

· 临床研究 ·

胃腺癌组织中 HDGF、VEGF 的表达及意义

马桂芳, 李惠芬, 杨 李

(盐城卫生职业技术学院, 江苏盐城 224006)

摘要:目的 探讨肝癌衍生生长因子(HDGF)与血管内皮生长因子(VEGF)在胃腺癌组织中的表达水平及意义。方法 用免疫组织化学链霉菌抗生素蛋白-过氧化物酶联结法(S-P)法检测 47 例胃腺癌组织、15 例胃黏膜不典型增生组织及 10 例因胃良性病变行部分切除的正常胃黏膜组织中 HDGF 和 VEGF 蛋白的表达水平。结果 HDGF 在胃腺癌组织中的阳性表达率为 65.9%, 明显高于胃黏膜不典型增生组织(33.3%)及正常胃黏膜组织(20%), $P < 0.05$; VEGF 在胃腺癌组织中的阳性表达率为 68.2%, 明显高于胃黏膜不典型增生组织(20%)及正常胃黏膜组织(10%), $P < 0.05$; HDGF 和 VEGF 蛋白表达水平都与肿瘤的浸润深度、淋巴结转移、临床 TNM 分期之间有明显的相关性。结论 HDGF 可能与 VEGF 共同参与了内皮细胞的增殖、分化及血管形成的调节, 在胃腺癌的发生、发展及转移中起着重要的作用。

关键词:胃腺癌; HDGF; VEGF

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2012.22.009

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)22-2253-03

Expression and significance of HDGF and VEGF in gastric adenocarcinoma

Ma Guifang, Li Hui fen, Yang Li

(Yancheng Health Vocational and Technical College, Yancheng Jiangsu 224006, China)

Abstract: Objective To investigate the expression and significance of hepatoma derived growth factor(HDGF) and vascular endothelial growth factor(VEGF) in gastric adenocarcinoma. **Methods** Immunohistochemical SP method was used to detect the expression levels of HDGF and VEGF in the gastric cancer of 47 cases, nontypical hyperplasia tissues 15 cases and normal gastric mucosa specimens obtained from 10 patients underwent partial gastrotomy for benign diseases. **Results** The positive rate of HDGF protein in gastric adenocarcinoma was 65.9%, which was significantly higher than 33.3% in nontypical hyperplasia tissues and 20% in normal gastric mucosa ($P < 0.05$). The positive rate of VEGF protein in gastric adenocarcinoma was 68.2%, which was significantly higher than 20% in nontypical hyperplasia tissues and 10% in normal gastric mucosa ($P < 0.05$). The expression of HDGF and VEGF was closely correlated to the invasive depth, lymph node metastasis and TNM stage. **Conclusion** HDGF and VEGF may be involved in regulation of endothelial cell proliferation, differentiation and angiogenesis, which may play an important role in the carcinogenesis and progression of gastric adenocarcinoma.

Key words: gastric adenocarcinoma; HDGF; VEGF

胃腺癌是中国较常见的消化道恶性肿瘤, 死亡率居各种癌症之首。近年来, 随着分子生物学的不断发展, 发现细胞增殖、凋亡异常及新生血管形成等与肿瘤的发生、发展密不可分, 在这个过程中有多种因子参与或影响了肿瘤的浸润和转移。肝癌衍生生长因子(hepatoma derived growth factor, HDGF)是 Nakamura 等^[1]从肝癌细胞系 HuH-7 培养液中分离出的一种酸性肝素结合蛋白。众多国内外的研究表明 HDGF 的过表达与一些恶性肿瘤的侵袭、转移及预后紧密相关。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是目前知道作用最强的促血管生长因子, 它能增加血管的通透性, 引起细胞外基质的改变, 促进血管形成, 对肿瘤细胞的增殖和迁移等发挥着重要的作用, 它是独立预后指标。本研究采用免疫组织化学方法检测胃腺癌组织中 HDGF、VEGF 蛋白表达情况, 为肿瘤的联合治疗寻找新的治疗靶点。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集盐城市第一人民医院病理科 2011 年 1 月至 2011 年 12 月手术切除并经病理检验证实的胃腺癌石蜡标本 47 例, 另取同期胃黏膜不典型增生组织标本 15 例及因胃良性病变行部分胃切除的正常胃黏膜标本 10 例作对照。47 例胃腺癌患者标本的选择分别从年龄、性别、分化程度、浸润深度、有无淋巴结转移、TNM 分期等方面考虑, 所有患者术前均

未接受放疗、化疗。

1.2 主要试剂 HDGF 兔抗人多克隆抗体, 北京博奥森生物技术有限公司产(bs-6537R), 一抗工作液浓度 1:100; 抗体稀释液为北京博奥森生物技术有限公司产品; VEGF 鼠抗人单克隆抗体即用型(MAB-0243)、二抗及 DAB 显色液均为福州迈新生物技术公司产品。

1.3 免疫组化染色方法 采用链霉菌抗生素蛋白-过氧化物酶联结法(S-P)检测胃腺癌及正常胃黏膜组织中 HDGF 和 VEGF 蛋白的表达, 具体操作步骤按说明书进行。将存档的石蜡块行 4 μm 厚切片, 常规脱蜡至水。切片置已加热沸腾的 PH6.0 柠檬酸缓冲液中, 继续微波加热 15 min 修复抗原, 然后用 3% 过氧化氢去离子水 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 15 min, 以消除内源性过氧化物酶活性。一抗 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 60 min, 后 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜, 二抗 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 45 min, 链霉素抗生素过氧化物酶 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 45 min, DAB 显色, 苏木素复染。用已知的 HDGF 和 VEGF 阳性的胃腺癌切片染色作阳性对照, 用 PBS 代替一抗作阴性对照。

1.4 结果判定 HDGF 蛋白以细胞核(少数细胞质)内出现棕黄色或棕褐色颗粒者为阳性; VEGF 蛋白以细胞质内出现棕黄色或棕褐色颗粒者为阳性。每份标本置高倍镜下选取 5 个不同视野, 每个视野计数 200 个肿瘤细胞, 由 2 位病理科医师进行盲法判读, 计算阳性肿瘤细胞所占的百分数。结果分为 4

级:未见明显阳性细胞为“-”;阳性细胞数<25%为“+”;25%~50%为“++”;>50%为“+++”。

1.5 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件包进行分析,HDGF 与 VEGF 蛋白表达与胃腺癌临床病理参数的关系用 χ^2 检验,HDGF 与 VEGF 在胃腺癌中表达相关性用 Spearman 进行相关分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 HDGF、VEGF 蛋白在胃腺癌和正常胃组织中的表达

HDGF 蛋白在胃腺癌组织中阳性染色主要定位于细胞核,少数在细胞质,为棕黄色或棕褐色颗粒(封 3 图 1)。HDGF 在胃腺癌组织中的阳性表达率为 65.9%(31/47),低级别上皮内瘤变组织 33.3%(5/15),正常胃黏膜组织 20%(2/10)。结果显示,HDGF 蛋白在胃腺癌组织的表达高于低级别上皮内瘤变组织($\chi^2=4.970, P<0.05$)和正常胃黏膜组织($\chi^2=5.383, P<0.05$)。VEGF 蛋白阳性染色主要定位于细胞质,为棕黄色或棕褐色颗粒(封 3 图 2)。VEGF 在胃腺癌组织中的阳性表达率为 68.2%(32/47),低级别上皮内瘤变组织 20%(3/15),正常胃黏膜组织 10%(1/10)。结果显示,VEGF 蛋白在胃腺癌组织的表达明显高于低级别上皮内瘤变组织($\chi^2=11.879, P<0.01$)和正常胃黏膜组织($\chi^2=10.125, P<0.01$)。

2.2 HDGF、VEGF 蛋白表达与临床病理参数的关系 胃腺癌组织中 HDGF 蛋白和 VEGF 蛋白表达都与肿瘤浸润的深度、临床 TNM 分期、淋巴结转移相关($P<0.05$),差异有统计学意义;而与患者年龄、肿瘤大小、肿瘤组织分化程度无明显的相关性(表 1)。

表 1 胃腺癌 HDGF 与 VEGF 蛋白表达与临床病理参数关系

临床参数	n	HDGF			VEGF		
		(-)	(+)	P	(-)	(+)	P
性别							
男	30	11	19	>0.05	9	21	>0.05
女	17	5	12		6	11	
年龄(岁)							
≥60	32	12	20	>0.05	10	22	>0.05
<60	15	4	11		5	10	
分化程度							
高-中分化	27	9	18	>0.05	7	20	>0.05
低分化	20	7	13		8	12	
浸润深度							
T ₁ ~T ₂	16	9	7	<0.05	10	6	<0.01
T ₃ ~T ₄	31	7	24		5	26	
TNM 分期							
I~II	18	11	7	<0.01	10	8	<0.01
III~IV	29	5	24		5	24	
淋巴结转移							
有	29	6	23	<0.05	4	25	<0.01
无	18	10	8		11	7	

2.3 胃腺癌组织中 HDGF 和 VEGF 表达的相关性 在 31 例 HDGF 阳性的胃腺癌组织中,VEGF 阳性者 25 例,占 80.6%;16 例 HDGF 阴性胃腺癌组织中,VEGF 阳性者 7 例,占 43.8%, $\gamma=0.375, P<0.01$,相关分析表明,胃腺癌组织中 HDGF 蛋白的表达与 VEGF 蛋白表达呈正相关。

3 讨 论

HDGF 结构上类似于高迁移率族蛋白-1(HMG-1)的氨基酸序列。近年来,随着对 HDGF 的功能研究不断深入,发现 HDGF 对细胞增殖、组织器官生长发育、血管生成、创伤修复^[2]等生物学行为有着重要的影响,而且在肝癌^[3]、非小细胞肺癌^[4]、结肠癌^[5]、胃癌^[6]、胰腺癌^[7]、食管癌^[8]等多种肿瘤中呈过表达,且与患者的预后密切相关。本研究采用免疫组织化学方法检测胃腺癌组织、胃黏膜不典型增生组织及正常胃黏膜组织中 HDGF 蛋白表达情况,发现胃腺癌组织中的 HDGF 蛋白表达水平明显高于胃黏膜不典型增生组织及正常胃黏膜组织中的 HDGF 表达,提示 HDGF 异常的高表达参与胃腺癌的发生和发展。Yamamoto 等^[6]应用免疫组织化学检测 317 例胃癌组织中 HDGF 表达情况,研究发现胃癌组织中 HDGF 1 级 182 例,2 级 135 例,HDGF 指数水平 2 级病例肿瘤体积均较大,多呈侵袭性生长,血管转移和淋巴转移率均较 HDGF 指数水平 1 级的病例高,且 HDGF 指数水平 2 级的患者 5 年生存率较 1 级低。本研究结果显示,胃腺癌组织中 HDGF 的表达水平随患者临床分期增加而增加,而且在伴有淋巴结转移的胃腺癌组织中 HDGF 的表达明显高于无淋巴结转移的 HDGF 的表达,与文献报道基本一致,提示 HDGF 蛋白高表达在胃腺癌的发生及转移过程中可能起重要作用。

肿瘤要不断生长,就必须有新生血管形成,而且肿瘤血管也是肿瘤转移的病理基础。目前,已知的促血管生成的因子有 VEGF、FGF、COX-2 等,其中 VEGF 的作用最强,它在肿瘤新生血管形成以及肿瘤的生长、浸润及转移中起重要作用^[9-11]。其通过诱导内皮细胞增生,蛋白酶的表达,抗内皮细胞凋亡和细胞重组,最终形成毛细血管,并且能够增加血管的通透性,形成不成熟的血管网络^[12]。VEGF 广泛分布于体内各组织,如脑、垂体、肾脏、肾上腺和卵巢等^[13]。近年来,VEGF 与恶性肿瘤的关系受到重视,开展了较多研究,发现恶性肿瘤组织 VEGF 表达上调,能促进肿瘤血管形成,是肿瘤产生、发展和转移过程中极为关键的步骤^[14]。本研究结果显示,胃腺癌组织、胃黏膜不典型增生组织及正常胃黏膜组织中 VEGF 蛋白表达差异有统计学意义($P<0.01$),与文献报道基本一致,提示 VEGF 为肿瘤的生长提供物质基础。

本研究结果显示,胃腺癌组织中 HDGF 蛋白的表达与 VEGF 蛋白表达呈正相关($P<0.05$)。Okuda 等^[15]通过构建稳定高表达重组的 HDGF 的成纤维细胞株 NIH3T3(HDGF-NIH3T3),将 HDGF-NIH3T3 注入裸鼠体内后形成肉瘤,经观察显示此肉瘤组织中有丰富的血管形成。进一步用 CD31 抗体进行免疫组织化学分析显示有新生血管生成及 VEGF 的表达增强,提示在胃腺癌中 HDGF 可能通过诱导 VEGF 的生成而参与肿瘤血管形成的调节,而 HDGF 诱导 VEGF 生成的机制,可能是由于 HDGF 能够增强 VEGF 启动子活性或直接与 VEGF 基因的结合域结合,促进 VEGF 的转录合成^[15]。本研究与文献报道基本一致,提示 HDGF 和 VEGF 的过表达与胃腺癌的发生、发展密切相关,可能在胃腺癌的发生、发展及转移过程中起到协同的促进作用。

但二者之间确切的信号转导途径及在胃腺癌形成中的作用、地位仍需进一步研究,为胃腺癌的诊断和评价预后提供一个新的更有效的指标,也为胃腺癌的靶向治疗提供新的方案。

参考文献:

[1] Nakamura H, Izumoto Y, Kambe H, et al. Molecular clo-

ning of complementary DNA for a novel human hepatoma-derived growth factor: its homology with high mobility group-1 protein[J]. *J Biol Chem*, 1994, 269(40): 25143-25149.

- [2] Enomoto H, Yoshida K, Kishima Y, et al. Hepatoma-derived growth factor is highly expressed in developing liver and promotes fetal hepatocyte proliferation[J]. *Hepatology*, 2002, 36(6): 1519-1527.
- [3] Hu TH, Huang CC, Liu LF, et al. Expression of hepatoma-derived growth factor in hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer*, 2003, 95(7): 1444-1456.
- [4] Iwasaki T, Nakagawa K, Nakamura H, et al. Hepatoma-derived growth factor as a prognostic marker in completely resected non-small-cell lung cancer [J]. *Oncol Rep*, 2005, 13(6): 1075-1080.
- [5] 吕莉, 董卫国. 肝细胞瘤衍生生长因子在结直肠腺癌中的表达及与血管形成的关系的研究[J]. *中华消化杂志*, 2007, 37(3): 195-196.
- [6] Yamamoto S, Tomita Y, Hoshida Y, et al. Expression of hepatoma-derived growth factor is correlated with lymph node metastasis and prognosis of gastric carcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12(1): 117-122.
- [7] Hirokazu U, Yasuhiko T, Hideji N, et al. Hepatoma-derived growth factor is a novel prognostic factor for patients with pancreatic cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12(20): 6043-6048.
- [8] Shinji Y, Yasuhiko T, Yoshihiko H, et al. Expression level

of hepatoma-derived growth factor correlates with tumor recurrence of esophageal carcinoma[J]. *Ann Surg Oncol*, 2007, 14(7): 2141-2149.

- [9] Kakeji Y, Koga T, Sumiyoshi Y, et al. Clinical significance of vascular endothelial growth factor expression in gastric cancer[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2002, 21(1): 125-129.
- [10] Yoshikawa T, Tsuburaya A, Kobayashi O, et al. Plasma concentrations of VEGF and bFGF in patients with gastric carcinoma[J]. *Cancer Lett*, 2000, 153(1-2): 7-12.
- [11] Choi KS, Bae MK, Jeong JW, et al. Hypoxia-induced angiogenesis during carcinogenesis[J]. *J Biochem Mol Biol*, 2003, 36(1): 120-127.
- [12] Moldovan NI. Angiogenesis, terrible of vascular biology is coming of age[J]. *J Cell Mol Med*, 2005, 9(4): 775-776.
- [13] 佟书娟, 刘亚平. 胃癌、胃黏膜不典型增生、胃炎组织中 NOS 和 VEGF 的表达及其相关性研究[J]. *宁夏医学院学报*, 2005, 27(3): 179-181.
- [14] Choi KS, Bae MK, Jeong JW, et al. Hypoxia-induced angiogenesis during carcinogenesis[J]. *J Biochem Mol Biol*, 2003, 36(1): 120-127.
- [15] Okuda Y, Nakamura H, Yoshida K, et al. Hepatoma-derived growth factor induces tumor genesis in vivo through both direct angiogenic activity and induction of vascular endothelial growth factor[J]. *Cancer Sci*, 2003, 94(12): 1034-1041.

(收稿日期: 2012-01-09 修回日期: 2012-03-06)

(上接第 2252 页)

光疗法可减轻患者承受的痛苦, 利于简短治疗用时, 不会因为使用激光而出现瘢痕^[10-11], 适于临床应用。但在其后的临床实践中发现该疗法虽然可以满足快速疏通阻塞的要求, 却又较高的复发率^[12]。因此, 有学者提出在应用此法疏导阻塞之后联合其他临床常用治疗方法, 以降低患者再次阻塞的概率。本文部分患者选用的为置管术结合脉冲激光治疗方法, 无论病发部位为何处均取得了满意效果, 均比使用激光疗法的有效率高。因此, 建议对泪道阻塞性疾病患者应用置管术结合脉冲激光进行治疗。

泪道阻塞性疾病依据不同病因和病理特点, 选择针对性的方法治疗, 可显著提高临床效果, 改善患者生存质量。

参考文献:

- [1] 陶永健, 赵志岩. 用硬膜外麻醉导管插管治疗泪道阻塞的疗效观察[J]. *中国实用眼科杂志*, 2009, 23(6): 624-625.
- [2] 郑会. 泪道激光联合眼膏治疗泪道阻塞性疾病的护理[J]. *国际眼科杂志*, 2010, 10(9): 1747-1747.
- [3] 贾秋菊, 石萍. 人工鼻泪管治疗泪道阻塞性疾病的临床研究[J]. *当代医学*, 2010, 16(34): 77-78.
- [4] Lligit ET, Yoksel D, Unal M, et al. Treatment of recurrent nasolacrimal duct obstructions with ballon-expandable metallic stents: remits of early experience[J]. *AJNR Am J*

Neuroradiol, 2009, 17(4): 657-663.

- [5] 刘欣, 高宗银, 张柳, 等. Nd: YAG 激光联合丝裂霉素 C 及激素治疗阻塞性泪道疾病的疗效评价[J]. *临床和实验医学杂志*, 2011, 10(8): 595-597.
- [6] 李妍. 激光联合典必殊眼膏治疗泪道阻塞性疾病疗效观察[J]. *中国社区医师: 医学专业*, 2011, 13(9): 140.
- [7] 陶海, 马志中, 侯世科, 等. 泪道阻塞性疾病的治疗研究进展[J]. *国际眼科杂志*, 2009, 9(3): 551-554.
- [8] 张俊华, 刘秀珍, 林亚珠, 等. 激光泪道成形术联合硅油治疗阻塞性泪道疾病 156 例[J]. *福建医药杂志*, 2011, 33(2): 26-28.
- [9] 孙群林, 赵长霖, 彭琦, 等. 泪道阻塞性疾病 1957 例临床相关因素分析[J]. *东南国防医药*, 2010, 12(5): 407-409.
- [10] 高鹰, 潘英姿, 李梅, 等. 脉冲 Nd: YAG 激光联合置管术治疗泪道阻塞性疾病疗效分析[J]. *中国实用眼科杂志*, 2011, 29(11): 1179-1182.
- [11] 黄娟. 泪道阻塞性疾病的临床进展[J]. *中外健康文摘*, 2010, 7(24): 120-122.
- [12] 郑晓霞. Nd: YAG 激光联合泪道置管术治疗泪道阻塞临床观察[J]. *中国现代药物应用*, 2011, 5(9): 21-22.

(收稿日期: 2012-03-06 修回日期: 2012-05-04)