

# 胰腺癌中KGF的表达及其临床病理学意义

金益峰, 周建平, 盛伟伟, 张丹华, 董明

金益峰, 周建平, 盛伟伟, 张丹华, 董明, 中国医科大学附属第一医院普通外科 辽宁省沈阳市 110001

金益峰, 硕士, 主要从事腹部外科学的研究。

辽宁省自然科学基金资助项目, No. 20092131

作者贡献分布: 金益峰与周建平对此文所作贡献均等; 此课题由金益峰、周建平及张丹华设计; 董明与盛伟伟提供修改意见; 相关文献资料的收集由金益峰与张丹华完成; 相关实验操作与数据分析由金益峰与盛伟伟完成; 本论文写作由金益峰与周建平完成。

通讯作者: 周建平, 教授, 主任医师, 110000, 辽宁省沈阳市和平区南京街155号, 中国医科大学附属第一医院普通外科。

zjphama@163.com

收稿日期: 2013-04-17 修回日期: 2013-08-20

接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-09-28

## Clinicopathological significance of expression of keratinocyte growth factor protein in pancreatic ductal adenocarcinoma

Yi-Feng Jin, Jian-Ping Zhou, Wei-Wei Sheng, Dan-Hua Zhang, Ming Dong

Yi-Feng Jin, Jian-Ping Zhou, Wei-Wei Sheng, Dan-Hua Zhang, Ming Dong, Department of General Surgery, First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Supported by: Liaoning Provincial Natural Science Foundation of China, No. 20092131

Correspondence to: Jian-Ping Zhou, Professor, Chief Physician, Department of General Surgery, First Affiliated Hospital of China Medical University, 155 Nanjing Street, Heping District, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. zjphama@163.com

Received: 2013-04-17 Revised: 2013-08-20

Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-09-28

## Abstract

**AIM:** To assess the clinicopathological significance of expression of keratinocyte growth factor (KGF) protein in pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC).

**METHODS:** The expression of KGF protein in 51 paraffin-embedded PDAC specimens and matched tumor-adjacent pancreatic tissue specimens was detected by immunohistochemistry. The relationship between KGF protein expression and clinicopathological characteristics of PDAC was analyzed.

**RESULTS:** The expression of KGF protein was significantly higher in PDAC than in matched non-cancerous pancreatic tissues ( $Z = -4.766, P < 0.001$ ). The expression of KGF protein was positively correlated with hepatic metastasis ( $\chi^2 = 4.113, P < 0.05$ ). Mean survival time was shorter in KGF (+) patients than in KGF (-) ones (384 d vs 621 d).

**CONCLUSION:** Expression of KGF is up-regulated in PDAC. KGF up-regulation may be related with hepatic metastasis of PDAC. Mean survival time is shorter in KGF (+) patients than in KGF (-) ones.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Neoplasm; Pancreatic cancer; Keratinocyte growth factor; Metastasis

Jin YF, Zhou JP, Sheng WW, Zhang DH, Dong M. Clinicopathological significance of expression of keratinocyte growth factor protein in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(27): 2865-2869 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2865.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2865>

## 摘要

**目的:** 探讨胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC)中角质细胞生长因子(keratinocyte growth factor, KGF)的表达水平及临床病理学意义。

**方法:** 应用免疫组织化学方法检测51例胰腺癌及癌旁组织标本中KGF蛋白的表达水平, 并且观察其表达与胰腺癌患者临床病理学资料的关系。

**结果:** 免疫组织化学结果显示: KGF在癌组织中表达明显高于配对的癌旁组织( $Z = -4.766, P < 0.001$ ); KGF蛋白的表达与肿瘤肝转移呈正相关( $\chi^2 = 4.113, P < 0.05$ ); 生存分析发现KGF阳性患者的平均生存时间短于表达阴性者(阳性者平均生存时间384 d, 阴性者621 d)。

**结论:** 在PDAC中KGF表达上调, 其表达与肿瘤肝转移呈正相关。KGF表达阳性患者生存时

## ■背景资料

胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC)是一种常见的消化系统恶性肿瘤, 近年来其发病率有增高的趋势。而其手术切除率低, 术后复发率高, 对放疗不敏感, 预后差。至今没有有效的治疗手段及预后评价标准。近年来, 随着肿瘤微环境与肿瘤发生发展关系的相关研究不断深入, 角质细胞生长因子(keratinocyte growth factor, KGF)在肿瘤中的作用也逐步受到重视。

## ■同行评议者

夏时海, 副教授, 副主任医师, 行政主任, 武警后勤学院附属医院肝胆胰脾科(中心); 谷俊朝, 主任医师, 首都医科大学附属北京友谊医院普外科

## ■ 研发前沿

KGF可以刺激不同类型肿瘤细胞的迁移和侵袭,肿瘤组织中KGF的表达可能与肿瘤的恶性程度有关,是肿瘤转移进展的重要分子。KGF及其受体在人乳腺癌细胞、胰腺癌、胃腺癌细胞以及前列腺癌细胞系中均有发现,而在良性前列腺增生、食管、胰腺和大肠癌组织中也有表达,但其确切作用机制仍然尚不十分明确。

间短于阴性患者。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 肿瘤; 胰腺癌; 角质细胞生长因子; 转移

**核心提示:** 角质细胞生长因子(keratinocyte growth factor, KGF)在癌和癌旁组织中的表达程度不一。KGF阳性表达者较阴性者肝转移发生率高,生存时间短。KGF可能成为评价胰腺癌患者预后的指标及为应用于抗肿瘤靶向治疗提供新的思路。

金益峰, 周建平, 盛伟伟, 张丹华, 董明. 胰腺癌中KGF的表达及其临床病理学意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(27): 2865-2869  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2865.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i27.2865>

## 0 引言

胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC)是一种侵袭性极强的恶性肿瘤,其5年生存率<5%。PDAC不良预后常与肿瘤发现晚,不能做根治性切除有关。即使做了根治性切除,局部复发、淋巴结转移、肝转移和腹膜转移依然在短期内发生。PDAC对于化疗和放疗都不敏感。另外有学者提出,胰腺癌的不良预后还与其早期就发生邻近脏器的侵犯及远处转移有关<sup>[1,2]</sup>。

近年来,角质细胞生长因子(keratinocyte growth factor, KGF)对肿瘤的转移和侵袭的研究逐渐受到重视。KGF及其受体在人乳腺癌细胞、胰腺癌、胃腺癌细胞以及前列腺癌细胞系中均有发现,提示其可能与肿瘤的发生发展及预后有关。而在国内外与胰腺癌相关的研究报道较少见。本文采用免疫组织化学方法,探讨KGF在胰腺癌中的表达及其临床病理学意义。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集2005-01/2012-12我院具有完整临床资料的PDAC手术切除标本51例,均有癌旁组织作为对照。51例患者术后病理证实为原发性管状腺癌,均有完整的随访资料。KGF羊抗人多克隆抗体购自美国Santa Cruz公司。SP法免疫组织化学试剂盒、DAB显色液购自福州迈新公司。蛋白裂解液、蛋白酶抑制剂、上样缓冲液、BCA定量及ECL发光试剂盒均购自上海碧云天生物公司。

**1.2 方法** 采用免疫组织化学SP法。所有组织标本均经40 g/L甲醛固定,常规石蜡包埋,4 μm厚连续切片,以二甲苯脱蜡、梯度乙醇水化。PBS清

洗后,置于pH 6.0的柠檬酸缓冲液121 °C高压热抗原修复2 min 20 s,自然冷却。3%过氧化氢室温15 min去除内源性过氧化酶。血清室温封闭20 min后滴加一抗,4 °C孵育过夜。次日复温45 min,依次滴加二抗及霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶37 °C 15 min, PBS清洗, DAB显色,苏木素复染。盐酸乙醇分化后常规脱水、透明,封片后于光学显微镜下观察结果。免疫组织化学结果评估:参考Masunaga<sup>[3]</sup>文献评分方法:两个独立观察者分别进行评分:(1)染色强度:无着色0分;浅黄色1分;黄或深黄色2分;褐或棕褐色3分。(2)阳性细胞数:计算阳性细胞所占视野面积的平均百分数分为5级:无阳性细胞0%为0分;阳性细胞数1%-25%为1分;26%-50%为2分;51%-75%为3分;>76%为4分,上述两项之和为分级标准:>2分定义为阳性。

**统计学方法** 采用SPSS19统计软件,癌与癌旁组织KGF表达比较采用Wilcoxon符号秩和检验。不同临床病理学参数患者的KGF蛋白表达比较采用 $\chi^2$ 检验。采用Kaplan-Meier和Log-rank检验分析随访资料。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 KGF在胰腺癌和癌旁组织中表达** KGF在癌组织中的表达明显高于配对的癌旁组织( $Z = -4.766$ ,  $P<0.001$ )。在51例胰腺癌组织中, KGF有17例(33.3%)呈阳性表达,而在癌旁组织中并没有看到达到阳性评价标准的染色。KGF蛋白表达于肿瘤细胞胞浆内,在胰岛、腺泡及纤维间质细胞中未见阳性表达(图1)。

**2.2 KGF蛋白表达与胰腺癌患者临床病理学参数的关系** 通过卡方检验,有无肝转移PDAC患者的KGF的表达差异有统计学意义( $\chi^2 = 4.113$ ,  $P = 0.043$ ),而KGF表达阳性与否和肿瘤肝转移呈正相关;不同性别、年龄、肿瘤部位、肿瘤大小、分化程度、浸润深度、淋巴结转移情况以及TNM分期等患者的KGF蛋白的表达差异无统计学意义(表1)。

**2.3 Kaplan-Meier生存分析** 本组患者平均随访时间428 d,最短30 d,最长1297 d。KGF表达阳性PDAC患者平均生存时间384 d,中位生存时间380 d,阴性者平均生存时间621 d,中位生存时间432 d。KGF表达阴性PDAC患者的生存时间明显长于表达阳性的患者,但是二者差异无统计学意义( $P = 0.108$ )(图2)。



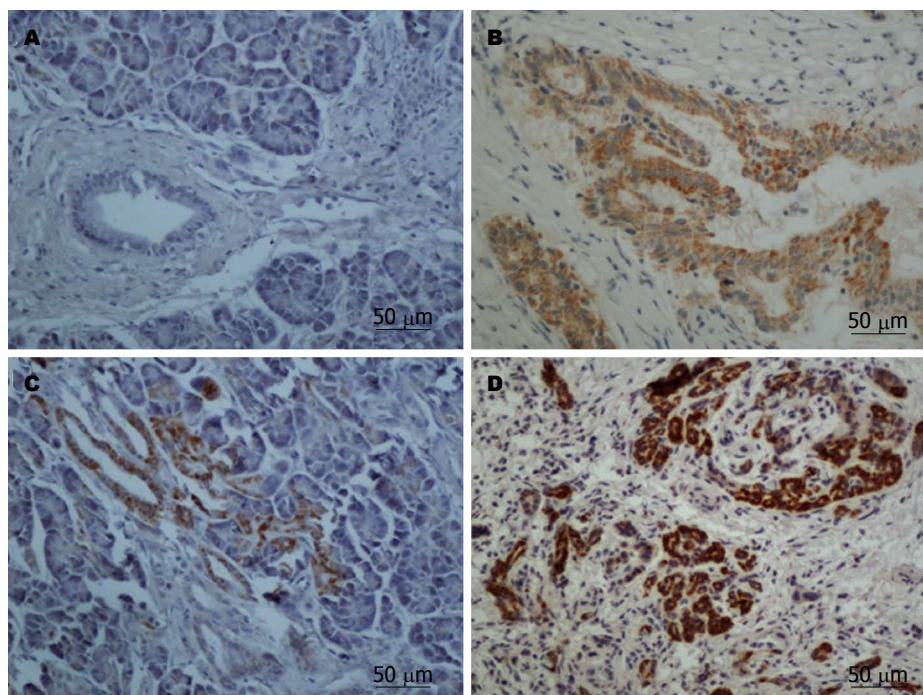


图 1 KGF在癌和癌旁的表达水平. A, C: KGF在癌旁组织中的表达, 腺泡及胰岛细胞中未见明显表达, 仅有极少导管有未达评价标准的表达; B, D: KGF在PDAC中的表达, 在癌组织中表达于细胞浆内, 且表达水平存在差异.

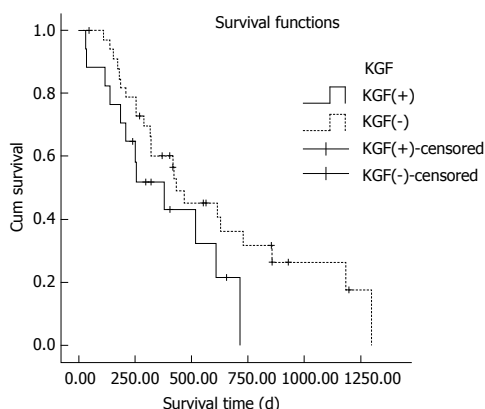


图 2 Cumulative Kaplan-Meier生存曲线. KGF: 角质细胞生长因子.

### 3 讨论

角质细胞生长因子首次于1989年由Rubin等<sup>[4]</sup>从人胚胎肺成纤维细胞的培养液中提纯出来的单链多肽, 其分子量为26-28 kDa. 他是肝素结合相关生长因子-成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)家族中的一员, 又被称作FGF-7, 并且与其他FGF家族成员有30%-70%氨基酸序列同源. 他的生物学作用主要通过与其特异性受体KGFR的结合. KGFR具有潜在的酪氨酸激酶活性, 能够以高亲和力与KGF和aFGF结合. KGFR的细胞外区域由2或3个免疫球蛋白样区域组成, 而细胞内区域由非激酶插入序列

### ■ 相关报道

PDAC是一种侵袭性极强的恶性肿瘤, 其5年生存率<5%. PDAC不良预后常与早期诊断困难, 肿瘤发现晚有关. 即使根治性手术, 术后的局部复发、淋巴结转移、肝转移和腹膜转移依然在短期内发生. 而且PDAC对于化疗和放疗都不敏感. KGF是肿瘤转移进展的重要分子, 而且KGF及其受体在多种上皮组织来源的肿瘤细胞系中均有发现.

阻断的酪氨酸激酶区域组成<sup>[5]</sup>. KGF首先在人胚胎肺的成纤维细胞中发现, 表达于多种组织来源的间质细胞中, 包括乳腺、肺、前列腺、胰腺和消化系等<sup>[6-9]</sup>. 当KGF与其受体(keratinocyte growth factor receptor, KGFR)特异性结合后可促进上皮细胞DNA的合成、增殖和迁移, 并且与创伤修复、胚胎发育及肿瘤发生关系密切<sup>[10-13]</sup>. KGF可以刺激不同类型上皮来源肿瘤细胞的迁移和侵袭, 表明肿瘤组织中KGF的表达可能与肿瘤的恶性程度有关, 是肿瘤转移进展的重要分子<sup>[14-17]</sup>.

国外文献报道, KGFR mRNA和KGF在人胰腺癌细胞系中有表达. 不仅如此, KGF可以诱导某些胰腺癌细胞的增殖及迁移等<sup>[18,19]</sup>. 这些研究结果提示KGFR和KGF的协同表达, 与胰腺癌的恶性程度有重要关系. 为了更直白地反应角质细胞生长因子蛋白的表达与胰腺癌的关系, 我们通过免疫组织化学检测KGF在PDAC中表达情况并观察其结果与PDAC患者的临床病理表现是否有关联. 在本研究中, 我们发现51例胰腺癌组织中有33.3%的样本KGF表达呈阳性. 而国外报道在癌旁组织的胰岛、腺泡及纤维间质细胞中KGF呈中等至高表达<sup>[20]</sup>, 在本实验结果中并未得到证实. 并且我们发现KGF蛋白的表达与患者肝转移呈正相关, 而与年龄、性别及肿瘤

## ■创新盘点

本文应用免疫组织化学方法检测51例胰腺癌及癌旁组织标本中KGF蛋白的表达水平,同时观察其表达与胰腺癌患者临床病理学资料的关系,并通过统计学方法进行分析,直观地反应了KGF与胰腺癌患者生存时间及预后因素之间的关系。

表 1 KGF表达与PDAC患者临床病理学参数关系

项目	n	KGF表达		P值
		KGF(+)	KGF(-)	
n	51	17	34	
年龄(岁)				0.484
< 65	39	12	27	
≥65	12	5	7	
性别				0.534
男	33	10	23	
女	18	7	11	
肿瘤部位				0.192
胰头部	36	14	22	
胰体尾部	15	3	12	
肿瘤大小(cm)				0.691
< 2.5	23	7	16	
≥2.5	28	10	18	
分化程度				0.693
低分化	2	1	1	
中分化	27	8	19	
高分化	22	8	14	
浸润深度				0.82
T1+T2	13	4	9	
T3+T4	38	13	25	
淋巴结转移				0.81
N0(阴性)	40	13	27	
N1(阳性)	11	4	7	
TNM分期 <sup>a</sup>				0.834
I + II A	34	11	23	
II B+IV	17	6	11	
肝转移				0.043
无	31	7	24	
有	20	10	10	

<sup>a</sup>TNM分期根据2008年UICC指南。KGF: 角质细胞生长因子; PDAC: 胰腺导管腺癌。

大小等无关,这与国外文献报道相一致<sup>[21]</sup>。此外,国外尚有研究报道KGF蛋白的表达与PDAC的血管浸润密切相关<sup>[22]</sup>,但由于本组临床病理资料在血管浸润方面有缺失,未做统计学分析。

Cho等<sup>[22]</sup>通过随访进一步证实,KGF蛋白的表达与胰腺癌患者预后呈正相关。本研究中生存分析结果虽然KGF是否表达与患者生存时间之间的关系未达统计学意义( $P = 0.108$ ),但趋势表明KGF蛋白表达阳性患者的总体生存时间短于KGF表达阴性者。随访结果不完善、样本量小或人种之间差异可能是导致此结果的主要原因。后期研究可通过增加样本量,完善随访调查来进一步明确KGF蛋白表达与肿瘤预后的关系。

总之,我们提出假设,KGF表达可能可以作为评估PDAC患者预后的一个指标。

本研究中,我们已经强调了KGF蛋白表达与肿瘤临床病理表现的关系。但是本实验没有通过体内及体外实验进一步验证KGF对肿瘤生物学功能产生的影响。近年来国外体内及体外研究发现,针对KGF/KGFR通路的抑制剂在一定程度上可抑制肿瘤进展。目前针对KGF信号通路的研究正在不断深入,其有望成为新的胰腺癌治疗靶点<sup>[21,23]</sup>。

## 4 参考文献

- 1 Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2012; 62: 10-29 [PMID: 22237781 DOI: 10.3322/caac.20138]
- 2 Bardeesy N, DePinho RA. Pancreatic cancer biology and genetics. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 897-909 [PMID: 12459728 DOI: 10.1038/nrc949]
- 3 Masunaga R, Kohno H, Dhar DK, Ohno S, Shibakita M, Kinugasa S, Yoshimura H, Tachibana M, Kubota H, Nagasue N. Cyclooxygenase-2 expression correlates with tumor neovascularization and prognosis in human colorectal carcinoma patients. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 4064-4068 [PMID: 11051257]
- 4 Rubin JS, Osada H, Finch PW, Taylor WG, Rudikoff S, Aaronson SA. Purification and characterization of a newly identified growth factor specific for epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989; 86: 802-806 [PMID: 2915979 DOI: 10.1073/pnas.86.3.802]
- 5 Miki T, Bottaro DP, Fleming TP, Smith CL, Burgess WH, Chan AM, Aaronson SA. Determination of ligand-binding specificity by alternative splicing: two distinct growth factor receptors encoded by a single gene. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992; 89: 246-250 [PMID: 1309608 DOI: 10.1073/pnas.89.1.246]
- 6 Rubin JS, Bottaro DP, Chedid M, Miki T, Ron D, Cunha GR, Finch PW. Keratinocyte growth factor as a cytokine that mediates mesenchymal-epithelial interaction. *EXS* 1995; 74: 191-214 [PMID: 8527895 DOI: 10.1007/978-3-0348-9070-0\_10]
- 7 Lendvay TS, Sweet R, Han CH, Soyguur T, Cheng JF, Plaire JC, Charleston JS, Charleston LB, Bagai S, Cochrane K, Rubio E, Bassuk JA. Compensatory paracrine mechanisms that define the urothelial response to injury in partial bladder outlet obstruction. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 293: F1147-F1156 [PMID: 17609292 DOI: 10.1152/ajprenal.00006.2007]
- 8 Grose R, Dickson C. Fibroblast growth factor signaling in tumorigenesis. *Cytokine Growth Factor Rev* 2005; 16: 179-186 [PMID: 15863033 DOI: 10.1016/j.cytogfr.2005.01.003]
- 9 Pedchenko VK, Imagawa W. Pattern of expression of the KGF receptor and its ligands KGF and FGF-10 during postnatal mouse mammary gland development. *Mol Reprod Dev* 2000; 56: 441-447 [PMID: 10911393 DOI: 10.1002/1098-2795(200008)56:4<441::AID-MRD1>3.0.CO;2-C]
- 10 Bates CM. Role of fibroblast growth factor receptor signaling in kidney development. *Am J Physiol Renal Physiol* 2011; 301: F245-F251 [PMID: 21613421 DOI: 10.1152/ajprenal.00186.2011]

- 11 Mondrinos MJ, Koutzaki S, Lelkes PI, Finck CM. A tissue-engineered model of fetal distal lung tissue. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2007; 293: L639-L650 [PMID: 17526596 DOI: 10.1152/ajplung.00403.2006]
- 12 Yamayoshi T, Nagayasu T, Matsumoto K, Abo T, Hishikawa Y, Koji T. Expression of keratinocyte growth factor/fibroblast growth factor-7 and its receptor in human lung cancer: correlation with tumour proliferative activity and patient prognosis. *J Pathol* 2004; 204: 110-118 [PMID: 15307144 DOI: 10.1002/path.1617]
- 13 Gomperts BN, Belperio JA, Fishbein MC, Keane MP, Burdick MD, Strieter RM. Keratinocyte growth factor improves repair in the injured tracheal epithelium. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2007; 37: 48-56 [PMID: 17332441 DOI: 10.1165/rcmb.2006-0384OC]
- 14 Jenq RR, King CG, Volk C, Suh D, Smith OM, Rao UK, Yim NL, Holland AM, Lu SX, Zakrzewski JL, Goldberg GL, Diab A, Alpdogan O, Penack O, Na IK, Kappel LW, Wolchok JD, Houghton AN, Perales MA, van den Brink MR. Keratinocyte growth factor enhances DNA plasmid tumor vaccine responses after murine allogeneic bone marrow transplantation. *Blood* 2009; 113: 1574-1580 [PMID: 19011222 DOI: 10.1182/blood-2008-05-155697]
- 15 Hishikawa Y, Tamaru N, Ejima K, Hayashi T, Koji T. Expression of keratinocyte growth factor and its receptor in human breast cancer: its inhibitory role in the induction of apoptosis possibly through the overexpression of Bcl-2. *Arch Histol Cytol* 2004; 67: 455-464 [PMID: 15781986 DOI: 10.1679/aohc.67.455]
- 16 Shin EY, Ma EK, Kim CK, Kwak SJ, Kim EG. Src/ERK but not phospholipase D is involved in keratinocyte growth factor-stimulated secretion of matrix metalloproteinase-9 and urokinase-type plasminogen activator in SNU-16 human stomach cancer cell. *J Cancer Res Clin Oncol* 2002; 128: 596-602 [PMID: 12458339 DOI: 10.1007/s00432-002-0388-4]
- 17 Narita K, Fujii T, Ishiwata T, Yamamoto T, Kawamoto Y, Kawahara K, Nakazawa N, Naito Z. Keratinocyte growth factor induces vascular endothelial growth factor-A expression in colorectal cancer cells. *Int J Oncol* 2009; 34: 355-360 [PMID: 19148469]
- 18 Siddiqi I, Funatomi H, Kobrin MS, Friess H, Büchler MW, Korc M. Increased expression of keratinocyte growth factor in human pancreatic cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 215: 309-315 [PMID: 7575607 DOI: 10.1006/bbrc.1995.2467]
- 19 Zang XP, Lerner M, Brackett D, Pento JT. Influence of KGF on the progression of pancreatic cancer. *Anticancer Res* 2009; 29: 3417-3420 [PMID: 19661366]
- 20 Ishiwata T, Friess H, Büchler MW, Lopez ME, Korc M. Characterization of keratinocyte growth factor and receptor expression in human pancreatic cancer. *Am J Pathol* 1998; 153: 213-222 [PMID: 9665482 DOI: 10.1016/S0002-9440(10)65562-9]
- 21 Cho K, Matsuda Y, Ueda J, Uchida E, Naito Z, Ishiwata T. Keratinocyte growth factor induces matrix metalloproteinase-9 expression and correlates with venous invasion in pancreatic cancer. *Int J Oncol* 2012; 40: 1040-1048 [PMID: 22159401]
- 22 Cho K, Ishiwata T, Uchida E, Nakazawa N, Korc M, Naito Z, Tajiri T. Enhanced expression of keratinocyte growth factor and its receptor correlates with venous invasion in pancreatic cancer. *Am J Pathol* 2007; 170: 1964-1974 [PMID: 17525264 DOI: 10.2353/ajpath.2007.060935]
- 23 Mehta M, Kesinger JW, Zang XP, Lerner ML, Brackett DJ, Brueggemeier RW, Li PK, Pento JT. Influence of novel KGFR tyrosine kinase inhibitors on KGF-mediated proliferation of breast cancer. *Anticancer Res* 2010; 30: 4883-4889 [PMID: 21187466]

## ■同行评价

本文具有一定临床指导意义。

编辑 田滢 电编 鲁亚静

