

血管内皮生长因子和淋巴结微转移检测与老年胃癌预后的关系

栾复新, 王孟薇, 于国, 吕亚莉, 钟梅

栾复新, 王孟薇, 中国人民解放军总医院南楼消化科 北京市 100853
于国, 吕亚莉, 钟梅, 中国人民解放军总医院病理科 北京市 100853
项目负责人: 栾复新, 100853, 北京市, 中国人民解放军总医院南楼消化科.
电话: 010-66936595 传真: 010-66936595
收稿日期: 2004-01-15 接受日期: 2004-02-24

摘要

目的: 研究老年胃癌术前活检标本血管内皮生长因子(VEGF)表达和术后淋巴结微转移的检测与老年胃癌预后的关系。

方法: 采用免疫组化法检测了92例老年胃癌VEGF和67例pN0胃癌淋巴结微转移的表达情况, 并分析他们与胃癌临床病理因素的关系及对预后的影响。

结果: VEGF蛋白阳性表达率为66.7%, 淋巴结微转移阳性率为37.3%, 且二者表达呈正相关($P < 0.05$)。VEGF蛋白表达水平与肿瘤大小、组织分化程度、浸润深度、血管癌栓、淋巴结转移及TNM分期密切相关($P < 0.01$), 淋巴结微转移与组织分化程度、浸润深度、TNM分期呈正相关($P < 0.01$)。VEGF、淋巴结微转移的表达和胃癌预后呈负相关($P < 0.01$)。

结论: VEGF表达和淋巴结微转移呈正相关, 二者与胃癌生长、浸润转移关系密切, 可作为估计老年胃癌预后的重要因素。

栾复新, 王孟薇, 于国, 吕亚莉, 钟梅. 血管内皮生长因子和淋巴结微转移检测与老年胃癌预后的关系. 世界华人消化杂志 2004;12(7):1728-1730
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/1728.asp>

0 引言

胃癌淋巴结微转移(lymph node micrometastasis, LNM)是指常规HE染色未检测出的胃周淋巴结转移, 可能是导致胃癌术后复发和转移的主要原因。新近研究表明许多肿瘤存在新生淋巴管机制, 血管内皮生长因子(VEGF)是重要的促淋巴管生成因子, 与胃癌淋巴结转移和预后密切相关。据此, 我们检测了老年胃癌VEGF和LNM表达情况, 以探讨二者之间关系及对老年胃癌预后的影响。

1 材料和方法

1.1 材料 收集我院南楼1984/2002年手术切除的老年胃癌术前活检标本92例, 早期胃癌50例, 进展期胃癌42例。其中男87例, 女5例, 60-69岁38例, 70-79岁46例, >80 岁8例, 平均(70.8 ± 7.0 岁)。术后根据1997年国际抗癌联盟和美国癌症联合会修订标准, 进行临床分期, 同时选择pN0 67例(早癌46例, 进展

期癌21例)患者所切除的423枚淋巴结作为LNM检测标本, 随访时间14-210 mo, 所有病例已除外死于心脏病、肺炎或合并有其他肿瘤。另取慢性萎缩性胃炎30例作为对照。

1.2 方法 选择92例胃癌活检标本及67例阴性淋巴结石蜡包埋块, 进行4 μ m连续切片, 用抗VEGF单抗(中山公司, 工作浓度1:50)进行VEGF染色。用抗CK20单抗(中山公司, 工作浓度1:100)进行微转移检测。本实验采用免疫组化二步法。免疫组化染色法结果判定: VEGF以细胞质上出现棕黄色颗粒为阳性细胞, 高倍镜下观察4个不同视野并计数200个癌细胞, 按阳性细胞所占的百分率分为三级, 阳性细胞 $<10\%$ 为(-), 阳性细胞10-50%为(+), $>50\%$ 为(++). CK-20表达产物呈棕黄色颗粒, 定位于细胞质或细胞膜上, 多位于淋巴结包膜下间隙或淋巴窦内, 有时呈单个散在和2-3个及数个聚集成小团状癌细胞。

统计学处理 使用Excel2000建立数据库, Stata7.0进行统计分析, 有序变量采用非参数Wilcoxon秩和检验, 分类变量采用Person χ^2 和McNemar检验, 生存曲线采用Kaplan-meier估计法分析。

2 结果

2.1 VEGF、LNM在胃癌组织中表达 VEGF在进展期癌、早癌、慢性萎缩性胃炎表达的阳性率分别为80%、56%、16.7%, 三者均有显著性差异($P < 0.01$)。67例胃癌(pN0)中, 有淋巴微转移者35例(37.3%), 423枚阴性淋巴结中共检出微转移淋巴结34枚(8%), 其中46例早癌238枚淋巴结检出12例(26.1%)、14枚(6%), 21例进展期癌185枚淋巴结检出13例(61.9%), 20枚(10%)。

2.2 VEGF、LNM的表达与临床病理因素关系 VEGF、LNM表达与组织分化程度、浸润深度、TNM分期呈正相关($P < 0.01$), 二者的表达均与年龄、肿瘤部位无关(表1)。

2.3 VEGF、LNM表达与胃癌预后 1984/2002年19 a间手术切除胃癌92例, 死亡21例。VEGF阴性30例, 死亡2例, VEGF阳性(+)表达35例, 死亡6例, 强阳性(++)表达27例, 死亡13例, 差别有显著意义($P = 0.006$)。根据Kaplan-meier曲线估计, VEGF阳性组5 a、10 a生存率分别为68.3%、37.5%, 明显低于VEGF阴性组的100%、87.7%($P < 0.01$)。pN0 67例胃癌中, 19 a死亡6例。淋巴结微转移阴性者无1例死亡, 淋巴结微转移阳性者死亡6例, 差异有显著性($P = 0.009$)。根据Kaplan-meier曲线估计, 微转移阳性者5 a、10 a生

表1 VEGF、淋巴结微转移与临床病理因素关系

临床病理因素	VEGF			P	淋巴结微转移		P
	-	+	++		-	+	
年龄							
69	16	12	10	>0.05	17	10	>0.05
> 70	14	23	17		25	15	
肿瘤大小							
5	29	27	15	<0.01	40	22	>0.05
> 5	1	8	12		2	3	
组织分化							
癌变	5	1	0	<0.01	5	1	<0.01
高分化	12	9	1		19	2	
中分化	3	6	7		8	4	
低分化	10	19	19		10	18	
浸润深度							
黏膜	18	11	2	<0.01	26	4	<0.01
黏膜下	4	11	4		9	7	
肌层	5	3	2		6	4	
浆膜	1	2	3		1	1	
全层	2	8	16		2	7	
血管癌栓							
无	30	33	18	<0.01	42	24	>0.05
有	0	3	8		0	1	
TNM 分期							
O	14	10	1	<0.01	22	2	<0.01
	11	14	5		14	15	
	3	3	0		4	2	
	2	4	2		2	5	
	0	4	19		0	1	

存率分别为 91.6%、42.6%，而微转移阴性者 5 a、10 a 生存率为 100%、100%，差异有显著性($P < 0.01$)。

2.4 VEGF、LNM 相关性分析 VEGF 蛋白表达水平与 LNM 的检测结果呈高度正相关(一致性 $\chi^2=5.33$, $P=0.02$)。

3 讨论

胃癌的浸润和转移是造成胃癌死亡的主要原因，而血管生成则是恶性肿瘤生长和转移的基础，VEGF 是调控血管生成的主要因素。研究表明，血清 VEGF 高表达与胃癌侵袭和转移有关^[1-2]，术前活检标本和术后大体标本 VEGF 检测是胃癌术后复发有用指标^[3-4]。Minato et al^[5]检测了 35 例老年(平均 72 岁)和 35 例中青年(平均 52 岁) VEGF 表达情况。结果发现 VEGF 表达在老年组与浆膜外侵、远处转移等临床病理因素密切相关，而在中青年组 VEGF 表达与临床病理因素无关，因而认为 VEGF 是与年龄有关的一种促血管生成因子，对判断老年胃癌预后具有重要意义。本研究发现 VEGF 可在慢性萎缩性胃炎中表达，但一般水平较低，在老年早癌表达率为

56%，随着胃癌临床分期递增而呈明显上调表达，进展期癌阳性率高达 80%。VEGF 在老年胃癌中高表达，与老年人缺血、缺氧，从而触发了大量的 VEGF 分泌有关^[6]。我们同时发现 VEGF 阳性表达与胃癌淋巴结转移、血管癌栓呈正相关，总体生存率也低于 VEGF 阴性组，提示 VEGF 可通过促进新生血管形成，刺激细胞外基质降解而使胃癌组织呈侵袭性生长，从而继发局部浸润和远处转移，VEGF 高表达是老年胃癌预后不良的有用指标。VEGF 结合 p53、bFGF、NO 等表达，可更准确的判断胃癌预后^[6-7]。

淋巴结转移是胃癌患者重要的预后因素之一，常规病理检查易发生遗漏，连续病理切片可提高微转移的检出率，由于连续切片工作量大，在临床上很难推广应用，免疫组化 CK 法可提高淋巴结微转移的检出率。Fukagawa et al^[8]采用免疫组化 CK 法检测了 107 例 T₂N₀M₀ 胃癌 4 484 枚淋巴结，结果 35.3% 的患者、1.94% 的淋巴结有微转移。Kikuchi et al^[9]报道阳性率更高，常规检查未发现淋巴结转移的 T₂N₀、T₃T₄N₀ 期患者，免

疫组化发现淋巴结微转移高达 33.3%、75%。我们资料表明,患者微转移率为 37.3%,淋巴结微转移率为 8%,与国外报道相仿。我们观察到淋巴结微转移位于淋巴结包膜下窦,而且与淋巴管侵犯密切相关,提示微转移可能是胃癌淋巴结转移进程中早期事件。通常认为淋巴结转移与肿瘤侵犯深度有关,本组资料表明微转移也符合这个规律,随着癌肿向深部侵犯时微转移的发生大幅度提高。低分化腺癌、印戒细胞癌的淋巴结微转移的阳性率也高,说明了弥漫性胃癌患者更易发生淋巴结微转移,与国内外报道相似^[10-11]。目前对于恶性肿瘤淋巴结微转移的临床意义仍有不同看法, Lee et al^[12]报道,淋巴结微转移的 5 a 生存率为 49%,无淋巴结微转移者为 76%($P < 0.01$),是预后的一项独立因素。Yasuda et al^[13]报道预后与淋巴结微转移数目有关, T_2T_0 , T_3N_0 期 64 例胃癌检测表明,有淋巴结微转移 5 a 生存率 66%,无转移者为 95%($P < 0.01$),微转移淋巴结 4 个以上时, 5 a 生存率明显降至 29%($P < 0.01$)。我们资料也支持淋巴结微转移与患者预后密切相关,有微转移的患者肿瘤易复发, 10 a 生存率仅为 42.6%,而无微转移的患者 10 a 生存率为 100%。有微转移的患者预后差,其原因可能在手术时就有微转移的发生,而常规检查不能发现,导致术后复发。

新近研究表明许多肿瘤存在新生淋巴管机制, VEGF-3 分布于淋巴内皮表面,可调节肿瘤淋巴管生成,胃癌细胞表达的 VEGF-3 对癌细胞向淋巴结转移起了促进作用^[14-15]。我们资料表明, VEGF 表达与淋巴结微转移密切相关,表达有明显一致性,也证实了上述观点。因此,活检标本 VEGF 检测可在术前预测淋巴结微转移, VEGF 阳性患者在术中要尽可能寻找更多淋巴结,这样有可能减少老年胃癌的复发率。术后淋巴结微转移检测,提高了诊断胃癌淋巴结转移的准确性,使得该疾病的临床病理分期及预后的评价更具科学性,同时也为术后的辅助治疗提供依据,由于淋巴结的癌转移灶对化疗药物敏感,对检出淋巴结微转移的病例,术后应积极给予化疗等措施以降低肿瘤复发率。

4 参考文献

- Keyes KA, Mann L, Cox K, Treaday P, Iversen P, Chen YF, Teicher BA. Circulating angiogenic growth factor levels in mice bearing human tumors using Luminex multiplex technology. *Cancer Chemother Pharmacol* 2003;51:321-327
- 张宏图, 胡祥. 血清中血管内皮生长因子与胃癌侵袭和转移的关系. *世界华人消化杂志* 2003;11:344-345
- Maeda K, Kang SM, Onoda N, Ogawa M, Kato Y, Sawada T, Chung KH. Vascular endothelial growth factor expression in preoperative biopsy specimens correlates with diseases recurrence in patients with early gastric carcinoma. *Cancer* 1999;86:566-571
- Shi H, Xu JM, Hu NZ, Xie HJ. Prognostic significance of expression of cyclooxygenase-2 and vascular endothelial growth factor in human gastric carcinoma. *World J Gastroenterol* 2003;9:1421-1426
- Minato E, Miki C, Tanaka K, Kobayashi M, Mohri Y, Tonouchi H, Kuribayashi K, Kusunoki M. Vascular endothelial growth factor as an age-dependent prognostic factor in gastric Cancer patients. *Am J Surg* 2002;184:460-464
- 段伦喜, 钟德午, 胡辅珍, 赵华, 杨竹林, 易文君, 舒国顺, 华颂文. 胃癌组织 VEGF, Flt1, bFGF, P⁵³ 表达与胃癌预后的关系. *世界华人消化杂志* 2004;12:546-549
- Fondevila C, Metges JP, Fuster J, Crau JJ, Palacin A, Castells A, Volant A, Pera M. P⁵³ and VEGF expression are independent predictors of tumour recurrence and survival following curative resection of gastric Cancer. *Br J Cancer* 2004;90:206-215
- Fukagawa T, Sasako M, Mann GB, Sano T, Katai H, Maruyama K, Nakanishi Y, Shimoda T. Immunohistochemically detected micrometastases of the lymph nodes in patients with gastric carcinoma. *Cancer* 2001;15:753-760
- Kikuchi Y, Tsuchiya A, Ando Y, Yoshida T, Takenosita S. Immunohistochemical detection of lymph node microinvolvement in node-negative gastric cancer. *Gastric Cancer* 1999;2:173-178
- Ishida K, Katsuyama T, Sugiyama A, Kawasaki S. Immunohistochemical evaluation of lymph node micrometastases from gastric carcinomas. *Cancer* 1997;19:1069-1076
- 夏加增, 朱正纲, 刘炳亚, 燕敏, 尹浩然. 免疫组化检测胃癌淋巴结微转移的意义. *世界华人消化杂志* 2000;8:1113-1116
- Lee E, Chae Y, Kim I, Choi J, Yeom B, Leong AS. Prognostic relevance of immunohistochemically detected lymph node micrometastasis in patients with gastric carcinoma. *Cancer* 2002;94:2807-2873
- Yasuda K, Adachi Y, Shiraishi N, Inomata M, Takeuchi H, Kitano S. Prognostic effect of lymph node micrometastasis in patients with histologically node-negative gastric cancer. *Ann Surg Oncol* 2002;9:771-774
- Yonemura Y, Endo Y, Fujita H, Fushida S, Ninomiya I, Bandou E, Taniguchi K, Miwa K, Ohoyama S, Sugiyama K, Sasaki T. Role of vascular endothelial growth factor C expression in the development of lymph node metastasis in gastric cancer. *Clin Cancer Res* 1999;5:1823-1829
- Duff SE, Li C, Jeziorska M, Kumar S, Saunders MP, Sherlock D, O'Dwyer ST, Jayson GC. Vascular endothelial growth factors C and D and lymphangiogenesis in gastrointestinal tract malignancy. *Br J Cancer* 2003;89:426-430