4 的阳性表达率显著高于正常对照组 ( $P < 0.05$ ); 有淋巴结转移组的 VEGF-C 阳性率显著高于未发现淋巴结转移组 (87.23% vs 54.55%,  $P < 0.05$ ); 有淋巴结转移组的 Flt-4 的蛋白表达阳性脉管数显著高于未发现淋巴结转移组 ( $18.55 \pm 4.54$  vs  $10.75 \pm 2.63$ ,  $P < 0.05$ )。 **结论** VEGF-C 的高表达引起肿瘤淋巴管生成增多, 可能促进鼻咽癌更广泛的淋巴结转移。

**关键词:** 鼻咽癌; 血管表皮生长因子-C; 酪氨酸激酶-4; 淋巴管; 淋巴结转移

**中图分类号:** R739.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1007-1520(2013)03-0196-04

## Expression of VEGF-C and its receptor Flt-4 in nasopharyngeal carcinoma and their relationship with lymph node metastasis

LI Wen-guang, ZHANG Juan, CHEN Yong-ping, et al.

(Department of Otolaryngology, the 5th People's Hospital of Shenzhen City, Shenzhen 518001, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate the relationship between the expression of vascular endothelial growth factor (VEGF-C), Flt-4 and lymph node metastasis in nasopharyngeal carcinoma (NPC). **Methods** Immunohistochemical staining (SP) was used for detecting the expression of VEGF-C and Flt-4 in 80 specimens of NPC and 62 of normal tissues. The microvessel density was counted in all specimens. Their relationship between tumor's clinicopathologic characteristics and lymph node metastasis was analyzed. **Results** The positive rates of VEGF-C and Flt-4 in NPC were significantly higher than those in the control group ( $P < 0.05$ ). The positive rate of VEGF-C in NPC specimens with lymph node metastasis was obviously higher than that withno lymph node metastasis ( $P < 0.05$ ). The vessel count with positive Flt-4 in NPC specimens with lymph node metastasis was also higher than that in specimens withno lymph node metastasis ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** VEGF-C and Flt-4 might promote lymphatic metastasis by inducing lymphangiogenesis in NPC tissue.

**Key words:** Nasopharyngeal neoplasm; VEGF-C; Flt-4; Lymph node; Lymph node metastasis

鼻咽癌是我国南方常见的恶性肿瘤之一, 颈淋巴结转移机率较高。本研究运用免疫组化检测 VEGF-C 及其受体 Flt-4 在鼻咽癌组织中的表达, 并探讨其与淋巴结转移的相关性。

### 1 资料与方法

#### 1.1 研究对象

收集我院于 2009 年 5 月~2012 年 5 月在门诊病理确诊的鼻咽癌初诊患者 80 例为研究对象, 男 41 例, 女 39 例; 年龄 16~76 岁, 大于 60 岁组有 26 例, 小于 60 岁组有 54 例, 平均年龄 ( $47.11 \pm 10.20$ ) 岁。按有无淋巴结转移分

基金项目: 深圳市 2010 年科技计划项目(201003427); 深圳市罗湖区 2011 年软科学研究计划立项  
作者简介: 李文光, 男, 硕士, 主任医师。  
通讯作者: 李文光, Email: 1546390548@qq.com

为两组,淋巴结转移 48 例,无淋巴结转移 32 例;按病理类型其中低分化鳞癌 77 例,泡状核细胞癌 3 例。根据 2008 年福州鼻咽癌分期标准:Ⅰ期 11 例,Ⅱ期 22 例,Ⅲ期 34 例,Ⅳ期 13 例。以同期 62 例非肿瘤患者的正常鼻咽组织作为对照。所有标本均经 10% 甲醛固定,石蜡包埋,4  $\mu\text{m}$  连续切片。本研究得到了深圳市第五人民医院伦理委员会的批准,且征得所有研究对象知情签字同意。

### 1.2 试剂及方法

采用免疫组化 SP 法,即用型兔抗人 VEGF-C 多克隆抗体、兔抗人 Flt-4 多克隆抗体、SP 试剂盒、DAB 显色剂均购自北京中杉生物公司。严格按试剂盒说明书方法染色,所有切片染色在相同条件下进行。用 PBS 液代替一抗做阴性对照,采用已知强阳性表达的组织作为阳性对照。

### 1.3 结果判断

所有免疫组化染色结果由两位病理医师在不知病例资料的情况下盲法阅片判断。VEGF-C 主要表达于肿瘤细胞的胞浆(图 1),而其受体 Flt-4 主要表达于肿瘤周边的淋巴管、同时在肿瘤细胞的胞浆中也有表达,呈棕黄色颗粒(图 2)。先于 100 倍显微视野下选择 VEGF-C 免疫染色浓集的区域观察 5 个视野,然后在 400 倍视野下计数每个视野 100 个细胞,最后取 5 个视野中阳性细胞平均数作为每张切片的结果,无染色或阳性细胞数占癌细胞总数  $<10\%$  为阴性(-), $>10\%$  为阳性(+)。当淋巴管内皮细胞或肿瘤细胞的胞浆 Flt-4 染色呈棕黄色颗粒且超过 10%,则视为 Flt-4 阳性。先在低倍镜下选取淋巴管阳性密集区域,再在 200 倍显微视野下随机计数 5 个视野中 Flt-4 阳性脉管数,取其均值。

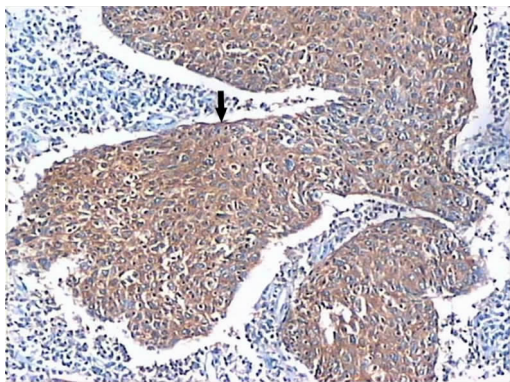


图 1 VEGF-C 在肿瘤细胞胞浆中的阳性表达(SP  $\times 200$ )

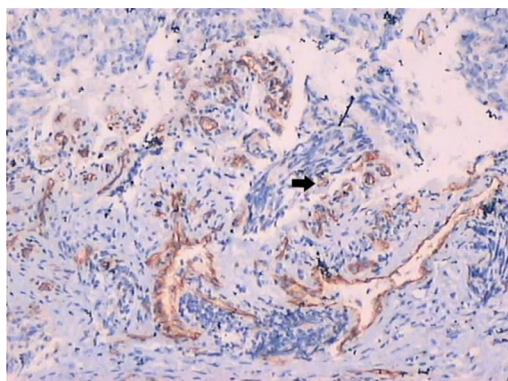


图 2 Flt-4 在肿瘤周边淋巴管的阳性表达(SP  $\times 200$ )

### 1.4 统计学方法

应用 SPSS 11.5 统计软件进行分析。根据不同的数据类型选择不同的统计方法:计量资料结果以  $\bar{x} \pm s$  表示,计量资料两组间比较采用两样本间  $t$  检验。 $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 VEGF-C 和 Flt-4 在鼻咽癌与正常对照组的表达

80 例鼻咽癌中 59 例患者组织的 VEGF-C 蛋白表达阳性,阳性率为 73.75%,显著高于正常对照组 25.81% ( $\chi^2 = 32.31, P < 0.05$ )。鼻咽癌组织 Flt-4 阳性表达脉管数  $16.36 \pm 6.93$ ,显著高于正常对照组  $9.24 \pm 5.75$  ( $t = 6.688, P < 0.05$ ),见表 1。

### 2.2 VEGF-C 和 Flt-4 在鼻咽癌患者中临床表现

大于 60 岁组中,VEGF-C 表达阳性 20 例,占 76.92%; Flt-4 的蛋白表达阳性脉管数为  $15.42 \pm 5.44$ ,小于 60 岁组 VEGF-C 阳性表达率为 72.22%, Flt-4 的蛋白表达阳性脉管数为  $16.23 \pm 5.63$ 。两组间 VEGF-C 表达阳性率及 Flt-4 的蛋白表达阳性脉管数均无显著差别, ( $t = 0.20, P = 0.609$ )。

临床 I、II 期组,VEGF-C 阳性表达率为 54.55%, Flt-4 的蛋白表达阳性脉管数:  $11.63 \pm 3.63$ ; III、IV 期组,VEGF-C 阳性表达率为 87.23%, Flt-4 的蛋白表达阳性脉管数  $17.08 \pm 5.32$ 。VEGF-C 阳性表达率与 Flt-4 蛋白表达阳性脉管数在 I、II 期组中均显著低于 III、

IV期组( $\chi^2 = 10.70, t = -5.01, P = 0.000$ ), 见表2,3。

在48例淋巴结转移组中, VEGF-C表达阳性的有43例, 占89.58%; Flt-4的蛋白表达阳性脉管数为 $17.29 \pm 5.39$ ; 而在32例无淋巴结转移组中, VEGF-C表达阳性的有16例, 占

50%, Flt-4的蛋白表达阳性脉管数为 $12.20 \pm 3.79$ 。VEGF-C阳性率与Flt-4的蛋白表达阳性脉管数在淋巴结转移组中均显著高于无淋巴结转移组, 差异均有统计学意义, ( $\chi^2 = 15.54, t = -4.63, P < 0.05$ )。

表1 VEGF-C和Flt-4在鼻咽癌与正常对照组的表达

分组	例数	VEGF-C(例)		阳性率(%)	$\chi^2$	P	Flt-4 阳性脉管数	t	P
		阴性	阳性						
正常对照组	62	46	16	25.81	32.21	0.000	$16.36 \pm 6.93$	6.688	0.000
鼻咽癌组	80	21	59	73.75			$9.24 \pm 5.75$		

表2 VEGF-C和Flt-4在鼻咽癌患者中的临床表现

分组	例数	VEGF-C(例)		阳性率(%)	$\chi^2$	P	Flt-4 阳性脉管数	t	P
		阴性	阳性						
年龄(岁)									
≥60	26	6	20	76.92	0.20	0.65	$15.42 \pm 5.44$	-0.609	0.544
<60	54	15	39	72.22			$16.23 \pm 5.63$		
临床分期									
I、II	33	15	18	54.55	10.70	0.001	$11.63 \pm 3.63$	-5.10	0.000
III、IV	47	6	41	87.23			$17.08 \pm 5.32$		
淋巴结转移									
无	32	16	16	50.00	15.54	0.000	$12.20 \pm 3.79$	-4.63	0.000
有	48	5	43	89.58			$17.29 \pm 5.39$		

表3 鼻咽癌患者不同VEGF-C表达组中Flt-4阳性表达脉管数

分组	例数	Flt-4 阳性脉管数	t	P
VEGF-C 阳性组	59	$18.55 \pm 4.54$	7.42	0.000
VEGF-C 阴性组	21	$10.75 \pm 2.63$		

### 3 讨论

VEGF-C是VEGF家族成员之一, 有促进血管和淋巴管生成作用, 参与生理性、病理性淋巴管和血管新生<sup>[1]</sup>。国内外资料研究表明, VEGF-C作为主要淋巴管生成细胞因子, 与一些肿瘤不良预后有关, 尤其与淋巴结转移关系更大。许多恶性肿瘤, 如前列腺癌、胃癌等, VEGF-C表达与区域淋巴结转移显著相关<sup>[2-3]</sup>。VEGF-C其特异性受体为Flt-4, Flt-4在成年组织主要表达于淋巴管内皮细胞。VEGF-C能提高血管通透性, 结合并激活Flt-4, 继而通过激活多条细胞内信号传导通路, 诱导淋巴管内皮细胞生长、增殖, 或者通过降低淋巴管内皮细胞间的黏附, 提高淋巴管的通透性, 促进瘤体内淋巴管生成和淋巴道转移<sup>[2]</sup>。目前国内外

许多研究表明<sup>[3-6]</sup>, VEGF-C诱导的淋巴管生成介导了肿瘤细胞的播散和形成淋巴结转移, VEGF-C及其受体Flt-4在鼻咽癌瘤体组织中对淋巴管生成及淋巴结转移播散起重要作用。

本实验研究显示: 在80例鼻咽癌组织中, 59例VEGF-C阳性, 阳性率为73.75%, 而在慢性鼻咽炎组织中仅16例VEGF-C阳性, 阳性率为25.81%, 两者差异有统计学意义( $P < 0.01$ ), 提示鼻咽癌细胞可能有分泌VEGF-C的功能。无淋巴结转移的32例鼻咽癌标本的平均微淋巴管数目是 $12.20 \pm 3.79$ , 而有淋巴结转移的48例鼻咽癌标本的平均微淋巴管数目是 $17.29 \pm 5.39$ , 两者比较差异具有统计学意义( $P < 0.01$ ), 这说明微淋巴管是鼻咽癌淋巴结转移的重要影响因素, 平均微淋巴管数的增加有利于鼻咽癌淋巴结转移的发生。其原因可能是淋巴管数目的增多, 增大了肿瘤细胞与淋巴管内皮接触的表面积, 从而促使肿瘤细胞更容易进入淋巴管而发生淋巴结转移。VEGF-C阳性表达率与Flt-4阳性表达脉管数在鼻咽癌组织中均明显高于正常对照组( $P < 0.05$ ), 两

(下转第203页)