

## 肿瘤诊断与基因治疗

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.2014.01.005

## 血管内皮钙黏蛋白在非小细胞肺癌中的表达及其意义

周俊豪, 陶 韬, 陈 虹, 顾雪霜, 彭单伊, 张丽君

(重庆医科大学附属第一医院呼吸与危重症医学科, 重庆 400016)

**【摘要】目的:**探讨血管内皮钙黏蛋白(vascular endothelial cadherin, VE-cadherin)在非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)中的表达及其与临床病理特征之间的关系, 并分析其与血管内皮生长因子(vascular endothelial grow factor, VEGF)之间的相关性。**方法:**应用免疫组化 SP 法检测 72 例 NSCLC 组织及相应癌旁正常组织 VE-cadherin 的表达情况; 其中 34 例用 qRT-PCR 法检测 mRNA 的表达情况, 并以 VEGF 为阳性参照。Western blot 检测肺癌细胞株 A549 和人正常支气管上皮细胞(normal human bronchial epithelial cells, NHBE)中 VE-cadherin 的表达, 以及干扰后各细胞株的表达情况。**结果:**72 例 NSCLC 组织癌细胞和 VE-cadherin 的阳性表达率分别为 69.4%、52.8%, 均明显高于对应癌旁正常组织肺泡上皮细胞 0% 和血管内皮细胞 20.8% ( $P < 0.05$ ); 有淋巴结转移组中的表达量均明显高于无淋巴结转移组 ( $P < 0.05$ ); Ⅲ、Ⅳ期的阳性表达率均明显高于 I、II 期 ( $P < 0.05$ )。VEGF 在 NSCLC 组织癌细胞和血管内皮细胞中的阳性表达率分别为 84.7%、62.5%, 均显著高于对应的癌旁正常组织肺泡上皮细胞 16.7% 和血管内皮细胞 29.2% ( $P < 0.05$ )。经 qRT-PCR 分析, VE-cadherin mRNA 在癌组织和癌旁正常组织中的相对表达量分别为  $1.15 \pm 0.87$ 、 $0.70 \pm 0.57$ ; VEGF mRNA 的相对表达量分别为  $1.39 \pm 1.17$ 、 $0.79 \pm 0.65$  ( $P < 0.05$ )。两者在蛋白水平和 mRNA 水平均呈正相关 ( $P = 0.001$ ,  $P = 0.008$ )。Western blot 结果示在 A549 细胞株中可检测到 VE-cadherin 表达, 但在 NHBE 中不表达。siRNA 可降低 VE-cadherin 在 A549 细胞株中的表达。**结论:**VE-cadherin 可能在 NSCLC 血管生成中起重要作用, 且可能与 VEGF 具有协同作用, siRNA 可有效抑制 VE-cadherin 在肺癌细胞株 A549 中的表达。

**【关键词】**非小细胞肺癌; 血管内皮钙黏蛋白; 血管生成; RNA 干扰

**【中图分类号】**R734.2

**【文献标志码】**A

**【收稿日期】**2012-07-08

作者介绍: 周俊豪, Email: 540808919@qq.com,

研究方向: 肺癌的生物学行为及综合治疗。

通信作者: 陈 虹, Email: hopehong2003@yahoo.com.cn。

基金项目: 重庆市自然科学基金资助项目 (编号: cstc2011jjA10052)。

机制。

## 参 考 文 献

- [1] Vestweber D. VE-cadherin: the major endothelial adhesion molecule controlling cellular junctions and blood vessel formation[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2008, 28(2): 223-232.
- [2] Parker BS, Argani P, Cooker BP, et al. Alteration in vascular gene expression in invasive breast carcinoma[J]. Cancer Res, 2004, 64(21): 7857-7866.
- [3] Li H, Shi X, Liu J, et al. The soluble fragment of VE-cadherin inhibits angiogenesis by reducing endothelial cell proliferation and tube capillary formation[J]. Cancer Gene Ther, 2010, 17(10): 700-707.
- [4] Harris ES, Nelson WJ. VE-cadherin: at the front, center, and sides of endothelial cell organization and function[J]. Curr Opin Cell Biol, 2010, 22(5): 651-658.
- [5] Ha CH, Bennett AM, Jin ZG. A novel role of vascular endothelial cadherin in modulating c-src activation and downstream signaling of vascular endothelial growth factor[J]. J Biol Chem, 2008, 283(11): 7261-

7270.

- [6] Zhang LZ, Mei J, Qian ZK, et al. The Role of VE-cadherin in osteosarcoma Cells[J]. Pathol Oncol Res, 2010, 16(1): 111-117.
- [7] Khanna P, Yunkunis T, Muddana HS, et al. p38 MAP kinase is necessary for melanoma-mediated regulation of VE-cadherin disassembly[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2010, 298(5): C1140-C1150.
- [8] Dome B, Timar J, Dobos J, et al. Identification and clinical significance of circulating endothelial progenitor cells in human non-small cell lung cancer[J]. Cancer Res, 2006, 66(14): 7341-7347.
- [9] Liao F, Li Y, O'Connor W, et al. Monoclonal antibody to vascular endothelial cadherin is a potent inhibitor of angiogenesis, tumor growth, and metastasis[J]. Cancer Res, 2000, 60(24): 6805-6810.
- [10] Davis MA, Ireton RC, Reynolds AB. A core function for P120-catenin in cadherin turnover[J]. J Cell Biol, 2003, 163(3): 525-534.
- [11] Esser S, Lampugnani MG, Corda M, et al. Vascular endothelial growth factor induce VE-cadherin tyrosine phosphorylation in endothelial cells[J]. J Cell Sci, 1998, 111(pt 13): 1853-1865.
- [12] Gavard J, Gutkind JS. VEGF controls endothelial-cell permeability by promoting the  $\beta$ -arrestin-dependent endocytosis of VE-cadherin[J]. Nat Cell Biol, 2006, 8(11): 1223-1234.

(责任编辑: 冉明会)

## Expression and significance of vascular endothelial cadherin in non-small cell lung cancer

Zhou Junhao, Tao Tao, Chen Hong, Gu Xueshuang, Peng Danyi, Zhang Lijun

(Department of Respiratory and Critical Care Medicine,

The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the expression of vascular endothelial cadherin (VE-cadherin) in non-small cell lung cancer (NSCLC) and its association with the clinicopathological characteristics and vascular endothelial growth factor (VEGF). **Methods:** Expression of VE-cadherin was examined at protein level by immunohistochemical staining in 72 cases of NSCLC tissues and their adjacent non-neoplastic tissues; 34 of which were measured at mRNA level by qRT-PCR and VEGF was taken as positive reference. Expression of VE-cadherin in lung cancer cell line A549 and normal human bronchial epithelial cells (NHBE) was detected by Western blot and VE-cadherin gene expression was inhibited with siRNA in A549 cells. **Results:** Positive rates of VE-cadherin in cancer cells and vascular endothelial cells were 69.4% and 52.8%, which were higher than those in alveolar epithelial cells (0%) and vascular endothelial cells (20.8%) in adjacent non-neoplastic tissues ( $P < 0.05$ ). Positive rates of VE-cadherin were higher in cases with lymph node metastasis than in cases without lymph node metastasis ( $P < 0.05$ ). Positive rates of VE-cadherin were higher at III and IV stage than at I and II stage ( $P < 0.05$ ). Positive rates of VEGF in cancer cells and vascular endothelial cells were 84.7% and 62.5%, which were higher than those in alveolar epithelial cells (16.7%) and vascular endothelial cells (29.2%) in adjacent non-neoplastic tissues ( $P < 0.05$ ). qRT-PCR results demonstrated that relative expression of VE-cadherin mRNA in NSCLC tissues and adjacent non-neoplastic tissues were  $1.15 \pm 0.87$  and  $0.70 \pm 0.57$ ; relative expression of VEGF mRNA were  $1.39 \pm 1.17$  and  $0.79 \pm 0.65$  ( $P < 0.05$ ). VEGF and VE-cadherin were positive correlated at both protein and mRNA levels ( $P = 0.001$ ,  $P = 0.008$ ). Western blot demonstrated that VE-cadherin expression could be detected in the A549 cells, but not in NHBE and sequence-specific siRNA can significantly decreased expression of VE-cadherin in A549 cells. **Conclusions:** VE-cadherin may play an important role in angiogenesis and act in a synergistic manner with VEGF in NSCLC. siRNA can effectively inhibit the expression of VE-cadherin in A549 cells.

**[Key words]** non-small cell lung cancer; VE-cadherin; angiogenesis; RNA interference

肺癌的 5 年生存率只有 15%, 而 75%~80% 为非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC)。血管生成在肺癌的发生、发展、转移中起着关键作用。目前有关 NSCLC 血管生成研究较多的为血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF), 其靶向药物贝伐单抗已用于临床, 但存在部分患者对该药不敏感或产生耐药的情况。现有资料也不能全面阐述 NSCLC 血管生成的机制, 故有必要寻找和发现新的与 NSCLC 血管生成相关的基因以进一步完善肺癌的发病机制。血管内皮钙黏蛋白 (vascular endothelial cadherin, VE-cadherin) 是特异性表达于血管内皮细胞的一类细胞黏附分子, 是血管形成过程中必不可少的<sup>[1]</sup>。VE-cadherin 与多种恶性肿瘤血管生成相关<sup>[2-6]</sup>, 但国内外尚无在 NSCLC 组织中的研究报道。对此, 本课题检测了 VE-cadherin 在 NSCLC 组织及肺癌细胞株中的表达, 并探讨了其与临床病理特征以及与 VEGF 之间的关系。

### 1 对象与方法

#### 1.1 研究对象

收集重庆医科大学附属第一医院胸外科 2011 年 2 月至

2011 年 10 月手术切除的 NSCLC 组织 72 例, 同时取相应正常组织 (距病变组织 5 cm 以上) 作为对照。所有患者均为原发性肺癌, 术前均未接受任何治疗, 术后均有明确的病理诊断。其中: 男 49 例, 女 23 例, 年龄 43~80 岁, 平均 59.8 岁。病理类型: 鳞癌 32 例, 腺癌 40 例; 分化程度: 低分化 25 例, 中分化 40 例, 高分化 7 例; TNM 分期: I 期 23 例, II 期 20 例, III 期 25 例, IV 期 4 例。其中有淋巴结转移 40 例。所有标本均经常规 10% 福尔马林固定, 石蜡包埋, 4  $\mu$ m 切片, 用于免疫组化染色。其中 34 例新鲜癌组织和相应正常组织快速液氮保存, 用于实时荧光定量 PCR。

#### 1.2 免疫组织化学

1.2.1 主要试剂 兔抗人多克隆抗体 VE-cadherin 购自 Abcam 公司, 兔抗人多克隆抗体 VEGF 购自 Millipore 公司, SP 试剂盒、枸橼酸盐缓冲液及 DAB 显色试剂均购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.2.2 主要步骤 采用过氧化物酶标记链霉卵白素染色法 (SP 法), 切片常规脱蜡至水, 0.01 mol/L 枸橼酸盐热修复, 自然冷却至室温后 3%  $H_2O_2$  阻断内源性过氧化物酶活性 10 min, PBS 浸洗 3 min  $\times$  3 次, 山羊血清封闭 37  $^{\circ}$ C 孵育 20 min, 倾去, 勿洗, 滴加一抗 (一抗稀释度 VE-cadherin 为 1:300, VEGF 为 1:400), 置 4  $^{\circ}$ C 冰箱过夜, 其余步骤严格按照免疫组化 SP 法操作说明进行, DAB 显色, 苏木精复染, 反蓝, 盐酸酒精分化, 脱水, 封片。以 0.01 mol/L PBS 代替一抗为阴性对照。

1.2.3 结果判定 VE-cadherin 和 VEGF 在癌细胞中的阳性表达均位于细胞质呈弥漫性棕色颗粒, 偶表达于细胞膜; 两

者也阳性表达于内皮细胞胞浆及内皮细胞间连接处,呈棕褐色细线状。VE-cadherin 和 VEGF 判断标准:随机选 5 个不重复的高倍镜视野( $400\times$ ),计数 200 个以上细胞,根据阳性细胞率和染色强度进行判断。染色强度积分:不染色记 0 分;轻度染色(淡黄色)记 1 分;中度染色(黄色)记 2 分;强染色(棕黄色或黄褐色)记 3 分。阳性细胞率 0%记 0 分,1%~25%记 1 分,26%~75%记 2 分,>75%记 3 分。两项之和 $\geq 3$ 为阳性<sup>[7]</sup>。

### 1.3 qRT-PCR 法

1.3.1 试剂和引物合成 Trizol 试剂、Primscript RT reagent Kit 试剂盒、SYBR Premix Ex Taq qRT-PCR 试剂盒均购于 TakaRa 公司。引物均由上海生工生物工程技术有限公司合成(表 1)。

表 1 实验所用引物  
Tab.1 Primers in the experiment

| 基因          | 引物                            | 产物     |
|-------------|-------------------------------|--------|
| VE-cadherin | 5'-TTTCCAGCAGCCTTTCTACCA-3'   | 145 bp |
|             | 5'-GGAAGAACTGGCCCTTGTC-3'     |        |
| VEGF        | 5'-CCAGCACATAGGAGATGAGCTT-3'  | 62 bp  |
|             | 5'-TCCTTCTTTGCTCTGCATTACAT-3' |        |
| GAPDH       | 5'-ACCTGACCTGCCGTCTAGAA-3'    | 227 bp |
|             | 5'-TCCACCACCCTGTTGCTGTA-3'    |        |

1.3.2 RNA 抽提及逆转录反应 总 RNA 提取和逆转录反应均严格按照试剂盒说明书执行。1%琼脂糖凝胶电泳,分光光度计检测浓度和纯度。

1.3.3 实时荧光定量 PCR 反应产物 cDNA 作为模板进行 PCR 扩增。扩增条件为:预变性 95℃ 5 min 后,95℃ 10 s,55℃ 30 s,共 40 循环,插入溶解曲线。以 GAPDH 作为内参照、VEGF 作为阳性参照。每个样本设 3 个复孔管。

### 1.4 Western blot 法

1.4.1 主要试剂 DMEM 培养基、RPMI1640 培养基及胎牛血清购自 Gibco 公司,兔抗人多克隆抗体 VE-cadherin 购自 Abcam 公司,Western blot 相关试剂购自碧云天公司。VE-cadherin 干扰序列<sup>[8]</sup>:正义链 5'-GGAACCAGAUGCACAUG-3',反义链:5'-UCAUGUGCAUCUGGUUCCUU-3',由上海吉玛制药技术有限公司合成;Lipofectamin RNAi MAX Reagent 购自 Invitrogen 公司。

1.4.2 细胞培养及转染 人肺癌细胞株 A549 用含 10% FBS 的 DMEM 培养基,NHBEC 用含 10% FBS 的 RPMI1640 培养基,37℃、5%CO<sub>2</sub> 条件下培养。转染前 1 d 换取新鲜培养液,采用 RNAi MAX 脂质体转染反转录法,Optimer 500  $\mu$ l,siRNA 1.5  $\mu$ l,RNAi MAX 5  $\mu$ l 混匀,室温静置 20 min 后,每孔加入  $2\times 10^4$  个细胞接种于 6 孔板中,6 h 后换液。

1.4.3 Western blot 转染 72 h 后常规方法提取细胞总蛋白,取蛋白提取物 40  $\mu$ g,变性 5 min 后进行 SDS-PAGE 电泳。在 250 mA 电流下,转膜 100 min,封闭 1 h,加入兔抗 VE-cadherin (1:1 000 稀释)4℃过夜,TBST 洗 5 min $\times$ 5,与二抗在室温下反应 1 h,TBST 洗 5 min $\times$ 5,ECL 法显影。

### 1.5 统计学分析

采用 SPSS 17.0 统计学软件包分析,VE-cadherin 与 VEGF 蛋白在癌组织中表达的阳性率与临床病理特征的关

系采用 $\chi^2$  检验;VE-cadherin 和 VEGF mRNA 的分析采用配对资料的符号秩和检验;两者在癌组织中表达的相关性采用 Spearman 秩相关分析;Western blot 结果以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,采用  $t$  检验。检验标准  $\alpha=0.05$ 。

## 2 结 果

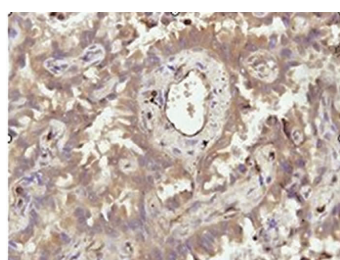
### 2.1 VE-cadherin 在 NSCLC 组织中的表达情况

VE-cadherin 阳性表达于癌细胞胞质呈弥漫性棕色颗粒,偶表达于细胞膜;也表达于血管内皮细胞胞浆及内皮细胞间连接处,呈棕褐色细线状。72 例 NSCLC 组织癌细胞和血管内皮细胞中 VE-cadherin 的阳性表达率分别为 69.4%、52.8%,均明显高于对应的癌旁正常组织肺泡上皮细胞 0%和血管内皮细胞 20.8%( $P<0.05$ );在淋巴结转移组中,癌细胞和血管内皮细胞阳性表达率分别为 90.0%、75.0%,均明显高于淋巴结阴性组 43.8%和 25.0%( $P<0.05$ )。在癌细胞和血管内皮细胞中,Ⅲ、Ⅳ期的阳性表达率分别为 93.1%、79.3%,均显著高于 I、Ⅱ期 53.5% 和 34.9%( $P<0.05$ )。与患者性别、年龄、吸烟、组织学类型、分化程度之间无明显相关( $P>0.05$ )(表 2)。以 VEGF 为阳性参照,72 例 NSCLC 组织癌细胞和血管内皮细胞中 VEGF 的阳性表达率分别为 84.7%、62.5%,均明显高于对应的癌旁正常组织肺泡上皮细胞 16.7%和血管内皮细胞 29.2%( $P<0.05$ )(图 1)。

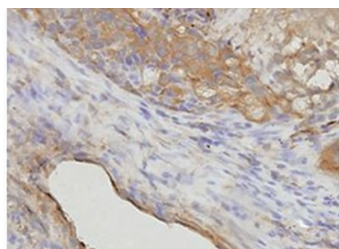
表 2 VE-cadherin 在 NSCLC 组织癌细胞和血管内皮细胞中的表达及其与临床病理特征之间的关系

Tab.2 Relationship between expression of VE-cadherin in NSCLC cells and vascular endothelial cells and clinicopathological characteristics

| 临床病理参数                         | 例数<br>(n) | 癌细胞 |    |       | 内皮细胞 |    |       |
|--------------------------------|-----------|-----|----|-------|------|----|-------|
|                                |           | +   | -  | P 值   | +    | -  | P 值   |
| 性别                             |           |     |    |       |      |    |       |
| 男                              | 49        | 34  | 15 | 0.988 | 26   | 23 | 0.994 |
| 女                              | 23        | 16  | 7  |       | 12   | 11 |       |
| 年龄(岁)                          |           |     |    |       |      |    |       |
| <60                            | 34        | 24  | 10 | 0.842 | 20   | 14 | 0.331 |
| $\geq 60$                      | 38        | 26  | 12 |       | 18   | 20 |       |
| 吸烟                             |           |     |    |       |      |    |       |
| 是                              | 45        | 33  | 12 | 0.355 | 25   | 20 | 0.542 |
| 否                              | 27        | 17  | 10 |       | 13   | 14 |       |
| 组织学类型                          |           |     |    |       |      |    |       |
| 鳞癌                             | 32        | 22  | 10 | 0.409 | 20   | 12 | 0.139 |
| 腺癌                             | 40        | 28  | 12 |       | 18   | 22 |       |
| 分化程度                           |           |     |    |       |      |    |       |
| 低                              | 25        | 16  | 9  | 0.535 | 15   | 10 | 0.371 |
| 中/高                            | 47        | 34  | 13 |       | 23   | 24 |       |
| TNM分期                          |           |     |    |       |      |    |       |
| I、II                           | 43        | 23  | 20 | 0.000 | 15   | 28 | 0.000 |
| III、IV                         | 29        | 27  | 2  |       | 23   | 6  |       |
| 淋巴结转移                          |           |     |    |       |      |    |       |
| N <sub>0</sub>                 | 32        | 14  | 18 | 0.000 | 8    | 24 | 0.000 |
| N <sub>1</sub> 、N <sub>2</sub> | 40        | 36  | 4  |       | 30   | 10 |       |



A. VE-cadherin



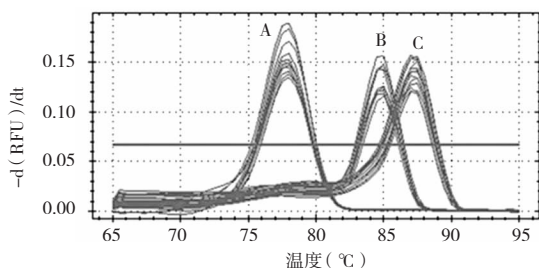
B. VEGF 蛋白

图 1 2 种蛋白在肺癌中的表达 (SP, 400 ×)

Fig.1 Expression of two proteins in lung cancer (SP, 400 ×)

## 2.2 VE-cadherin mRNA 在 NSCLC 组织中的表达情况

VE-cadherin mRNA 在癌组织和癌旁正常组织中的相对表达量分别为  $1.15 \pm 0.87$ ,  $0.70 \pm 0.57$  ( $P < 0.05$ ); VEGF mRNA 在癌组织和癌旁正常组织中的相对表达量分别为  $1.39 \pm 1.17$ ,  $0.79 \pm 0.65$  ( $P < 0.05$ )。溶解曲线示三者的溶解峰为锐利的单峰, 没有杂峰, 说明无引物二聚体及非特异性扩增, VE-cadherin、VEGF 和 GAPDH 的峰值分别为:  $85^\circ\text{C}$ 、 $78^\circ\text{C}$  和  $87.5^\circ\text{C}$  (图 2)。



A. VEGF; B. VE-cadherin; C. GAPDH

图 2 qRT-PCR 溶解曲线

Fig.2 qRT-PCR melting curve

## 2.3 VE-cadherin 和 VEGF 在 NSCLC 组织中表达的相关性

经 Spearman 秩相关分析发现 VE-cadherin 和 VEGF 在 NSCLC 组织中的表达无论在 mRNA 水平 ( $r_s = 0.389$ ,  $P = 0.001$ ), 还是在蛋白水平 ( $r_s = 0.448$ ,  $P = 0.008$ ) 均呈正相关性 (表 3、图 3)。

表 3 NSCLC 组织中 VE-cadherin 和 VEGF 蛋白表达的相关性  
Tab.3 Correlation between protein expression of VE-cadherin and VEGF in NSCLC tissues

| VE-cadherin | VEGF |    | $r_s$ 值 | P 值   |
|-------------|------|----|---------|-------|
|             | -    | +  |         |       |
| -           | 8    | 14 | 0.389   | 0.001 |
| +           | 3    | 47 |         |       |

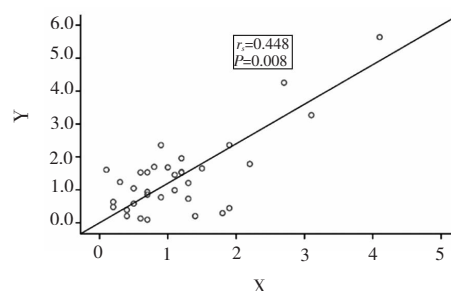


图 3 NSCLC 组织中 VE-cadherin (Y) 和 VEGF (X) mRNA 表达的相关性

Fig.3 Correlation between mRNA expression of VE-cadherin (Y) and VEGF (X) in NSCLC tissues

## 2.4 VE-cadherin 蛋白在肺癌细胞株中的表达

Western blot 结果示 VE-cadherin 在肺癌细胞株 A549 中表达, 但在 NHEBC 中不表达。干扰之后, VE-cadherin 在 A549 细胞的表达量明显下降。A549 细胞干扰组的相对表达量为  $0.210 \pm 0.006$ , 明显低于空白对照组 ( $0.713 \pm 0.043$ ) 和阴性对照组 ( $0.715 \pm 0.074$ ) ( $P < 0.05$ ) (图 4)。

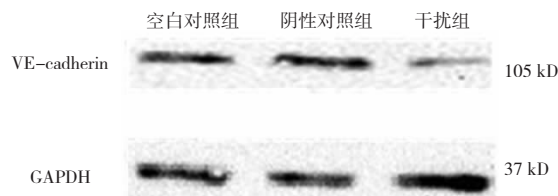


图 4 VE-cadherin 在肺癌细胞株 A549 中的表达

Fig.4 Expression of VE-cadherin in lung cancer cell line A549

## 3 讨论

VE-cadherin 又称 cadherin5 (CD144), 是内皮细胞特异性钙黏蛋白, 也是内皮细胞黏附连接的主要黏附蛋白, 在保持血管完整性、调节内皮细胞间通透性和细胞内信号传导中发挥着重要的作用。新近研究发现, VE-cadherin 与肾母细胞瘤、骨肉瘤、恶性黑色素瘤、肝细胞肝癌、结直肠癌等多种恶性肿瘤血管生成相关<sup>[2-6]</sup>。但与 NSCLC 间的关系, 仅 Dome 等<sup>[9]</sup>发现, NSCLC 患者外周血中 VE-cadherin 的 mRNA 水平与健康者相比并没有显著增加。Liao 等<sup>[10]</sup>应用 VE-cadherin 抗体阻断 VE-cadherin 介导的同嗜黏附, 可以抑制裸鼠皮下种植的 Lewis 肺癌细胞和人 A431 上皮癌细胞的生长和转移, 然而, 在 NSCLC 组织中却鲜见报道。

本课题组前期研究发现 VE-cadherin 与黏附分子 E-cadherin 基因和蛋白表达不相关<sup>[11]</sup>, 表明两者在 NSCLC 中的作用不同。E-cadherin 是一种钙依赖

性跨膜糖蛋白,在恶性肿瘤侵袭与转移中发挥重要作用,是一种重要的肿瘤转移抑制基因。这促使本课题组进一步研究 VE-cadherin 在 NSCLC 血管生成中的作用。本研究发现,VE-cadherin 在 NSCLC 组织癌细胞和血管内皮细胞中的阳性表达率均显著高于癌旁正常组织且在癌细胞中的表达率高于血管内皮细胞,可能与癌细胞为了生长,自身大量合成 VE-cadherin 有关;在有淋巴结转移组中的表达率均明显高于无淋巴结转移组;临床分期越高,VE-cadherin 的表达率也越高,提示 VE-cadherin 可能在 NSCLC 的进展中起重要作用,其机制可能为 VE-cadherin 参与 NSCLC 新生血管的形成,从而为肿瘤细胞带来营养物质,促进肿瘤生长有关。本课题也发现 VE-cadherin 在肺癌细胞株 A549 中表达,但在 NHBEc 中不表达,进一步证实 VE-cadherin 与肺癌的发生有关。此外,本课题通过干扰技术,降低了在 A549 细胞中的表达,为 NSCLC 的治疗提供了新的方法。本课题研究与 Dome 等<sup>[9]</sup>的结果有差异,可能与种族、标本来源等不同有关。

VEGF 是目前已知的活性最强、特异性最高的内皮细胞促有丝分裂细胞因子,其他的血管生成因子也大都是通过 VEGF 而起作用。在 NSCLC 血管生成中的作用也已得到证实,本课题的研究结果也和先前的一样,癌组织的表达率显著高于癌旁正常组织。VEGF 可促使 Rac1 依赖性活性氧的生成,导致 VE-cadherin Y658 和 Y731 磷酸化,进一步导致细胞间连接的分离和单分子层渗透性增加<sup>[12]</sup>,而 VE-cadherin 可以延长 VEGFR-2 受体的半衰期<sup>[13]</sup>。Gavard 和 Gutkind<sup>[14]</sup>认为 VEGF 通过 Src 依赖的 VaV2 磷酸化激活小 GTP 酶 Rac, Rac 又促进由 PAK 介导的 VE-cadherin S665 磷酸化,引起  $\beta$ -arrestin 募集到 VE-cadherin 上,导致 VE-cadherin 内吞,表明 VEGF 与 VE-cadherin 间存在联系。然而,在 NSCLC 组织中,VE-cadherin 和 VEGF 之间的相关性尚无相关报道。本课题研究亦表明,无论是在 mRNA 水平,还是在蛋白水平,二者均呈正相关,表明 VE-cadherin 在 NSCLC 血管生成中可能起重要作用,但其作用机制尚不完全清楚,这有待于本课题组进一步的研究和探讨。

综上所述,VE-cadherin 在 NSCLC 组织中的表达失调可能与 NSCLC 的进展及血管生成有关。因此,可以设想通过抑制 VE-cadherin 的异常表达,进一步抑制肺癌的生长、浸润转移及血管生成,从而

改善患者的预后,为肺癌的靶向治疗提供一个新的靶点。

## 参 考 文 献

- [1] Vestweber D. VE-cadherin: the major endothelial adhesion molecule controlling cellular junctions and blood vessel formation[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2008, 28(2): 223-232.
- [2] Kirschner KM, Sciesielski LK, Scholz H. Wilms' tumour protein Wt1 stimulates transcription of the gene encoding vascular endothelial cadherin[J]. *Pflügers Arch*, 2010, 460(6): 1051-1061.
- [3] Zhang LZ, Mei J, Qian ZK, et al. The role of VE-cadherin in osteosarcoma cells[J]. *Pathol Oncol Res*, 2010, 16(1): 111-117.
- [4] Khanna P, Yunkunis T, Muddana HS, et al. p38 MAP kinase is necessary for melanoma-mediated regulation of VE-cadherin disassembly[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2010, 298(5): C1140-1150.
- [5] Li H, Shi X, Liu J, et al. The soluble fragment of VE-cadherin inhibits angiogenesis by reducing endothelial cell proliferation and tube capillary formation[J]. *Cancer Gene Ther*, 2010, 17(10): 700-707.
- [6] Sun T, Zhao N, Zhao XL, et al. Expression and functional significance of Twist1 in hepatocellular carcinoma: its role in vasculogenic mimicry[J]. *Hepatology*, 2010, 51(2): 545-556.
- [7] Yamac D, Ayyildiz T, Coskun U, et al. Cyclooxygenase-2 expression and its association with angiogenesis, *Helicobacter pylori*, and clinicopathologic characteristics of gastric carcinoma[J]. *Pathol Res Pract*, 2008, 204(8): 527-536.
- [8] Ha CH, Bennett AM, Jin ZG. A novel role of vascular endothelial cadherin in modulating c-Src activation and downstream signaling of vascular endothelial growth factor[J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(11): 7261-7270.
- [9] Dome B, Timar J, Dobos J, et al. Identification and clinical significance of circulating endothelial progenitor cells in human non-small cell lung cancer[J]. *Cancer Res*, 2006, 66(14): 7341-7347.
- [10] Liao F, Li Y, O'Connor W, et al. Monoclonal antibody to vascular endothelial-cadherin is a potent inhibitor of angiogenesis, tumor growth, and metastasis[J]. *Cancer Res*, 2000, 60(24): 6805-6810.
- [11] 陶娟. 非小细胞肺癌中 VE-cadherin 和 E-cadherin 的表达及意义[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2010.
- [12] Monaghan-Benson E, Burrige K. The regulation of vascular endothelial growth factor-induced microvascular permeability requires Rac and reactive oxygen species[J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(38): 25602-25611.
- [13] Calera MR, Venkatakrishnan A, Kazlauskas A. VE-cadherin increases the half-life of VEGF receptor 2[J]. *Exp Cell Res*, 2004, 300(1): 248-256.
- [14] Gavard J, Gutkind JS. VEGF controls endothelial-cell permeability by promoting the  $\beta$ -arrestin-dependent endocytosis of VE-cadherin[J]. *Nat Cell Biol*, 2006, 8(11): 1223-1234.

(责任编辑: 关蕴良)