

β -catenin与VEGF-C和-D在结直肠癌中的表达及其相关性

牟江洪, 向德兵, 肖华亮, 林俐

■背景资料

淋巴管生成是肿瘤淋巴转移的一个重要因素。研究表明, 多种肿瘤VEGF-C/-D表达显著增加, 结合并激活受体VEGFR-3, 诱导肿瘤周围和/或肿瘤内部淋巴管生成, 促进肿瘤淋巴转移。

牟江洪, 向德兵, 肖华亮, 林俐, 中国人民解放军第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所病理科 重庆市 400042

国家自然科学基金资助项目, No. 30801096

作者贡献分布: 此课题由牟江洪、向德兵及肖华亮设计; 研究过程由牟江洪及林俐完成; 研究所用新试剂及分析工具由向德兵提供; 数据分析由牟江洪与向德兵完成; 本论文写作由牟江洪完成。

通讯作者: 牟江洪, 主治医师, 400042, 重庆市, 中国人民解放军第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所病理科. mjh945@hotmail.com
电话: 023-68757649

收稿日期: 2010-11-19 修回日期: 2011-01-15

接受日期: 2011-01-21 在线出版日期: 2011-02-28

Expression of β -catenin and VEGF-C/-D in colorectal cancer

Jiang-Hong Mou, De-Bing Xiang, Hua-Liang Xiao, Li Lin

Jiang-Hong Mou, De-Bing Xiang, Hua-Liang Xiao, Li Lin, Department of Pathology, Research Institute of Surgery, Daping Hospital, the Third Military Medical University, Chongqing 400042, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30801096

Correspondence to: Jiang-Hong Mou, Department of Pathology, Research Institute of Surgery, Daping Hospital, the Third Military Medical University, Chongqing 400042, China. mjh945@hotmail.com

Received: 2010-11-19 Revised: 2011-01-15

Accepted: 2011-01-21 Published online: 2011-02-28

Abstract

AIM: To investigate the expression of β -catenin and vascular endothelial growth factor-C/-D (VEGF-C/-D) in colorectal cancer (CRC) and to analyze their significance.

METHODS: The expression of β -catenin and VEGF-C/-D in 96 CRC specimens were detected by immunohistochemistry.

RESULTS: In normal colonic mucosa, β -catenin was detected on the plasma membrane of epithelial cells. Reduced membrane expression of β -catenin was noted in CRC, and 67.71% of cases of CRC showed cytoplasmic and nuclear expression of β -catenin. The positive rates of VEGF-C/-D expression were significantly higher in tumor tissue than in normal mucosa (43.75% vs 19.79%; 38.54% vs 13.54%, both $P < 0.01$). The expression

of β -catenin had a significantly positive correlation with that of VEGF-C/-D (both $P < 0.01$).

CONCLUSION: Cytoplasmic and nuclear β -catenin expression may induce VEGF-C/-D overexpression in CRC, which may play an important role in lymphangiogenesis in CRC.

Key Words: Colorectal cancer; β -catenin; Vascular endothelial growth factor-C; Vascular endothelial growth factor-D; Lymphangiogenesis

Mou JH, Xiang DB, Xiao HL, Lin L. Expression of β -catenin and VEGF-C/-D in colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(6): 636-639

摘要

目的: 探讨结直肠癌 β -连环素(β -catenin)与血管内皮生长因子-C和-D(VEGF-C, VEGF-D)的表达相关性及其意义。

方法: 应用免疫组织化学SP法检测96例结直肠癌及正常结直肠组织中 β -catenin与VEGF-C和-D的表达, 并分析其相关性和意义。

结果: 正常结直肠黏膜 β -catenin细胞膜阳性表达, 结直肠癌 β -catenin主要呈细胞核和/或细胞质异位表达, 异位表达率为67.70%; 结直肠癌组织VEGF-C和-D阳性率明显高于正常结直肠组织(43.75% vs 19.79%; 38.54% vs 13.54%, 均 $P < 0.01$); 而且 β -catenin与VEGF-C和-D的表达呈显著正相关(均 $P < 0.01$)。

结论: 结直肠癌 β -catenin异位表达可能是VEGF-C和-D高表达的重要原因, 其在结直肠癌淋巴管生成中可能起重要作用。

关键词: 结直肠癌; β -连环素; 血管内皮生长因子-C; 血管内皮生长因子-D; 淋巴管生成

牟江洪, 向德兵, 肖华亮, 林俐. β -catenin与VEGF-C和-D在结直肠癌中的表达及其相关性. *世界华人消化杂志* 2011; 19(6): 636-639

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/636.asp>

■同行评议者

黄培林, 教授, 东南大学

0 引言

血管内皮生长因子(vascular endothelial growth, VEGF)-C和-D是主要的淋巴管生成因子, 其可能与肿瘤发生、发展有关, 尤其是VEGF-C和-D通过其受体VEGFR-3信号传导途径诱导肿瘤淋巴管生成, 促进肿瘤淋巴结转移的潜在作用已越来越引起人们的重视^[1,2]。 β -catenin信号通路异常激活可以启动多种下游靶基因转录(如c-Myc、cyclin D1、NF- κ B、COX-2、MMP等), 在肿瘤的发生、发展、侵袭、转移中起重要作用; β -catenin胞质和/或胞核异位表达是其发挥作用的物质基础^[3,4]。新近有研究表明VEGF-C和-D基因启动子含有 β -catenin/Tcf-4复合体的结合位点, 其可能是 β -catenin信号通路的下游靶基因^[5,6]。为此, 我们拟检测结直肠癌 β -catenin异位表达和VEGF-C/D表达的相关性, 探讨 β -catenin信号通路在结直肠癌淋巴管生成中可能的潜在作用。

1 材料和方法

1.1 材料 选取中国人民解放军第三军医大学附属大坪医院1996-1998年间结直肠癌根治术石蜡标本96例, 其中男50例, 女46例, 男女比例为1:1; 年龄22-83(平均53)岁, 中位年龄57岁; 术前均未进行抗肿瘤治疗。

1.2 方法 所有标本经40 g/L中性甲醛液固定, 常规石蜡包埋, 4 μ m切片, 水化后行免疫组织化学SP法染色, 切片均采用胰酶消化和微波抗原修复, 其余步骤参照试剂盒说明进行。每例标本均对癌组织和相应正常结直肠黏膜染色。鼠抗人 β -catenin(1:200)、VEGF-C(1:50)、VEGF-D(1:200)单克隆抗体均为Novus Bio公司产品; SP试剂盒购自北京中杉生物技术公司。 β -catenin染色结果判断标准参照Maruyama等^[7]的方法, 胞质和/或胞核着色细胞比例>10%为阳性, 称为 β -catenin异位表达。VEGF-C和-D表达采用半定量计分法判定^[8], 细胞着色强弱分为四级: 不着色=0, 弱着色=1, 中等着色=2, 强着色=3; 着色细胞比例也分为四级: 无细胞着色=0、着色细胞比例<25%=1, 着色细胞比例25-50%=2, 着色细胞比例>50%=3。细胞着色强弱和着色细胞比例两者乘积 ≤ 2 为阴性表达, >2 为阳性表达。

统计学处理 应用SPSS10.0统计软件对数据进行显著性和相关性检验, 组间差异显著性采用 χ^2 或Fisher精确检验, β -catenin和VEGF-C/-D表达的相关性采用Spearman秩相关分析, $P<0.05$

表1 结直肠癌 β -catenin异位表达和VEGF-C/-D表达($n=96$)

	VEGF-C(+)	VEGF-C(-)	VEGF-D(+)	VEGF-D(-)
β -catenin	35	30	31	34
异位表达				
β -catenin	7	24	6	25
胞膜表达				

表示有显著统计学意义。

2 结果

2.1 结直肠癌 β -catenin、VEGF-C和-D表达 图1显示 β -catenin阳性物质呈棕黄色细颗粒状, 正常结直肠黏膜 β -catenin定位于黏膜上皮细胞胞膜, 结直肠癌 β -catenin胞膜表达不同程度缺失, 主要呈胞质和/或胞核表达, 异位表达率为67.70%。图2显示VEGF-C和-D阳性物质也呈棕黄色细颗粒状, 主要定位于结直肠癌癌细胞胞质。结直肠癌组织VEGF-C和-D阳性率分别为43.75%和38.54%, 经 χ^2 或Fisher精确检验, 均显著高于正常结直肠组织的表达率19.79%和13.54%($P<0.01$; $P<0.01$)。

2.2 结直肠癌 β -catenin异位表达和VEGF-C/-D表达相关性分析 结直肠癌组织中 β -catenin和VEGF-C或-D共同阳性或共同阴性的病例很多(表1), 通过Spearman秩相关分析表明 β -catenin异位表达与VEGF-C或-D表达有显著的正相关性($r=0.576$, $P<0.01$; $r=0.494$, $P<0.01$)。

3 讨论

VEGF-C和-D是目前发现的少数几个强有力的淋巴管内皮生长因子, 属于VEGF家族成员。但是与VEGF等其他家族成员不同的是, VEGF-C/-D具有双重作用: 在胚胎时期与血管内皮细胞VEGFR-2结合诱导血管生成, 而在成年主要与淋巴管内皮细胞VEGFR-3结合诱导淋巴管生成^[9]。体内体外实验已经证实, VEGF-C/-D在多种实体肿瘤中高表达, 并诱导肿瘤内和/或肿瘤周围淋巴管生成, 促进肿瘤转移^[10,11]。我们以前的研究也显示, 结直肠癌VEGF-C/-D表达较正常结直肠组织显著增加, 并与癌周淋巴管密度、淋巴结转移及远处器官转移密切相关, 提示结直肠癌VEGF-C/-D可能主要诱导癌周淋巴管生成, 进而促进结直肠癌转移^[12]。

但是到目前为止, 人们对VEGF-C/-D的调控机制还缺乏足够的认识, 一个重要原因是淋巴管生成机制与血管生成不尽相同, 缺氧等诸多影响

■ 相关报道

Katoh等通过生物信息学和人类情报库发现VEGF-C/-D基因启动子区域含有 β -catenin/Tcf-4复合体的结合位点, 首次找到了 β -catenin信号通路可能参与淋巴管生成的直接证据。

■应用要点

β -catenin信号通路对VEGF-C/-D调控机制的研究,有助于进一步阐明结直肠癌淋巴管生成和转移机制,同时拓展 β -catenin功能,为潜在的靶向 β -catenin信号通路的分子、基因治疗提供新的理论依据,具有重要的临床意义。

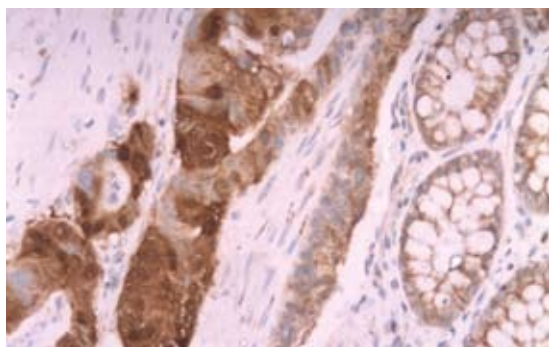


图1 结直肠癌 β -catenin阳性表达(SP \times 400)。

血管生成的因素并不调控VEGF-C/-D的表达。现有的研究仅发现细胞接触、类固醇激素以及几种细胞因子(如Heregulin- β 1)和致炎因子(如IL-1 α 、TNF)等少数VEGF-C/-D调控因素^[13,14],而且对其具体调控机制也还不甚清楚。

β -catenin信号通路是近年来发育生物学及肿瘤生物学研究的热点,在胚胎发育过程以及多种肿瘤的发生发展中起重要作用^[4]。 β -catenin信号通路致癌的关键是: β -catenin胞质累积(包括 β -catenin突变、表达激活、降解减少、E-cadherin- β -catenin复合体裂解等诱因),然后转位进入细胞核内,结合并激活Tcf-4转录因子,启动下游靶基因转录(如c-Myc、cyclin D1、NF- κ B、COX-2、MMP等),在肿瘤的发生、发展、侵袭、转移中起重要作用^[15]。大约90%的结直肠癌存在 β -catenin信号通路异常,被公认为结直肠癌发生发展过程中的关键信号通路之一。

更令我们感兴趣的是,已有研究显示 β -catenin信号通路通过调控VEGF等对血管生成具有重要的作用^[5,16],但是在淋巴管生成中是否也有类似的功能尚不清楚。新近有研究表明VEGF-C和-D基因启动子含有 β -catenin/Tcf-4复合体的结合位点,其可能是 β -catenin信号通路的下游靶基因^[5,6]。我们以前的研究发现 β -catenin异位表达与结直肠癌周淋巴管密度密切相关,可能与结直肠癌淋巴管生成有关,但其具体机制不清楚。本次实验结果显示 β -catenin异位表达和VEGF-C/-D有显著的正相关性,提示结直肠癌VEGF-C/-D可能是 β -catenin/Tcf-4信号通路的下游靶基因, β -catenin可能通过该通路直接调控VEGF-C/-D表达,进而在结直肠癌淋巴管生成中发挥作用。其具体调控机制和作用位点的进一步研究,将有助于阐明结直肠癌淋巴管生成和转移机制;同时拓展 β -catenin功能,为潜在的靶向 β -catenin信号通路的分子、基因治疗提供新

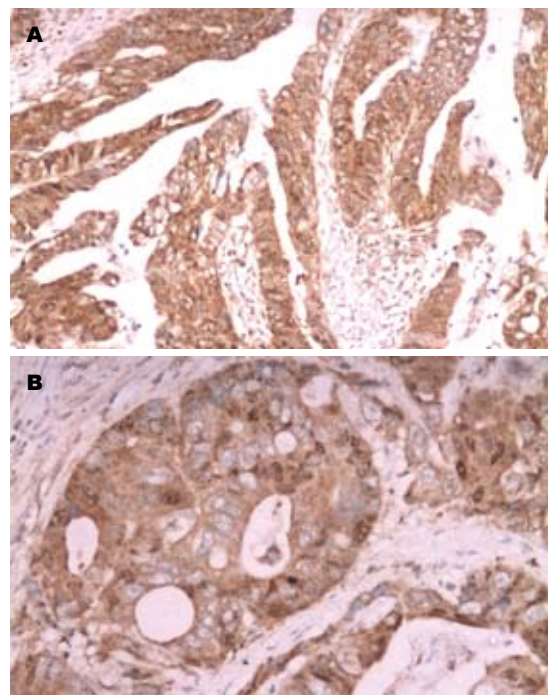


图2 结直肠癌VEGF-C/D阳性表达(SP \times 200)。A: VEGF-C; B: VEGF-D。

的理论依据。

4 参考文献

- 1 Al-Rawi MA, Jiang WG. Lymphangiogenesis and cancer metastasis. *Front Biosci* 2011; 16: 723-739
- 2 Kluger MS, Colegio OR. Lymphangiogenesis linked to VEGF-C from tumor-associated macrophages: accomplices to metastasis by cutaneous squamous cell carcinoma? *J Invest Dermatol* 2011; 131: 17-19
- 3 Katoh M. Networking of WNT, FGF, Notch, BMP, and Hedgehog signaling pathways during carcinogenesis. *Stem Cell Rev* 2007; 3: 30-38
- 4 Liu F, Millar SE. Wnt/beta-catenin signaling in oral tissue development and disease. *J Dent Res* 2010; 89: 318-330
- 5 Katoh Y, Katoh M. Comparative integromics on VEGF family members. *Int J Oncol* 2006; 28: 1585-1589
- 6 Easwaran V, Lee SH, Inge L, Guo L, Goldbeck C, Garrett E, Wiesmann M, Garcia PD, Fuller JH, Chan V, Randazzo F, Gundel R, Warren RS, Escobedo J, Aukerman SL, Taylor RN, Fantl WJ. beta-Catenin regulates vascular endothelial growth factor expression in colon cancer. *Cancer Res* 2003; 63: 3145-3153
- 7 Maruyama K, Ochiai A, Akimoto S, Nakamura S, Baba S, Moriya Y, Hirohashi S. Cytoplasmic beta-catenin accumulation as a predictor of hematogenous metastasis in human colorectal cancer. *Oncology* 2000; 59: 302-309
- 8 Mattern J, Koomägi R, Volm M. Biological characterization of subgroups of squamous cell lung carcinomas. *Clin Cancer Res* 1999; 5: 1459-1463
- 9 Joukov V, Sorsa T, Kumar V, Jeltsch M, Claesson-Welsh L, Cao Y, Saksela O, Kalkkinen N, Alitalo K. Proteolytic processing regulates receptor specificity and activity of VEGF-C. *EMBO J* 1997; 16: 3898-3911
- 10 Royston D, Jackson DG. Mechanisms of lymphatic metastasis in human colorectal adenocarcinoma. *J Pathol* 2009; 217: 608-619

- 11 Achen MG, Stacker SA. Molecular control of lymphatic metastasis. *Ann N Y Acad Sci* 2008; 1131: 225-234
- 12 Mou JH, Yan XC, Li ZP, Wang D, Duan GJ, Xiang DB, Xiao HL, Zhang QH. [Characteristic and clinicopathologic significance of lymphangiogenesis in colorectal cancer]. *Zhonghua Binglixue Zazhi* 2005; 34: 348-352
- 13 Varney ML, Singh S, Backora M, Chen Z, Singh RK. Lymphangiogenesis and anti-tumor immune responses. *Curr Mol Med* 2009; 9: 694-701
- 14 Cao Y, Zhong W. Tumor-derived lymphangiogenic factors and lymphatic metastasis. *Biomed Pharmacother* 2007; 61: 534-539
- 15 Pishvaian MJ, Byers SW. Biomarkers of WNT signaling. *Cancer Biomark* 2007; 3: 263-274
- 16 Doyle JL, Haas TL. Differential role of beta-catenin in VEGF and histamine-induced MMP-2 production in microvascular endothelial cells. *J Cell Biochem* 2009; 107: 272-283

■同行评价

本文逻辑性较好, 图片清晰, 讨论充分, 具有一定的科学性和实用性。

编辑 曹丽鸥 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

WJG 成功通过评审被 PMC 收录

本刊讯 PubMed Central(PMC)是由美国国家医学图书馆(NLM)下属国家生物技术信息中心(NCBI)创立的开放存取(Open Access)的生物医学和生命科学全文数据库。此数据库只收录采取国际同行评审制度评议的期刊, 并对收录期刊有较高的科学、编辑及数据文件质量要求。

截至目前, 我国只有两本期刊被PMC收录。《浙江大学学报B》(英文版)(*Journal of Zhejiang University Science B*)是我国第一本通过PMC评审并于2006-03-15被收录的期刊。《世界胃肠病学杂志》(英文版)(*World Journal of Gastroenterology, WJG*)第二本通过PMC评审并于2009-03-26被收录, 全文免费向公众开放, 见: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/tocrender.fcgi?journal=818&action=archive> (WJG编辑部主任: 程剑侠 2009-03-26)