

前列腺癌中 TSP-1 表达与血管生成之间关系的探讨 *

张 辉 吕家驹 刘 莹^① 傅 强
 山东大学山东省立医院泌尿外科 (济南市 250021)

摘要 目的:探讨前列腺癌中肿瘤血管生成与凝血酶敏感蛋白-1(TSP-1)表达的相关性。方法:采用免疫组织化学法检测 22 例前列腺癌中微血管密度(MVD)值和 TSP-1 的表达。结果:前列腺癌中 TSP-1 阳性表达率为 72.7% (16/22),绝大多数表达位于肿瘤细胞的胞浆中,少数表达位于肿瘤细胞外基质。在 22 例前列腺癌组织中平均 MVD 为 71.21±31.14/100 倍视野,具有 TSP-1 强表达的肿瘤组织中显示 MVD 值较高,TSP-1 的免疫活性与微血管密度间呈显著相关性($r=0.54, P=0.009$)。结论:TSP-1 在前列腺癌组织中呈高表达与前列腺癌的血管生成相关,有促进前列腺癌中血管生长的作用,并参与前列腺癌血管基因的表达。

关键词 凝血酶敏感蛋白-1 微血管密度 前列腺癌

中图分类号:R737.25 文献标识码:A 文章编号:1000-8179(2006)03-0138-04

Correlation between the Expression of Thrombospondin-1 and the Angiogenesis in Prostatic Carcinoma

Zhang Hui Lü Jiaju Liu Ying et al

Department of Urology, Shandong Provincial Hospital of Shandong University, Jinan

Abstract Objective: To observe the expression of thrombospondin-1 (TSP-1) separately in prostatic carcinoma, and its relationship with the angiogenesis. **Methods:** The expression of TSP-1 and the value of microvessel density (MVD) were studied in 22 prostatic carcinoma patients using immunohistochemistry. **Results:** Positive expression of TSP-1 protein detected in 16 of the 22 (72.7%) cases. Most positive staining for TSP-1 was seen in the cytoplasm of the cancer cells, some was in the extracellular matrix. The mean MVD in 22 cases with prostatic carcinoma was 71.21±31.14 vessels per 100 field of vision. Tumors with a high expression of TSP-1 showed a high value of MVD and the correlation between TSP-1 immunocompetence and microvessel density was highly significant ($r=0.54, P=0.009$). **Conclusions:** The TSP-1 is strongly expressed in most prostatic carcinoma and were associated with neovascularization. TSP-1 is likely to contribute to the extensive neovascularization and increased TSP-1 expression might participate in angiogenic phenotype in prostatic carcinoma.

Key words Thrombospondin-1 Microvessel density Prostatic carcinoma

肿瘤新生血管生成对实体瘤的生物学行为和转移潜能起重要作用,血管生成与肿瘤的进展和预后密切相关。血管生成有赖于诱导和抑制血管生成的许多分子之间的平衡。本文采用免疫组化法检测 22

例前列腺癌组织标本的凝血酶敏感蛋白-1(thrombospondin-1, TSP-1) 的表达,并计数微血管密度(microvessel density, MVD),分析 TSP-1 与前列腺癌微血管密度之间的关系。

* 本文课题受国家自然科学基金资助 (编号:30471731)

① 病理科

通讯作者:吕家驹 kyoto2310@sina.com

1 材料与方法

1.1 临床资料

我院 1999 年 10 月至 2004 年 5 月住院的 22 例前列腺癌患者标本,其中前列腺癌根治术标本 9 例,余均为前列腺穿刺病理标本。本组病例均为男性,年龄 51~77 岁,平均年龄 65.7 ± 6.9 岁。按照 UICC1997 年分期, I 期 2 例($T_1N_0M_0$ 2 例); II 期 7 例($T_2N_0M_0$ 6 例, $T_1N_1M_0$ 1 例); III 期 3 例($T_3N_1M_0$ 3 例); IV 期 10 例($T_4N_1M_1$ 4 例, $T_4N_xM_1$ 6 例)。

1.2 实验方法

采用即用型免疫组化染色 SABC 试剂盒(武汉博士德生物技术公司),兔抗人 CD34 多克隆抗体(北京中杉生物技术公司, Santa Cruz 公司产品);鼠抗人 TSP-1 单克隆抗体(福建迈新生物技术公司, Neomarker 公司产品), DAB 显色剂(北京中杉生物技术公司)。免疫组化采用 SABC 法,按照 SABC 试剂盒说明书进行,其中 CD34, TSP-1 的工作浓度均为 1:100。

1.3 结果判定

TSP-1 以胞浆染成棕黄色的肿瘤细胞为阳性细胞。阴性(-):未见阳性细胞;弱阳性(+):阳性细胞数占肿瘤细胞数的 10%以下;阳性(++):阳性细胞数占肿瘤细胞数的 10%~50%;强阳性(+++):阳性细胞数占肿瘤细胞数的 50%以上。为了便于统计分析,将阴性和弱阳性者定义为阴性组,将阳性和强阳性者定义为阳性组。MVD 按照 Ta Kahashi 等^[1]报道的方法进行,先用 40 倍光镜扫视整个切片,寻找血管最密集区,即“热点”。血管密集区一般位于肿瘤浸润前缘,也可位于肿瘤组织的任何部位。然后在 100 倍视野下计数微血管数量。每张切片计数 3 个视野,取 3 个视野的平均值为该切片的微血管密度。微血管的判断标准为染成棕黄色的血管内皮细胞或血管内皮细胞簇。

1.4 统计学方法

采用 SPSS10.0 统计软件进行统计处理,对计数资料两因素间差异的比较采用 χ^2 及 Fisher 精确检验。对计量资料的比较采用 t 检验及单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 为显著性判断标准。

2 结果

2.1 前列腺癌的微血管计数

22 例中,微血管内皮细胞被 CD34 抗体染色后,可见间质微血管的分布呈异质性,在肿瘤组织浸润边缘较密集,他们的平均微血管密度为每 100 倍视野下 71.21 ± 31.14 个;其中,8 例有淋巴结转移者明显高于 8 例无淋巴结转移者 (81.85 ± 21.63 与 52.19 ± 25.15 , $P = 0.024$);而 10 例有远处转移者

MVD 明显高于 12 例无远处转移者 (88.74 ± 28.47 与 56.60 ± 26.00 , $P = 0.012$) (表 1)。

表 1 微血管密度(MVD)与淋巴结转移、远处转移及 TSP-1 表达的关系

项目	例数	微血管密度(MVD)	P
淋巴结转移	有	81.85 ± 21.63	0.024
	无	52.19 ± 25.15	
远处转移	有	88.74 ± 28.47	0.012
	无	56.60 ± 26.00	
TSP-1 蛋白	-	27.95 ± 7.42	0.009
	+	44.88 ± 17.43	
	++	73.98 ± 22.63	
	+++	98.58 ± 27.17	

2.2 TSP-1 的表达及其与淋巴结转移、远处转移的关系

在 22 例前列腺癌标本中, TSP-1 表达阳性率为 72.7% (16/22), 而且大多数 TSP-1 染色表达于肿瘤细胞的胞浆中(图 1); 但也有一小部分表达于肿瘤细胞外基质中。TSP-1 的胞浆染色的表达有 2 种模式, 即点状形式分布在核周和分散形式分布在胞浆中(图 2), 两种分布模式与临床病理学特征无关, 本组研究结果显示 TSP-1 的表达与前列腺癌临床分期、病理分级、有无淋巴结转移、远处转移之间均无相关性(表 2)。

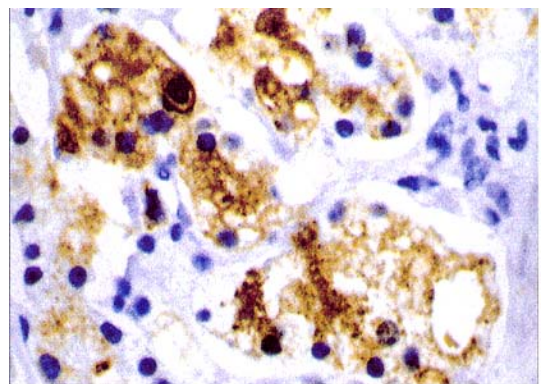


图 1 TSP-1 在前列腺癌细胞胞浆中的表达 (×400)

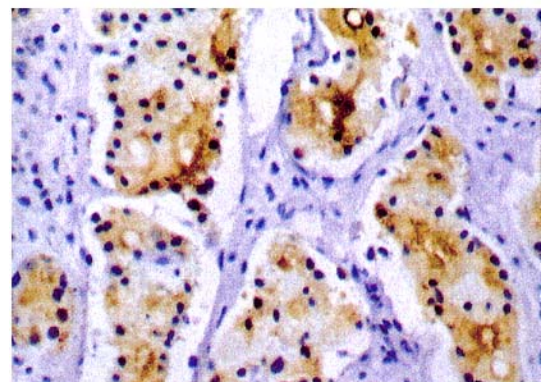


图 2 TSP-1 在前列腺癌细胞胞浆的分散表达 (×200)

表2 TSP-1 的表达与前列腺癌分期的关系

项目	例数	TSP-1 的表达		P
		阳性	阴性	
分期				
I	2	1	1	0.639
II	7	5	2	
III	3	3	0	
IV	10	7	3	
淋巴结转移				
有	8	7	1	0.240
无	8	5	3	
远处转移				
有	10	7	3	0.793
无	12	9	3	
微血管密度*				
高	11	11	0	0.012
低	11	5	6	

*MVD 以均值 71.21 为界分为高表达和低表达 2 组

2.3 TSP-1 与 MVD 的关系

22 例中, 肿瘤组织中 MVD 高表达组 TSP-1 表达率为 100%, 而 MVD 低表达组 TSP-1 的表达率为 45.5%, 从统计学处理, 具有 TSP-1 高表达的肿瘤组织中显示 MVD 也呈高表达。TSP-1 和 MVD 之间具有显著正相关性($r=0.54, P=0.009$)(图 3)。

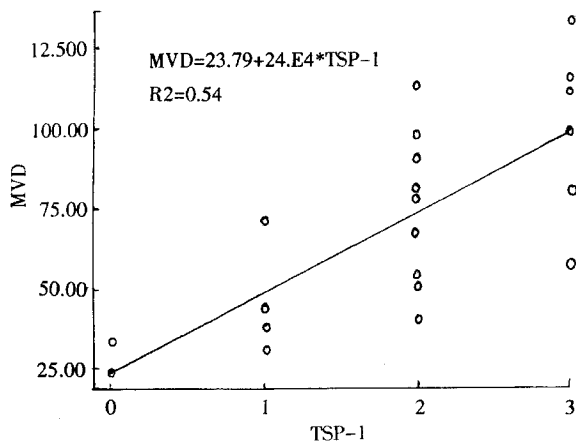


图3 TSP-1 和 MVD 之间相关性

3 讨论

新生血管生成在实体肿瘤生长、浸润和转移中起着重要作用。血管生成因子在新生血管生成的调控中是非常重要的。因为他们能给肿瘤的治疗提供新的机会。TSP-1 在血管生成过程中显示出重要作用, 但目前 TSP-1 在肿瘤新生血管生成的抑制剂还是促进剂尚存在争议。在本组研究中, 我们探讨 TSP-1 在前列腺癌组织中的分布和表达, 同时分析 TSP-1 与反映肿瘤血管生成活跃程度的指标 MVD 之间的关系以及它们与前列腺癌的淋巴结转移及远处

转移之间的关系。

TSP-1 是一种相对分子质量为 450kDa 的多功能细胞外基质糖蛋白, 属于 TSP 家族成员之一。在多种肿瘤的生长、转移及血管生成过程中起重要的调控作用, 并具有判断肿瘤恶性程度的意义^[2]。本组研究中, TSP-1 的阳性表达率为 72.7%, 22 例前列腺癌中 TSP-1 染色大多数分布于肿瘤细胞的胞浆中, 少部分分布于细胞外基质中, 与文献报道相一致。有学者报道 TSP-1 在甲状腺癌^[3]、乳腺癌^[4]、前列腺癌^[5]肿瘤组织中分布于该肿瘤细胞的胞浆中, 而一些报道显示 TSP-1 表达于胰腺癌^[6]、结肠癌^[7]肿瘤细胞外的基质组织中。因此, TSP-1 在肿瘤组织中的表达模式可能是依据器官及组织类型的不同而不同。

在本组研究发现前列腺癌组织中 TSP-1 与 MVD 的表达存在显著相关性, 在 TSP-1 高表达的肿瘤组织中 MVD 的表达同时也升高, 并呈明显正相关。Rice^[8]、Miyana^[9]等在乳腺癌、直肠癌中 TSP-1 的表达与肿瘤组织中 MVD 的表达呈显著负相关, 但 Zhang 等^[10]在胃癌中 TSP-1 的表达与微血管密度呈正相关, Kasper 等^[6]也报道在胰腺癌中 TSP-1 的表达与 MVD 呈正相关, 与本组研究结果相一致。以上发现提示 TSP-1 在肿瘤血管生成中的作用可能依赖于肿瘤的类型和内环境模式, 但是许多学者的研究显示 TSP-1 在肿瘤血管中的作用呈现浓度依赖性, 即在低浓度表达的肿瘤组织中其抑制肿瘤组织血管生成, 而高浓度表达的肿瘤组织中则促进新生血管的生成^[11]。Taraboletti 等^[12]通过研究证实了 TSP-1 分子在蛋白酶水解后释放出 25kDa、140kDa 2 个作用相反的小分子片段。与肝素结合的 25kDa 片段是 TSP-1 的血管生成活性区, 而 140kDa 片段仍保留着抑制血管生成的作用^[13], 解释了 TSP-1 在肿瘤血管生成过程中所起的不同作用。

总之, TSP-1 在前列腺癌组织中呈高表达, 且与前列腺癌组织的新生血管生成呈显著相关性, TSP-1 高表达可能参与前列腺癌组织中血管生成的调节, 促进肿瘤血管的生成及参与肿瘤血管基因的表达。

参考文献

- 1 takahashi R, Tanaka S, Hiyama T, et al. Hypoxia-inducible factor-1alpha expression and angiogenesis in gastrointestinal stromal tumor of the stomach[J]. Oncol Rep, 2003, 10(4): 797~802
- 2 Clezardin P, Frappart L, Clerget M, et al. Expression of thrombospondin (TSP1) and its receptors (CD36 and CD51) in normal, hyperplastic, and neoplastic human breast [J]. Cancer Res, 1993, 53(6): 1421~1430
- 3 Tanaka K, Sonoo H, Kurebayashi J, et al. Inhibition of infiltration

—人民医院病理科提供的部分标本,特此鸣谢)

参考文献

- 1 Osterman B, Cavallin-Stahl E, Hagberg H, et al. High-grade non-Hodgkin's lymphoma stage I. A retrospective study of treatment, outcome and prognostic factors in 213 patients[J]. *Acta Oncol*, 1996, 35(2):171~177
- 2 Jaffe ES, Harris NL, Stein H, et al. Pathology and Genetics of Tumors of haematopoietic and lymphoid tissues[M]. IARC, Lyon, France, 2001.171
- 3 Barrans SL, Carter I, Owen RG, et al. Germinal center phenotype and bcl-2 expression combined with the International Prognostic Index improves patient risk stratification in diffuse large B-cell lymphoma[J]. *Blood*, 2002, 99(4):1136~1143
- 4 Linderth J, Jerkeman M, Cavallin-Stahl E, et al. Immunohistochemical expression of CD23 and CD40 may identify prognostically favorable subgroups of diffuse large B-cell lymphoma: a Nordic Lymphoma Group Study[J]. *Clin Cancer Res*, 2003, 9(2): 722~728
- 5 Hans CP, Weisenburger DD, Greiner TC, et al. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray [J]. *Blood*, 2004, 103(1):275~282
- 6 Chang CC, McClintock S, Cleveland RP, et al. Immunohistochemical expression patterns of germinal center and activation B-cell markers correlate with prognosis in diffuse large B-cell lymphoma[J]. *Am J Surg Pathol*, 2004, 28(4):464~470
- 7 陶 琨,朱雄增,徐微苓,等. 弥漫性大 B 细胞淋巴瘤的临床病理和免疫组织化学特征[J]. *中华病理学杂志*, 2002, 31(2):112~114
- 8 Gatter K and Delsol G. Atlas: The diagnosis of lymphoproliferative diseases [M] (chapter 13)[M]. Oxford University Press. New York, 2002
- 9 Ree HJ, Yang WI, Kim CW, et al. Coexpression of Bcl-6 and CD10 in diffuse large B-cell lymphomas: significance of Bcl-6 expression patterns in identifying germinal center B-cell lymphoma[J]. *Hum Pathol*, 2001, 32(9):954~962
- 10 Colomo L, Lopez-Guillermo A, Perales M, et al. Clinical impact of the differentiation profile assessed by immunophenotyping in patients with diffuse large B-cell lymphoma [J]. *Blood*, 2003, 101(1):78~84

(2005-07-11 收稿)

(2005-10-09 修回)

(韩豫生校对)

(上接第 140 页)

and angiogenesis by thrombospondin-1 in papillary thyroid carcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2002, 8(5): 1125~1131

- 4 Bertin N, Clezardin P, Kubiak R, et al. Thrombospondin-1 and -2 messenger RNA expression in normal, benign, and neoplastic human breast tissues: correlation with prognostic factors, tumor angiogenesis, and fibroblastic desmoplasia [J]. *Cancer Res*, 1997, 57(3): 396~399
- 5 Kwak C, Jin C, Lee C, et al. Thrombospondin-1, vascular endothelial growth factor expression and their relationship with p53 status in prostate cancer and benign prostatic hyperplasia [J]. *BJU Int*, 2002, 89(3): 303~309
- 6 Kasper HU, Ebert M, Malfertheiner P, et al. Expression of thrombospondin-1 in pancreatic carcinoma: correlation with microvessel density[J]. *Virchows Arch*, 2001, 438(2): 116~120
- 7 Maeda K, Nishiguchi Y, Yashiro M, et al. Expression of vascular endothelial growth factor and thrombospondin-1 in colorectal carcinoma[J]. *Int J Mol Med*, 2000, 5(4): 373~378
- 8 Rice AJ, Steward MA, Quinn GM. Thrombospondin-1 protein expression relates to good prognostic indices in ductal carcinoma in situ of the breast[J]. *J Clin Pathol*, 2002, 55(12): 921~925
- 9 Miyanaga K, Kato Y, Nakamura T, et al. Expression and role of thrombospondins -1 in colorectal cancer[J]. *Anticancer Res*, 2002, 22(6C): 3941~3948
- 10 Zhang J, Ito R, Oue N, et al. Expression of thrombospondins -1 is correlated with microvessel density in gastric carcinoma[J]. *Virchows Arch*, 2003, 442(6): 563~568
- 11 Qian X, Tuszinski GP. Expression of thrombospondin-1 in cancer: a role in tumor progression[J]. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1996, 212(3): 199~207
- 12 Taraboletti G, Morbidelli L, Donnini S, et al. The heparin binding 25 kDa fragment of thrombospondin-1 promotes angiogenesis and modulates gelatinase and TIMP-2 production in endothelial cells [J]. *Faseb J*, 2000, 14(12): 1674~1676
- 13 Sargiannidou I, Zhou J, Tuszynski GP. The role of thrombospondin-1 in tumor progression [J]. *Exp Biol Med*, 2001, 226(8): 726~733

(2005-08-03 收稿)

(2005-11-08 修回)

(韩豫生校对)