



[DOI] 10.3969/j.issn.1001-9057.2021.12.008

http://www.lcnkzz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2021.12.008

· 论著 ·

肿瘤转移相关基因 1 和血管内皮生长因子 C 在肺癌中的表达及意义

刘露 董健 张勇

【摘要】 目的 研究肿瘤转移相关基因 1 (MTA1) 和血管内皮生长因子 C (VEGF-C) 在肺癌中的表达及意义。**方法** 纳入行肺叶切除手术及淋巴结清扫手术的肺癌患者 60 例, 采用免疫组织化学法检测 MTA1 和 VEGF-C 在肺癌组织及癌旁组织中的表达, 根据性别、年龄、吸烟史、肺癌组织学类型、淋巴结 N 分期、肿瘤 T 分期及术后病检结果中患者体内的淋巴结转移数量分别对患者进行分组, 计算并比较各组 MTA1 和 VEGF-C 阳性表达率。**结果** N0、N1、N2 期肺癌组织患者 MTA1 和 VEGF-C 阳性表达率均高于癌旁组织 ($P < 0.05$)。N2 期患者肺癌组织中 MTA1、VEGF-C 阳性表达率均高于 N0 期和 N1 期 ($P < 0.05$)。肺癌组织淋巴结转移数量 ≥ 3 枚患者 MTA1 和 VEGF-C 的阳性表达率均高于淋巴结转移数量为 1~2 枚患者和无淋巴结转移患者, 癌旁组织淋巴结转移数量 ≥ 3 枚患者 MTA1 和 VEGF-C 的阳性表达率均低于淋巴结转移数量为 1~2 枚患者和无淋巴结转移患者 ($P < 0.05$)。肺癌组织 MTA1 阳性表达率在 T3~4 期高于肺癌旁组织同期 ($P < 0.05$)。Pearson 相关分析结果显示, 肺癌组织 MTA1 阳性评分总分与 VEGF-C 阳性评分总分呈正相关 ($r = 0.394, P = 0.024$)。**结论** MTA1 和 VEGF-C 在肺癌组织中的表达显著高于癌旁组织, 且与肺癌的恶性程度及淋巴结转移过程密切相关, 有望成为临床判定肺癌侵袭及转移的重要靶标。

【关键词】 肿瘤转移相关基因 1; 血管内皮生长因子 C; 肺癌

【中图分类号】 R734.2

【文献标识码】 A

Expression and significance of tumor metastasis related gene 1 and vascular endothelial growth factor C in lung cancer Liu Lu*, Dong Jian, Zhang Yong. *Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Concord Jiangbei Hospital, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430100, China

【Abstract】 Objective To study the expression and significance of tumor metastasis associated gene 1 (MTA1) and vascular endothelial growth factor C (VEGF-C) in lung cancer. **Methods** A total of 60 patients with lung cancer who received lobectomy and lymph node dissection operation were included. Immunohistochemistry was used to detect the expression of MTA1 and VEGF-C in lung cancer and adjacent tissues. The patients were divided into different groups according to gender, age, smoking history, histological type of lung cancer, lymph node N stage, tumor T stage and the number of lymph node metastasis in the patients in postoperative examination results, and the positive expression rates of MTA1 and VEGF-C in each group were calculated and compared. **Results** The positive expression rates of MTA1 and VEGF-C in N0, N1 and N2 lung cancer tissues were higher than those in adjacent tissues ($P < 0.05$). The positive expression rates of MTA1 and VEGF-C in lung cancer tissue from patients with N2 stage were higher than those in N0 stage and N1 stage ($P < 0.05$). The positive expression rates of MTA1 and VEGF-C in lung cancer patients with numbers of lymph node metastasis ≥ 3 were higher than those in patients with numbers of lymph node metastasis was 1-2 and patients without lymph node metastasis. The positive expression rates of MTA1 and VEGF-C in patients with number of lymph node metastasis ≥ 3 were lower than those in patients with number of lymph node metastasis was 1-2 and patients without lymph node metastasis ($P < 0.05$). The positive expression rate of MTA1 in lung cancer tissues at T3-4 stage was higher than that in adjacent tissues at the same stage ($P < 0.05$). Pearson correlation analysis results showed that the total positive score of MTA1 in lung cancer tissues was positively correlated with the total positive score of VEGF-C ($r = 0.394, P = 0.024$). **Conclusion** The expression of MTA1 and VEGF-C in lung cancer is significantly higher than that in paracancerous tissues, and is closely related to the occurrence and development of lung cancer. It is expected to become an important target to determine the invasion and metastasis of lung cancer.

【Key words】 Tumor metastasis related gene 1; Vascular endothelial growth factor C; Lung cancer

基金项目:荆门市科学技术研究与开发计划项目(2018YDKY032)

作者单位:430100 武汉,华中科技大学协和江北医院呼吸与危重症医学科(刘露、董健);湖北省荆门市第一人民医院肿瘤科(张勇)

肺癌是一种危险程度较高的恶性肿瘤,其死亡人数正在逐年增加^[1]。目前临床因治疗肺癌方法多样化,且均有可观的临床效果,但对发生转移的中晚期肺癌患者生存率仍未达到理想水平,因肺癌细胞转移而导致疗效不佳仍是未被解决的主要问题^[2-4]。淋巴结转移作为肺癌发生转移的主要途径之一,对肺癌患者的术后总生存率影响较大^[5]。早诊断、早干预肺癌发生和转移是提高肺癌患者生存率的重要举措,因此寻求评估肺癌转移的有效标记物对临床肺癌治疗意义重大^[6]。肿瘤转移相关基因(MTA)1 是 MTA 大家族的组成之一,在发生转移的多种上皮恶性肿瘤中异常表达^[7]。血管内皮生长因子 C(VEGF-C)是 VEGFs 家族成员之一,既往动物研究结果证实 VEGF-C 在肝癌、乳腺癌、宫颈癌等恶性肿瘤中异常表达^[8]。此外有学者发现 VEGF-C 可能参与肿瘤淋巴管网结构生成和重塑过程,对肿瘤淋巴结转移起到正向或负向调节作用^[9]。本研究旨在探究肺癌组织中 MTA1 及 VEGF-C 的表达,分析其与肺癌分期及转移的内在联系。

对象与方法

1. 对象:2019 年 1 月~11 月于华中科技大学附属协和江北医院行肺叶切除手术及淋巴结清扫手术的肺癌患者 60 例,其中男 40 例,女 20 例,年龄 24~56 岁,平均年龄(40.22±15.32)岁。纳入标准:(1)符合《中华医学会肺癌临床诊疗指南(2019 版)》中肺癌诊断标准;(2)临床资料完整;(3)未合并其他恶性肿瘤。排除标准:(1)有靶向药物治疗史;(2)行放化疗。本研究经华中科技大学附属协和江北医院伦理委员会审核批准,所有患者均签署知情同意书。

2. 方法

(1)免疫组织化学法检测 MTA1 和 VEGF-C 在肺癌组织及癌旁组织中的表达:取患者的肺癌组织及肺癌旁组织(距离肿瘤 5 cm 以外)作为组织标本。组织标本于甲醛溶液中固定后,经不同浓度乙醇脱水,二甲苯溶液使切片透明后,包埋于石蜡中切片,捞片后烘干,经过脱蜡和水化处理,用抗原修复液浸泡组织切片行抗原修复。为避免组织假阳性染色,将组织置于 3%的 H₂O₂溶液中于室温下 37℃ 孵育半小时。加入非免疫山羊血清,37℃ 孵育,滴加稀释的一抗(MTA1、VEGF-C 抗体)后湿盒低温中过夜,DAB 显色液对切片组织进行显色处理,在行苏木精复染,复染结束脱水后中性树脂封片。随机选取 5 个较好的视野在光镜下(400 倍)观察着色细胞数量和着色程度,由病理科专业医师判断细胞阳性情况。着色细胞比例为 5% 以下记 0 分,6%~25% 记 1 分,26%~50% 记 2 分,50% 以

上记 3 分。细胞着色不明显记 0 分,浅黄色记 1 分,黄色记 2 分,棕黄色或棕褐色记 3 分。着色细胞比例细胞着色计分之和为细胞阳性情况:0 分为阴性,1~2 分为弱阳性,3~4 分为阳性,5~6 分为强阳性。

(2)分组方法:根据性别、年龄、吸烟史、肺癌组织学类型、淋巴结 N 分期、肿瘤 T 分期及术后病理检查结果中患者体内淋巴结转移数量分别进行分组,计算并比较各组 MTA1 和 VEGF-C 阳性表达率。淋巴结 N 分期:N0 期表示无淋巴结转移,N1 期表示有支气管周围或同侧肺门淋巴结转移,N2 期表示同侧纵隔或隆突下淋巴结转移。肿瘤 T 分期:T1 期表示肿瘤浸润至黏膜及黏膜下层;T2 期表示肿瘤浸润至肌层或浆膜下层,T3 期表示肿瘤穿透浆膜且未累及周围器官,T4 期表示直接侵犯邻近器官,含腔内扩展至十二指肠或食管。阳性表达率(%) = 阳性例数/总例数×100%。

3. 统计学处理:应用 SPSS 18.0 软件进行统计分析。计数资料以例和百分比表示,组间比较采用 χ^2 检验。双变量相关分析采用 Pearson 相关分析。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

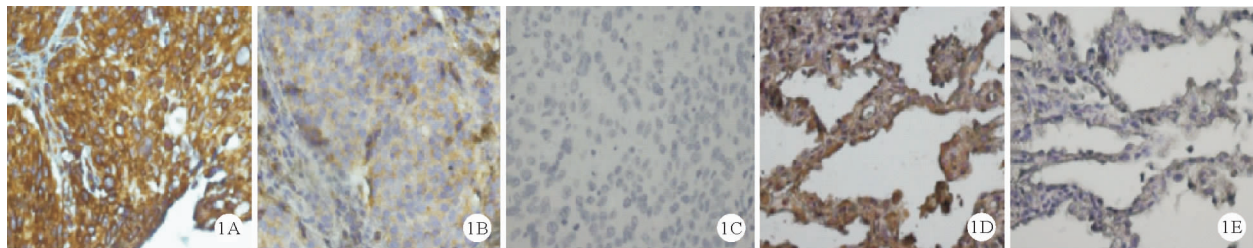
结 果

1. MTA1 和 VEGF-C 在肺癌组织及癌旁组织中的表达情况:MTA1 和 VEGF-C 蛋白阳性染色在肺癌细胞胞质中呈棕褐色或棕黄色,在肺癌组织中主要呈阳性表达,在癌旁组织中主要呈阴性表达。见图 1、2。

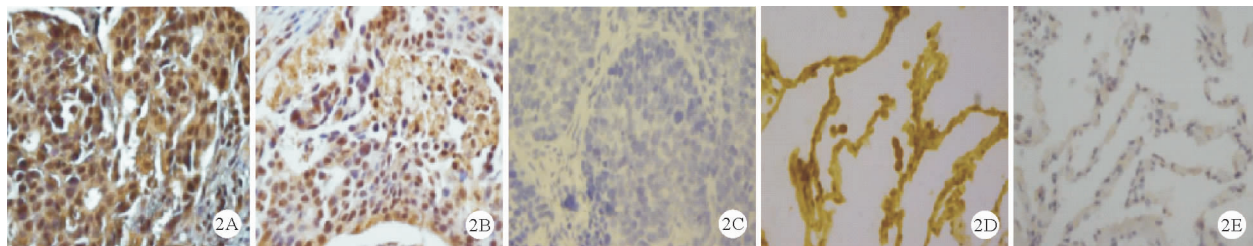
2. 不同性别、年龄、吸烟史、组织学类型患者肺癌组织中 MTA1 和 VEGF-C 阳性表达率比较:不同性别、年龄、吸烟史、组织学类型患者肺癌组织中 MTA1 和 VEGF-C 阳性表达率比较差异均无统计意义($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 不同性别、年龄、吸烟史、组织学类型患者肺癌组织中 MTA1 和 VEGF-C 阳性表达率比较[例,(%)]

组别	例数	MTA1 阳性表达	VEGF-C 阳性表达
性别			
男	40	30(75.00)	31(77.50)
女	20	13(65.00)	15(75.00)
年龄(岁)			
<50	13	9(69.23)	11(84.61)
50~60	30	21(70.00)	23(76.67)
>60	17	13(76.47)	12(70.59)
吸烟史			
是	38	27(71.05)	29(76.32)
否	22	16(72.73)	17(77.27)
组织学类型			
鳞癌	18	12(66.67)	14(77.78)
腺癌	40	30(75.00)	30(75.00)
其他	2	1(50.00)	2(100.00)



注:A:肺癌组织中强阳性表达;B:肺癌组织中弱阳性表达;C:肺癌组织中阴性表达;D:癌旁组织中强阳性表达;E:癌旁组织中阴性表达
图1 MTA1 在肺癌组织及癌旁组织中的表达情况(免疫组化染色,×400)



注:A:肺癌组织中强阳性表达;B:肺癌组织中弱阳性表达;C:肺癌组织中阴性表达;D:癌旁组织中强阳性表达;E:癌旁组织中阴性表达
图2 VEGF-C 在肺癌组织及癌旁组织中的表达情况(免疫组化染色,×400)

3. 不同淋巴结 N 分期肺癌组织及癌旁组织患者 MTA1 和 VEGF-C 的阳性表达率比较:肺癌患者按淋巴结 N 分期可分为 N0 期 32 例、N1 期 10 例和 N2 期 18 例。N0、N1、N2 期肺癌组织患者 MTA1 和 VEGF-C 阳性表达率均高于癌旁组织($P<0.05$)。见表 2。

表 2 不同淋巴结 N 分期肺癌组织及癌旁组织患者 MTA1 和 VEGF-C 的阳性表达率比较[例,(%)]

组别	例数	MTA1 阳性表达	VEGF-C 阳性表达
N0 期			
肺癌组织	32	18(56.25) ^a	20(62.50) ^a
癌旁组织	32	7(21.88)	7(21.88)
N1 期			
肺癌组织	10	7(70.00) ^a	8(80.00) ^a
癌旁组织	10	1(10.00)	2(20.00)
N2 期			
肺癌组织	18	18(100.00) ^a	18(100.00) ^a
癌旁组织	18	1(5.56)	1(5.56)

注:与同组癌旁组织比较,^a $P<0.05$

4. 不同组织中 N0 期、N1 期、N2 期患者 MTA1 和 VEGF-C 阳性表达率比较:肺癌组织中 N2 期 MTA1、VEGF-C 阳性表达率均高于 N0 期和 N1 期($P<0.05$)。癌旁组织 N0 期、N1 期、N2 期 MTA1、VEGF-C 阳性表达率两两比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表 3。

5. 不同组织中不同淋巴结转移数量患者 MTA1 和 VEGF-C 阳性表达率比较:肺癌组织淋巴结转移数量 ≥ 3 枚患者 MTA1 和 VEGF-C 阳性表达率均高于淋巴结转移数量为 1~2 枚患者和无淋巴结转移患者,癌旁组织淋巴结转移数量 ≥ 3 枚患者 MTA1 和 VEGF-C 阳性表达率均低于淋巴结转移数量为 1~2 枚患者和无

淋巴结转移患者($P>0.05$)。见表 4。

表 3 不同组织中 N0 期、N1 期和 N2 期患者 MTA1 和 VEGF-C 的阳性表达率比较[例,(%)]

组别	例数	MTA1 阳性表达	VEGF-C 阳性表达
肺癌组织			
N0 期	32	18(56.25) ^a	20(62.50) ^a
N1 期	10	7(70.00) ^a	8(80.00) ^a
N2 期	18	18(100.00)	18(100.00)
癌旁组织			
N0 期	32	7(21.88)	7(21.88)
N1 期	10	1(10.00)	2(20.00)
N2 期	18	1(5.56)	1(5.56)

注:与同组 N2 期比较,^a $P<0.05$

表 4 不同组织中不同淋巴结转移数量患者 MTA1 和 VEGF-C 的阳性表达率比较[例,(%)]

组别	例数	MTA1 阳性表达	VEGF-C 阳性表达
肺癌组织			
无淋巴结转移	32	18(56.25%) ^a	20(62.50%) ^a
淋巴结转移数量为 1~2 枚	13	10(76.92%) ^a	11(84.62%) ^a
淋巴结转移数量 ≥ 3 枚	15	15(100.00%)	15(100.00%)
肺癌旁组织			
无淋巴结转移	32	7(21.88%) ^a	7(21.88%) ^a
淋巴结转移数量为 1~2 枚	13	2(15.38%) ^a	2(23.08%) ^a
淋巴结转移数量 ≥ 3 枚	15	0(0.00%)	0(0.00%)

注:与同组淋巴结转移数量 ≥ 3 枚比较,^a $P<0.05$

6. 不同组织中不同分期患者 MTA1 和 VEGF-C 阳性表达率比较:肺癌组织 MTA1 阳性表达率在 T3~4 期高于肺癌旁组织同期($P<0.05$)。肺癌组织 VEGF-C 阳性表达率在各 T 分期中比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。癌旁组织 MTA1、VEGF-C 阳性表达率在各 T 分期中比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表 5。

表 5 不同组织中不同分期患者 MTA1 和 VEGF-C 的阳性表达率比较[例, (%)]

组别	例数	MTA1 阳性表达	VEGF-C 阳性表达
肺癌组织			
T1 期	15	5 (33.33) ^a	11 (73.33)
T2 期	32	25 (78.13)	23 (71.83)
T3~4 期	13	13 (100.00) ^b	12 (92.31)
癌旁组织			
T1 期	15	2 (13.33)	3 (20.00)
T2 期	32	6 (18.75)	5 (15.63)
T3-4 期	13	1 (7.69)	2 (15.38)

注:与同组 T3~4 期比较,^a $P < 0.05$;与癌旁组织 T3~4 期比较,^b $P < 0.05$

7. 肺癌患者 MTA1 和 VEGF-C 阳性评分相关分析:
Pearson 相关分析结果显示,肺癌组织 MTA1 阳性评分总分与 VEGF-C 阳性评分总分呈正相关($r = 0.394$, $P = 0.024$)。

讨 论

肺癌患者术后 5 年总生存率较低,癌细胞发生转移是影响肺癌患者生存的主要原因^[10]。肺内淋巴系统发达^[11],因此淋巴结转移是癌细胞转移的重要途径。肺癌淋巴管生成能帮助癌细胞进行转运,同时引流肿瘤细胞至淋巴结,增加了肿瘤恶性程度。VEGF-C 被认为是促淋巴管生成因子,并通过受体 VEGFR-2、VEGFR-3 发挥其生物学效用,能够促进癌细胞向淋巴结转移,启动淋巴系统进行全身性癌细胞扩散^[12]。林川等^[13]研究发现 MTA1 与肝癌转移过程关系密切,且控制相关信号通路的表达。陈伟妍等^[14]、刘涛等^[15]均通过免疫组织化学法检测到 MTA1 在食管癌中的表达出现异常,且其与淋巴结转移相关。

本研究结果显示,不同性别、年龄、吸烟史、组织学类型患者肺癌组织中 MTA1 和 VEGF-C 阳性表达率比较差异无统计意义,说明肺癌组织中 MTA1 和 VEGF-C 表达不受性别、年龄、组织学类型等因素影响。我们进一步对肺癌患者进行 N 分期后,发现 N0、N1、N2 期肺癌组织患者 MTA1 和 VEGF-C 阳性表达率均高于癌旁组织,提示 MTA1 和 VEGF-C 高表达是肺癌发生的高风险因素;另一方面,本研究发现肺癌组织中 N2 期 MTA1、VEGF-C 阳性表达率均高于 N0 期和 N1 期,表明肺癌组织中 MTA1、VEGF-C 阳性表达与淋巴结转移密切相关。进一步以淋巴结转移数量分组,发现肺癌组织淋巴结转移数量 ≥ 3 枚患者 MTA1 和 VEGF-C 阳性表达率均高于淋巴结转移数量为 1~2 枚患者和无淋巴结转移患者,癌旁组织淋巴结转移数量 ≥ 3 枚患者 MTA1 和 VEGF-C 的阳性表达率均低于淋巴结转移数量为 1~2 枚患者和无淋巴结转移患者,再次证实

MTA1、VEGF-C 阳性表达与淋巴结转移具有相关性,淋巴结转移数量(≥ 3 枚)甚至可以影响到癌旁组织 MTA1、VEGF-C 的阳性表达。

本研究中肺癌组织 MTA1 阳性表达率在 T3~4 期高于肺癌旁组织,说明 MTA1 蛋白在肺癌组织高表达可能与肿瘤大小相关。鉴于以上 MTA1 和 VEGF-C 两种蛋白在肺癌临床特征表达趋势相似,*Pearson* 相关分析结果显示肺癌组织 MTA1 阳性评分总分与 VEGF-C 阳性评分总分呈正相关,说明 MTA1 和 VEGF-C 在肺癌发生转移中可能具有协同作用。

综上所述,MTA1 和 VEGF-C 在肺癌组织中的表达显著高于癌旁组织,且与肺癌的恶性程度及淋巴结转移过程密切相关,两者有望成为临床判定肺癌侵袭及转移的重要靶标。本研究仍存在不足之处,由于条件限制,纳入的病例数量较少,且未收集到 N3 期的病例,群体代表性较差,上述结论仍需进一步 Meta 分析或用实验动物模型来证实。

参 考 文 献

- [1] 刘威,胡轶. 肺癌的诊断[J]. 临床内科杂志,2020,37(2):73-77.
- [2] 许良中,杨文涛. 免疫组化化学反应结果的判断标准[J]. 中国癌症杂志,2015,33(6):229-231.
- [3] 吴林生,陈亚男. 周维顺教授论肺癌证治拾萃[J]. 中华中医药学刊,2017,26(2):213-215.
- [4] 姜汉国,高崑,唐慰萍. VEGF、VEGF-C 和 VEGF-D 在甲状腺乳头状癌组织中的表达及意义[J]. 中国肿瘤外科杂志,2015,24(9):1136-1139.
- [5] 曹桂明,杨梅. VEGF-C 和 VEGFR-3 对乳腺癌淋巴管生成和淋巴结转移的影响[J]. 中国肿瘤临床,2016,33(6):310-313.
- [6] 李少雷,陈晋峰. Endostatin、VEGF-C 和 VEGFR-3 在非小细胞肺癌及其淋巴结组织中的表达与意义[J]. 中国肿瘤临床,2017,38(24):1519-1523.
- [7] 王建华. BMP9 对人肺腺癌细胞 A549 侵袭、迁移的影响及机制的研究[J]. 中华肿瘤防治杂志,2017,24(16):1148-1152.
- [8] 牟琴峰,魏江,徐宁,等. 实时荧光定量 PCR 检测人 apoM 方法的构建[J]. 基础医学与临床,2019,39(11):1592-1596.
- [9] Koyama H, Kobayashi N, Harada M, et al. Significance of Tumor-Associated Stroma in Promotion of Intratumoral Lymphangiogenesis: Pivotal Role of a Hyaluronan-Rich Tumor Microenvironment[J]. Am J Pathol,2018,172(1):179-193.
- [10] Miyazaki H, Yoshimatsu Y, Akatsu Y, et al. Expression of platelet-derived growth factor receptor β is maintained by Prox1 in lymphatic endothelial cells and is required for tumor lymphangiogenesis [J]. Cancer Sci,2016,105(9):1116-1123.
- [11] Shibata A, Nagaya T, Imai T, et al. Inhibition of NF-kappaB activity decreases the VEGF mRNA expression in MDA-MB-231 breast cancer cells [J]. Breast Cancer Res Treat,2002,73(3):237-243.
- [12] 张华,张明月,王洲,等. 肿瘤转移相关基因表达与 I 期非小细胞肺癌预后的相关性[J]. 实用癌症杂志,2018,34(26):84-97.
- [13] 林川,陈汉,吴孟超. 肿瘤转移基因 MTA1 在原发性肝癌中的表达及其临床意义[J]. 中华外科杂志,2017,38(12):915-917.
- [14] 陈伟妍,李桂艳,辛春,等. 食管癌组织中 MTA1、SOX2 的表达及与预后的关系研究[J]. 中国现代手术学杂志,2017,21(4):251-256.
- [15] 刘涛,张瑜红,郭建极,等. IIIA 期食管癌组织肿瘤转移相关蛋白 1 表达与预后的相关性[J]. 广东医学,2014,35(23):3670-3673.

(收稿日期:2020-06-01)

(本文编辑:余晓曼)