

本文引用:郭艳风,韩芳毅,周红艳,等. L型氨基酸转运体1和血管内皮生长因子在甲状腺乳头状癌中的表达及意义[J]. 新乡医学院学报,2017,34(1):36-38,42. DOI:10.7683/xxxyxb.2017.01.010.

【临床研究】

L型氨基酸转运体1和血管内皮生长因子在甲状腺乳头状癌中的表达及意义

郭艳风¹, 韩芳毅², 周红艳¹, 原志庆³

(1. 新乡市第一人民医院病理科,河南 新乡 453000;2. 新乡医学院第三附属医院病理科,河南 新乡 453003;3. 新乡医学院病理学教研室,河南 新乡 453003)

摘要: **目的** 探讨L型氨基酸转运体1(LAT1)和血管内皮生长因子(VEGF)在甲状腺乳头状癌(PTC)中的表达及意义。**方法** 采用免疫组织化学法检测68例PTC和相应癌旁组织中LAT1蛋白及VEGF蛋白的表达,并分析LAT1与PTC临床病理参数的关系及LAT1和VEGF的相关性。**结果** LAT1蛋白在PTC组织和相应癌旁组织中的阳性表达率分别为83.8%和8.8%,VEGF蛋白在PTC组织和相应癌旁组织中的阳性表达率分别为88.2%和7.4%,LAT1蛋白和VEGF蛋白在PTC组织中的阳性表达率均高于癌旁组织($P < 0.05$);LAT1蛋白在PTC组织中的阳性表达与肿瘤临床分期和淋巴结转移相关($P < 0.05$),与年龄、性别和肿瘤大小无关($P > 0.05$);PTC组织中LAT1蛋白和VEGF蛋白表达呈正相关($P < 0.05$)。**结论** LAT1可能通过调控VEGF表达而促进PTC的发生与演进,并可能成为PTC治疗的一个新的分子靶点。

关键词: L型氨基酸转运体1;血管内皮生长因子;甲状腺乳头状癌;免疫组织化学

中图分类号: R736.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-7239(2017)01-0036-04

Expressions of L-type amino acid transporter 1 and vascular endothelial growth factor in papillary thyroid carcinoma and their clinical significance

GUO Yan-feng¹, HAN Fang-yi², ZHOU Hong-yan¹, YUAN Zhi-qing³

(1. Department of Pathology, the First People's Hospital of Xinxiang, Xinxiang 453000, Henan Province, China; 2. Department of Pathology, the Third Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Xinxiang 453003, Henan Province, China; 3. Department of Pathology, Xinxiang Medical University, Xinxiang 453003, Henan Province, China)

Abstract: **Objective** To explore the expression of L-type amino acid transporter 1 (LAT1) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in papillary thyroid carcinoma (PTC) and their clinical significance. **Methods** The expression of LAT1 and VEGF in 68 cases of PTC and para-carcinoma tissue were detected by immunohistochemistry. The relationship between the expression of LAT1 protein and clinicopathological parameters of PTC were analyzed; the correlation between the expression of LAT1 protein and VEGF protein were analyzed. **Results** The positive expression rate of LAT1 protein in PTC and para-carcinoma tissue was 83.8% and 8.8% respectively; the positive expression rate of VEGF protein in PTC and para-carcinoma tissue was 88.2% and 7.4% respectively; the positive expression rate of LAT1 and VEGF protein in PTC tissue was significantly higher than that in para-carcinoma tissue ($P < 0.05$). The expression of LAT1 protein was related to lymph node metastasis and clinical stage of tumor ($P < 0.05$), while the expression of LAT1 protein was not related to age, sex and tumor size ($P > 0.05$). There was positive correlation between the expression of LAT1 protein and VEGF protein in PTC ($P < 0.05$). **Conclusion** LAT1 may promote the occurrence and progression of PTC by regulating the expression of VEGF, which may provide a new therapeutic target for the treatment of PTC.

Key words: L-type amino acid transporter 1; vascular endothelial growth factor; papillary thyroid carcinoma; immunohistochemistry

甲状腺乳头状癌 (papillary thyroid carcinoma,

PTC) 是甲状腺最常见的恶性肿瘤,近年来,其发病率在全球逐年升高。L型氨基酸转运载体1 (L-type amino acid transporter 1, LAT1) 是一种非 Na^+ 依赖性转运载体,负责转运中性氨基酸、支链氨基酸、芳香族氨基酸和一些必需氨基酸,包括亮氨酸、缬氨酸、组氨酸等。LAT1 促进肿瘤发生、发展的机制可能与

DOI:10.7683/xxxyxb.2017.01.010

收稿日期:2016-10-13

作者简介:郭艳风(1982-),女,河南鹤壁人,硕士,住院医师,研究方向:肿瘤病理。

通信作者:原志庆(1957-),男,河南滑县人,博士,教授,研究方向:肿瘤病理;E-mail: yuanzhiqing@xxmu.edu.cn。

细胞增殖、细胞周期调控和血管生成有关。研究已证实,LAT1 在多种恶性肿瘤中高表达,如非小细胞肺癌^[1]、恶性胸膜间皮瘤^[2]、肝癌^[3]、前列腺癌^[4]等,但关于 LAT1 在 PTC 中的表达及意义、LAT1 和血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor,VEGF)的相关性尚未见报道。因此,本研究采用免疫组织化学(immunohistochemisy,IHC)技术检测 PTC 及相应癌旁组织中 LAT1 蛋白和 VEGF 蛋白的表达,探讨其在 PTC 发生与演进过程中的作用,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2010 年 1 月至 2015 年 6 月新乡市第一人民医院病理科 68 例 PTC 组织蜡块(PTC 组),男 38 例,女 30 例,术前患者均未接受任何治疗,选取相应 PTC 旁组织(病理证实为非肿瘤组织)作为对照组。68 例 PTC 患者年龄 25~72 岁,中位年龄 49 岁,其中伴淋巴结转移 37 例,无淋巴结转移 31 例;肿瘤分期:Ⅰ、Ⅱ期 42 例,Ⅲ、Ⅳ期 26 例;肿瘤直径 0.3~4.3 cm,平均(1.5±0.8) cm,其中≥2 cm 14 例,<2 cm 54 例。

1.2 主要试剂 LAT1 鼠抗人多克隆抗体购自美国 Santa Cruz 生物公司(浓缩液);VEGF 兔抗人多克隆抗体购自福州迈新生物技术有限公司(工作液);免疫组织化学试剂盒(PV9000)购自北京中杉金桥生物技术有限公司,检测方法见试剂盒说明。

1.3 LAT1 蛋白和 VEGF 蛋白表达检测 采用链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶连结(streptomycete avidin peroxidase,SP)法进行 IHC 染色。常规石蜡切片 3~4 μm,经二甲苯脱蜡,梯度乙醇脱水后,磷酸盐缓冲溶液(phosphate buffer saline,PBS)清洗,抗原修复,体积分数 3% H₂O₂ 阻断内源性过氧化物酶,PBS 清洗,滴加一抗(LAT1 工作浓度为 1:100,VEGF 为工作液),室温孵育 10 min 后放置于湿盒内,4℃冰箱过夜(12 h),PBS 清洗,滴加生物素标记的二抗工作液,PBS 清洗,滴加辣根过氧化物酶标记链霉卵白素工作液,PBS 清洗,3,3'-二氨基联苯胺(3,3'-diaminobenzidine,DAB)工作液显色,苏木精复染,梯度乙醇脱水,二甲苯透明,中性树胶封片。以 PBS 代替一抗作阴性对照。用已知阳性表达的组织作阳性对照。

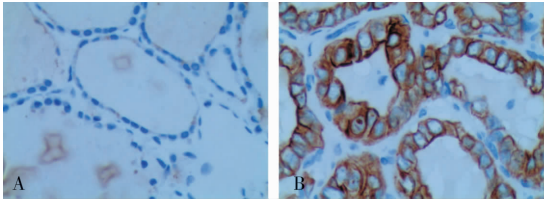
1.4 结果判定 LAT1 蛋白和 VEGF 蛋白阳性信号均为棕黄色颗粒样物质,LAT1 蛋白位于细胞膜和(或)细胞质,VEGF 蛋白位于细胞质;参照有关文

献^[5],在高倍视野下(×400)随机选取 5 个视野(每个视野观察不少于 200 个细胞),按阳性细胞所占的百分比和着色强度进行结果判定:(1)按着色强度评分:无着色为 0 分;浅黄色为 1 分;黄色为 2 分;棕黄色为 3 分。(2)按阳性细胞数占同类细胞数的百分比评分:阴性为 0 分,阳性细胞数≤10% 为 1 分,阳性细胞数 11%~50% 为 2 分,阳性细胞数 51%~75% 为 3 分,阳性细胞数>75% 为 4 分。取(1)、(2)2 项评分的乘积作为总积分,0~3 分为阴性(-),>3 分为阳性(+).

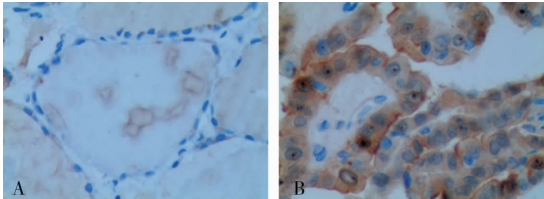
1.5 统计学处理 应用 SPSS 16.0 软件对实验数据进行统计分析,两样本率的比较采用四格表资料的χ²检验,相关性分析采用 Spearman 相关分析,检验水准 α=0.05。

2 结果

2.1 LAT1 蛋白和 VEGF 蛋白在 PTC 和相应癌旁组织中的表达 结果见图 1、图 2、表 1 和表 2。LAT1 蛋白和 VEGF 蛋白在 PTC 和癌旁组织中的阳性表达率均高于对照组,差异有统计学意义(P<0.05)。



A:对照组;B:PTC 组。
图 1 LAT1 蛋白在对照组和 PTC 组中的表达(SP,×400)
Fig.1 Expression of LAT1 protein in the control group and PTC group(SP,×400)



A:对照组;B:PTC 组。
图 2 VEGF 蛋白在对照组和 PTC 组中的表达(SP,×400)
Fig.2 Expression of VEGF protein in the control group and PTC group(SP,×400)

表 1 LAT1 蛋白在 PTC 和癌旁组织中的表达
Tab.1 Expression of LAT1 protein in PTC and para-carcinoma tissue

组别	n	LAT1 蛋白		χ ²	P
		阳性/例(%)	阴性/例(%)		
对照组	68	6(8.8)	62(91.2)	76.916	0.000
PTC 组	68	57(83.8)	11(16.2)		

表 2 VEGF 蛋白在 PTC 和癌旁组织中的表达

Tab.2 Expression of VEGF protein in PTC and para-carcinoma tissue

组别	n	VEGF 蛋白		χ^2	P
		阳性/例(%)	阴性/例(%)		
对照组	68	5(7.4)	63(92.6)	89.144	0.000
PTC 组	68	60(88.2)	8(11.8)		

2.2 LAT1 蛋白表达与 PTC 临床病理参数的关系

结果见表 3。LAT1 蛋白表达与肿瘤淋巴结转移和临床分期相关($P<0.05$),与患者年龄、性别和肿瘤大小无关($P>0.05$)。

表 3 LAT1 蛋白表达与 PTC 临床病理参数的关系

Tab.3 Relationship between the expression of LAT1 protein and clinicopathological parameters of PTC

临床病理参数	n	LAT1 蛋白		χ^2	P
		阳性/例(%)	阴性/例(%)		
年龄/岁					
<50 岁	43	38(88.4)	5(11.6)	1.785	0.182
≥50 岁	25	19(72.0)	6(28.0)		
性别					
男	38	21(55.3)	17(44.7)	0.496	0.481
女	30	14(46.7)	16(53.3)		
肿瘤直径					
<2 cm	54	47(87.0)	7(13.0)	1.997	0.158
≥2 cm	14	10(71.4)	4(18.6)		
临床分期					
I、Ⅱ期	42	41(97.6)	1(2.4)	15.417	0.000
Ⅲ、Ⅳ期	26	16(61.5)	10(38.5)		
淋巴结转移					
有	37	35(94.6)	2(5.4)	6.944	0.008
无	31	22(71.0)	9(29.0)		

2.3 PTC 组织中 LAT1 蛋白和 VEGF 蛋白表达的关系

结果见表 4。PTC 组织中 LAT1 蛋白表达与 VEGF 蛋白表达呈正相关($r=0.707, P<0.05$)。

表 4 PTC 组织中 LAT1 蛋白和 VEGF 蛋白表达的关系

Tab.4 Relationship between the expressions of LAT1 protein and VEGF protein in PTC

VEGF 蛋白	n	LAT1 蛋白		r	P
		阳性	阴性		
阳性	60	56	4	0.707	0.000
阴性	8	1	7		

3 讨论

PTC 是甲状腺最常见的恶性肿瘤,虽恶性程度低,生长缓慢,但近年,全球 PTC 发病率呈逐年增加趋势,因此,PTC 的早期发现、诊断和治疗显得尤为重要。

肿瘤细胞需要大量氨基酸以满足不断生长的需求,LAT1 是 L 型氨基酸转运载体成员之一,负责转运大中型氨基酸,其与 CD98 结合形成二聚体复合

物,参与肿瘤的侵袭与转移。研究显示,LAT1 在多种恶性肿瘤中高表达,如胃癌^[6]、神经胶质瘤^[7]、结肠癌^[8],而且 LAT1 的高表达与肿瘤的临床病理特征、诊断及预后关系密切。LAT1 在分化好的子宫内膜样腺癌中高表达,而在分化差的子宫内膜样腺癌中则表达下调^[9];LAT1 在胸腺癌中异常高表达,而在胸腺瘤中却表达缺失^[10],因而,可作为胸腺良、恶性肿瘤的诊断与鉴别诊断指标;LAT1 在转移瘤中的表达高于其在原发灶的表达^[11],推测 LAT1 可能在肿瘤的转移过程中发挥重要作用;敲除前列腺癌 LNCa 和 C4-2 细胞系中 LAT1 基因的表达,可以明显抑制癌细胞的增殖、侵袭和转移^[12],提示 LAT1 在肿瘤的发生与演变过程中发挥着重要作用。

目前,LAT1 在 PTC 中的研究尚未见报道,本研究结果显示,PTC 中 LAT1 的阳性表达率显著高于其在癌旁组织中的表达率,由此作者推测 LAT1 可能是 PTC 的一个癌基因。本研究还探讨了 LAT1 表达与 PTC 临床病理参数的关系,结果显示,LAT1 蛋白在 PTC 组织中的阳性表达与肿瘤临床分期和淋巴结转移相关,而与年龄、性别和肿瘤大小无关;且 LAT1 和 VEGF 在 PTC 组织中的表达呈正相关,推测 LAT1 与 VEGF 之间可能存在某种调控关系。

血管生成对肿瘤生长、进展、侵袭及转移至关重要,是一个通过新生血管的形成供给氧和营养物质的关键过程,影响着肿瘤的生长。VEGF 影响肿瘤血管形成的作用最强,特异性最高。它可以促进血管内皮细胞的增殖和新生血管的形成,增加血管通透性,改变细胞外基质,为肿瘤的生长及转移和浸润提供基础^[13-15];同时,VEGF 还可以使血管内皮细胞分泌胶原酶和纤溶酶以降解血管基底膜,且肿瘤内的新生血管基底膜不完善,使得肿瘤细胞非常容易进入血道,为肿瘤细胞在新部位的生长及增殖提供了便利条件。有研究报道,在非小细胞肺癌中,LAT1 表达与 VEGF 表达和 mTOR 信号通路活性密切相关^[1,16];在胆道癌中,LAT1 表达与血道转移、淋巴结转移、血管生成等显著相关^[17];在神经胶质瘤中,LAT1 高表达与组织病理分期、细胞增殖和血管形成有关^[7],均与本研究结果相符。

综上所述,LAT1 在 PTC 中表达上调,可能通过调控 VEGF 的表达而在 PTC 的发生、发展及转移过程中发挥作用,但调控机制尚不明确,需进一步深入研究。本研究进一步完善了 PTC 的发生机制,LAT1 可能通过调控 VEGF 的表达而促进 PTC 的发生与演进,并可能成为 PTC 治疗的一个新的分子靶点。

(下转第 42 页)

综上所述,与改进前的颈椎非手术脊柱减压系统比较,改进后的系统不仅在牵引过程中更能使颈部肌肉处于放松状态,同时对于增大病变椎间隙、改善疼痛症状以及提高颈椎功能更为突出,改良后的颈椎非手术脊柱减压系统作为治疗颈椎病更为有效的治疗模式应在临床上得以逐渐推广。而颈椎非手术脊柱减压系统作为治疗颈椎病最有效的牵引方法之一,对其不断研究和改进将成为日后牵引治疗颈椎病的重要内容。

参考文献:

[1] 杨松梅,陈兴东,李怀惠,等. 汤山温泉治疗神经根型颈椎病的临床疗效观察[J]. 颈腰痛杂志,2016,37(3):241-242.

[2] 徐冠华. 老年脊髓型颈椎病特点及手术疗效分析[D]. 上海:复旦大学,2006.

[3] 宋群. 综合物理疗法治疗神经根型颈椎病[J]. 中国康复,2010,25(2):127-128.

[4] 李义凯. 颈椎病的非手术治疗现状[J]. 实用医学杂志,2005,21(4):340-342.

[5] 黄莉华,白跃宏. 非手术脊柱减压牵引治疗神经根型颈椎病疗效观察[J]. 颈腰痛杂志,2013,34(5):414-416.

[6] 刘霞,高晓平. 非手术脊柱减压治疗颈椎间盘突出所致神经根型颈椎病的临床研究[J]. 安徽医药,2015,19(7):1302-1305.

(上接第 38 页)

参考文献:

[1] IMAI H,KAIRA K,ORIUCHI N,et al. Inhibition of L-type amino acid transporter 1 has antitumor activity in non-small cell lung cancer[J]. *Anticancer Res*,2010,30(12):4819-4828.

[2] KAIRA K,ORIUCHI N,TAKAHASHI T,et al. L-type amino acid transporter 1(LAT1) expression in malignant pleural mesothelioma[J]. *Anticancer Res*,2011,31(12):4075-4082.

[3] LI J,QIANG J,CHEN S F,et al. The impact of L-type amino acid transporter 1(LAT1) in human hepatocellular carcinoma[J]. *Tumour Biol*,2013,34(5):2977-2981.

[4] SAKATA T,FERDOUS G,TSURUTA T,et al. L-type amino acid transporter 1 as a novel biomarker for high-grade malignancy in prostate cancer[J]. *Pathol Int*,2009,59(1):7-18.

[5] 许良中,杨文涛. 免疫组织化学反应结果的判断标准[J]. 中国癌症杂志,1996,6(4):229-231.

[6] ICHINOE M,MIKAMI T,YOSHIDA T,et al. High expression of L-type amino acid transporter 1(LAT1) in gastric carcinomas:comparison with non-cancerous lesions[J]. *Pathol Int*,2011,61:281-289.

[7] HAINING Z,KAWAI N,MIYAKE K,et al. Relation of LAT1/4F2hc expression with pathological grade,proliferation and angiogenesis in human gliomas[J]. *BMC Clin Pathol*,2012,12:4.

[8] 石婷娟. 结肠癌中 LAT1、CD98 及 KI-67 的表达及其临床意义[D]. 太原:山西医科大学,2014.

[9] WATANABE J,YOKOYAMA Y,FUTAGAMI M,et al. L-type amino acid transporter 1 expression increases in well-differentiated but decreases in poorly differentiated endometrial endometrioid adeno-

[7] 田皓文,高晓平. 非手术脊柱减压治疗神经根型颈椎病的疗效分析[J]. 中华临床医师杂志,2013,7(14):6711-6713.

[8] 李增春,陈德玉,吴德升,等. 第三届全国颈椎病专题座谈会纪要[J]. 中华外科杂志,2008,46(23):1796-1799.

[9] 凌雁,张娜,朱志华. 非手术脊柱减压系统牵引对慢性颈痛患者颈部肌肉表面肌电信号的影响[J]. 中国医药导报,2015,12(26):99-102,106.

[10] 田浩文,高晓平. 非手术脊柱减压治疗神经根型颈椎病的疗效分析[J/CD]. 中华临床医师杂志:电子版,2013,7(14):6711-6713. DOI: 10. 3877/cma. j. issn. 1674-0785. 2013. 14. 129.

[11] 黄建立. 针刺联合牵引治疗腰椎间盘突出症疗效观察[J]. 新乡医学院学报,2014,31(12):1036-1038.

[12] 伍少玲,马超,燕铁斌. 颈椎功能障碍指数量表的效度与信度研究[J]. 中国康复医学杂志,2008,23(7):625-627.

[13] PARK M S,JU Y S,MOON S H,et al. Reoperation rates after anterior cervical discectomy and fusion for cervical spondylotic radiculopathy and myelopathy: a national population-based study[J]. *Spine*,2016,41(20):1593-1599.

[14] APFEL C C,CAKMAKKAYA O S,MARTIN W,et al. Restoration of disk height through non-surgical spinal decompression is associated with decreased discogenic low back pain: a retrospective cohort study[J]. *BMC Musculoskeletal Disorders*,2010,11(1):155-161.

(本文编辑:徐刚珍 英文编辑:孟 月)

carcinoma and shows an inverse correlation with p53 expression[J]. *Int J Gynecol Cancer*,2014,24(4):659-663.

[10] KAIRA K,ORIUCHI N,IMAI H,et al. L-type amino acid transporter 1(LAT1) is frequently expressed in thymic carcinomas but is absent in thymomas[J]. *J Surg Oncol*,2009,99(7):433-438.

[11] KAIRA K,ORIUCHI N,IMAI H,et al. L-type amino acid transporter 1 and CD98 expression in primary and metastatic sites of human neoplasms[J]. *Cancer Sci*,2008,99(12):2380-2386.

[12] XU M,SAKAMOTO S,MATASUSHIMA J,et al. Up-regulation of LAT1 during antiandrogen therapy contributes to progression in prostate cancer cells[J]. *J Urol*,2016,195(5):1588-1597.

[13] 袁牧之,林颖,刘泉. 视网膜静脉阻塞患者血浆和泪液中血管内皮生长因子表达的研究[J]. 眼科新进展,2016,36(5):468-470.

[14] 曹明芳,江蕊,张文贤,等. 脉络膜新生血管模型大鼠视网膜核转录因子- κ B p65、血管内皮生长因子和硫性成纤维细胞生长因子表达的变化[J]. 眼科新进展,2016,36(7):615-617,625.

[15] 唐清,汤继宏. 血管内皮生长因子对癫痫发作的神经保护作用[J]. 中华实用儿科临床杂志,2015,30(12):958-960.

[16] KAIRA K,ORIUCHI N,SHIMIZU K,et al. Correlation of angiogenesis with 18F-FMT and 18F-FDG uptake in non-small cell lung cancer[J]. *Cancer Sci*,2009,100(4):753-758.

[17] KAIRA K,SUNOSE Y,OHSHIMA Y,et al. Clinical significance of L-type amino acid transporter 1 expression as a prognostic marker and potential of new targeting therapy in biliary tract cancer[J]. *BMC Cancer*,2013,13:482.

(本文编辑:孟 月 英文编辑:孟 月)