

NF- κ B 上调 VEGF 表达影响胃癌预后

陈 贵, 于颖彦, 谢岳林, 尹浩然, 朱正纲

陈贵, 谢岳林, 嘉定南翔医院外科 上海市 201802
于颖彦, 尹浩然, 朱正纲, 上海第二医科大学附属瑞金医院消化外科研究所 上海市 200025
陈贵, 男, 1955-03-13 生, 外科主任, 副主任医师.
上海市重点学科基金资助, No. SZD04002
通讯作者: 于颖彦, 200025, 上海市, 上海第二医科大学附属瑞金医院消化外科研究所. yingyan3y@yahoo.com.cn
电话: 021-59122482
收稿日期: 2005-04-04 接受日期: 2005-04-09

Effect of VEGF expression up-regulated by nuclear factor- κ B prognosis of gastric carcinoma

Gui Chen, Ying-Yan Yu, Yue-Lin Xie, Hao-Ran Yin, Zheng-Gang Zhu

Gui Chen, Yue-Lin Xie, Department of Surgery, Jiading Nanxiang Hospital, Shanghai 201802, China
Ying-Yan Yu, Hao-Ran Yin, Zheng-Gang Zhu, Affiliated Ruijin Hospital, the Second Medical University, Shanghai 200025, China
Supported by the Key Discipline Foundation of Shanghai, No. SZD04002
Correspondence to: Ying-Yan Yu, Institute of Digestive Surgery, Affiliated Ruijin Hospital, the Second Medical University, Shanghai 200025, China. yingyan3y@yahoo.com.cn
Received: 2005-04-04 Accepted: 2005-04-09

Abstract

AIM: To investigate the up-regulation of vascular endothelial growth factor (VEGF) induced by the activation of nuclear factor- κ B (NF- κ B) and its effect on the prognosis of gastric carcinoma.

METHODS: Forty-one gastric carcinoma specimens were obtained by surgery and the expression of NF- κ B, VEGF and CD34 were detected in paraffin-embedded tissue sections by immunohistochemical method.

RESULTS: NF- κ B was activated and expressed in 68.3% (28/41) gastric carcinoma and VEGF was expressed in 70.7% (29/41). A significant correlation was found between NF- κ B activation and VEGF expression ($\kappa = 0.393$, $P = 0.012$). The microvessel Density in co-expression of NF- κ B and VEGF group was significantly higher than that in non-expression group ($P = 0.000$). The co-expression of NF- κ B and VEGF group showed markedly poorer prognosis than that did in non-expression group ($P = 0.035$).

CONCLUSION: The activation of NF- κ B contributes to

tumor angiogenesis in gastric carcinoma by up-regulation of VEGF, which results in a poorer prognosis.

Key Words: Gastric carcinoma; NF- κ B; Vascular endothelial growth factor; Microvessel density; Prognosis

Chen G, Yu YY, Xie YL, Yin HR, Zhu ZG. Effect of VEGF expression up-regulated by nuclear factor- κ B prognosis of gastric carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2005;13(11):1275-1277

摘要

目的: 探讨胃癌内核转录因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)活化对血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)表达的影响及对预后的影响。

方法: 选择胃癌根治术切除标本 41 例, 应用免疫组织化学方法测定 NF- κ B, VEGF 及 CD34 的表达, 检测结果与胃癌临床病理学多参数进行经统计分析。

结果: NF- κ B 呈活化型表达者占受检病例的 68.3%, VEGF 呈强阳性表达者占受检病例的 70.73%。NF- κ B 活化型表达组与 VEGF 高表达组有较高一致性($\kappa = 0.393$, $P = 0.012$)。NF- κ B 与 VEGF 同时表达组微血管密度明显较 NF- κ B 与 VEGF 同时阴性组高($P = 0.000$)。NF- κ B 与 VEGF 同时表达组生存期明显短于 NF- κ B 与 VEGF 同时阴性组($P = 0.035$)。

结论: 胃癌细胞通过活化 NF- κ B 信号通道促进 VEGF 高表达, 从而影响肿瘤内微血管密度及预后。

关键词: 胃癌; NF- κ B; VEGF; 微血管密度; 预后

陈贵, 于颖彦, 谢岳林, 尹浩然, 朱正纲. NF- κ B 上调 VEGF 表达影响胃癌预后. 世界华人消化杂志 2005;13(11):1275-1277
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/1275.asp>

0 引言

NF- κ B 是一种重要的核转录调控因子, 其广泛存在于各种细胞中, 通过调控众多下游基因的转录参与机体免疫应答、炎症反应、细胞凋亡及肿瘤形成过程^[1]。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是受 NF- κ B 调控的促血管生长因子之一, VEGF 通过促进内皮细胞增殖、增加血管通透性及改变细胞外基质以利于肿瘤内新生血管形成, 并

能影响宿主免疫功能、利于肿瘤扩散和转移^[2]. NF- κ B 信号通道可以诱导大肠癌细胞 VEGF 表达增加从而促进肿瘤微血管形成, 同时 NF- κ B 还具有促进大肠癌细胞增生、抑制细胞凋亡作用^[3-4], 但缺乏与胃肠道肿瘤预后相关性报道. 我们从蛋白表达水平结合临床随访结果探讨了胃癌组织中 NF- κ B 活化对 VEGF 表达调控乃至对肿瘤微血管密度 (microvessel density, MVD) 及预后影响如下.

1 材料和方法

1.1 材料 胃癌根治术切除标本 41 例, 年龄 36-77 (平均 59.7) 岁, 男:女为 3.5:1, 全部病例均获随访结果, 随访时间 1-9 a. 胃癌临床病理分期采用 1997 年国际抗癌联合会第 5 次修订的 TNM 分期法: I 期 10 例, II 期 12 例, III 期 15 例, IV 期 4 例. 组织病理学采用 Lauren 病理分型: 肠型 22 例 (56.7%), 弥漫型 10 例 (24.4%), 混合型 9 例 (22.0%).

VEGF mAb (工作浓度 1:50) 和兔抗人 NF- κ B p65 多克隆抗体 (工作浓度 1:200) 购自美国 Santa Cruz 公司; CD34 mAb (工作浓度 1:50) 和 Envision 试剂盒购自于丹麦 Dako 公司.

1.2 方法 应用免疫组化 Envision 二步法进行染色, 切片常规脱蜡, 应用 1 mmol/L EDTA pH8.0 缓冲液抗原热修复 20 min, 30 ml/LH₂O₂ 阻断内源性过氧化酶 10 min, 第一抗体 4℃ 孵育过夜. Envision 试剂孵育 30 min, DAB 光镜控制下显色, 苏木素复染, 封片, 显微镜下进行结果判定. NF- κ B 以细胞核内出现棕黄色颗粒的细胞数超过 10% 定为活化型表达; VEGF 以 10% 以上肿瘤细胞胞质出现棕褐色颗粒定为阳性表达. 其中 10-50% 阳性定为弱阳性, 50% 以上肿瘤细胞阳性定为强阳性. CD34 阳性血管密度计算应用美国 Image Pro Plus 图像分析软件, 在胃癌浸润前缘选择 3 个微血管密度高区, 测定每平方毫米内的血管数目 (个/mm²).

统计学处理 数据采用 Fisher 确切概率法及 *t* 检验进行分析, 应用 Kaplan Meier 法及 Log rank 检验进行生存率分析, *P* < 0.05 作为有显著差异. 所有统计处理均由 SPSS10.0 软件完成.

2 结果

2.1 胃癌 NF- κ B, VEGF 表达与 MVD 关系 在 41 例胃癌中 28 例 (68.3%) NF- κ B 呈活化型表达 (图 1). VEGF 在胃癌细胞有不同程度表达, 其中 29/41 例 (70.7%) 的癌细胞质内有 VEGF 强阳性表达 (图 2). NF- κ B 活化型表达组与 VEGF 高表达组有较高一致性, Kappa 一致性检验提示二者有相关性 ($\kappa = 0.393$, *P* = 0.012). NF- κ B 与 VEGF 同时表达组 MVD 明显较 NF- κ B 与 VEGF 同时阴性组

高 (20.70/±8.04:8.14/±4.9 mm², *P* = 0.000).

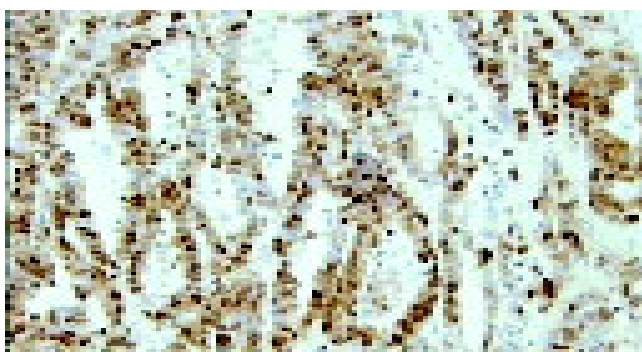


图1 肠型胃癌 NF- κ B 呈活化型表达 (Envision X200).

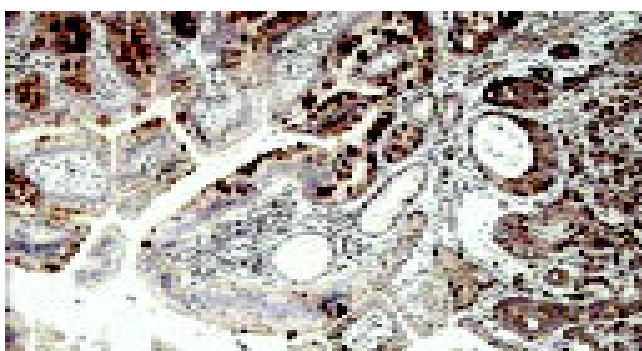


图2 肠型胃癌 VEGF 呈强阳性表达 (Envision X200).

2.2 NF- κ B 调控 VEGF 表达对胃癌预后的影响 NF- κ B 活化型表达同时伴有 VEGF 表达组胃癌平均生存期明显短于 NF- κ B 及 VEGF 阴性表达组 ($37.7 \pm 5.8\%$ vs $75.9 \pm 10.9\%$, *P* = 0.035), 经生存期分析显示两组之间具有显著性差异 (图 3).

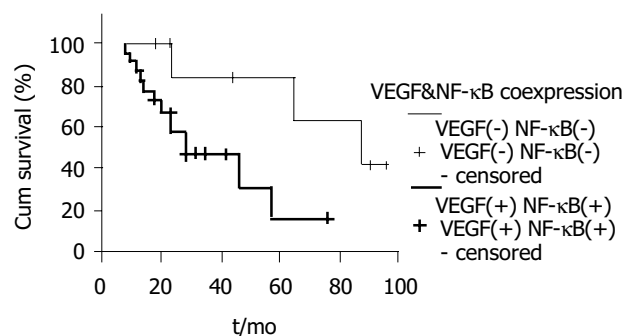


图3 Kaplan-Meier 法及 Log Rank 检验示 NF- κ B 及 VEGF 共表达组预后明显较 NF- κ B 及 VEGF 阴性组差 (*P* = 0.035).

3 讨论

NF- κ B 平时以同源或异源性二聚体的非活性形式存在于几乎所有类型细胞的胞质中, 只在各种刺激因素作用下才被激活. NF- κ B 除与机体的免疫应答、炎症反应密切相关外, 还参与调控细胞增殖和凋亡相关基因, 在肿瘤的发生过程中起重要作用. 我们曾报道胃癌

细胞存在 NF- κ B 的活化形式, 呈 NF- κ B 活化表达的胃癌其临床生存期明显较 NF- κ B 阴性组短, 其确切机制除瘤周淋巴细胞 NF- κ B 活化后机体抗肿瘤免疫增强参与其中外, 可能还涉及肿瘤细胞自身特性的改变^[5-6]. 为此, 现就 NF- κ B 活化对其下游基因产物 VEGF 的调控从而导致肿瘤微血管密度增加对胃癌预后的研究进行了研究. VEGF 是实体瘤内新生血管形成的主要调节系统, 参与肿瘤的发生、发展及转移过程, 该基因的转录受 NF- κ B 信号通道活化的调控. 越来越多的实验显示, 抑制 NF- κ B 信号通道活化可以明显抑制 VEGF 表达及微血管形成^[7-9]. 肿瘤细胞合成的 VEGF 分布于肿瘤血管周围, VEGF 与血管内皮细胞膜的 KDR 受体结合, 诱导血管生成^[10]. 肿瘤的生长可分为无血管期和有血管期. 在无血管期, 肿瘤主要依靠与周围组织的弥散来获取营养和排泄代谢产物. 当肿瘤发展到 1-2 mm 直径大小时进入有血管期, 肿瘤内出现新生毛细血管并获得进一步的生长能力, 肿瘤迅速生长并可发生转移^[11]. 本结果表明 NF- κ B 呈活化型表达组胃癌 VEGF 表达呈显著增强, 且 NF- κ B 与 VEGF 共表达组胃癌生存期明显短于 NF- κ B 与 VEGF 阴性组, 统计学处理显示 NF- κ B 活化型表达与 VEGF 表达之间存在相关性. NF- κ B 与 VEGF 均表达组肿瘤内微血管密度明显增加, 提示 NF- κ B 活化型表达造成胃癌预后差的原因之一是通过上调 VEGF 表达促进微血管形成从而加速肿瘤生长与转移所致. 然而, 上调 VEGF 表达只是 NF- κ B 活化的表现之一. 鉴于 NF- κ B 作为细胞内重要转录因子参与多种与细胞增殖、凋亡相关基因的调控, 不能排除 NF- κ B 呈活化型表达组预后差可能与胃癌细胞增殖能力及抗凋亡能力

等其他生物学指标改变有关, 故胃癌中 NF- κ B 活化与其他生物学指标等的关系均值得深入探讨.

4 参考文献

- 1 Wulczyn FG, Krappmann D, Scheidereit C. The NF- κ B/Rel and I κ B gene families: Mediators of immune response and inflammation. *J Mol Med* 1996;74:749-769
- 2 Huang S, Robinson JB, Deguzman A, Bucana CD, Fidler IJ. Blockade of Nuclear Factor- κ B Signaling Inhibits Angiogenesis and Tumorigenicity of Human Ovarian Cancer Cells by Suppressing Expression of Vascular Endothelial Growth Factor and Interleukin 8. *Cancer Res* 2000;60:5334-5339
- 3 钟霞, 于皆平, 冉宗学. 大肠癌中 NF- κ BP65、VEGF 表达相关性研究. *肿瘤学杂志* 2001;7:346-348
- 4 於亮亮, 于皆平, 冉宗学, 于红刚. 核因子 κ B 与大肠肿瘤细胞凋亡及增生的关系. *世界华人消化杂志* 2002;10:309-312
- 5 叶正宝, 陈贵, 于颖彦, 计骏, 马韬, 尹浩然, 朱正纲. 核转录因子 / 白介素 -8 与胃癌血管生成中及预后关系研究. *中华消化杂志* 2003;23:668-670
- 6 于颖彦, 朱正纲, 陈贵, 计骏, 马韬, 刘炳亚, 尹浩然. 胃癌及瘤周淋巴细胞 NF- κ B 激活的临床意义. *中华胃肠外科杂志* 2005;8:85-86
- 7 Xiong HQ, Abbruzzese JL, Lin E, Wang L, Zheng L, Xie K. NF-kappaB activity blockade impairs the angiogenic potential of human pancreatic cancer cells. *Int J Cancer* 2004;108:181-188
- 8 Fujioka S, Sclabas GM, Schmidt C, Niu J, Frederick WA, Dong QG, Abbruzzese JL, Evans DB, Baker C, Chiao PJ. Inhibition of constitutive NF-kappa B activity by I kappa B alpha M suppresses tumorigenesis. *Oncogene* 2003;22:1365-1370
- 9 Shibata A, Nagaya T, Imai T, Funahashi H, Nakao A, Seo H. Inhibition of NF-kappaB activity decreases the VEGF mRNA expression in MDA-MB-231 breast cancer cells. *Breast Cancer Res Treat* 2002;73:237-243
- 10 Maeda K, Chung YS, Ogawa Y, Takatsuka S, Kang SM, Ogawa M, Sawada T, Sowa M. Prognostic Value of Vascular endothelial growth factor expression in gastric carcinoma. *Cancer* 1996;77:858-863
- 11 Woodhouse EC, Chuaqui RF, Liotta LA. General mechanisms of metastasis. *Cancer* 1997;80(8 Suppl):1529-1537

编辑 潘伯荣 审读 张海宁

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2005 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

第一届全国肠道疾病学术大会

本刊讯 第一届全国肠道疾病学术大会定于 2005-05-19/21 在广州召开, 现将征稿通知公布如下:

1 稿件要求及截稿日期

全文、结构式摘要各一份, 电脑打印 (附软盘), 2005-06-30 截稿.

2 联系方式

广州市广州大道北 1838 号南方医院消化科 白杨 博士, 电话: 020-61641888 转消化科.