

doi:10.13241/j.cnki.pmb.2014.14.012

VEGF 和 Survivin 在肾癌中的表达及其相关性研究 *

乔振奎¹ 付培德² 王科亮¹ 田立志¹ 鲁洪涛¹

(1 哈尔滨医科大学附属第四医院泌尿外科 黑龙江 哈尔滨 150001;

2 哈尔滨医科大学附属第四医院影像科 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要 目的:探讨肾癌组织中血管内皮生长因子 VEGF 与凋亡抑制蛋白 Survivin 表达的相关性及其之间的关系,研究 Survivin 和 VEGF 在肾癌发生发展中的作用机制。**方法:**应用免疫组织化学方法检测 70 例肾癌组织和 70 例肾癌旁正常肾脏组织中 VEGF 和 Survivin 的表达,并将检测结果与临床病理特征进行综合分析。**结果:**VEGF 和 Survivin 在肾癌中表达均高于癌旁正常肾脏组织;Survivin 和 VEGF 在肾癌中的阳性表达率分别为 75.71% (53/70) 和 72.86% (51/70),在癌旁肾脏组织中的表达率分别为 0% (0/70)、17.14% (12/70),差异均有显著性意义($P<0.05$);VEGF 和 Survivin 的表达与患者的性别、年龄、肿瘤大小、病理分级均无相关性;VEGF 和 Survivin 表达呈正相关性。**结论:** VEGF 和 Survivin 在肾癌组织中表达率较高,为肾癌的分子靶向治疗提供了新的靶点。Survivin 和 VEGF 在 RCC 中的表达关系密切,测定 RCC 中 Survivin、VEGF 蛋白的表达,有助于临床判断病人预后。

关键词: 肾癌;血管内皮生长因子;凋亡蛋白

中图分类号:R737.11 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2014)14-2657-04

VEGF and Survivin Expression and Their Relationship in Renal Cell Carcinoma*

QIAO Zhen-kui¹, FU Pei-de², WANG Ke-liang¹, TIAN Li-zhi¹, LU Hong-tao¹

(1 Urology, Forth Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China;

2 Radiologic department, Forth Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China)

ABSTRACT Objective: To study the expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and Survivin in renal cell carcinoma (RCC) and its relationships, research Survivin and VEGF in renal cell carcinoma development mechanism. **Methods:** The expression of VEGF and Survivin in 70 renal cell carcinoma specimens and 70 normal kidney tissue specimens were detected by immunohistochemistry, and the result was analyzed in relation to the patients' clinicopathologic characteristics. **Results:** The expression of VEGF and Survivin in renal cell carcinoma were higher than those in the normal kidney tissue specimens. Of the 70 RCC specimens, 53 (75.71%) were positive for Survivin expression, and 51 (72.86%) were positive for VEGF expression. Survivin expression was not detected in normal kidney tissue, and 12 (17.14%) of these tissues were positive for VEGF, showing significant difference in Survivin and VEGF expressions between RCC specimens and normal kidney tissue; VEGF and Survivin expression were not correlated to the patient's gender, age, tumor size, pathological grade ($P>0.05$). Correlation analysis indicated a close correlation between the expressions of VEGF and Survivin in renal cell carcinoma specimens. **Conclusion:** VEGF and Survivin are over-expressed in renal cell carcinoma specimens, and may theoretically serve as the targets of molecular targeted drugs. Detection of the expressions of Survivin and VEGF in RCC tissues may provide assistance for prognostic evaluation of the patients.

Key words: Renal cell carcinoma; Vascular endothelial growth factor; Survivin

Chinese Library Classification(CLC): R692 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)14-2657-04

前言

肾细胞癌(renal cell carcinoma, RCC)简称肾癌,是泌尿系统常见的恶性肿瘤,其发病率占成人恶性肿瘤的 3%,居泌尿系统肿瘤第二位,仅次于膀胱癌,居泌尿系肿瘤第二位^[1]。肾癌是一种高度血管化肿瘤,有关研究表明其可以在体内外高表达血管内皮细胞生长因子。肿瘤细胞的凋亡是当前肿瘤研究的热点,

而凋亡抑制蛋白家族在肿瘤的形成和发展过程中的作用倍受人们关注。Survivin 是凋亡抑制蛋白家族(inhibitor of apoptosis family of protein, IAPs) 中至今发现的功能最强的凋亡抑制蛋白,在正常成人组织中是一个关闭基因,在肿瘤组织中被激活而参与肿瘤的发生发展。血管内皮生长因子(VEGF) 又称为血管通透因子(VPF),与肿瘤的复发、转移有关。本研究旨在检测血管内皮生长因子 VEGF 与凋亡抑制因子 Survivin 在肾癌组

* 基金项目:黑龙江省卫生厅科研课题 (2011-158)

作者简介:乔振奎(1978-),男,主治医师,研究方向:肾肿瘤, E-mail:qiaozhenkui1978@126.com

(收稿日期:2013-06-28 接受日期:2013-07-19)

织及癌旁组织中的表达情况,以探讨他们同肾癌生物学行为及在临床上的应用价值。

1 资料与方法

1.1 组织标本

选用哈尔滨医科大学附属第四医院在 2009 年 6 月 1 日-2011 年 7 月 30 日外科手术切除的肾癌患者癌组织及相应的癌旁组织(距癌旁边缘 >3 cm)各 70 例。所有病例经病理学确诊为肾癌。癌旁组织取自肾脏切除组织健侧缘。病理证实为正常肾脏组织。所有患者术前均未经放疗或化疗。其中男性 38 例,女性 32 例,年龄 32-76 岁,平均 52.8 岁。肿瘤标本病理分级按 WHO 的分级标准,G1 级 21 例,G2 级 34 例,G3 级 15 例。

1.2 试剂

兔抗人血管内皮生长因子多克隆抗体购买自上海工研生物技术有限公司,Survivin 兔抗人多克隆抗体购买自上海工研生物技术有限公司。免疫组化试剂盒购自武汉博士德生物工程有限责任公司。

1.3 方法

将石蜡标本制成 5 μ m 厚连续切片 4 张,分别行苏木素-

伊红染色及免疫组化,并设置空白对照,用 PBS 代替一抗的做阴性对照,一张作 Survivin 的免疫组化染色,DAB 显色,苏木素轻度复染,二甲苯透明,中性树脂封片。显微镜下观察。

1.4 结果判断

每批实验设阳性和阴性对照,阳性表达为棕黄色颗粒。

1.5 统计学分析

本实验所得出的相关数据均采用 SPSS13.0 软件进行统计学分析处理,采用 χ^2 检验和 Fisher's 精确概率法,相关性分析采用 Spearman 等级相关分析的双侧检验,以 $P<0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 VEGF 在肾癌组织及癌旁正常组织中的表达情况

在肾癌组织中,VEGF 阳性表达主要位于细胞胞浆内,为棕黄色颗粒分布于胞浆中。VEGF 蛋白在癌旁正常肾脏组织中的表达率为 17.14% (12/70),在肾癌组织中为 72.86% (51/70)。在肾癌组织中 VEGF 的表达强度显著高于癌旁肾脏组织,两组之间的差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

表 1 VEGF 在肾癌组织和癌旁组织中的表达

Table 1 The expression of VEGF in renal cell carcinoma and adjacent tissues

Tissue Classification	VEGF(+)	VEGF(-)	Total
Renal cell carcinoma	51	19	70
Adjacent tissues	12	58	70

2.2 Survivin 在肾癌组织和癌旁组织中的表达情况

凋亡抑制因子 Survivin 阳性表达主要位于细胞的胞浆内,呈明显的异质性。在肾癌组织中,70 例标本中,Survivin 的阳性表达为 53 例,阳性率为 75.71%。在癌旁正常肾脏组织对照组

中无一例表达 Survivin, 统计分析表明肾癌组中 Survivin 的表达率显著高于正常对照组($P<0.05$),Survivin 的水平与肾癌发生有显著相关性(见表 2)。

表 2 Survivin 在肾癌组织和癌旁组织中的表达

Table 2 Survivin expression in renal cell carcinoma and adjacent tissues

Tissue Classification	VEGF(+)	VEGF(-)	Total
Renal cell carcinoma	53	17	70
Adjacent tissues	0	70	70

2.3 VEGF、Survivin 表达与肾癌组织中的临床病理特征间的关系

血管内皮细胞生长因子(VEGF)与凋亡抑制因子 Survivin 在肾癌组织中的表达情况,与肿瘤的大小和肿瘤的病理分级以及患者的性别、年龄之间无明显的相关性,组内比较差异没有统计学意义($P>0.05$),见表 3。

2.4 VEGF、Survivin 表达相关性分析

本组 70 例肾癌患者中 VEGF 和 Survivin 共同阳性表达 35 例, 阴性表达 10 例, 二者在肾癌组织中的表达存在正相关性($P<0.05$, 见表 4),提示血管内皮细胞生长因子与 Survivin 在肾癌的发展过程中存在相互协同作用。

3 讨论

肿瘤的发生、发展、转移及预后是一个多阶段、多基因调控的复杂过程,由多种肿瘤相关基因共同作用的结果^[2]。肾癌是泌尿外科最常见的恶性肿瘤之一,其发病率在中国泌尿系统肿瘤中占第二位,仅次于膀胱肿瘤。早期缺乏特异的症状和体征,易发生转移,且对放化疗均不敏感,治疗上目前主要是采用外科手术。因此,寻找肾癌新的分子生物学标志,做到早期发现肾癌,使其能更早的得到外科手术具有重要的临床意义。

VEGF 是目前已知的作用最强的促血管生成因子之一^[3-5]。对血管内皮细胞具有强烈的促分裂和趋化作用,通过刺激血管内皮细胞增殖和血管通透性,以诱导肿瘤血管生成,在肿瘤的发生发展中起关键作用^[6-9]。而 Survivin 是 1997 年发现的一种新的抗凋亡因子^[10-11],是 IAPs 家族中分子量最小的成员,也是

表 3 VEGF 和 Survivin 表达与肾癌组织中的临床病理特征间的关系

Table 3 The relationship between VEGF and Survivin expression in renal cell carcinoma clinical and pathological features

Clinicopathological parameters		n	Survivin		P	VEGF		P
			+	-		+	-	
Gender	Male	42	32	10	>0.05	31	11	>0.05
	Female	28	21	7		19	9	
Age	≤50	25	19	6	>0.05	17	8	>0.05
	>50	45	34	11		34	11	
Tumor size	≤5cm	32	24	8	>0.05	20	12	>0.05
	>5cm	38	29	9		31	7	
Pathologicale grad	G1	21	15	6	>0.05	15	6	>0.05
	G2	33	25	8		25	8	
	G3	16	13	3		11	5	

表 4 VEGF 和 Survivin 在肾癌组织和癌旁组织中的表达

Table 4 VEGF and Survivin expression in renal cell carcinoma and adjacent tissues

Tissue Classification	n	Survivin(+)	P	VEGF(+)	P
Renal cell carcinoma	70	53	<0.05	51	<0.05
Adjacent tissues	70	0		12	

目前发现的最强的凋亡抑制因子,在大多数人类肿瘤中表达而在分化的正常组织不表达,具有抑制细胞凋亡,干扰细胞周期,调节细胞分裂,参与肿瘤微血管生成等功能,与肿瘤的发生、发展及预后密切相关^[12-15]。

本研究结果中,VEGF 和 Survivin 在肾癌组织中阳性表达率分别为 72.86%、75.71%;在癌旁正常肾脏组织中,VEGF 的阳性表达率为 17.14%,而 Survivin 则无阳性表达;显示 VEGF 和 Survivin 在肾癌组织中的表达强度明显高于癌旁的正常肾脏组织,表明二者在肾癌的发生、发展过程中起着重要的作用,可能是肾癌新生血管形成及参与抑制肾癌细胞凋亡的重要因素。但其表达强度与肾癌患者的年龄、性别以及肿瘤大小和肿瘤的病理分级无明显的相关性。Tran^[16]等研究表明,Survivin 是 VEGF 诱导的目的基因之一,Survivin 的显著上调与 VEGF 的诱导与体内新生血管形成过程密切相关^[17-19]。目前,有关 VEGF 和 Survivin 在肾癌中阳性表达的相关性研究方面的报道相对较少。本实验中,对肾癌组织中 VEGF 和 Survivin 阳性表达的结果显示二者呈正相关性,提示:其在肾癌组织中除发挥各自生物学特性外,还具有相互协同作用,推测 VEGF 可能是上调 Survivin 的重要因素之一,使凋亡抑制因子 Survivin 更好发挥其抑制血管内皮细胞凋亡,促进血管增殖的作用,并和 VEGF 协同作用,共同促进肿瘤血管的形成。因此同时检测 VEGF 和 Survivin 的表达情况有助于临床工作中更好的评估肾癌的生物行为,指导临床治疗。

总之,肾癌的发生、发展是一个多因素、多元素参与的过程,有抑癌基因存在,也有血管生成因子参与其中。本研究结果表明,VEGF 和 Survivin 在肾癌中阳性表达,且具有相互协同作用,共同促进肾癌血管的形成。可以通过联合检测 Survivin、VEGF 来早期发现和诊断肾癌,并进一步推断肾癌的生物行

为,使之成为诊断和治疗肾癌的重要靶点。

参考文献(References)

- [1] 陈一鸣. B7-H4 与肾癌的研究进展 [J]. 医学研究生学报, 2010, 23(9): 999-1002
Chen Yi-ming. B7-H4 and renal cell carcinoma[J]. Journal of Medical Postgraduates, 2010, 23(9): 999-1002
- [2] 王晓红. 肿瘤转移相关基因的研究进展[J]. 医学综述, 2008, 14(21): 3246-3248
Wang Xiao-hong. Study Progress of Tumor Metastasis-Associated Genes[J]. Medical Recapitulate, 2008, 14(21): 3246-3248
- [3] Borgström P, Hillan KJ, Sriramarao P, et al. Complete inhibition of angiogenesis and growth of microtumors by antivascular endothelial growth factor neutralizing antibody[J]. Cancer Res, 1996, 56(17): 4032-4039
- [4] Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors[J]. Nat Med, 2003, 9(6):669-676
- [5] Takahashi S. Vascular endothelial growth factor (VEGF), VEGF receptors and their inhibitors for antiangiogenic tumor therapy [J]. Biol Pharm Bull, 2011, 34(12): 1785-1758
- [6] Vrdoljak E, Rini B, Schmidinger M, et al. Bisphosphonates and vascular endothelial growth factor-targeted drugs in the treatment of patients with renal cell carcinoma metastatic to bone [J]. Anticancer Drugs, 2013, 24(5): 431-440
- [7] Lee J, Lee J, Yu H, et al. Differential dependency of human cancer cells on vascular endothelial growth factor-mediated autocrine growth survival [J]. Cancer Lett, 2011, 309(2): 145-150
- [8] Talagas M, Uguen A, Garlantezec R, et al. VEGFR1 and NRP1 Endothelial Expressions Predict Distant Relapse after Radical Prostatectomy in Clinically Localized Prostate Cancer [J]. Anticancer Re, 2013, 33

- (5): 2065-2075
- [9] Aldebasi YH, Rahmani AH, Khan AA, et al. The effect of vascular endothelial growth factor in the progression of bladder cancer and diabetic retinopathy[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2013, 6(4): 239-251
- [10] Ambrosini G, Adida C, Altieri DC. A novel anti-apoptosis gene, survivin, expressed in cancer and lymphoma [J]. *Nat Med*, 1997, 3(8): 917-921
- [11] Lu D, Qian J, Yin X, et al. Expression of PTEN and survivin in cervical cancer: promising biological markers for early diagnosis and prognostic evaluation[J]. *Br J Biomed Sci*, 2012, 69(4): 143-146
- [12] 高鹏, 方驰华, 张刚庆, 等. Survivin 反义寡核苷酸对肝癌耐药细胞的作用及与化疗的关系[J]. *南方医科大学学报*, 2006, 26(11): 1644-1647
- Gao Peng, Fang Chi-hua, Zhang Gang-qing, et al. Antisense oligonucleotide against survivin induces apoptosis and enhances adriamycin sensitivity of SMMC-7721/ADM cells[J]. *Journal of Southern Medical University*, 2006, 26(11): 1644-1647
- [13] Li T, Liu Z, Jiang K, et al. Angiopoietin2 Enhances Doxorubicin Resistance in HepG2 cells by Upregulating Survivin and Ref-1 via MSK1 activation [J]. *Cancer Lett*, 2013, 3835(13): 362-365
- [14] Waligórska-Stachura J, Jankowska A, Wa é ko R, et al. Survivin-prognostic tumor biomarker in human neoplasms-review[J]. *Ginekol Pol*, 2012, 83(7): 537-540
- [15] Jha K, Shukla M, Pandey M. Survivin expression and targeting in breast cancer[J]. *Surg Oncol*, 2012, 21(2): 125-31
- [16] Tran J, Rak J, Sheehan C, et al. Marked induction of the family anti-apoptotic proteins survivin and XIAP by VEGF in vascular endothelial cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999, 264(3): 781-788
- [17] Sun YW, Xuan Q, Shu QA, et al. Correlation of tumor relapse and elevated expression of survivin and vascular endothelial growth factor in superficial bladder transitional cell carcinoma [J]. *Genet Mol Res*, 2013, 12(2): 1045-1053
- [18] Song J, Cao L, Li Y. RNA interference mediated inhibition of survivin and VEGF in pancreatic cancer cells in vitro [J]. *Mol Med Rep*, 2013, 7(5): 1651-1655
- [19] Li X, Dang X, Sun X. Expression of survivin and VEGF-C in breast cancer tissue and its relation to lymphatic metastasis [J]. *Eur J Gynaecol Oncol*, 2012, 33 (2): 178-182
-
- (上接第 2666 页)
- [15] Von Eggeling F., Junker K., Fiedle W., et al. Mass spectrometry meets chip technology: A new proteomic tool in cancer research [J]. *Electrophoresis*, 2001, 22(14): 2898-2902
- [16] Damerval C., De Vienne D., Zivy M., et al. Technical improvements in two-dimensional electrophoresis increase the level of genetic variation detected in wheat-seedling proteins [J]. *Electrophoresis*, 1986, 7: 52-54
- [17] Barreneche T., Bahrman N., Kremer A.. Two-dimensional gel electrophoresis confirms the low level of genetic differentiation between *Quercus robur* L and *Quercus petraea* (Matt) Liebl [J]. *Forest Genet*, 1996, 3: 89-92
- [18] Görg A., Postel W., Baumer M., et al. Two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis, with immobilized pH gradients in the first dimension, of barley seed proteins: Discrimination of cultivars with different malting grades [J]. *Electrophoresis*, 1992, 13(4): 192-203
- [19] Skylas D. J., Copeland L., Rathmell W. G., et al. The wheat grain proteome as a basis for more efficient cultivar identification [J]. *Proteomic*, 2001, 1(2): 1542-1546
- [20] Bahrman N., Zivy M., Damerval C., et al. Organisation of the variability of abundant proteins in seven geographical origins of maritime pine (*Pinus pinaster* Ait) [J]. *Theor Appl Genet*, 1994, 88 (3-4): 407-411