

VEGF、EGFR 在原发性肝癌中的表达及其临床意义

高潺潺¹, 吴平平², 金潇潇¹

(¹东南大学附属中大医院肿瘤科, 江苏 南京 210009; ²江苏省肿瘤医院肿瘤内科, 江苏 南京 210009)

[摘要] 目的: 检测血管内皮生长因子(vascular endothelial factor, VEGF)和表皮生长因子(epidermal growth factor receptor, EGFR)在原发性肝癌(primary liver cancer)中的表达状况, 研究两者与原发性肝癌的临床生物学行为之间的关系及两者之间的相关性。方法: 采用免疫组化 SP 法检测 VEGF、EGFR 在 63 例原发性肝癌中的表达状况。结果: ①63 例原发性肝癌中, VEGF、EGFR 的阳性表达率分别为 63.5%、50.8%; ② VEGF 在原发性肝癌中的阳性表达与 Edmondson 病理分级、有无门静脉癌栓、肿瘤有无包膜及临床分期相关($P < 0.05$), 而与性别、年龄、AFP 水平、HBsAg 状况、有无肝硬化、组织学类型及肿块大小无关($P > 0.05$); ③EGFR 在原发性肝癌中的阳性表达与组织学类型、Edmondson 病理分级、肿块大小、肿瘤有无包膜相关($P < 0.05$), 而与性别、年龄、AFP 水平、HBsAg 状况、有无肝硬化、有无门静脉癌栓及临床分期无关($P > 0.05$); ④在原发性肝癌中, VEGF 和 EGFR 的表达关系呈正相关关系。结论: VEGF、EGFR 在原发性肝癌的发生、发展过程中起重要作用。

[关键词] 血管内皮生长因子; 表皮生长因子; 肝癌

[中图分类号] R735.7

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2016)12-1436-04

doi: 10.7655/NYDXBNS20161206

Correlation between expressions of VEGF and EGFR and clinical biological behavior in liver cancer

Gao Chanchan¹, Wu Pingping², Jin Xiaoxiao¹

(¹Department of Oncology, the Affiliated Zhongda Hospital, Southeast University, Nanjing 210009; ²Department of Oncology, Jiangsu Tumor Zhongda Hospital, Nanjing 210009, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the expressions of VEGF and EGFR and their associations with the clinical biological behavior in primary liver cancer. **Methods:** The protein expressions of VEGF and EGFR were detected in 63 primary liver cancer by immunohistochemistry streptavidin-peroxidase (SP) methods. **Results:** ①The positive expression rate of VEGF and EGFR was 63.5% and 50.8%, respectively. ②The expression of VEGF was significantly correlated with Edmondson pathologic grade, portal vein tumor thrombus, tumor capsule and clinical stage ($P < 0.05$), while not with sex, age, AFP level, HBsAg status, liver cirrhosis, histological type and tumor size ($P > 0.05$). ③EGFR expression was related to histological type, Edmondson pathologic grade, tumor mass and tumor capsule ($P < 0.05$). No correlation was found between EGFR expression and sex, age, AFP level, HBsAg status, liver cirrhosis, portal vein tumor thrombus, clinical stage ($P > 0.05$). **Conclusion:** VEGF and EGFR play an important role in the growth and metastasis of primary liver cancer.

[Key words] VEGF; EGFR; primary liver cancer

[Acta Univ Med Nanjing, 2016, 36(12): 1436-1439]

原发性肝癌(primary liver cancer)是我国常见恶性肿瘤之一。病死率在消化系统恶性肿瘤中列第 3 位^[1]。血管内皮生长因子(vascular endothelial factor, VEGF)通过旁分泌的方式作用于血管内皮细胞进而诱导肿瘤新生血管生成,此外,VEGF 还可通过自分泌的方式与其受体结合,进而促进肿瘤细胞的增殖、浸润和转移^[2-4]。表皮生长因子受体(epi-

dermal growth factor receptor, EGFR) 是受体型酪氨酸激酶,其可通过激活相应的细胞信号转导途径,调节细胞的生长与分裂,进而引起肿瘤细胞增殖及肿瘤新生血管生成^[5-7]。本文通过检测 VEGF 和 EGFR 在原发性肝癌中的表达,分析其与原发性肝癌临床生物学行为之间的关系,旨在为临床研究原发性肝癌的发生发展,探索临床预后因素和靶向治

疗提供新的理论依据。

1 对象和方法

1.1 对象

本院 2010—2015 年手术切除并经病理确诊为原发性肝癌 63 例, 男 43 例, 女 20 例。年龄 32~72 岁, 平均 58.6 岁, 其中 <50 岁 22 例, ≥50 岁 41 例。63 例中, 14 例 AFP < 400 μg/L, 39 例 AFP ≥ 400 μg/L; HBsAg 阴性 19 例, 阳性 44 例; 有肝硬化 43 例, 无肝硬化 20 例; 肝细胞型肝癌 45 例, 胆管细胞型肝癌 18 例; Edmondson 病理分级 I~II 级 29 例, III~IV 级 34 例; 肿块 < 5 cm 者 17 例, ≥5 cm 者 46 例; 无门静脉癌栓者 19 例, 有门静脉癌栓者 44 例; 42 例肿瘤无包膜, 21 例肿瘤有包膜; TNM 分期 I~II 期 26 例, III 期 37 例。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学染色

肝癌组织均行抗人 VEGF 多克隆抗体、抗人 EGFR 单克隆抗体(福州迈新生物技术公司)免疫组化染色。具体检测步骤按免疫组化 S-P 法试剂盒说明书要求进行。抗 VEGF、EGFR 经抗原修复处理, DAB-H₂O₂ 显微镜控制下显色后, 苏木精复染, 常规脱水中性树胶封片。用已知阳性组织切片做阳性对照, PBS 液做阴性对照。

1.2.2 阳性结果判断标准^[8]

在光学显微镜下对切片染色情况进行评估, VEGF 阳性表达指定位于肿瘤细胞质内, 呈棕黄色或褐色颗粒, EGFR 阳性表达指定位于肿瘤细胞的胞质或胞膜上, 呈棕黄色颗粒。综合染色强度和细胞数量进行分级, 按染色强度分为: 基本未着色、染色与背景相似为 0 分; 着色浅、略高于背景为 1 分; 中度着色、明显高于背景为 2 分; 强染、着深棕色为 3 分。阳性细胞数 < 5% 为 0 分; 5%~25% 为 1 分; 26%~50% 为 2 分; 51%~75% 为 3 分; > 75% 为 4 分。两项相加后 0~2 分为阴性, ≥2 分为阳性。

1.3 统计学方法

本研究应用 SPSS 17.0 统计软件包分析, 采用卡方检验, $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 VEGF 和 EGFR 在原发性肝癌中的表达

正常肝组织和癌旁组织中 VEGF、EGFR 主要呈阴性表达, 在原发性肝癌组织中 VEGF、EGFR 主要呈阳性表达, 这与既往文献的结果类似^[5,9]。VEGF、

EGFR 阳性表达均位于肿瘤细胞的细胞质和细胞膜中, 呈棕黄色或棕褐色。63 例原发性肝癌中, VEGF 阳性 40 例、阳性率为 63.5%; EGFR 阳性 32 例, 阳性率 50.8% (图 1)。肝癌组织中的 VEGF 阳性表达率明显高于癌旁组织 ($\chi^2=22.01, P < 0.001$) 及正常肝组织 ($\chi^2=18.55, P < 0.001$), 肝癌组织中的 EGFR 阳性表达率也明显高于癌旁组织 ($\chi^2=6.55, P=0.01$) 及正常肝组织 ($\chi^2=8.51, P=0.004$, 表 1)。

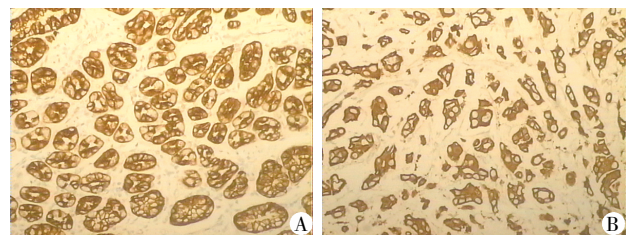


图 1 肝癌细胞 VEGF 阳性(A)和 EGFR 阳性(B) (×100)
Figure 1 VEGF(A) and EGFR(B) positive cells in hepatocellular carcinoma

表 1 VEGF、EGFR 在不同组织中的表达

Table 1 The expression of EGFR and VEGF in different tissues

组织	n	VEGF		EGFR	
		(-)	(+)	(-)	(+)
原发性肝癌组织	63	23	40	31	32
癌旁组织	63	50	13	46	17
正常肝组织	30	26	4	25	5

2.2 VEGF 和 EGFR 的表达与原发性肝癌临床生物学行为之间的关系

VEGF 在原发性肝癌中的阳性表达与 Edmondson 病理分级、有无门静脉癌栓、肿瘤有无包膜及临床分期相关 ($P < 0.05$, 表 2), 而与性别、年龄、AFP 水平、HBsAg 状况、有无肝硬化、组织学类型及肿块大小无关 ($P > 0.05$)。

EGFR 在原发性肝癌中的阳性表达与组织学类型、Edmondson 病理分级、肿块大小、肿瘤有无包膜相关 ($P < 0.05$, 表 2), 而与性别、年龄、AFP 水平、HBsAg 状况、有无肝硬化、有无门脉癌栓及临床分期无关 ($P > 0.05$)。

2.3 VEGF、EGFR 的阳性表达在原发性肝癌中的相关性

63 例原发性肝癌患者中, VEGF、EGFR 同时阳性表达 30 例, 同时为阴性表达者 21 例, VEGF 阳性表达而 EGFR 阴性表达者 10 例, EGFR 阳性表达而 VEGF 阴性表达者 2 例, VEGF 与 EGFR 的表达具有正相关性 ($P < 0.01$)。VEGF、EGFR 双阳性表达与

表 2 VEGF 和 EGFR 的表达与原发性肝癌临床生物学行为之间的关系

Table 2 The relationship between the expression of VEGF and EGFR and the clinical biological behavior of primary hepatocellular carcinoma

groups	例数	VEGF		χ^2 值	P 值	EGFR		χ^2 值	P 值
		阳性例数	阳性率(%)			阳性例数	阳性率(%)		
性别									
男	43	26	60.5	0.20	0.65	22	51.2	0.03	0.85
女	20	14	70.0			10	50.0		
年龄(岁)									
<50	22	15	68.2	0.09	0.77	11	50.0	0.03	0.86
≥50	41	25	61.0			21	51.2		
AFP($\mu\text{g/L}$)									
<400	24	12	50.0	2.18	0.14	9	37.5	1.95	0.16
≥400	39	28	71.8			23	59.0		
HBsAg									
阴性	19	11	57.9	0.10	0.75	8	42.1	0.40	0.53
阳性	44	29	65.9			24	54.5		
肝硬化									
无	20	13	65.0	0.01	0.91	9	45.0	0.13	0.72
有	43	27	62.8			23	53.5		
组织学类型									
肝细胞型	45	32	71.1	2.88	0.09	27	60.0	4.13	0.04
胆管细胞型	18	8	44.4			5	27.8		
Edmondson 病理分级									
I~II	29	14	48.3	4.22	0.04	10	34.5	4.57	0.03
III~IV	34	26	76.5			22	64.7		
肿块大小									
<5 cm	17	10	58.8	0.03	0.86	4	23.5	5.51	0.02
≥5 cm	46	30	65.2			28	60.9		
门脉癌栓									
无	19	8	42.1	4.13	0.04	10	52.6	0.32	0.57
有	44	32	72.7			22	50.0		
肿瘤包膜									
无	42	32	76.2	7.2	0.01	27	64.3	7.63	0.01
有	21	8	38.1			5	23.8		
TNM 分期									
I~II	26	12	46.2	4.54	0.03	10	38.5	1.92	0.17
III	37	28	75.7			22	59.5		

Edmondson 病理分级、肿瘤有无包膜相关($P < 0.05$, 表 3), 而与门静脉癌栓、临床分期、组织学类型、肿块大小无关($P > 0.05$)。

3 讨论

当肝癌增大出现缺血缺氧时, 肿瘤细胞可以分泌出大量的促血管生成因子如 VEGF、PDGF 等, 激活内皮祖细胞干细胞从骨髓释放, 促进细胞外间隙和基底膜重建形成新的血管^[10]。VEGF 是作用最强、特异性最高的血管生成调控因子^[11], VEGF 的过表达与肿瘤的生长、侵袭、转移密切相关^[12]。本研究结果显示

VEGF 在原发性肝癌中的阳性表达率为 63.5%, 在病理分化程度较低组、有门脉癌栓组、肿瘤没有明显包膜组及临床分期晚期组的表达水平更高, 提示 VEGF 在肝癌的发生、发展过程中可能起到了一定的促进作用, 以 VEGF 为靶点的抗血管生成治疗思路也许将在肝癌的综合治疗体系中占据一定的地位。在临床上, 对于术后 VEGF 阳性表达的患者, 应加强随访以期早起发现肿瘤的复发和转移。

EGFR 是一种受体性酪氨酸激酶, 是传递胞外信号到胞内的重要途径蛋白。同时 EGFR 的激活能上调 VEGF 表达, 促进肿瘤细胞增殖、分化、迁移、

表 3 VEGF、EGFR 的表达与原发性肝癌临床生物学行为之间的关系

Table 3 The relationship between the expression of VEGF and EGFR and the clinical biological behavior of primary hepatocellular carcinoma

因素	双阳性 (n=30)	双阴性 (n=21)	χ^2 值	P 值
组织学类型				
肝细胞型	25	12	3.04	0.08
胆管细胞型	5	9		
Edmondson 病理分级				
I~II	9	15	6.93	0.008
III~IV	21	6		
肿块大小				
<5 cm	4	6	0.98	0.32
≥5 cm	26	15		
门脉癌栓				
无	8	9	0.82	0.37
有	22	12		
肿瘤包膜				
无	25	8	9.18	0.003
有	5	13		
TNM 分期				
I~II	10	13	3.0	0.08
III	20	8		

黏附和血管生成,抑制肿瘤细胞凋亡^[13]。已有研究证实 EGFR 在胃癌、子宫内膜癌等肿瘤中过表达,是恶性肿瘤发生发展过程中的一个重要因子,EGFR 过表达往往提示预后更差^[14]。本研究结果进一步证实了 EGFR 在原发性肝癌中的高表达状况,发现 EGFR 的表达水平与肝癌的组织学类型、Edmondson 病理分级、肿块大小、肿瘤有无包膜明显相关。这些结果提示 EGFR 参与肝癌的发生、发展、恶性转化和浸润转移等过程,是原发性肝癌发生发展过程中一个重要因子,针对 EGFR 的靶向治疗对原发性肝癌具有潜在的疗效。本研究结果还发现肝癌组织中 VEGF 与 EGFR 的阳性表达呈明显正相关,可能由于癌基因 EGFR 的激活引起了肝癌细胞过度增殖,肿瘤局部缺氧,从而进一步促使 VEGF 表达上调。VEGF 刺激内皮细胞分化和血管生成,而新血管生成增多,又为肿瘤组织提供更多的营养补给。在此基础上,本研究进一步分析了 VEGF 与 EGFR 双阳性与双阴性表达与肝癌临床生物学行为的相关性,结果发现 VEGF、EGFR 双阳性表达与 Edmondson 病理分级、肿瘤有无包膜相关。这些都说明 VEGF 与 EGFR 在肝癌的发生发展过程中相互作用,共同

促进肿瘤的发展,加快肿瘤的转移。VEGF 与 EGFR 表达的正相关性也为开发同时针对这两个靶点的肝癌靶向治疗提供了一定的理论依据。

[参考文献]

- [1] 陈建国. 中国肝癌发病趋势和一级预防[J]. 临床肝胆病杂志, 2012, 28(4): 256-260
- [2] 陈德厚, 冯涛. VEGF 与舌癌的浸润转移和复发[J]. 现代口腔医学杂志, 2013, 27(6): 356-359
- [3] Bachelder RE, Crago A, Chung J, et al. Vascular endothelial growth factor is an autocrine survival factor for neuropilin-expressing breast carcinoma cells [J]. Cancer Res, 2001, 61(15): 5736-5740
- [4] Jackson MW, Roberts JS, Heckford SE, et al. A potential autocrine role for vascular endothelial growth factor in prostate cancer[J]. Cancer Res, 2002, 62(3): 854-859
- [5] 蒋成英, 陈丽, 戴广海. 肝细胞癌中 Survivin、EGFR 和 VEGF 的表达及临床意义 [J]. 临床肿瘤学杂志, 2010, 15(9): 779-784
- [6] Ciardiello F, Tortora G. EGFR antagonists in cancer treatment[J]. N Engl J Med, 2008, 358(11): 1160-1174
- [7] Voelkel NF, Vandivier RW, Tudor RM. Vascular endothelial growth factor in the lung [J]. American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology, 2006, 290(2): L209-L221
- [8] 孟谊, 杨杨, 樊祥山, 等. VEGF、EGFR 的表达与非小细胞肺癌生物学行为的相关性 [J]. 现代肿瘤医学, 2015, 23(5): 633-636
- [9] 万健, 唐才喜, 冯斌. 原发性肝癌中 Numb 和 VEGF 的表达及临床意义 [J]. 中国普通外科杂志, 2015, 24(1): 39-44
- [10] 阮四军, 邬林泉, 周凡. VEGF 与肝脏疾病的关系[J]. 世界华人消化杂志, 2013, 21(13): 1191-1196
- [11] 欧阳德亮, 胡杨, 王右保, 等. 穿心莲内酯对胃癌 AGS 细胞增殖侵袭的影响[J]. 中南医学科学杂志, 2014, 42(3): 246-250
- [12] Yang JD, Nakamura I, Roberts LR. The tumor microenvironment in hepatocellular carcinoma: current status and therapeutic targets [J]. Semin Cancer Biol, 2011, 21(1): 35-43
- [13] Zhen L, Fan D, Yi X, et al. Curcumin inhibits oral squamous cell carcinoma proliferation and invasion via EGFR signaling pathways [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2014, 7(10): 6438-6446
- [14] 许欣, 姚冬颖, 刘晓丽, 等. 胃癌中 Gird 和 EGFR 蛋白的表达及临床意义 [J]. 临床与实验病理学杂志, 2015, 31(6): 685-687