

细胞凋亡基因、肿瘤侵袭相关蛋白酶及血管内皮生长因子在胃癌分型中的表达和意义

刘易欣, 赵春歌, 赵秀兰, 潘彦珩

刘易欣, 赵春歌, 赵秀兰, 潘彦珩, 天津医科大学病理教研室
天津市 300070

刘易欣, 1986年毕业于天津医学院, 1990年北医大病理系进修, 1994-1995年在中科院生物膜与膜生物工程国家重点实验室从事客座研究, 从事荧光免疫病理学, 肿瘤及胃肠疾病的研究。

通讯作者: 潘彦珩, 300070, 天津市和平区气象台路22号, 天津医科大学病理教研室. panyanlu70@yahoo.com.cn

电话: 022-23542527

收稿日期: 2006-05-09 接受日期: 2006-05-24

Expression and significances of apoptosis gene, invasion-associated proteases and vascular epithelial growth factor in Lauren's classification of gastric carcinoma

Yi-Xin Liu, Chun-Ge Zhao, Xiu-Lan Zhao, Yan-Luo Pan

Yi-Xin Liu, Chun-Ge Zhao, Xiu-Lan Zhao, Yan-Luo Pan,
Department of Pathology, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

Correspondence to: Yan-Luo Pan, Department of Pathology, Tianjin Medical University, 22 Qixiangtai Road, Heping District, Tianjin 300070,

China. panyanlu70@yahoo.com.cn

Received: 2006-05-09 Accepted: 2006-05-24

Abstract

AIM: To explore distinctive biological behavior in the intestinal-type gastric carcinoma and diffuse-type gastric carcinoma, according to the expression of Bcl-2, Bax, Cath-D and vascular epithelial growth factor (VEGF).

METHODS: Immunohistochemistry SP method was performed to detect the expression of Bcl-2, Bax, Cath-D and VEGF in 36 cases of intestinal-type gastric carcinoma, 38 cases of diffuse-type gastric carcinoma, and their corresponding normal gastric tissues.

RESULTS: The expression of Bcl-2, Bax, Cath-D and VEGF were significantly higher in gastric carcinoma than those in the normal controls (44.59% vs 27.30%; 58.11% vs 71.62%; 77.00% vs 21.60%; 71.62% vs 14.86%; all $P < 0.05$). The posi-

tive expression of Bcl-2 and Cath-D were markedly higher in diffuse-type gastric carcinoma than those in intestinal-type one (29.14 ± 24.70 vs 19.80 ± 27.37 ; 52.59 ± 33.76 vs 29.21 ± 39.67 ; both $P < 0.05$), while the expression of Bax was notably lower in the former (32.56 ± 35.55 vs 47.74 ± 27.43 , $P < 0.05$). The positive rate of VEGF expression was closely correlated with the invasion depth (7.13 ± 15.81 , 62.77 ± 44.37 , and 40.82 ± 42.70 for mucosal or sub-mucosal invasion, muscular invasion, and serosa invasion, respectively) and lymph node metastasis (metastasis vs non-metastasis: 42.05 ± 42.61 vs 34.15 ± 42.52) of gastric carcinoma.

CONCLUSION: Bcl-2, Bax, Cath-D and VEGF are involved in the development and metastasis of gastric cancer. Due to the involvement of different genes, the intestinal-type or diffuse-type gastric carcinoma shows a distinctive biological behavior.

Key Words: Bcl; Bax; Cath-D; Vascular epithelium growth factor; Gastric carcinoma; Biological behavior; Lauren's classification

Liu YX, Zhao CG, Zhao XL, Pan YL. Expression and significances of apoptosis gene, invasion-associated proteases and vascular epithelial growth factor in Lauren's classification of gastric carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2006;14(16):1571-1577

摘要

目的: 从“肿瘤异质化”角度出发, 通过多种基因编码蛋白(Bcl-2/Bax, Cath-D和VEGF)在肠型胃癌和弥漫型胃癌中的表达, 探讨二型胃癌不同生物学特性的分子学基础。

方法: 采用免疫组化SP法检测Bcl-2/Bax, cathepsin-D (Cath-D)和VEGF在胃癌及正常胃组织的表达。

结果: Bcl-2/Bax, Cath-D和VEGF阳性表达率在胃癌组织中与癌旁正常胃黏膜组织中比较 (分别为44.59% vs 27.30%; 58.11% vs 71.62%;

■背景资料

肠型胃癌和弥漫性胃癌同起源于胃小凹的干细胞, 但其形态学特征及生物学行为截然不同, 有关影响其演进及异质化的分子调控机制尚不清楚。

■研究前沿

肿瘤侵袭相关蛋白酶(Cath-D)是恶性肿瘤发生侵袭破坏及转移的重要物质基础,封闭阻遏该蛋白酶基因的表表达可望影响其生物学行为。

77.00% vs 21.60%; 71.62% vs 14.86%)均有显著性差异($P<0.05$),弥漫型胃癌中Bcl-2和Cath-D阳性细胞指数明显高于肠型胃癌(分别为 29.14 ± 24.70 vs 19.80 ± 27.37 和 52.59 ± 33.76 vs 29.21 ± 39.67),而Bax阳性细胞指数(分别为 32.56 ± 35.55 vs 47.74 ± 27.43)明显低于肠型胃癌,差异均有显著性($P<0.05$),VEGF阳性细胞表达指数在不同胃癌浸润深度组间比较(早期胃癌 7.13 ± 15.81 vs 肌层浸润 62.77 ± 44.37 vs 浆膜浸润 40.82 ± 42.70)及有无淋巴结转移组间比较(42.05 ± 42.61 vs 34.15 ± 42.52)有显著性差异($P<0.05$)。

结论: Bcl-2/Bax, Cath-D和VEGF分别参与了胃癌的发生,浸润进展和转移。二型胃癌在组织学发生相同的基础上由于在胃癌演进过程中有不同附加基因参与(Bcl-2/Bax和Cath-D),使弥漫型胃癌获得了与肠型胃癌有所不同的亚克隆过程,因而表现为生物学特性的异质化。

关键词: Bcl; Bax; Cath-D; 血管内皮生长因子; 胃癌; 生物行为; Lauren's分型

刘易欣, 赵春歌, 赵秀兰, 潘彦珩. 细胞凋亡基因、肿瘤侵袭相关蛋白酶及血管内皮生长因子在胃癌分型中的表达和意义. 世界华人消化杂志 2006;14(16):1571-1577

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/1571.asp>

0 引言

胃癌是我国最常见的消化道肿瘤,其死亡率居各种恶性肿瘤之首。1965年,Lauren *et al*^[1]通过对1344例胃癌进行组织学和组织化学研究后,将其分为肠型胃癌和弥漫型胃癌二型,并认为这两型胃癌无论从组织发生学、病理形态学还是生物学行为上都截然不同。肠型胃癌主要发生自胃腺颈部和胃小凹底部的干细胞,经过腺上皮细胞非典型增生、不完全大肠化生→原位癌→浸润性胃癌这样一个形态学连续谱系,而对弥漫型胃癌(主要是印戒细胞癌)的癌变谱系研究甚少。1997年潘彦珩 *et al*^[2]的研究证实,球样异型增生细胞是印戒细胞癌的癌前病变,该细胞也来自胃腺颈部的干细胞,开始于胃小凹底部,其实质也是一种不完全大肠化生的细胞。另外,我们近期研究结果也发现,在致癌背景上,二型胃癌均有幽门螺杆菌(*H pylori*)感染,并且*H pylori*感染率无显著差异,说明弥漫型胃癌的致癌背景、组织发生与肠型胃癌是一样的。那么这两型胃癌为什么在生物学行为上有如此大

的差别?近年来,随着细胞生物学和分子生物学在肿瘤发生学中的深入研究,认为“肿瘤的演进”这一生物学现象的出现与肿瘤的异质化有关。我们以此为切入点,运用免疫组织化学的方法,通过检测细胞凋亡基因蛋白(Bcl-2/Bax)、肿瘤侵袭相关蛋白酶(Cath-D)及血管内皮生长因子(VEGF)在二型胃癌中的表达情况,并对癌基因型和形态学表型进行对比分析,探讨胃癌细胞发生过程中细胞凋亡、侵袭能力、生长速度等方面形成的有所不同的亚克隆过程,并为临床针对不同组织学类型胃癌的分子靶向治疗寻找理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料 收集2002-01/2003-12天津医科大学总医院病理科首发胃癌手术切除标本共74例,每例均包括癌及癌旁正常胃组织,全部病例均经复读后确认。其中男55例,女19例,男女之比为2.89:1,平均年龄60.9(32-82)岁。按照Lauren's分型法:肠型胃癌36例(均为乳头状或高、中分化管状腺癌),弥漫型胃癌38例(均为印戒细胞癌)。术后病理证实:侵及黏膜及黏膜下层9例,侵及肌层10例,侵及浆膜及浆膜外55例;有淋巴结转移46例,无淋巴结转移28例。全部标本均经40 g/L福尔马林固定,石蜡包埋,作4 μ m厚连续切片,以备染色用。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学检测 免疫组织化学检测上述各种基因编码蛋白的表达,所用一抗见表1。染色采用SP法,枸橼酸缓冲液(pH 6.0)微波抗原修复10-15 min。全部抗体及SP试剂盒均购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.2.2 染色对照和结果判定 用已知阳性组织切片作阳性对照,以PBS替代一抗作阴性对照。免疫组化染色Bcl-2, Bax, Cath-D和VEGF阳性细胞着色呈棕黄色颗粒状。Bcl-2, Bax蛋白阳性物质定位于细胞质及胞核上; VEGF阳性物质定位于细胞膜和胞质;而Cath-D主要位于胞质内。每例标本切片依次从左至右随机计数,每个高倍视野($\times 400$)中每100个肿瘤细胞中的阳性细胞数。(每例>5个视野),然后取其均值作为该例细胞指数(%)。

统计学处理 用SPSS 12.0统计软件包分析。各种基因编码蛋白在正常胃和胃癌组织的表达结果比较用 χ^2 检验;各种基因编码蛋白表达与肿瘤浸润深度、淋巴结转移及二型胃癌的关系,用

表 1 免疫组织化学染色一抗及应用条件

抗体	一抗属性	来源	克隆系	稀释度	预处理	阳性对照
Bcl-2	兔	Santa Cruz	单克隆	1 : 100	微波热修复10 min	扁桃体
Bax	鼠	Santa Cruz	单克隆	1 : 100	微波热修复10 min	乳腺癌
Cath-D	鼠	Santa Cruz	单克隆	1 : 100	微波热修复10 min	结肠癌
VEGF	鼠	Santa Cruz	单克隆	1 : 50	微波热修复15 min	结肠癌

■ 相关报道

Carcia *et al*的研究表明Cathepsin-D过表达与乳腺癌的转移高度相关。

秩和检验。

2 结果

2.1 Bcl-2和Bax Bcl-2蛋白在癌旁正常胃黏膜中呈低表达, 阳性率仅为27.03%, 阳性细胞主要位于胃小凹底部的上皮细胞增生区, 染色强度弱呈淡黄色, 胃癌组织中阳性表达率为44.59%, 明显高于癌旁正常胃黏膜($P<0.05$, 表2), 染色强呈深棕色。Bax蛋白与其相反, 在癌旁正常胃黏膜中阳性表达率为71.62%, 胃癌组织中明显降低, 仅为58.11%, 与正常胃黏膜差异有显著性($P<0.05$, 表2)。

Bcl-2和Bax蛋白表达与胃癌分型有关。Bcl-2阳性细胞指数在弥漫型胃癌组为29.14%, 明显高于肠型胃癌组(19.80%), 二者差异有显著性($P<0.05$)。阳性物质着色在印戒细胞癌中普遍强于肠型胃癌, 呈深棕色。当癌细胞浸润至黏膜下层后出现细胞核内着色, 随着其在胃壁浸润加深, 细胞核内表达数量增多(图1A-B); Bax在弥漫型胃癌组中阳性表达指数为32.56%, 明显低于肠型胃癌组(47.74%, $P<0.05$, 表3)。

Bcl-2蛋白表达与胃癌浸润深度密切相关, 即癌细胞侵及肌层者明显低于黏膜及黏膜下层者, 同时也低于浆膜层者, 与淋巴结转移无关。Bax则与胃癌的浸润深度和有无淋巴结的转移均无关(表3)。

2.2 Cath-D Cath-D在癌旁正常胃黏膜组织呈广泛低浓度表达, 阳性表达率21.6%, 胃癌组织中表达呈强阳性, 阳性率77.0%, 二者差异有显著性($P<0.05$, 表2), 强阳性染色的癌细胞多位于癌组织浸润的前缘, 同时胃癌间质中的炎细胞、纤维细胞和某些血管内皮细胞中也有Cath-D表达。

Cath-D表达与胃癌Lauren's分型有关, 在弥漫型胃癌其阳性表达指数为52.5%, 明显高于肠型胃癌组(29.1%), 二者有显著性差异($P<0.05$), 而与癌细胞在胃壁中浸润的深度和有无淋巴结的转移之差异无显著性(表3)。

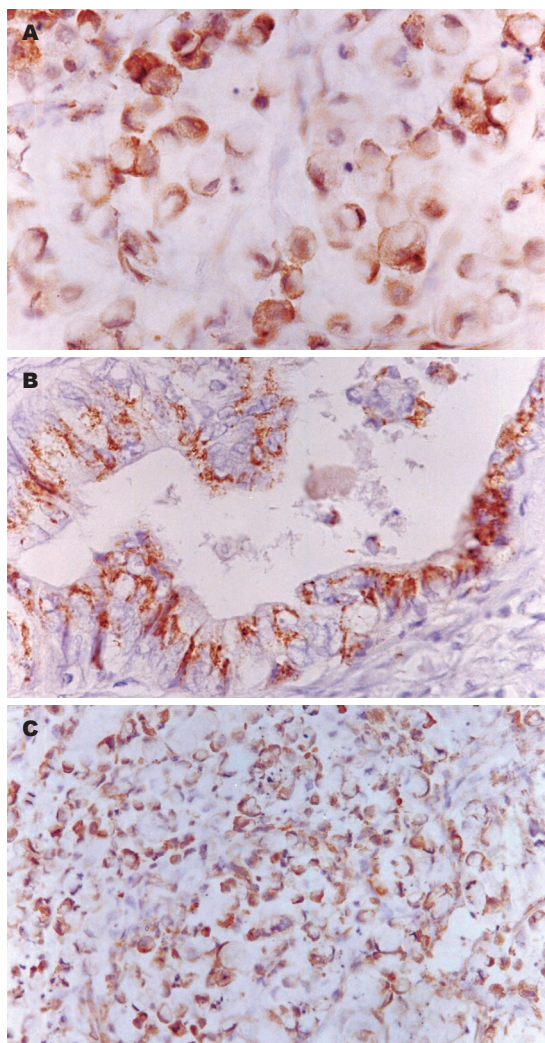


图 1 胃癌组织免疫组化染色。A: 弥漫型, Bcl-2, 胞核着色, $\times 400$; B: 肠型, Bax, 胞质着色, $\times 400$; C: 弥漫型, VEGF, 胞质胞膜, $\times 200$ 。

2.3 VEGF VEGF在癌旁正常胃黏膜组织的阳性表达率仅为14.86%, 阳性细胞着色呈弱阳性, 在胃癌组织中阳性率高达71.62%, 二者有显著差异(表2), 阳性细胞呈棕黄色(图1C)强阳性染色的癌细胞多位于浸润的前缘。

VEGF在肠型胃癌的表达指数为56.86%, 虽然比弥漫型胃癌高45.22%, 但是经秩和检验差异无显著性(表3)。VEGF表达与胃癌浸润深度和

■创新盘点

本文通过检测 Bcl-2/Bax, Cath-D 和 VEGF 在不同分型胃癌及癌旁组织中的表达情况, 探讨胃癌恶性转化过程中的一系列相关分子事件, 发现弥漫型胃癌 Cath-D 的阳性表达指数显著高于肠型胃癌。

表 2 各种基因编码蛋白在正常胃组织和胃癌组织的表达

组织	n	Bcl-2		Bax		Cath-D		VEGF	
		阳性例数	百分率 (%)	阳性例数	百分率 (%)	阳性例数	百分率 (%)	阳性例数	百分率 (%)
胃癌	74	33	44.59 ^a	43	58.11 ^a	57	77.00 ^b	53	71.62 ^b
正常胃黏膜	74	20	27.30	53	71.62	16	21.60	11	14.86

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 正常胃黏膜。

表 3 各种基因编码蛋白表达与胃癌临床病理参数关系

临床病理参数	n	Bcl-2		Bax		Cath-D		VEGF	
		阳性表达 指数 (%)	P 值	阳性表达 指数 (%)	P 值	阳性表达 指数 (%)	P 值	阳性表达 指数 (%)	P 值
组织学类型									
肠型	36	19.80 ± 27.37	0.031 ^a	47.74 ± 27.43	0.001 ^a	29.21 ± 39.67	0.013 ^a	28.96 ± 38.55	0.132
弥漫型	38	29.14 ± 24.70		32.56 ± 35.55		52.59 ± 33.76		50.24 ± 44.39	
浸润程度									
黏膜及其下层	9	21.12 ± 30.35	0.046	41.90 ± 36.95	0.829	40.51 ± 41.23	0.546	7.13 ± 15.81	0.016 ^a
肌层	10	8.77 ± 16.20		40.01 ± 32.67		53.94 ± 40.93		62.77 ± 44.37	
浆膜及外层	55	27.30 ± 26.40		39.64 ± 32.12		38.36 ± 37.76		40.82 ± 42.70	
淋巴结转移									
无	28	21.25 ± 28.26	0.339	41.96 ± 33.65	0.580	39.64 ± 41.89	0.645	34.15 ± 42.52	0.012 ^a
有	46	26.22 ± 25.25		38.31 ± 31.59		41.75 ± 36.39		42.05 ± 42.61	

淋巴结转移密切相关, 有淋巴结转移者或癌细胞在胃壁中深度浸润者, VEGF 的表达和染色强度明显升高, 与无淋巴结转移和在胃壁中浸润较浅者相比, 差异均有显著性 ($P < 0.05$, 表3)。

3 讨论

3.1 Bcl-2和Bax蛋白在胃癌和Lauren's分型中的表达及其意义 胃癌的发生是一个多因素共同作用的复杂过程, 目前认为细胞的凋亡抑制作用在肿瘤的发生、发展过程中要比细胞过度增殖更为重要, 随着对细胞凋亡的深入研究, 发现 *bcl-2* 基因家族是在细胞凋亡信号传导途径中影响和调控细胞凋亡的一类非常关键的基因, 根据其在调控细胞凋亡中的不同作用, *bcl-2* 基因家族分为两大类, 即抗凋亡基因(包括 *bcl-2*, *bcl-x1*, *bcl-w* 等)和促凋亡基因(*bax*, *bak*, *bok* 等), 其中 *bcl-2* 和 *bax* 是 *bcl-2* 基因家族中最具代表性的一对作用相反凋亡基因。 *bcl-2* 与肿瘤细胞凋亡密切相关, 转染 *bcl-2* 能抑制许多因素诱导的多种肿瘤细胞的凋亡。 *bax* 基因编码产物 Bax 蛋白的氨基酸序列 45% 与 Bcl-2 蛋白同源。 体内 Bax 不仅自身可形成二聚体诱导细胞凋亡^[3], 21 kDa 的 Bax 蛋白还能与 Bcl-2, Bcl-x1 形成异源二聚体,

阻止细胞凋亡的发生, 是细胞凋亡调控中非常重要的环节。

文献[7]报道, 正常组织中 Bcl-2 分布比较局限, 主要见于早期胚胎组织、成熟淋巴细胞、增生活跃的上皮细胞等部位。 本研究发现正常胃黏膜 Bcl-2 仅在胃小凹底部的上皮细胞增殖区有少量阳性物质沉积, 此处阳性表达对抑制干细胞凋亡, 维持干细胞增殖能力并使其分化成熟, 维持正常胃黏膜上皮细胞群凋亡与增生的平衡均有重要生理意义。 Hall *et al*^[4] 通过原位末端标记发现, 胃腺颈部细胞很少凋亡, 也支持这种设想。

我们研究了 74 例胃癌和癌旁正常胃黏膜中 Bcl-2 和 Bax 蛋白表达, 发现胃黏膜从正常细胞到发生恶性转化过程中的确存在细胞凋亡基因的异常, 表现为胃癌细胞抗凋亡基因蛋白 Bcl-2 的过度表达和促凋亡基因 Bax 表达的明显减少, Bcl-2 表达指数与癌细胞在胃壁中浸润深度有一定关系, 结果与 Muller 和徐佑 *et al* 的研究相吻合^[5-6], 文献报道 Bcl-2 本身并无促进细胞发生恶性转化的作用, 但在无生长因子或神经营养因子存在条件下, 通过抑制细胞凋亡, 延长细胞存活时间, 从而增加细胞染色体畸变和病毒感染

机会, 增加细胞恶变的概率. 另外**bcl-2**能协同促癌基因**ras**和**c-myc**的作用, 使细胞发生恶性转化^[7]. **Bax**基因蛋白表达的减少或缺失, 使正常细胞程序性死亡, 黏膜更新受阻, 最终导致胃黏膜上皮细胞发生恶变. 以上提示胃癌发生、发展过程中细胞凋亡基因发挥了重要作用, 同时亦证实肿瘤发生不只是因细胞生长、增殖过快引起, 而且与细胞凋亡减少有关.

本研究结果还显示, 胃癌组织中**Bcl-2**和**Bax**蛋白表达与Lauren's分型有关, 即**Bcl-2**阳性细胞指数在弥漫胃癌组明显高于肠型胃癌组, 且阳性物质着色浓度高, 而明显低于肠型胃癌组, 表明**bcl-2**基因家族与胃癌分化程度密切相关. 关于凋亡基因在不同分化程度肿瘤细胞中的表达国外文献报道不尽一致. 本研究与日本学者Saegusa *et al*^[8]的结果相符, 细胞对凋亡信号的反应性主要取决于**bcl-2**基因家族中凋亡诱导基因和凋亡抑制基因的相对表达水平, 即**bcl-2**与**bax**的比例. 当细胞内**Bcl-2**超表达时, 他与**Bax**形成异源二聚体增多, 使细胞凋亡减弱或被抑制, 使肿瘤细胞生长快, 浸润性强; 当细胞内**Bax**过表达时, 则以**Bax**同源二聚体为主, 形成离子通道, 使线粒体膜的通透性改变; 或**Bax**取代凋亡蛋白酶活化因子与**Bcl-2**同源二聚体结合, 通过活化半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶而促进细胞凋亡, 导致肿瘤相对生长缓慢, 浸润性低. Kasagi *et al*^[9]研究了不同分化程度的胃癌细胞的凋亡指数, 发现高分化胃癌的凋亡指数明显高于低分化胃癌, 显示分化差的胃癌对细胞凋亡存在逃避机制. 本研究提示不同类型胃癌在从正常胃黏膜上皮向恶性转化的过程中虽然均有**bcl-2**基因家族突变, 但在胃癌细胞演进过程中, 由于不同种类的凋亡调节基因突变程度的不同或由于肿瘤细胞对凋亡信号的反应不同, 使他们获得了不同的生物学特征, 因而弥漫型胃癌分化程度低, 恶性度高, 与肠型胃癌存在“肿瘤的异质化”.

编码产物**Bcl-2**蛋白是一种跨膜蛋白, 分子量约为26 kDa, 定位于内质网和线粒体外膜上^[10]. **bcl-2**基因家族的作用点在线粒体膜上, 因此正常胃黏膜上皮细胞和大部分胃癌细胞呈胞质染色阳性, 但在印戒细胞癌中, 癌细胞浸至黏膜下层后出现胞核着色, 并随着浸润深度的增加, 核内着色阳性细胞数也增加, **Bcl-2**基因蛋白这种异常信号传导通路对肿瘤细胞的恶性增殖、去分化有何重要意义尚待进一步探讨.

3.2 Cath-D在胃癌和Lauren's分型中的表达及其

意义 侵袭和转移是恶性肿瘤特有的两种性质, 也是影响预后的重要因素, 因此探讨肿瘤的侵袭和转移机制是研究的热点. Cath-D是定位于染色体11p15基因编码上的一种可被雌激素诱导的溶酶体蛋白酶, 一方面通过蛋白水解作用或通过激活组织蛋白酶B, 进而激活尿激酶型纤溶酶原活化因子(PA)降解细胞外基质(ECM)、基膜和结缔组织, 促进肿瘤的侵袭和转移; 另一方面, Cath-D还有促进有丝分裂的作用, 并与癌基因c-erb-B₂扩增有关, 从而促进肿瘤细胞增殖和生长.

关于Cath-D与胃癌和Lauren's分型的关系研究较少. 本文应用免疫组化方法对Cath-D在胃癌原发灶中的表达与胃癌生物学行为的关系进行了研究, 结果表明Cath-D在胃癌组织中尤其在癌巢边缘的癌细胞中表达明显强于癌旁正常胃黏膜组织和肿瘤中央区, 证实胃黏膜在癌变过程中细胞发生了Cath-D基因的突变. 由于癌细胞Cath-D基因蛋白表达的异常刺激了肿瘤细胞的生长、ECM和结缔组织的溶解, 使肿瘤细胞获得了向周围组织浸润转移的能力, 癌灶边缘的癌细胞表现出更明显的恶性生物学行为. Garcia *et al*^[11]用Cath-D基因进行细胞转染, 表明这种蛋白表达增强, 转染细胞发生肝转移的时间提前, 发生率也增高, 提示Cath-D与胃癌的发生、发展有关. 此外本研究结果还显示Cath-D阳性表达指数与胃癌的Lauren's分型密切相关, 即弥漫型胃癌Cath-D表达明显高于肠型胃癌($P<0.05$), 说明在胃癌演进过程中, 由于印戒细胞具有更多更强的Cath-D基因突变, 使弥漫型胃癌“肿瘤的异质化”比肠型胃癌呈现出更强的侵袭力、恶性度高、易转移等生物学行为. McGuire *et al*^[12]研究发现Cath-D基因过表达或高水平的乳腺癌患者其总生存期较短, 因此检测胃癌组织中Cath-D表达可作为监测胃癌复发、预后判定及指导治疗有价值的分子生物学指标.

本研究还发现肿瘤间质细胞亦有Cath-D表达, 关于肿瘤间质细胞, 尤其炎细胞中Cath-D阳性表达在肿瘤细胞侵袭、转移过程中的意义目前看法不同. 传统观点认为, 肿瘤间质中炎细胞, 尤其是免疫细胞具有抗肿瘤的作用. 但有人认为肿瘤间质细胞表达组织蛋白酶同样可以破坏正常组织结构, 协助肿瘤细胞发生浸润和转移. Gaci *et al*^[13]在乳腺癌的研究中证实, 间质细胞Cath-D阳性表达与乳腺癌侵袭、转移有关. 我们在胃癌研究中尚未发现这种关系. 因此, 肿瘤间

■应用要点

Cath-D是胃癌、乳腺癌等高度恶性病理组织学类型的重要表达产物, 有关其抗体及基因沉默技术的体内、外实验研究将可作为未来分子靶向治疗的一个新的方向.

■名词解释

1 弥漫型胃癌: 指不形成腺腔结构弥漫散在生长的低分化腺癌及印戒细胞癌。

2 肠型胃癌: 指发生在胃的具有管状结构的高-中分化腺癌。

质细胞在肿瘤形成和浸润转移中扮演什么角色, 值得进一步深入探讨。

还有研究表明^[12], 在酸性环境下雌激素可诱导组织蛋白酶D的分泌。因此, Cath-D在雌激素阳性的乳腺癌进展中发挥重要作用。但本实验结果并未发现Cath-D表达与患者性别之间有明显相关性, 提示肿瘤细胞Cath-D分泌机制较为复杂, 可能与多种生长因子的调控有关。

3.3 VEGF在胃癌和Lauren's分型中的表达及其意义 肿瘤的新生血管生成是肿瘤生长和转移的形态学基础, 目前已分离和纯化的新生血管生长因子较多, VEGF是其中作用最强、特异性最高的一种。VEGF是一种糖基化分泌性多肽, 分子量为43 kDa, 可特异作用于血管内皮细胞上的VEGF受体, 刺激其有丝分裂和增殖, 改变内皮细胞基因的活化方式, 诱导内皮细胞表达蛋白网的水解酶、间质胶原酶和细胞因子。这些酶和细胞因子共同促使血浆纤维蛋白外渗, 导致纤维素在肿瘤间质中沉积, 促进巨噬细胞、纤维母细胞等细胞生长, 从而在原位诱导新生血管生成。缺氧、低血糖细胞因子等是VEGF的外部调控因素。

本研究结果显示VEGF在胃癌组织中的阳性表达率和阳性物质的浓度均明显高于癌旁正常胃黏膜, 同时在肿瘤间质中的部分血管内皮细胞及少数纤维细胞也表达VEGF, 结果与文献报道一致^[14]。VEGF在恶性肿瘤内普遍呈过表达的主要原因是在肿瘤生长过程中, 由于瘤细胞增殖迅速, 造成肿瘤循环系统处于相对缺氧状态, 激活了VEGF基因, 刺激肿瘤细胞和肿瘤间质大量分泌血管生长因子, 从而在原位诱导新生血管的生成, 使肿瘤细胞在充分获得营养供应的条件下得以呈指数方式迅速生长。最近研究发现在人淋巴瘤的转移瘤中观察到VEGF表达与细胞凋亡呈反比关系, 说明VEGF还具有直接促进肿瘤细胞生成, 阻止凋亡的作用^[15]。本研究发现VEGF阳性表达指数与胃癌的进展和转移有密切的关系, 即癌细胞在胃壁浸润越深者或有淋巴结转移者, 肿瘤中VEGF表达越明显, 且染色强度高的癌细胞多位于癌肿浸润的边缘。文献报道, 胃癌浸润前缘中的肿瘤微血管密度较肿瘤内部高。说明肿瘤在向外浸润性生长过程中与新生血管化同步进行。同时由于新生血管本身结构上的缺陷, 如稳定性差、通透性高, 均有利于肿瘤细胞穿过血管壁进入循环系统, 为癌细胞的转移提供条件。因而肿瘤周边

的癌细胞可能更具有侵袭性。从生存曲线分析, VEGF阳性表达者预后明显差于VEGF阴性表达者^[16]。综上得出VEGF参与了胃癌的发生与发展, 可作为判断预后的指标。文献研究表明应用VEGF抗体或调控VEGF的受体, KDR能明显抑制实验性肿瘤的生长和转移^[17], 提示VEGF可作为肿瘤生物治疗的理想靶点。另外本研究发现VEGF的表达与Lauren's分型无关, 说明VEGF不是影响胃癌分化的主要因素, 与“肿瘤的异质化”无关。

总之, 本研究证实了Bcl-2, Bax, Cath-D和VEGF分别参与了胃癌的发生、浸润进展和转移。胃癌的发生、发展是一个多基因参与、调控的多步骤过程, 弥漫型与肠型胃癌在组织学发生相同的基础上由于在胃癌演进过程中有不同附加基因参与(Bcl-2, Bax和Cath-D), 使二型胃癌有不同的亚克隆过程, 因而表现为生物学特性的异质化。研究结果为临床对不同组织学类型的分子靶向治疗提供了理论依据。

4 参考文献

- 1 Lauren P. The two histological main types of gastric carcinoma: diffuse and so-called intestinal-type carcinoma. An attempt at a histo-clinical classification. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1965; 64: 31-49
- 2 潘彦珞, 王新允, 张乃鑫, 林建韶, 赵凤喜, 李薇, 赵天茹, 郑海燕. 胃黏膜球样异型增生细胞的癌前意义. *中华医学杂志* 1997; 77: 389-390
- 3 Vogelbaum MA, Tong JX, Higashikubo R, Gutmann DH, Rich KM. Transfection of C6 glioma cells with the bax gene and increased sensitivity to treatment with cytosine arabinoside. *J Neurosurg* 1998; 88: 99-105
- 4 Hall PA, Coates PJ, Ansari B, Hopwood D. Regulation of cell number in the mammalian gastrointestinal tract: the importance of apoptosis. *J Cell Sci* 1994; 107: 3569-3577
- 5 Muller W, Schneiders A, Hommel G, Gabbert HE. Prognostic value of bcl-2 expression in gastric cancer. *Anticancer Res* 1998; 18: 4699-4704
- 6 徐佶, 张一楚, 孙久运, 张忠德, 张文竹, 钱惠琴. bcl-2, bax, Ki-67在胃癌中的表达及意义. *肿瘤* 2001; 21: 211-212
- 7 Xu J, Xu Z, Jiang Y, Qian X, Huang Y. Cryptorchidism induces mouse testicular germ cell apoptosis and changes in bcl-2 and bax protein expression. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 2000; 19: 25-33
- 8 Saegusa M, Takano Y, Wakabayashi T, Okayasu I. Apoptosis in gastric carcinomas and its association with cell proliferation and differentiation. *Jpn J Cancer Res* 1995; 86: 743-748
- 9 Kasagi N, Gomyo Y, Shirai H, Tsujitani S, Ito H. Apoptotic cell death in human gastric carcinoma: analysis by terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP-biotin nick end labeling. *Jpn J Cancer Res* 1994; 85: 939-945
- 10 Chalbos D, Westley B, May F, Alibert C, Rochefort

- H. Cloning of cDNA sequences of a progestin-regulated mRNA from MCF7 human breast cancer cells. *Nucleic Acids Res* 1986; 14: 965-982
- 11 Garcia M, Derocq D, Pujol P, Rochefort H. Overexpression of transfected cathepsin D in transformed cells increases their malignant phenotype and metastatic potency. *Oncogene* 1990; 5: 1809-1814
- 12 McGuire WL, Tandon AK, Allred DC, Chamness GC, Ravdin PM, Clark GM. Prognosis and treatment decisions in patients with breast cancer without axillary node involvement. *Cancer* 1992; 70: 1775-1781
- 13 Gaci Z, Bouin-Pineau MH, Gaci M, Daban A, Ingrand P, Metaye T. Prognostic impact of cathepsin D and c-erbB-2 oncoprotein in a subgroup of node-negative breast cancer patients with low histological grade tumors. *Int J Oncol* 2001; 18: 793-800
- 14 Brown LF, Berse B, Jackman RW, Tognazzi K, Guidi AJ, Dvorak HF, Senger DR, Connolly JL, Schnitt SJ. Expression of vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) and its receptors in breast cancer. *Hum Pathol* 1995; 26: 86-91
- 15 Harmey JH, Bouchier-Hayes D. Vascular endothelial growth factor (VEGF), a survival factor for tumour cells: implications for anti-angiogenic therapy. *Bioessays* 2002; 24: 280-283
- 16 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
- 17 Melnyk O, Shuman MA, Kim KJ. Vascular endothelial growth factor promotes tumor dissemination by a mechanism distinct from its effect on primary tumor growth. *Cancer Res* 1996; 56: 921-924

■同行评价

本文设计科学, 结果合理, 讨论也尚有条理, 有可读性, 为胃癌的病理学研究及基因治疗提供了充足的有意义的信息, 能较好反应我国胃肠病学基础研究的先进水平。

电编 张敏 编辑 张海宁

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2006年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

2006上海中日早期胃肠肿瘤国际研讨会通告

本刊讯 由上海市胃肠肿瘤重点学科、日本早期胃癌检诊协会、上海交通大学瑞金医院消化肿瘤学科群共同主办 “2006上海中日早期胃肠肿瘤国际研讨会” 将于2006-11-09/11在上海召开。

1 会议内容

由日本及香港专家主讲: 功能性消化不良和早期胃癌的临床识别; 根除*H pylori*预防胃癌研究; 内镜诊断早期胃癌的深度及组织学类型; 早期胃癌EMR、ESD及外科手术治疗; 早期胃癌和大肠癌标本处理及病理检查规范及国际共识意见; 大肠锯齿状腺瘤、大肠癌及新生癌的诊断, 外科手术及综合治疗。

由中国专家主讲: 放大内镜诊断早期胃癌; 中国早期胃癌临床现状及前景; 胃肠肿瘤腹腔镜治疗; 大肠侧向生长型肿瘤诊治; 大肠癌早期诊断及筛查; 胶囊内镜、双气囊小肠镜及小肠超声内镜诊断小肠肿瘤及临床评估。

2 征文

征文内容包括胃癌、大肠癌、小肠肿瘤基础研究、流行病学调查, 早期胃肠癌诊断及治疗. 论文(电子版)按中华消化杂志格式书写附500字以内中文摘要, 欢迎网上投稿. 截止日期: 2006-08-10. 来稿寄至: 上海市瑞金二路197号上海瑞金医院消化科 汤美萍 (请写明2006胃肠肿瘤大会稿件), 邮政编码: 200025. 联系电话: 021-64370045-665246, E-mail: wuyunlin1951@163.com.

会议将授予国家继续教育 I 类学分8分.