

· 临床研究 ·

胃腺癌中 HPSE、VEGF 的表达与临床病理特征的关系

陈锦章, 谢剑明, 李爱民, 郑航, 罗荣城[△]

(南方医科大学南方医院肿瘤科, 广州 510515)

摘要:目的 探讨胃腺癌组织中乙酰肝素酶(HPSE)、血管内皮生长因子(VEGF)蛋白的表达与临床病理特征及生存期的关系。方法 选择 2000 年 1 月至 2004 年 1 月在本院手术切除并经病理确诊为胃腺癌的患者 103 例,应用免疫组织化学方法检测 103 例胃腺癌标本中 HPSE、VEGF 蛋白的表达,并将检测结果与临床病理特征进行综合分析。结果 HPSE、VEGF 蛋白的阳性表达率分别为 57.3%(59/103)、46.6%(48/103),表达阳性与阴性患者生存时间差异有统计学意义($P < 0.05$);胃腺癌中 HPSE、VEGF 蛋白表达呈正相关($r = 0.675, P < 0.05$)。结论 HPSE、VEGF 的表达可作为临床判定胃癌恶性程度及评估预后的指标,对指导靶向治疗和预测预后具有一定的意义。

关键词:胃肿瘤;血管内皮生长因子 A;免疫组织化学

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2011.26.012

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2011)26-2629-02

Relationship between the expression of HPSE、VEGF with clinical pathological characteristics in gastric carcinoma

Chen Jinzhang, Xie Jianming, Li Aimin, Zheng Hang, Luo Rongcheng[△]

(Oncology department, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China)

Abstract: Objective To investigate the expression of heparanase (HPSE), vascular endothelial growth factor(VEGF) in gastric cancer and their relationships with clinical pathologic characters and survival. **Methods** The expression of HPSE, VEGF in gastric cancer were studied by immunohistochemical technique with their relation to follow up data, analyzed their detect outcome with clinical pathologic characters. **Results** HPSE and VEGF proteins were detected in 57.3%(59/103) and 46.6%(48/103) amongst the 103 tissue samples of gastric adenoma patients, respectively. Both proteins were undetectable using this method in the 20 healthy control samples. There is no significant correlation between HPSE, VEGF protein expression and the patients' gender, age, size and site of the tumor and the degree of differentiation($P > 0.05$). HPSE and VEGF protein expressions correlate with tumor's infiltration depth, lymph node metastasis, distal metastasis and pathological stages($P < 0.05$). The median survival time for patients with HPSE or VEGF protein expression is 12.0 months and 11.0 months respectively. The difference is statistically significant($P < 0.05$) compared to HPSE or VEGF negative patients whose median survival time is 70.0 months. The expressions of HPSE and VEGF proteins are positively correlated in gastric cancers($r = 0.675, P < 0.05$). **Conclusion** The results suggest that the high expression of HPSE, VEGF is an useful tool for providing information about the malignant degree, prognosis, and may be as a gaidding in targeted therapy selection for patients with gastric carcinoma.

Key words: stomach neoplasms; vascular endothelial growth factor A; immunohistochemistry

胃癌是全球发病率较高的恶性肿瘤。目前,缺乏开展胃癌筛查及早期诊断方法,因此,大部分胃癌患者确诊时已为晚期^[1]。手术、放、化疗等虽目前常用的治疗手段,但是并不能显著改善胃癌患者预后,延长患者的生存时间。因此,提高胃癌的早期诊断率、寻找新的、有效的治疗靶点和预后指标,是当前胃癌研究的重要方向。现应用免疫组化法检测并分析乙酰肝素酶(heparanase, HPSE)和血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)在胃腺癌组织和正常胃黏膜组织中的表达及其与临床病理特征的关系,结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2000 年 1 月至 2004 年 1 月在本院手术切除并经病理确诊为胃腺癌的患者 103 例为治疗组,男 67 例,女 36 例;年龄 31~78 岁,平均(57.97±12.28)岁。从胃腺癌患者的正常切缘组织中随机抽取 20 例为对照组,男 13 例,女 7 例;年龄 32~72 岁,平均(57.95±11.83)岁。随访时间为 2~6 年。

1.2 试剂和仪器 MAB-0243 Mouse Anti-VEGF(福州迈新

生物技术开发有限公司), BA1630R abbit Monoclonal anti-HPA(武汉博士德生物工程有限公司)。石蜡切片机(山东, AS325);显微镜(Olympus BX40);电热恒温干燥箱(上海跃进医疗器械一厂)。

1.3 方法 免疫组织化学法采用 EliVision™ 二步法,具体操作步骤如下:(1)65℃烤片 2~4 h;(2)石蜡切片脱蜡至水;(3)蒸馏水冲洗 2 min;(4)抗原修复:将切片浸泡于枸橼酸盐缓冲液(pH 6.0)中,在功率 850 W 的微波炉中加热 11 min,放至室温后用蒸馏水冲洗 2 min;(5)浸泡于 3% H₂O₂ 中,在功率 350 W 的微波炉中加热 2.5 min,以消除内源性过氧化物酶的活性;(6)蒸馏水冲洗 2 min;(7)PBS 冲洗,2 min×3 次;(8)滴加一抗工作液,37℃孵育 1 h;(9)PBS 冲洗,2 min×3 次;(10)滴加试剂 1(polymer helper),37℃孵育 20 min;(11)PBS 冲洗,2 min×3 次;(12)滴加试剂 2(poly peroxidase-anti-mouse/rabbit IgG),37℃孵育 30 min;(13)PBS 冲洗,2 min×3 次;(14)DAB 显色 5 min;(15)自来水充分冲洗,复染;(16)脱水,透明,封片。

1.4 评判标准 阴性:细胞膜无棕黄色颗粒样沉淀;阳性:细

[△] 通讯作者, Tel:(020)61641651; E-mail:luorc01@163.com。

胞膜有棕黄色颗粒样沉淀。染色分级:整张切片无阳性细胞(-),标识为 0 级表达;阳性细胞小于 10%(+),标识为 1 级表达;阳性细胞数 10%~50%(++),标识为 2 级表达,阳性细胞超过 50%(+++),标识为 3 级表达。

1.5 统计学处理 采用 χ^2 检验、Fisher's 精确概率法及 Kaplan-Meier 法,生存期曲线显著性的比较用 Log Rank(Mantel-Cox)法进行分析;各项指标表达的相关性以 Spearman 等级相关分析的双侧检验;以 COX 回归对各项指标单因素或多变量联合与生存期的关系进行统计学分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

103 例胃癌组织中 HPSE、VEGF 阳性表达率分别为 57.3%(59/103)、46.6%(48/103),见插图 1。HPSE、VEGF 蛋白表达与患者的性别、年龄、肿瘤大小、部位、分化程度均无显著性相关($P > 0.05$)。与肿瘤浸润深度、淋巴结转移、远处转移及临床分期相关($P < 0.05$)。HPSE、VEGF 蛋白表达阳性患者中位生存时间分别为 12、11 个月,阴性患者中位生存时间为 70 个月;HPSE、VEGF 表达阳性患者与阴性患者生存时间的差异有统计学意义($P < 0.05$,图 2、3)。胃癌中 HPSE 蛋白表达与 VEGF 蛋白表达呈正相关($r = 0.675, P < 0.05$)。

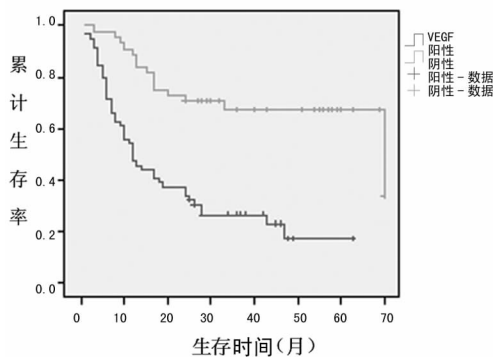


图 2 胃癌组织中 HPSE 蛋白表达与生存时间的关系

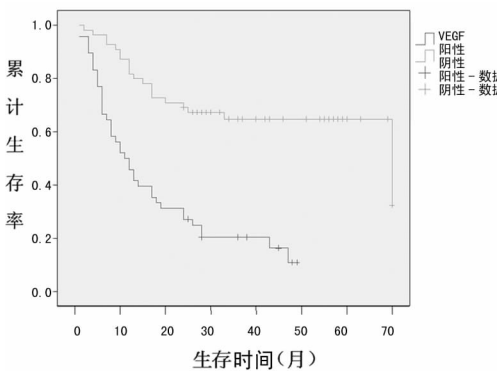


图 3 胃癌组织中 VEGF 蛋白表达与生存时间的关系

3 讨论

有研究表明,HPSE 和 VEGF 可作为胃癌细胞扩散、转移以及预后的指标^[1-5]。本研究结果与之相符。HPSE 是一种能裂解糖氨聚糖中 HS 侧链的内切糖苷酶,在肿瘤细胞的侵袭、转移及血管生成等过程中起着极其重要的作用,是肿瘤细胞扩散与转移过程的关键酶,也是裂解连接于硫酸乙酰肝素蛋白多糖,heparin sulfate proteoglycan(HSPG)核心分子上硫酸肝素的一类内切糖苷酶,是抗肿瘤的理想靶点^[1]。有研究发现,正常胃黏膜组织中无 HPSE 的表达,胃癌组织中 HPSE 的表达

与肿瘤体积和局部淋巴结转移呈正相关。HPSE 高表达的患者预后差。

VEGF 是重要的促血管生成因子,在肿瘤血管形成中起重要作用。应用斑点杂交和原位杂交方法发现,卵巢癌、肺癌、结肠癌、直肠癌、肾癌、乳腺癌、膀胱癌、胰腺癌、胃癌、肝癌、恶性胶质瘤和淋巴瘤等肿瘤组织内 VEGF mRNA 呈过度表达,肿瘤细胞分泌的 VEGF 最终通过与内皮细胞上的受体结合而发挥作用。有研究还发现 VEGF 是恶性肿瘤治疗的一个有效靶点^[1]。本研究发现,HPSE 蛋白与 VEGF 蛋白在胃癌组织中的阳性表达率较高,而在胃正常组织中呈阴性表达;HPSE 和 VEGF 的表达越高,肿瘤侵袭及转移能力也越强,与文献报道的相似^[6-15]。胃癌组织中 HPSE 与 VEGF 蛋白的联合表达与患者生存期相关,二者的高表达有减少胃癌患者生存时间的危险。

总之,同时检测 HPSE、VEGF 蛋白在胃癌中的表达,对判断胃癌的恶性潜能及其预后具有重要的参考价值。如果能研制出同时针对以 HPSE 和 VEGF 为靶点的药物,那么不仅可以丰富胃癌治疗的方法,而且可以改善胃癌患者的预后,提高晚期胃癌患者的中位生存期。

参考文献:

- [1] 罗荣城,韩焕兴.肿瘤综合诊疗新进展[M].3版.北京:人民军医出版社,2008:457-484
- [2] 欧希龙,关云艳,颜芳,等.血管内皮生长因子 165 基因对人胃癌细胞凋亡的影响及机制[J].世界华人消化杂志,2008,16(3):307-310.
- [3] Shida A,Fujioka S,Kobayashi K,et al. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF)-C and-D in gastric carcinoma[J]. Int J Clin Oncol,2006,11(1):38-43.
- [4] Yingying X,Yong Z,Zhenning W,et al. Role of heparanase-1 in gastric carcinoma invasion [J]. Asian Pac J Cancer Prev,2009,10(1):151-154.
- [5] 刘金禄.乙酰肝素酶的表达调及其与胃癌侵袭转移的关系[J].中国肿瘤临床,2007,34(11):657-660.
- [6] 刘涛,张超,吕伟,等.VEGF-C 在直肠癌中的表达及其意义[J].重庆医学,2009,38(5):508-511.
- [7] Gretechel S,Astrosini CH,Vieth M,et al. Markers of tumor angiogenesis and tumor cells in bone marrow in gastric cancer patients[J]. Eur J Surg Oncol,2008,34(6):642.
- [8] Cong B,Zhao X,Zhao XG,et al. Relation of vascular endothelial growth factor-D expression to microvessel density,microlymphatic vessel density,and lymphnode metastasis of lung adenocarcinoma[J]. Zhonghua Yi Xue Za Zhi,2008,88(31):2179-2182.
- [9] Al Moundhri MS,Al Shukaili A,Al Nabhani M,et al. Measurement of Circulating Levels of VEGF-A,-C,and -D and Their Receptors,VEGFR-1 and -2 in Gastric Adenocarcinoma[J]. World J Gastroenterol,2008,14(24):3879-3883.
- [10] 马秀梅,孙勤暖,任明姬,等.胃癌乙酰肝素酶和 NF-kB 表达及与临床病理特征和血管形成的关系[J].中国组织化学与细胞化学杂志,2007,16(1):13-18.
- [11] 杨艳,张娜等.VEGF-C 在胃癌中的表(下转第 2632 页)

不致影响美观;阳性病理切缘。BCS 的相对禁忌证:累及皮肤的活动性结缔组织病(尤其是硬皮病和狼疮);肿瘤直径大于 5 cm;灶性阳性切缘;已知存在 BRCA 1/2 突变的绝经前妇女;≤35 岁的妇女。对于归入 BCS 相对禁忌证的患者术前应实事求是地将 BCS 和根治术的优、缺点,尤其是 BCS 的复发率较高和根治术创伤性较大、术后并发症较多及美观等问题向患者说明,让患者谨慎选择手术方式,而不应该诱导患者接受某种手术方式。对于局部复发风险高的患者,乳房切除加重重建或许是一种不错的选择。

随着前哨淋巴结活检术(sentinel lymph node biopsy, SLNB)的临床开展,大量临床试验(ALMANAC 试验、意大利米兰 SNB185 试验 和美国 NSABPB-32 试验)已证实,SLNB 的结果可安全地指导是否需行腋窝淋巴结清扫,SLNB 阴性的患者,不需要行腋窝淋巴结清扫,BCS 可较好地保持乳腺癌患者的乳房外形,与 SLNB 结合,可进一步缩小乳腺癌手术的范围,减少术后并发症的发生,提高患者的生活质量。

综上所述,本研究认为,在严格掌握 BCS 指征的基础上,结合系统、全面的后续治疗,在早期乳腺癌患者中获得很好的局部控制效果及较长的生存率,同时保留良好的乳房外形,可提高患者的生活质量和社会交往信心,值得推广。

参考文献:

- [1] 林本耀. 乳腺癌保留乳房治疗学[M]. 北京:清华大学出版社,2004:9-10.
- [2] 张保宁. 乳腺癌 BCS 的研究进展[J]. 中国普外基础与临床杂志,2005,12(12):204-206.
- [3] 狄根红,吴旻,余科达,等. 早期乳腺癌的外科治疗策略[J]. 中华肿瘤杂志,2007,29(1):62-65.
- [4] Fung MC, Sctschulz DJ, Solin LJ. Early-stage bilateral breast cancer treated with breast conserving surgery and definitive irradiation: the University of Pennsylvania experience[J]. Radiat Oncol Biol Phys,1997,38(5):959.
- [5] Van Tienhoven G, Voogd AC, Peterse JL, et al. Prognosis after treatment for loco-regional after mastectomy or breast conserving therapy in two randomized trials (EORTC 10801 and DBCG-82TM). EORTC Breast Cancer Cooperative Group and Daimistl Breast Cancer Cooperative Group[J]. Eur Jcancer,1995,35(1):32-38.
- [6] Anscher M, Jones P, Prosnitz L, et al. Local failure and marfinstatus in early-stage breast carcinoma treated with conservation surferly and radiation therapy[J]. Ann Surg, 1993,218(1):22-28.
- [7] Spivak B, Khanna M M, Tafra L, et al. Margin status and

local recurrence after breast-conserving surgery[J]. Arch Surg,1994,129(9):952-957.

- [8] Smitt MC, Nowels KW, Zdeblick MJ, et al. The importance of the lumpectomy surgical margin status in long term results of breast conservation[J]. Cancer,1995,76(2):259-267.
- [9] Olson TP, Harter J, Munoz A, et al. Frozen section analysis for intraoperative margin assessment during breast-conserving surgery results in low rates of re-excision and local recurrence[J]. Ann Surg Oncol,2007,14(10):2953-2960.
- [10] Veronesi U, Cascineli N, Mariani L, et al. Twenty-year follow-up of a randomized study comparing breast-conserving surgery withradical mastectomy for early breast cancer[J]. N Engl J Med,2002,347(16):1227-1232.
- [11] Fisher B, Anderson S, Bryant J, et al. Twenty-year follow-up of a randomized trial compadng total mastectomy, lumpectomy, and lumpectomy plus irradiation for the treatment of invasiveive breast cancer[J]. N Engl J Med, 2002,347(16):1233-1241.
- [12] van DongenJA, Voogd AC, Fentiman IS, et al. Long-term results of a randomized trial comparing breast-conserving thempy with mastectomy:European Organization for Research and Treatment of Cancer 10801 trial[J]. J Natl Cancer Inst. 2000,92(14):1143-1150.
- [13] Arriagada R, Le MG, Rochard F, et al. Conservative treatment vesus mastectomv in early breast cancer: pattems of failure with 15 years of followup data. Instjtut Gustave-Roussy Breast Cancer Gmup[J]. J Clin Oncol,1996,14(5):1558-1564.
- [14] Poggi MM, Danfbnll DN, sciuto Lc, et al. Eighteen-year result in the treatmem of early breast carcinoma with mastectomy vesus breast conservation therapy: the National Cancer InstituteRandomized Trial [J]. Cancer, 2003,98(4):697-702.
- [15] Blichert-Toft M, Nieken M, Dnring M, et al. Long-term results of breast conserving surgery vs. mastectomy for eady stage invasive breast cancer: 20-year follow-up of the Danish randomized DBCG-82TM protocol[J]. Acta Oncol,2008,47(4):672-681.

(收稿日期:2011-05-27 修回日期:2011-06-25)

(上接第 2630 页)

- 达及与淋巴管生成和淋巴转移的关系[J]. 包头医学, 2008,32(1):3-4.
- [12] 吴生华,俞继卫,郑林海,等. 胃癌 VEGF-C、VEGFR-3 及 CNTN-1 的表达及其与淋巴转移的关系[J]. 中国普通外科杂志,2010,19(10):1065-1070.
 - [13] 张安华,孙华文,苏锦松,等. Notch1/DLL4 信号通路及 VEGF 在胃癌浸润和转移中的作用及其相关性[J]. 中国普通外科杂志,2010,19(4):374-378.

- [14] 顾昱,周海波,尹宜发,等. 类肝素酶在肿瘤血管发生及转移中的调节功能和临床意义[J]. 肿瘤防治研究,2007,34(7):540-543.
- [15] 陈晓军,郑志超,廖芝伟,等. 乙酰肝素酶及 E-钙黏蛋白对胃癌侵袭转移的影响[J]. 中华消化外科杂志,2009,8(5):344-346.

(收稿日期:2011-01-09 修回日期:2011-04-25)