

血管内皮生长因子和血管生成在甲状腺癌中的表达

齐云飞, 保荣¹, 裴丽霞², 王侗¹

(菏泽医学专科学校, 山东 菏泽 274030; ¹ 附属菏泽市立医院; ² 鹤壁职业技术学院)

摘要: 目的 探讨 VEGF、血管生成在甲状腺癌中的表达以及与淋巴结转移和预后的关系。方法 应用免疫组织化学 SP 法检测 82 例甲状腺癌、19 例甲状腺良性病变中 VEGF、CD34 的表达, 分析 VEGF 和 MVD 与甲状腺癌组织学分型、淋巴结转移和预后的关系。结果 甲状腺癌组织中 VEGF 的表达明显高于良性病变 ($P < 0.01$), 此外, VEGF 与 MVD 的表达与甲状腺癌淋巴结转移关系密切 ($P < 0.01$), 与组织学类型无关 ($P > 0.05$)。结论 VEGF、MVD 的表达增高对甲状腺癌淋巴结转移有促进作用, 可作为监测肿瘤发生、发展及判断预后的指标。

关键词 甲状腺癌; 肿瘤; 血管内皮生长因子; CD34; 免疫组化; 预后

中图分类号: R736.1; Q786 文献标识码: A 文章编号: 1008-4118(2005)04-0007-03

The Expression of Vascular Endothelial Growth Factor and Angiogenesis in Thyroid Carcinoma

QI Yun-fei, BAO Rong et al

(Heze Medical College, Heze 274030, Shandong)

Abstract: **Objective** To investigate the expression of vascular endothelial growth factor(VEGF) and microvessel density (MVD), lymph node metastasis and prognosis of thyroid carcinoma(TC). **Methods** VEGF, CD34 protein expression in 82 cases of TC and 19 cases of benign thyroid lesions were studied by streptavidin/peroxidase (SP) immunohistochemistry technique. **Results** There was significant difference between the expression of VEGF in malignant thyroid tumors and that in benign lesion ($P < 0.01$). In addition, VEGF protein expression and MVD correlated significantly with lymph node metastasis ($P < 0.01$) and had no difference in three histological types. **Conclusion** The increase of VEGF and MVD may promote lymph node metastasis. They can be regarded as valuable molecular markers for the tumor progression, recurrence and prognosis.

Key words: Tumor of thyroid; Vascular endothelial growth factor; CD34; Immunohistochemistry; Prognosis

肿瘤生长依赖于血管生成^[1], 实体性肿瘤直径大于 2mm 时, 其进一步的发展必须依赖于血管生成, 这些新生的血管网络系统为肿瘤的生长提供充分的氧和营养物质, 保证了肿瘤细胞的快速增殖能力^[2]。肿瘤生长依赖于血管生成的观点已得到研究结果的证实。抗肿瘤血管生成成了近 10 年来抗肿瘤发生、发展及其转移研究的热点。国内外已有报道, 乳腺癌、结肠癌、胃癌、食道癌等瘤区微血管密度与癌转移密切相关^[3-5]。甲状腺癌是临床上较常见且易复发、转移的肿瘤, 我们应用免疫组化方法检测甲状腺癌中血管内皮生长因子(VEGF)、CD34 的表达, 探讨其与甲状腺癌组织学分型、淋巴结转移和预后的关系。

1 临床资料

1.2 一般资料 82 例甲状腺癌中, 男性 23 例, 女性 59 例, 年龄 20~72 岁, 中位年龄 39.5 岁。有淋巴结情况记录者 70 例, 发生转移者 41 例。随访病例 53 例, 肿瘤复发者 28 例。

1.1 材料 82 例甲状腺癌(滤泡癌 31 例、乳头状癌 43 例、髓样癌 8 例) 均经 10% 甲醛固定、常规包埋, 厚 4~5 μ m 切片, 分别作 HE 和免疫组化染色。12 例

良性病变(包括甲状腺腺瘤、结节性甲状腺肿、桥本病) 作为对照观察。

1.3 染色方法 免疫组化方法采用 SP 法: 切片脱蜡、水化 0.3% H₂O₂ 甲醇室温 10min; 枸橼酸缓冲液微波抗原修复; 非免疫性动物血清室温 10min; 加一抗 4 $^{\circ}$ C 冰箱过夜, 阴性对照用 PBS 代替一抗; 加生物素标记的二抗室温 10min; 加链亲和素-过氧化物酶溶液室温 10min; DAB 显色, 苏木素复染, 透明, 封片。鼠抗人单克隆抗体 VEGF、CD34 及 SP 试剂盒购自福州迈新生物技术开发公司。

1.4 阳性判定标准 VEGF、CD34 阳性表达部位为细胞浆, 瘤细胞呈棕黄色染色者为阳性。阳性细胞 < 25%(+), 阳性细胞 25%~50%(++), 阳性细胞 50%~75%(+++), 阳性细胞 > 75%(Ⅳ)^[6]。微血管密度(MVD) 计数参照 Weidner^[7] 和 Maeda^[8] 报道的方法, 先在低倍镜(100x) 下全面观察切片以确定肿瘤内血管密度最高处, 再在高倍镜(200x) 下, 以肿瘤内任何一个棕色染色的内皮细胞或细胞丛作为一个血管计数。记录 5 个视野内的微血管数, 取其平均数作为该病例 MVD 值。

1.5 统计学处理 VEGF 在良、恶性病变中的表达、与各组织学类型的关系及与肿瘤转移、复发的关系采用 χ^2 检验, MVD 与各临床病理指标间的关系用方差分析。

2 结果

2.1 82 例甲状腺癌中 59 例 VEGF 表达阳性(71.95%), 阳性细胞呈弥漫性分布。12 例良性病变中 2 例 VEGF 表达阳性(16.67%), 阳性细胞呈小灶性分布。两组相比, 差异有显著性意义($P < 0.01$)。

2.2 MVD 表达: 甲状腺肿瘤组织中所有毛细血管、小静脉和小动脉内皮细胞均为 CD34 染色阳性。甲状腺癌的 MVD 平均为 22.89 ± 4.01 , 而甲状腺腺瘤中 MVD 为 2.69 ± 1.52 。两组比较, 差异有高度显著性($P < 0.001$)。甲状腺癌各组织学类型之间比较, 差异无显著性意义($P > 0.05$) (见表 1)。

2.3 VEGF、CD44v6 与甲状腺癌转移、复发的关系 41 例有淋巴结转移的甲状腺癌中, VEGF、MVD 的表达与无转移组相比, 差异有显著性意义($P < 0.01$) (见表 2)。

表 1 甲状腺癌各组织学类型 VEGF、MVD 的表达

类型	例	VEGF			阳性率	MVD
		+++	++	+		
滤泡癌	31	8	4	9	67.74	26.49 ± 3.72
乳头状癌	43	14	11	9	77.20	25.03 ± 2.74
髓样癌	8	2	1	1	50.00	13.81 ± 1.71
腺瘤	19	0	0	3	15.79	2.29 ± 1.52

表 2 VEGF、MVD 与甲状腺癌转移的关系

转移情况	例数	VEGF		MVD
		+	-	
有	41	37	4	19.14 ± 2.23
无	29	14	15	11.62 ± 1.89

2.4 VEGF 和 MVD 与肿瘤复发的关系 以 VEGF 阳性细胞数将患者分为高表达组(+++ ~ ++++) 和低表达组(+ ~ ++), 以 MVD 的中位数为分界点, ≤ 23 为低表达组, > 23 为高表达组。在 VEGF 高表达组和低表达组中, 肿瘤复发率为 41.1% (23/56) 23.2% (13/56); 在 MVD 高表达组和低表达组中, 肿瘤复发率为 44.6% (25/56) 19.6% (11/56)。VEGF 和 MVD 高表达组的复发率高于低表达组($P < 0.05$ 、 $P < 0.025$)。

3 讨论

VEGF 是一个分子量为 46kd 的高度糖基化的碱

性蛋白, 为血小板源生长因子家族的一个成员, 可由正常细胞及肿瘤细胞产生和分泌。VEGF 与内皮细胞上两种特异性受体 Flt-1 和 Flk-1 结合而发挥作用 (1) 促进内皮细胞增殖。(2) 提高血管通透性。(3) 改变细胞外基质^[9]。目前认为, 肿瘤细胞的淋巴结转移有两条途径 (1) 肿瘤血管生成促使肿瘤体积增加, 肿瘤边缘部位的肿瘤细胞与淋巴管的接触增多, 或者通过静脉-淋巴管吻合处从血液进入淋巴管, 并且, 肿瘤的淋巴结转移率随着血液循环中肿瘤细胞的增加而增高。因此, 肿瘤血管生成对淋巴结转移有间接的促进作用。(2) 血管生成因子可能对淋巴管内皮细胞同样具有促分裂和增殖作用, 诱导淋巴管生成^[10]。因此, 肿瘤血管生成与淋巴结转移可能有直接关系, 它更有利于肿瘤细胞浸润淋巴管, 促进肿瘤向淋巴结转移。近来又发现属于 VEGF 家族的 VEGF-C, 是一种相对特异的淋巴管内皮生长因子。Hung 等^[11]发现, 甲状腺乳头状癌中 VEGF-C 的表达显著高于其他类型甲状腺癌。国外研究资料表明^[12], 甲状腺癌中的血管密度大于正常甲状腺组织, VEGF 的高表达与甲状腺癌的生长和侵犯有密切关系。Klein 等^[13]发现 VEGF 与病人年龄、肿瘤大小及甲状腺球蛋白水平无明显关系, 有转移与无转移有显著差异。Bunone 等^[14]用免疫组化及半定量 RT-PCR 方法, 在正常甲状腺组织及甲状腺良、恶性病变中检测各种血管生成刺激因子(VEGF、VEGF-C、Ang-2 及其相应的受体 KDR、Flt-4 和 Tek), 结果显示 VEGF 在甲状腺腺瘤和微小癌与正常甲状腺组织中无明显差异, 而在甲状腺乳头状癌和大多数侵袭性滤泡癌中有过度表达, 有淋巴结转移的甲状腺癌中 VEGF-C 表达升高。本研究显示 82 例甲状腺癌 VEGF 的表达明显高于良性病变, 与患者性别、年龄、肿瘤大小无关。与国外研究有所不同的是各组织学类型之间无明显差异。有淋巴结转移的甲状腺癌与无转移组比较, 有显著性差异, 也表明 VEGF 的表达与甲状腺肿瘤生长和转移密切相关。我们的结果显示 VEGF、MVD 的高表达与甲状腺癌复发显著相关, 可以作为判断甲状腺癌预后的指标。近 5 年来, 抗肿瘤血管形成的治疗被广泛应用于肿瘤治疗中^[15], 本研究为针对 VEGF 的抗甲状腺癌治疗提供依据, 用抗 VEGF 的方法治疗甲状腺癌或预防甲状腺癌复发和转移完全可行, 比传统的放、化疗副作用要小得多。

参考文献:

[1] Folkman J. Fighting cancer by attacking its blood supply [J]. Sci Am , 1996 , 275(3): 150 - 154 .
[2] Folkman J. What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent [J]. J Natl Cancer Inst , 1990 , 82(1): 4 - 6 .
[3] 王成刚,余之刚,孙靖中. 血管增殖与乳腺癌预后的相关性研究 [J]. 肿瘤防治杂志 , 2003 , 10(2): 133 - 136 .
[4] 王辅林,韦立新,陈乐真. 血管内皮生长因子、微血管密度与乳腺癌淋巴结转移及预后的关系 [J]. 中华病理学杂志 , 2000 , 29(3): 172 - 175 .
[5] 陆敏,江悦琴,王瑞年. 血管内皮细胞生长因子和血管生成与胃癌发展的关系 [J]. 中华病理学杂志 , 1998 , 27(4): 278 - 281 .
[6] 许良中. 实用肿瘤病理方法学 [M]. 上海:上海医科大学出版社, 1997 . 253 .
[7] Weidner N , Folkman J , Pozza S , et al . Tumor angiogenesis : a new significant and independent prognostic indicator in early - stage breast carcinoma [J]. J Natl Cancer Inst , 1992 , 84 : 1875 - 1886 .
[8] Maeda K , Chung YS , Ogawa Y , et al . Prognostic value of vascular endothelial growth factor expression in gastric carcinoma [J]. Cancer , 1996 , 77 : 858 - 863 .
[9] Dvorak HF , Brown LF , Detmar M , et al . Vascular permeability fac-

tor/vascular endothelial growth factor , microvascular hyperpermeability , and angiogenesis [J]. Am J Pathol . 1995 , 146(5): 1029 - 1039 .
[10] Ohta Y , Watanabe Y , Murakami S , et al . Vascular endothelial growth factor and lymph node metastasis in primary lung cancer [J]. Br J Cancer , 1997 , 75(7): 1041 - 1045 .
[11] Hung CJ , Ginzinger DG , Zarnegar R , et al . Expression of vascular endothelial growth factor - C in benign and malignant thyroid tumors [J]. J Clin Endocrinol Metab , 2003 , 88(8): 3694 - 3699 .
[12] Turner HE , Harris AL , Melmed S , et al . Angiogenesis in endocrine tumors [J]. Endocr Rev , 2003 , 24(5): 600 - 632 .
[13] Klein M , Vignand JM , Hennequin V , et al . Increased expression of the vascular endothelial growth factor is a pejorative prognosis marker in papillary thyroid carcinoma [J]. J Clin Endocrinol Metab , 2001 , 86(2): 656 - 658 .
[14] Bunone G , Vigneri P , Mariani L , et al . Expression of angiogenesis stimulators and inhibitors in human thyroid tumors and correlation with clinical pathological features [J]. Am J Pathol , 1999 , 155(6): 1967 - 1976 .
[15] 郑朝旭. 抗肿瘤血管形成基因治疗研究进展 [J]. 国外医学. 外科学分册 , 2000 , 27(1): 14 - 16 .

收稿日期 2005 - 09 - 10

利福平治疗感染性天疱疮致多形红斑药物疹 2 例

刘丽丽,李翔

(郓城县人民医院,山东 郓城 274700 ;菏泽市传染病医院)

关键词: 利福平/副作用;多形红斑药物疹/病因学
中图分类号: R758.25

例 1: 女, 23 岁, 因口腔溃疡 2 个月, 全身水疱 1 个月余入院。患者 2 个月前出现口腔糜烂至外院拟“天疱疮”诊治, 予地塞米松多日, 剂量不详, 后病情好转。1 月前, 左腋下出现水疱后延至前胸、后背, 遂来我院就诊, 门诊拟“天疱疮”收住, PE: T 37.5℃。P 82 次/分。R 20 次/分, BP 125/75mmHg。心肺无殊, 腹软无压痛, 肝脾肋下未及, 神经系统检查无异常。专科检查: 头面、躯干、会阴、双下肢散在水疱疱壁松弛, 尼氏征 (+), 部分破溃, 形成糜烂面, 口腔散在米粒大小前浅溃疡。辅助检查: 白蛋白 27g/L。EKG: 左心室高电压。入院后予甲基强的松龙 40g/d, 后加至 60g/d。并予丙种球蛋白冲击治疗, 患者创面培养加药敏示金黄色葡萄球菌生长, 利福平抗感染治疗, 1 周后躯干部出现许多水肿性红斑, 部分融合, 瘙痒明显, 故立即停用利福平, 改用阿奇霉素, 同时应用白蛋白等支持疗法, 3 周后皮疹消退, 水疱干涸结痂, 病情好转出院。

例 2: 男, 62 岁, 因全身红斑水疱 1 年加重 1 个月入院。患者因全身反复出现红斑水疱糜烂两次住本院治疗, 确诊为红斑型天疱疮, 予甲基强的松龙及丙种球蛋白冲击治疗, 后病情好转出院, 出院后继用强的松并逐渐减量, 1 个月前面部出现红斑、水疱并逐渐增多延及躯干四肢, 为进一步诊疗遂住院。PE: T 37℃、P 84 次/分、R 18 次/分、BP 130/75mmHg。心肺(-), 腹软, 肝脾肋下未及神经系统检查无异常, 专科检查: 头面、颈部、胸腹部见豆粒大小斑疹, 其上有绿豆大小小

驰水疱壁薄, 尼氏征 (+), 大部分水疱已破, 有渗液及黄色油腻性结痂, 辅助检查: 丙氨酸氨基转移酶 137u/L, 天门冬氨酸氨基转移酶 37u/L, 总胆红素 19μmol/L, 碱性磷酸酶 193u/L, A/G1:1, 尿常规: GLU2+。空腹血糖 6.1mmol/L, 餐后血糖 20.2mmol/L。创面培养示金黄色葡萄球菌生长, 入院后予甲强龙 40mg 静滴, 每日一次, 阿奇霉素 0.6, 甘利欣 1.2 静滴, 每日一次, 胰岛素分别 6u(早)和 4u(晚)肌注, 同时口服拜糖平 1 片每日两次, 丙种球蛋白 22.5g/d, 连用 5 天, 病情未好转, 糜烂面加大, 予利福平 0.4g 口服, 每日一次, 治疗 7 日后, 全身出现许多水肿性红斑, 典型者有虹膜样损害, 伴瘙痒, 但无新发水疱, 立即停用利福平, 改外涂新霉素软膏, 5 日后, 皮疹逐渐减少, 糜烂面干涸, 无新发皮疹, 加用硫唑嘌呤 50mg, 每日 2 次口服, 甲基强的松龙递减, 2 周后患者全身红斑、丘疹消退, 病情好转出院。

讨论

天疱疮病因是自身免疫功能混乱, 而产生自身抗体, 导致棘细胞松懈, 产生许多水疱, 同时由于皮肤表面糜烂, 屏障功能丧失, 继发细菌感染。我们应用利福平治疗天疱疮创面感染, 用药期间, 出现许多新的红斑、丘疹, 当时考虑属天疱疮病情加重, 遂加大了激素用量, 但新发皮疹并未因此逐渐消退, 且有增多趋势。经仔细观察分析认为系药物反应所致, 遂停用利福平改用大环内脂类抗生素, 经过一段时间治疗, 皮疹消退, 究其发病机制, 可能属药物反应所致 IV 型变态反应。以上病例启示我们在应用抗生素治疗天疱疮继发感染时, 要认真观察皮损形态, 仔细辨别天疱疮与药疹的皮损。在应用利福平时, 还应考虑可能引起, 即药物型天疱疮, 此类疾病发病机理不清, 其皮损特点, 与落叶型天疱疮相似, 故可与药疹鉴别。此外, 还需要与之鉴别的两种疾病是自体敏感性皮炎和传染性湿疹样皮炎。有人认为此两类疾病发病机理相似, 临床表现属湿疹范畴, 皮损特点为多种形态, 有红斑、丘疹、水疱、糜烂渗出等, 可与多形红斑型药疹鉴别。

收稿日期 2005 - 08 - 07