

胃癌组织血管内皮生长因子表达对胃癌生物学行为的影响

王 升, 吴本俨, 尤经纬

王升, 吴本俨, 尤经纬, 中国人民解放军总医院南楼消化科 北京市 100853
王升, 男, 1977-01-23 生, 天津塘沽人, 汉族, 2004 年军医进修学院硕士毕业, 主要从事消化系统疾病诊治研究。

通讯作者: 王升, 100853, 北京市, 中国人民解放军总医院南楼消化科。

电话: 010-88581140

收稿日期: 2005-01-06 接受日期: 2005-01-26

Influence of VEGF and Ki-67 expression on biological behavior of gastric cancer

Sheng Wang, Ben-Yan Wu, Wei-Di You

Sheng Wang, Ben-Yan Wu, Wei-Di You, Department of Gastroenterology, General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100853, China

Correspondence to: Sheng Wang, Department of Gastroenterology, General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100853, China.

Received: 2005-01-06 Accepted: 2005-01-26

Abstract

AIM: To investigate the relationship between expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and proliferating cell nuclear antigen Ki-67 and the biological behavior of gastric cancer.

METHODS: The Ki-67 labeling index (Ki-67-LI) and VEGF expression in tumors were analyzed by immunohistochemistry using specific antibodies. The relationship between each other, and their prognostic significance were evaluated.

RESULTS: The intensity of VEGF staining was correlated with tumor maximum diameter ($P = 0.011$), depth of tumor invasion ($P = 0.014$), lymph node metastasis ($P = 0.017$) and tumor stage ($P = 0.001$). The Ki67-LI of VEGF positive group (562.8 ± 118.3) was significantly higher than that of negative group (436.8 ± 142.2) ($P = 0.0005$). The prognosis of VEGF positive group was significantly worse than that of negative group. Ki67-LI was significantly correlated with lymph node metastasis ($P = 0.027$), tumor stage ($P = 0.020$) and prognosis ($P = 0.036$).

CONCLUSION: VEGF promotes tumor angiogenesis and development. High Ki67-LI reflects active proliferation of tumor cells. Both indicate an unfavorable prognosis.

Key Words: Gastric cancer; Vascular endothelial growth factor; Ki-67

Wang S, Wu BY, You WD. Influence of VEGF and Ki-67 expression on biological behavior of gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2005;13(6):716-719

摘要

目的: 研究胃癌组织中血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的表达与胃癌生物学指征之间的关系以及对预后的影响. 同时研究细胞增生核抗原标记指数(Ki67-LI)在胃癌中的意义。

方法: 选择有预后资料的胃癌术后患者 77 例, 用免疫组织化学方法(二步法)检测胃癌组织中 VEGF、Ki67 的表达, 综合分析上述指标的相关性以及胃癌生物学行为和预后的关系。

结果: 胃癌细胞 VEGF 的表达与肿瘤最大直径($P = 0.011$)、浸润深度($P = 0.014$)、淋巴结转移($P = 0.017$)、临床分期($P = 0.001$)相关, VEGF 阳性组与阴性组 Ki67-LI 均值分别为 562.8 ± 118.3 , 436.82 ± 142.2 ($P = 0.0005$), 具有显著差异. VEGF 对预后有影响, 阳性组预后较差. Ki-67-LI 与淋巴结转移($P = 0.027$)、临床分期($P = 0.020$)以及预后($P = 0.036$)相关, Ki-67-LI 高的胃癌容易发生淋巴结转移, 进展快, 恶性度高, 预后差。

结论: VEGF 可以促进肿瘤血管生成, 进而促进肿瘤细胞增生, 对预后产生不利影响. Ki-67-LI 与肿瘤临床生物学行为以及预后相关, 反映了肿瘤的恶性进程。

关键词: 胃癌; 血管内皮生长因子; Ki67

王升, 吴本俨, 尤经纬. 胃癌组织血管内皮生长因子表达对胃癌生物学行为的影响. *世界华人消化杂志* 2005;13(6):716-719

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/716.asp>

0 引言

肿瘤血管生成(angiogenesis)在肿瘤的发生发展中起重要作用, 血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是肿瘤细胞分泌的一种细胞因子, 可以促进肿瘤组织中新生血管的形成, 从而有利于肿瘤的生长及进展. 我们对 VEGF 在胃癌中的表达与胃癌生物学行为及预后的关系进行了研究. Ki-67 是一种增生细胞核抗原, 存在于 G₀ 期以外的所有各期细胞, 与细胞有丝分裂密切相关, 且不表达于 DNA 修复状态的细胞, 因此较 PCNA 更能准确地反映肿瘤

细胞的增生活性,对判断肿瘤恶性程度具有一定价值.我们用Ki-67-LI来判断胃癌细胞增生情况,并研究了VEGF与Ki-67-LI之间的相关性.

1 材料和方法

1.1 材料 1988-2001年解放军总医院行根治性胃大部切除或胃全切的胃癌手术标本77例.通过随访获得预后资料.影像学检查均未发现有远隔脏器或远隔淋巴结转移,手术切除彻底,手术标本残端及切缘均未见有残留癌细胞.男64例,女13例,年龄33-85岁,平均65.7岁,随访时间1-132 mo,平均47 mo,至2004-04-01结束随访,死亡35例,存活42例.PV-9000免疫组化试剂盒、VEGF、Ki-67鼠抗人mAb均购自北京中山公司.

1.2 方法 所有切片经过病理科专科医师复核确认,不含坏死区域,包含部分癌旁组织,能够反映肿瘤浸润的最深部位.肿瘤分期和肿瘤分级依据UICC(1997)标准,每例蜡块4 μm 厚度连续切片.免疫组化染色按照PV-9000试剂盒说明书操作,用TBS代替一抗做为阴性对照.Ki-67阳性染色位于细胞核,呈颗粒样深棕色染色,在400 \times 高倍镜下观察10个能代表总体染色情况的视野,共计数1 000个肿瘤细胞,其中Ki-67阳性细胞数用Ki-67-LI表示, $\text{Ki-67-LI} = \text{Ki-67阳性细胞数}/1\ 000\text{个计数细胞}$,以77例标本Ki-67-LI平均值为界,大于平均值的为高Ki-67-LI组,小于平均值的为低Ki-67-LI组.VEGF染色阳性部位位于细胞质,呈棕黄色颗粒样染色,阳性细胞为肿瘤细胞.VEGF阳性肿瘤细胞计数方法:在400 \times 高倍镜下观察10个能代表总体染色情况的视野,共计数1 000个肿瘤细胞,计算阳性细胞占计数细胞的百分率,以10%为界,大于10%为强阳性组,小于10%为弱阳性组.

统计学处理 用STATA软件进行统计,组间均数比较采用 t 检验或单因素方差分析(F 检验),频数比较用卡方检验,生存率的计算和生存曲线的绘制用Kaplan-Meier方法,Log-rank比较生存曲线的显著性差异, $P < 0.05$ 为统计有显著差异.

2 结果

2.1 VEGF表达与临床生物学行为的关系(表1) 在77例标本中VEGF阳性者55例,阳性率为71.4%(图1).胃癌细胞VEGF的表达与性别、年龄、部位、分化、淋巴管癌栓等胃癌临床生物学行为无明显关系,而与肿瘤最大直径、浸润深度、淋巴结转移、临床分期、Ki67-LI有显著关系,VEGF阳性组Ki67-LI均值显著高于VEGF阴性组,高Ki-67-LI组中VEGF阳性比例显著

高于低Ki-67-LI组.相关分析亦显示二者之间存在正相关($r = 0.254$, $P = 0.026$,图2).VEGF表达与预后相关,Logrank检验 $P = 0.004$,即阴性组与阳性组之间生存率比较具有统计学差异.阳性组5 a生存率为42%,阴性组5 a生存率为84%.

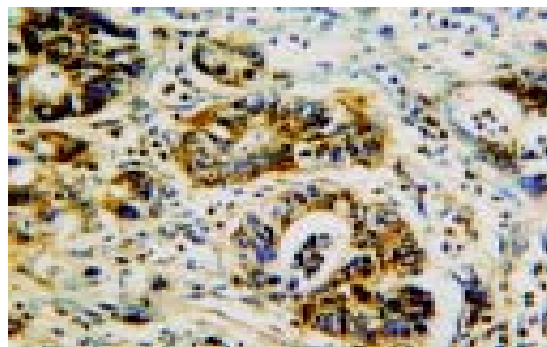


图1 VEGF胃癌细胞阳性染色,胞质呈棕黄色.

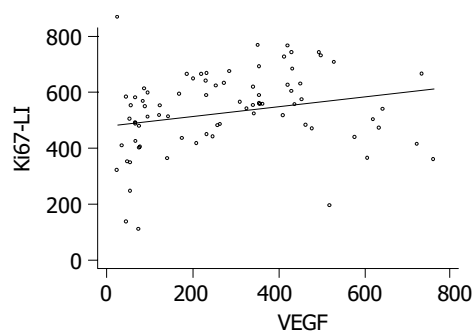


图2 Ki-67-LI与VEGF表达相关分析.

2.2 Ki67-LI与胃癌生物学行为及预后之间的关系(表1,图3) 77例标本Ki67-LI均值为 526.81 ± 137.14 ,范围为107-766,以Ki67-LI均值为界分为低Ki67-LI组39例和高Ki67-LI组38例,由表可见Ki67-LI与性别、年龄、分化、浸润深度、淋巴管癌栓等胃癌临床生物学行为无关,而与淋巴结转移、临床分期有显著关系.Ki-67-LI与预后相关,Logrank检验 $P = 0.036$,即高低Ki-67-LI组之间生存率比较具有统计学差异.

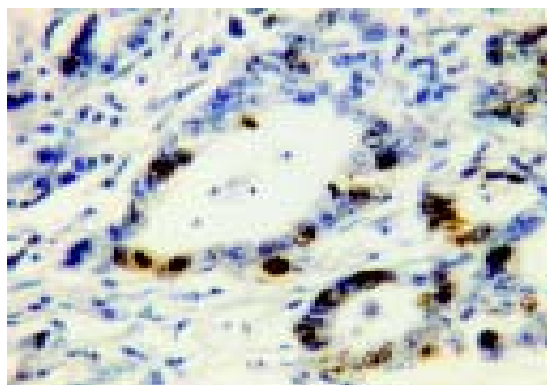


图3 胃癌细胞Ki-67染色,胞核呈深黄色.

表1 VEGF表达、Ki-67-LI与胃癌生物学行为之间的关系

变量	VEGF		Ki-67-LI	
	阴性(<i>n</i> = 22)	阳性(<i>n</i> = 55)	低(<i>n</i> = 39)	高(<i>n</i> = 38)
男	17	47	32	32
女	5	8	7	6
年龄<60岁	8	11	8	11
年龄≥60岁	14	44	31	27
肿瘤最大直径(cm)	3.0 ± 2.0	4.7 ± 2.8 ^a	3.6 ± 1.1	4.0 ± 3.9
部位:贲门	5	26	15	16
胃体	4	9	4	9
胃窦	13	20	20	13
分化:低	10	31	17	24
中	6	16	13	9
高	6	8	9	5
浸润:黏膜或黏膜下层	10	10	12	8
肌层	6	11	9	8
浆膜层	6	34 ^a	18	22
淋巴结转移:无	19	33	32	20
有	3	22 ^a	8	17 ^a
淋巴管癌栓:无	19	45	34	30
有	3	10	5	8
临床分期:Ⅰ期	14	17	21	10
Ⅱ期	8	19	9	18
Ⅲ期	0	19 ^b	7	12 ^a
Ki-67-LI	436.8 ± 142.2	562.8 ± 118.3 ^b		
高(<i>n</i> = 38)	6	32		
低(<i>n</i> = 39)	16	23 ^a		

^a*P* < 0.05, ^b*P* < 0.01.

3 讨论

自从1971年Folkman提出实体肿瘤的生长和转移依赖于新生血管形成的假说后,肿瘤组织中血管生成的重要性已经得到普遍认同^[1].血管生成是指从已存在的毛细血管和毛细血管后微静脉的血管内皮细胞(VEC)分化而形成新的血管.正常生理状态下,除女性月经期以外,VEC基本处于不增生状态,更新周期达1 000 d以上.这是由于与血管生成的有关刺激因素和抑制因素常处于动态平衡状态.肿瘤组织通过使血管生成刺激因素增加和/或使抑制因素减少而打破二者之间的平衡,启动血管生成表型.血管生成可以为肿瘤组织提供营养物质、清除代谢产物,这些对于肿瘤的生长具有重要意义^[2].肿瘤处于相对缺氧环境中,VEGFmRNA不仅表达于肿瘤细胞而且表达于间质细胞^[3-4].VEGF是具有多种功能的细胞因子,具有特异性促进血管内皮细胞增生和迁移.增加血管通透性的作用,对肿瘤生长、

扩散与转移起着重要作用.Toi *et al*^[5].发现在乳腺癌组织中VEGF和VIII因子的阳性表达见于低分化、侵袭性生长及伴有淋巴结转移的标本,VEGF和VIII因子的强阳性表达预示着较差的预后.

我们的研究结果显示,胃癌细胞VEGF的表达与性别、年龄、分化、淋巴管癌栓等胃癌临床生物学行为无明显关系,而与肿瘤浸润深度、淋巴结转移、临床分期、Ki67-LI以及预后显著关系,VEGF阳性组5 a生存率显著低于阴性组.这些结果提示VEGF以及VEGF所促进的血管生成在肿瘤生长、浸润和转移中起重要作用,VEGF表达强度与Ki67-LI间有明显相关性,其作用机制可能是VEGF促进肿瘤血管生成使肿瘤组织血管数目增多,血管通透性增加,血管内物质渗出增多,使肿瘤细胞得到更多的氧和营养物质,增生加快,肿瘤血管的大量形成也增加了肿瘤细胞进入循环系统发生转移的可能性^[6],新生血管对肿瘤细

细胞的通透性较大从而有利于转移的发生^[7],因此 VEGF 的阳性表达常导致较差的预后,因此普遍认为他可以作为影响预后的独立因素^[8].由于 VEGF 在肿瘤血管生成中所起到的重要作用,目前已有文献报道通过应用抗血管生成因子(例如抗-VEGF 抗体和抗 VEGF 受体抗体)来抑制肿瘤血管生成,从而达到治疗肿瘤的目的^[9-10].另外,一些抗血管生成因子可以加强多种细胞毒性抗肿瘤疗法的效果^[11],抗血管生成因子可能对肿瘤组织中的内皮细胞具有选择性的细胞毒性,因此除了直接作用于肿瘤细胞的细胞毒性疗法外,采用这些具有选择性细胞毒性的抗血管生成因子也将成为一种有效的治疗方法^[12].

Ki-67 作为一种增生细胞核抗原,其表达与细胞周期密切相关,他在 G₁ 后期开始出现,在 S 期和 G₂ 期逐渐升高, M 期达到高峰,有丝分裂后迅速降解消失,半衰期仅为 1 h 或更短, Ki-67 的表达可反映肿瘤细胞的增生活性,多数学者认为 Ki-67 表达与肿瘤的组织病理学分级呈负相关,而与临床分期、淋巴结转移、肿瘤大小的关系在不同肿瘤中的研究结果各不相同.例如在对前列腺癌和乳腺癌的研究中表明 Ki-67-LI 与肿瘤复发、淋巴结转移以及不良预后相关,经过大样本研究及多变量分析证实 Ki-67-LI 可以作为独立的预后因素^[13].在胃癌中 Kakeji *et al* 的研究发现 Ki-67-LI 与淋巴结转移相关^[14], Xu *et al*^[15] 的研究结果显示 Ki-67-LI 与肝、卵巢等远处转移相关,本课题结果显示 Ki67-LI 与性别、年龄、分化、浸润深度、淋巴管癌栓等胃癌临床生物学行为无关,而与淋巴结转移、临床分期以及预后相关, Ki67-LI 高的病例容易发生淋巴结转移,预后较差,提示 Ki67-LI 反映了肿瘤的恶性进程,但亦有研究结果显示 Ki-67-LI 与肿瘤临床生物学行为以及预后无关^[16-18], Ki-67-LI 只是肿瘤细胞增生活力的一种反映,但肿瘤增生活力受机体多种因素的影响并且肿瘤的恶性程度还与肿瘤分泌的各种侵袭性因子的能力有关,另外实验方法以及样本量的不同也可能导致不同的结果,所以 Ki-67-LI 在胃癌中表达的意义还需进一步证实.

4 参考文献

- 1 Folkman J. Tumor angiogenesis:therapeutic implications. *N Engl J Med* 1971;285:1182-1186

- 2 Hanahan D, Folkman J. Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *Cell* 1996;86:353-364
- 3 Brown LF, Berse B, Jackman RW, Tognazzi K, Manseau EJ, Senger DR, Dvorak HF. Expression of vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) and its receptors in adenocarcinomas of the gastrointestinal tract. *Cancer Res* 1993;53:4727-4735
- 4 Brown LF, Berse B, Jackman RW, Tognazzi K, Manseau EJ, Dvorak HF, Senger DR. Increased expression of vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) and its receptors in kidney and bladder carcinomas. *Am J Pathol* 1993;143:1255-1262
- 5 Toi M, Inada K, Hoshina S, Suzuki H, Kondo S, Tominaga T. Vascular endothelial growth factor and platelet-derived endothelial cell growth factor are frequently coexpressed in highly vascularized human breast cancer. *Clin Cancer Res* 1995;1:961-964
- 6 Woodhouse EC, Chuaqui RF, Liotta LA. General mechanisms of metastasis. *Cancer* 1997;80(8 Suppl):1529-1537
- 7 Denijn M, Ruiter DJ. The possible role of angiogenesis in the metastatic potential of human melanoma. *Clinicopathological aspects. Melanoma Res* 1993;3:5-14
- 8 Kakeji Y, Koga T, Sumiyoshi Y, Shibahara K, Oda S, Maehara Y, Sugimachi K. Clinical significance of vascular endothelial growth factor expression in gastric cancer. *J Exp Clin Cancer Res* 2002;21:125-129
- 9 Kim KJ, Li B, Winer J, Armanini M, Gillett N, Phillips HS, Ferrara N. Inhibition of vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis suppresses tumour growth in vivo. *Nature* 1993;362:841-844
- 10 Skobe M, Rockwell P, Goldstein N, Vosseler S, Fusenig NE. Halting angiogenesis suppresses carcinoma cell invasion. *Nat Med* 1997;3:1222-1227
- 11 Kakeji Y, Teicher BA. Preclinical studies of the combination of angiogenic inhibitors with cytotoxic agents. *Invest New Drugs* 1997;15:39-48
- 12 Teicher BA, Holden SA, Ara G, Sotomayor EA, Huang ZD, Chen YN, Brem H. Potentiation of cytotoxic cancer therapies by TNP-470 alone and with other anti-angiogenic agents. *Int J Cancer* 1994;57:920-925
- 13 Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein:from the known and the unknown. *J Cell Physiol* 2000;182:311-322
- 14 Kakeji Y, Korenaga D, Tsujitani S, Haraguchi M, Maehara Y, Sugimachi K. Predictive value of Ki-67 and argyrophilic nuclear organizer region stain for lymph node metastasis in gastric cancer. *Cancer Res* 1991;51:3505-3506
- 15 Xu L, Zhang SM, Wang YP, Zhao FK, Wu DY, Yan X. Relationship between DNA ploidy, expression of ki-67 antigen and gastric cancer metastasis. *World J Gastroenterol* 1999;5:10-11
- 16 Victorzon M, Roberts PJ, Haglund C, von Boguslawsky K, Nordling S. Ki-67, ploidy and S-phase fraction as prognostic factors in gastric cancer. *Anticancer Res* 1997;17:2923-2926
- 17 Muller W, Schneiders A, Meier S, Hommel G, Gabbert HE. Immunohistochemical study on the prognostic value of MIB-1 in gastric carcinoma. *Br J Cancer* 1996;74:759-765
- 18 Setälä L, Kosma VM, Lipponen P, Naukkarinen A, Nordling S, Hollmen S, Eskelinen M, Syrjänen K, Alhava E. Clinical relevance of p53 index and expression of proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 in gastric cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 1998;124:497-502

编辑 潘伯荣 审读 张海宁