

结直肠癌中 FcγR II 和 VEGF-A 的表达与临床意义

丁清清¹, 管蔚², 丁永斌², 梁辉², 薛绮萍^{1*}, 陈琪^{3*}

(¹南京医科大学第一附属医院老年医学科,²普外科, 江苏 南京 210029;³南京医科大学病理生理学系, 江苏 南京 210029)

[摘要] 目的:探讨免疫球蛋白 G Fc 段低亲和力受体 II (FcγR II) 和表皮生长因子 A (VEGF-A) 在结直肠癌, 发生发展中的作用机制。方法:采用实时荧光定量 PCR 法, 检测 FcγR II、VEGF-A 基因在 56 例大肠癌组织和相应切缘正常组织中的表达, 分析 FcγR II 和 VEGF-A 与患者临床病理特征之间的关系, 以及 FcγR II 与 VEGF-A 的相关性。结果:FcγR II 基因表达在大肠癌组织中较正常组织低, 其表达与大肠癌患者的浸润深度和 TNM 分期相关(均 $P < 0.05$)。VEGF-A 基因表达在大肠癌组织中较正常组织高, 其表达与大肠癌患者的年龄、肿瘤大小、浸润深度和 TNM 分期相关(均 $P < 0.05$)。肠癌患者 FcγR II 基因的表达与 VEGF-A 呈负相关($r = -0.104$, $P = 0.002$)。结论:FcγR II 基因与肠癌的侵袭转移等密切相关, 其高表达提示较好的预后, 推测可能是通过调控 VEGF-A 的表达而发挥作用。FcγR II 基因有望成为肿瘤免疫治疗的新途径。

[关键词] 结直肠癌; FcγR II; VEGF-A

[中图分类号] R735.3

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2014)02-179-04

doi: 10.7655/NYDXBNS20140211

Expression and clinical significance of FcγR II and VEGF-A in colorectal cancer

Ding Qingqing¹, Guan Wei², Ding Yongbin², Liang Hui², Xue Qiping^{1*}, Chen Qi^{3*}

(¹Department of Geriatric Gastroenterology, ²Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital of NJMU, Nanjing 210029; ³Department of Pathological Physiology, NJMU, Nanjing 210009, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the expression of FcγR II Fc fragment of IgG, low affinity IIa, receptor (FcγR II) and vascular endothelial growth factor A (VEGF-A) in colorectal cancer and analyze their association, and consequently explore the mechanism of FcγR II in colorectal cancer. **Methods:** Expression of FcγR II and VEGF-A and their association with clinicopathological features were determined using real time polymerase chain reaction (RT-PCR) in 56 cases of colorectal cancer patients. The distribution of the clinicopathologic and the expression of VEGF-A and FcγR II were analyzed using Fisher's exact test and the Chi-squared test. Spearman's rank correlation was used to analyze the correlation between FcγR II and VEGF-A expression. **Results:** FcγR II mRNA expression in colorectal cancer tissues was significantly lower than that in matched adjacent normal tissues. FcγR II mRNA expression was significantly related to the patients' infiltration depth and clinical stage ($P < 0.05$). VEGF-A mRNA expression in colorectal cancer tissues was significantly higher than that in matched adjacent normal tissues. VEGF-A mRNA expression was significantly related to the patients' age, tumor size, infiltration depth and clinical stage ($P < 0.05$). In colorectal carcinoma, FcγR II and VEGF-A mRNA expression was significantly negatively correlated ($r = -0.104$, $P = 0.002$). **Conclusion:** The expression of VEGF-A and FcγR II was associated with the clinical features of colorectal cancer. Expression of FcγR II was negatively correlated with VEGF-A. This study indicates that FcγR II and VEGF-A expression is related to the tumor invasion and metastasis. FcγR II may become a new cancer immunotherapy target.

[Key words] colorectal cancer; FcγR II; VEGF-A

[Acta Univ Med Nanjing, 2014, 34(02): 179-182]

[基金项目] 江苏省六大人才高峰资助项目(WSW-027);江苏省高校自然科学研究资助项目(13KJB320012);国家自然科学基金重点项目(81230070)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: Yiping58@hotmail.com; qichen@njmu.edu.cn

在美国,结直肠癌发病率占有所有肿瘤的第 4 位,病死率为第 2 位^[1]。在我国,结直肠癌位列常见肿瘤发生率的第 3 位和肿瘤致死率的第 5 位^[2]。近年来,肠癌的研究日益深入,化疗、靶向治疗等不断发展,然而 5 年生存率仍只有 40%左右^[3]。鉴于肿瘤的发生发展与机体的免疫功能失调密切相关,基于免疫干预的疾病相关治疗策略正日益引起关注。

免疫球蛋白 G Fc receptor(FcγR)属于免疫球蛋白超家族的一组表面糖蛋白,几乎表达于所有白细胞,系特异性受体。FcγR 通过与 IgG 受体蛋白结合产生一系列生理与病理效应,维持着机体的生理平衡,还在特定条件下参与免疫损伤,介导免疫相关性疾病,并与肿瘤的发生发展密切相关。表皮生长因子 A(VEGF-A)是肠癌中重要的血管生长因子,促进了肿瘤的浸润和转移,同时也是肠癌靶向治疗药物贝伐单抗重要的靶点。有研究表明,FcγR II 的存在是利妥昔单抗和曲妥珠单抗在体内发挥抗肿瘤作用所必需的^[4],而 FcγR II 与贝伐单抗之间的关系未见报道。本研究通过检测结直肠癌患者的癌组织和相应切缘正常组织中 FcγR II 和 VEGF-A mRNA 的表达情况,分析其与临床特征之间的关系,分析 FcγR II 与 VEGF-A 基因表达的相关性,探讨 FcγR II 在肠

癌发生发展中的作用,为进一步的研究提供线索,使干预、调节 FcγR 为肿瘤的免疫治疗提供新的思路。

1 材料和方法

1.1 材料

收集 2011 年 5 月~2013 年 5 月南京医科大学第一附属医院普外科结肠癌患者癌组织及切缘正常组织(距离肉眼可见的癌组织> 3 cm)56 例,患者均取得知情同意。所有患者均未行放疗化疗等治疗,术中即时取得组织,保存在-80℃备用。所有标本均经病理学专家确诊。其中,男 30 例,女 26 例,中位年龄 56 岁(22~87 岁)。28 例结肠癌,28 例直肠癌,肿瘤最大径波动于 1.5~8.5 cm。肿瘤的分化程度不一,高分化 3 例,中分化 39 例,低分化 14 例。依据美国癌症联合会指南 TNM 分期:0~ I 期 10 例, II 期 26 例, III 期 16 例, IV 期 4 例。

FcγR II 和 VEGF-A 的引物序列见表 1,引物均由美国 Invitrogen 公司合成。7500/7500 Fast 型荧光定量 PCR 仪(ABI 公司,美国),TRIzol Reagent(Invitrogen 公司,美国),反转录试剂盒(ToKoBo 公司,日本),荧光染料 Power SYBR Green PCR Master Mix(ABI 公司,美国)。

表 1 PCR 所用引物序列

Table 1 Sequences of used for RT-PCR

基因	上游引物序列	下游引物序列
VEGF-A	5'-GAGAATTCGGCCTCCGAAACCATGAACCTTCTGCT-3'	5'-GAGCATGCCCTCCTGCCCGGCTCACCGC-3'
FcγRII	5'-TTTGAGATGAGTAATCCCAGCCA-3'	5'-TCAGGCCCCAGTCTCCATTTTA-3'
β-actin	5'-CTACAATGAGCTGCGTGTGG-3'	5'-ATAGCAACGTACATGGCTGG-3'

1.2 方法

所有结肠癌组织和切缘正常组织均分别按照 TRIzol 试剂说明书提取总 RNA,然后根据反转录试剂说明将总 RNA 逆转录成 cDNA。反应程序为 25℃ 10 min,42℃ 30 min,85℃ 5 min,共 1 个循环。Real-time PCR 体系为 20 μl,PCR 循环参数为:起始 50℃ 2 min,95℃ 10 min,1 个循环;94℃ 15 s,60℃ 1 min,并采集荧光信号,40 个循环;72℃ 3 min,1 个循环结束。同时制作标准品曲线。每样本设置 3 个平行孔,以 β-actin 为内参,取拷贝数均值进行统计分析。

1.3 统计学方法

各组 Real-time PCR 结果根据标准曲线读取,用 STATA 11.0 统计软件进行统计学处理。计数资料采用 Chi-square test 法或 Fisher's 确切概率法。使用 Spearman's 等级相关分析 FcγR II、VEGF-A 二者的相关性。以 P≤0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

肿瘤组织中表达高于切缘正常组织者定义为高表达,反之为低表达。56 例结直肠癌患者正常切缘组织的 FcγR II mRNA 拷贝数(87.15 ± 10.01),结肠癌组织(28.72 ± 10.05),提示正常切缘组织 FcγR II mRNA 表达量明显高于结肠癌组织 (P < 0.05,图 1)。56 例结直肠癌患者正常切缘组织的 VEGF-A mRNA 拷贝数 65.71 ± 10.45,结肠癌组织(126.34 ± 15.78),提示结肠癌组织 VEGF-A mRNA 表达量明显高于正常切缘组织(P < 0.05,图 2)。本研究表明 FcγR II 基因与大肠癌患者的浸润深度和 TNM 分期相关(均 P < 0.05),在浸润深度较深,TNM 临床分期较晚的患者中低表达(P = 0.028,P = 0.006),而与患者的年龄、性别、肿瘤大小、肠癌的部位、分化程度、淋巴结转移及病理组织学类型无关(均 P >

0.05)。VEGF-A 基因与大肠癌患者的年龄、肿瘤大小、浸润深度和 TNM 分期相关(均 $P < 0.05$),在年龄 ≤ 56 岁、肿瘤直径 > 3 cm、浸润深度较深, TNM 临床分期较晚的患者中高表达($P = 0.034, P = 0.008, P = 0.049, P = 0.003$),而与患者的性别、肠癌的部位、分化程度、淋巴结转移及病理组织学类型无关(均 $P > 0.05$)。结直肠癌组织中 FcγR II 基因的表达与 VEGF-A 呈负相关($r = -0.104, P = 0.002$,表 2)。

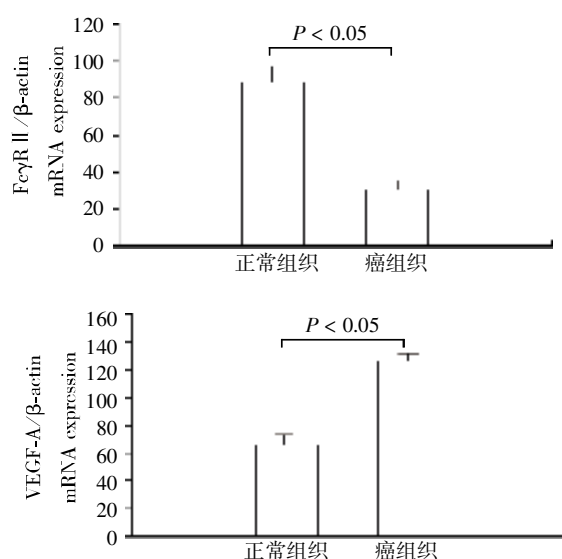


图1 56例结直肠癌患者癌组织和相应切缘正常组织 FcγR II mRNA 与 VEGF-A 的表达

Figure 1 The expression of FcγR II and VEGF-A in colorectal cancer and normal tissue

3 讨论

FcγR 在免疫损伤或炎症性疾病的发生发展中发挥着启动和调控作用,人的 FcγR 分为 FcγR I、FcγR II 和 FcγR III 3 个亚群。FcγR 在功能上分为活化型和抑制型。在很多疾病中, FcγR II 发挥着负性调控的作用,通过抑制 B 细胞、单核细胞、肥大细胞和嗜碱性粒细胞等的活性抑制免疫应答。FcγR II 与肿瘤的发生发展密切相关^[5],目前,对 FcγR II 和实体肿瘤的研究多集中在其基因多态性与疾病的关系方面。有研究发现 FcγR II 基因的多态性与结直肠癌和溃疡性结肠炎相关^[6-7]。FcγR II 基因变异增加了中国汉族人群胃癌的风险^[8]。FcγR II 基因多态性可作为转移性肠癌使用利妥昔单抗临床疗效的分子标志物^[9]。FcγR II 基因多态性与使用紫杉类联合赫赛汀化疗的 HER2 阳性的转移性乳腺癌患者的临床疗效相关^[10]。

VEGF-A 位于第 6 号染色体上,在人类和动物

中显著低表达,在需要新生血管的组织中高表达,如胎儿、胎盘和大多数肿瘤及慢性炎症性疾病、糖尿病^[11]和缺血性心脏病^[12]等。VEGF-A 与肠癌关系密切,通过影响内皮细胞的增殖和迁移来促进肠癌的发展、侵袭和扩散^[13]。

本研究表明 FcγR II 和 VEGF-A mRNA 的表达与肠癌患者的临床病理特征明显相关。FcγR II 的低表达与肿瘤浸润的深度和临床分期相关,其低表达预示着肿瘤浸润较深、分期较晚,其高表达提示较好的预后。提示 FcγR II 可能在肠癌的发生发展中发挥着免疫负性调控作用,抑制了肿瘤的生长。这和李和军等^[8]在人肝癌细胞株上的研究结果类似。FcγR II 的存在是利妥昔单抗和曲妥珠单抗在体内发挥抗肿瘤作用所必需的^[7],而 FcγR II 是否是贝伐单抗在体内发挥抗肿瘤作用所必需还有待进一步的实验研究。本研究表明在肠癌组织中, FcγR II 的表达与贝伐单抗靶点 VEGF-A 呈负相关,二者的关系未见相关文献报道,是否能通过调节 FcγR II 来控制肠癌有待进一步的实验研究。对 FcγR II 基因表达的深入研究、主动干预,将来有望为肿瘤免疫治疗提供新的途径。

[参考文献]

- [1] Jemal A, Siegel R, Xu J, et al. Cancer statistics, 2010 [J]. CA Cancer J Clin, 2010, 60(5): 277-300
- [2] 张思维, 雷正龙, 李光琳, 等. 中国肿瘤登记地 2006 年肿瘤发病和死亡资料分析[J]. 中国肿瘤, 2010, 19(6): 356-365
- [3] Bardi G, Fenger C, Johansson B, et al. Tumor karyotype predicts clinical outcome in colorectal cancer patients[J]. J Clin Oncol, 2004, 22(13): 2623-2634
- [4] Flieger D, Renoth S, Beier I, et al. Mechanism of cytotoxicity induced by chimeric mouse human monoclonal antibody IDEC-C2B8 in CD20 expressing lymphoma cell lines[J]. Cell Immunol, 2000, 204(1): 55-63
- [5] 李和军, 刘宁, 李频, 等. CD32 在人肝癌细胞株上的表达[J]. 中国老年学杂志, 2010, 30(4): 498-499
- [6] Yang SK, Jung Y, Kim H, et al. Association of FCGR2A, JAK2 or HNF4A variants with ulcerative colitis in Koreans[J]. Digest Liver Dis, 2011, 43(11): 856-861
- [7] Weersma RK, Crusius JB, Roberts RL, et al. Association of FcγR2a, but not FcγR3a, with inflammatory bowel diseases across three Caucasian populations [J]. Inflamm Bowel Dis, 2010, 16(12): 2080-2089
- [8] Xia HZ, Du WD, Wu Q, et al. E-selectin rs5361 and FCGR2A rs1801274 variants were associated with increased risk of gastric cancer in a Chinese population [J]. Mol Carcinog, 2012, 51(8): 597-607

表2 大肠癌患者临床病理特征与 FcγR II、VEGF-A mRNA 表达的关系

Table 2 Significant correlations between expression of FcγR II and VEGF-A with clinicopathologic features in the patients [n(%)]

临床特征	例数	FcγR II mRNA			VEGF-A mRNA		
		低表达	高表达	P 值	低表达	高表达	P 值
年龄(岁)				0.188			0.034
≤56	29	21(72.4)	8(27.6)		8(27.6)	21(72.4)	
>56	27	15(55.6)	12(44.4)		15(55.6)	12(55.4)	
性别				0.873			0.145
男	30	19(63.3)	11(36.7)		15(50.0)	15(50.0)	
女	26	17(65.4)	9(34.6)		8(30.8)	18(69.2)	
肿瘤直径(cm)				0.201			0.008
≤3	17	8(47.1)	9(52.9)		12(70.6)	5(29.4)	
3~5	20	14(70.0)	6(30.0)		7(35.0)	13(65.0)	
≥5	19	14(73.7)	5(26.3)		4(21.1)	15(78.9)	
分化程度				0.421			0.101
高	3	2(66.7)	1(33.3)		3(100.0)	0(0.0)	
中	39	23(59.0)	16(41.0)		15(38.5)	24(61.5)	
低	14	11(78.6)	3(21.4)		5(35.7)	9(64.3)	
浸润深度				0.028			0.049
肌层	6	1(16.7)	5(83.3)		5(83.3)	1(16.7)	
浆膜层	44	30(68.2)	14(31.8)		17(38.6)	27(61.4)	
浆膜外	6	5(83.3)	1(16.7)		1(16.7)	5(83.3)	
淋巴结转移				0.293			0.301
无	37	22(59.5)	15(40.5)		17(45.9)	20(54.1)	
有	19	14(73.7)	5(26.3)		6(31.6)	13(68.4)	
组织病理类型				0.742			0.560
腺癌	47	31(66.0)	16(34.0)		18(38.3)	29(61.7)	
黏液腺癌	6	3(50.0)	3(50.0)		3(50.0)	3(50.0)	
其他	3	2(66.7)	1(33.3)		2(66.7)	1(33.3)	
肿瘤部位				0.601			0.786
结肠	28	18(64.3)	10(35.7)		11(39.3)	17(60.7)	
直肠	28	18(64.3)	10(35.7)		12(42.9)	16(57.1)	
TNM 分期				0.006			0.003
0~ I	10	2(20.0)	8(80.0)		9(90.0)	1(10.0)	
II	26	20(76.9)	6(23.1)		8(30.8)	18(69.2)	
III	16	10(62.5)	6(37.5)		6(37.5)	10(62.5)	
IV	4	4(100.0)	0(0)		0(0)	4(100.0)	

- [9] Zhang W, Gordon M, Schultheis AM, et al. FCGR2A and FCGR3A polymorphisms associated with clinical outcome of epidermal growth factor receptor expressing metastatic colorectal cancer patients treated with single-agent cetuximab[J]. J Clin Oncol, 2007, 25(24):3712-3718
- [10] Kim JW, Kim JH, Im SA, et al. ABCB1, FCGR2A, and FCGR3A polymorphisms in patients with HER2-positive metastatic breast cancer who were treated with first-line taxane plus trastuzumab chemotherapy [J]. Oncology (Williston Park), 2012, 83(4):218-227

- [11] Williams B. Angiotensin II, VEGF, and diabetic retinopathy [J]. Lancet, 1998, 351(9105):837-838
- [12] Yan D, Wang X, Li D, et al. Macrophages overexpressing VEGF target to infarcted myocardium and improve neovascularization and cardiac function [J]. Int J Cardiol, 2013, 164(3):334-338
- [13] Stoeltzing O, Liu W, Reinmuth N, et al. Angiogenesis and antiangiogenic therapy of colon cancer liver metastasis [J]. Ann Surg Oncol, 2003, 10(7):722-733

[收稿日期] 2013-10-19