

DOI:10.3971/j.issn.1000-8578.2010.09.019

bFGFR、COX-2 和 MVD 在胃癌中的表达及其与浸润转移的关系

林瑶光,张君红,陆云飞

Expression of bFGFR, COX-2 and MVD and Their Relationships with Invasion and Metastasis in Gastric Cancer

LIN Yao-guang, ZHANG Jun-hong, LU Yun-fei

Department of Geriatrics Gastroenterology, The First Affiliated Hospital, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China

Abstract: Objective To investigate the expression of the basic fibroblast growth factor receptor (bFGFR), COX-2 and MVD and their relationships with invasion and metastasis in gastric cancer. **Methods** Tissue sections from 80 gastric cancer(GC) as experimental groups and tissue sections from 40 chronic gastritis tissue as control groups were examined using immunohistochemistry for the expression of bFGFR, COX-2 and CD34. **Results** The positivity rates of bFGFR and COX-2 were 50.0% and 52.5%, respectively, which were significantly higher than those in patients with chronic gastritis tissue($P<0.01$). The expression of MVD was (46.9 ± 2.2) and (26.2 ± 2.3) ($P<0.01$), respectively. The high positive expression of three indexes had correlation with regional invasion and lymphatic and remote metastasis in GC($P<0.05$). But the expression has no correlation with the size and differentiation degree ($P>0.05$). The MVD values in bFGFR positive (48.7 ± 10.2) and COX-2 positive (49.6 ± 11.6) groups was significantly higher than those in bFGFR negative and COX-2 negative groups (33.6 ± 5.2) and (32.7 ± 4.5) , ($P<0.01$). The expression of bFGFR was significantly positively correlated with COX-2 ($\gamma=0.700, P=0.0000$). **Conclusion** The expression of bFGFR, COX-2 and MVD might be significantly correlated with invasion and metastasis of gastric cancer. The three indexes together may play coordinate role in vascularization. The positive expression of three indexes will be important diagnosis index in gastric cancer growth and metastasis.

Key words: Gastric neoplasmas; bFGFR; COX-2; MVD; Invasion; Metastasis

摘要:目的 探讨碱性成纤维生长因子受体(bFGFR)、环氧合酶-2(COX-2)和微血管密度(MVD)与胃癌浸润、转移的关系。**方法** 选择80例手术切除的胃癌标本为观察组,40例慢性浅表性胃炎为对照组,应用免疫组织化学方法检测组织中bFGFR、COX-2和MVD的表达情况。**结果** bFGFR及COX-2在胃癌患者中的阳性率为50.0%和52.5%。在对照组的阳性率分别为5.0%和0,差异均有统计学意义($P<0.01$)。MVD在胃癌及对照组中的表达分别为 (46.9 ± 2.2) 和 (26.2 ± 2.3) ,差异有统计学意义($P<0.01$)。三者的表达与肿瘤的浸润、淋巴及远处转移呈正相关($P<0.01$ 或 $P<0.05$),与肿瘤大小、分化程度无关($P>0.05$)。bFGFR阳性和COX-2阳性组MVD值 $(48.7\pm10.2、49.6\pm11.6)$ 均高于bFGFR阴性和COX-2阴性组 $(33.6\pm5.2、32.7\pm4.5)$, $P<0.01$ 。bFGFR与COX-2的表达呈正相关($\gamma=0.700, P=0.0000$),二者在胃癌组织中的阳性表达强度与淋巴、远处转移呈正相关($P<0.01$ 。)**结论** 胃癌组织中bFGFR、COX-2和MVD的表达与胃癌的浸润、转移密切相关,三者

在肿瘤血管形成中可能存在相互协同作用。三者的阳性表达可作为胃癌生长、转移的重要判定指标。

关键词: 胃肿瘤;碱性成纤维生长因子受体;COX-2;MVD;浸润;转移

中图分类号:R735.2 文献标识码:A 文章编号:1000-8578(2010)09-1048-03

收稿日期:2009-05-31;修回日期:2010-02-02
基金项目:广西科技厅科研基金资助项目(桂科基0342010-4)
作者单位:530021 南宁,广西医科大学第一附属医院老年消化内科
作者简介:林瑶光(1957-),男,本科,主任医师,主要从事消化道肿瘤的防治研究

0 引言
流行病学研究证实,长期服用环氧合酶-2(Cyclooxygenase-2, COX-2)抑制剂可使肠道肿瘤的发生率降低40%~50%, COX-2与消化道肿瘤的关系倍受关注,新近研究提示COX-2具有促进肿瘤组

织新生血管生成的作用,而 COX-2 的表达受许多因子的调节,包括生长因子、细胞因子等。本文应用免疫组织化学法检测 COX-2 与碱性成纤维生长因子受体(basic fibroblast growth factor receptor,bFGFR)的表达。探讨二者与胃癌浸润、转移的关系及其相关性。并采用特异性 CD34 抗体标记肿瘤组织血管内皮细胞,先用免疫组织化学法标记肿瘤内的微血管密度(microvessel density,MVD),然后计数其单位面积中 MVD,即可获得较为可靠的微血管定量表达^[1]。为胃癌患者的病情判断和预后评估以及开辟抗肿瘤血管形成新疗法,提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选择 2003 年 3 月—2004 年 8 月我院外科手术切除并经病理确诊的胃癌组织 80 例,其中男 52 例,女 28 例,年龄 20~87 岁,平均年龄为 48 岁。肿瘤直径>4cm 62 例,≤4cm 18 例;高、中分化腺癌 12 例,低分化、未分化腺癌 68 例;临床和病理上证实有区域淋巴结转移的 63 例,无淋巴结转移的 17 例。向远隔转移 22 例。早期胃癌 8 例,进展期胃癌 72 例;慢性浅表性胃炎 40 例,上述标本经 10%甲醛固定,石蜡包埋,连续切片 5 张,厚 4μm,分别行 HE 染色及免疫组织化学 SP 染色。

1.2 检测方法 & 结果判断

bFGFR、COX-2、MVD 检测采用免疫组织化学 SP 法,兔抗人多克隆抗体 COX-2、鼠抗人单克隆抗体 CD34、DAB 显色剂、SP 试剂盒均购自福州迈新生物技术有限公司,兔抗人单克隆抗体 bFGFR 购自 BOSTER 公司。PBS 代替一抗作为阴性对照,用试剂盒中阳性片做阳性对照。严格按照说明书操作。应用德国 LECIA 病理图像分析仪分析。bFGFR、COX-2 免疫阳性物质定位于细胞质,先按染色强度打分:无色 0 分,浅黄色 1 分,棕黄色 2 分,棕褐色 3 分;再按阳性细胞百分比打分:0 分阳性细胞数<5%,1 分阳性细胞数 5%~25%,2 分>25%~50%,3 分>50%~75%,4 分>75%;最后按染色强度与阳性细胞之和判断结果,9~12 分 + + +,5~8 分 + +,≥2~4 分 +,<2 分为阴性。MVD 计数参照 Weidner 等^[2]报道的方法,记录 3 个视野内的微血管数,取其平均数。

1.3 统计学方法

采用 SPSS10.0 统计软件包,多个样本率的比较用卡方检验;计量资料的多个样本均数比较用方差分析,相关分析为 Sperman's 的等级相关分析。

2 结果

2.1 bFGFR、COX-2 和 MVD 在胃癌及对照组中的表达情况

bFGFR、COX-2 在胃癌中的表达分别为 50.0%、52.5%,明显高于对照组(5.0%、0),差异有统计学意义($P<0.01$)。胃癌及对照组中 MVD 分别为(46.9±2.2),(26.2±2.3),差异有统计学意义($P<0.01$)。

2.2 bFGFR、COX-2 和 MVD 与胃癌临床病理特征的关系

浸润至浆膜及浆膜外者 bFGFR、COX-2 表达率明显高于未浸润到浆膜者,差异有统计学意义($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。伴有淋巴结及远隔转移胃癌的 bFGFR、COX-2 阳性表达率明显高于无淋巴结及远隔转移者,差异有统计学意义($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。MVD 与胃癌的分期、浸润深度、淋巴结及远隔转移密切相关($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。bFGFR、COX-2 和 MVD 与肿瘤的大小、分化程度均无关($P>0.05$),见表 1。

表 1 bFGFR、COX-2 和 MVD 与胃癌临床病理特征的关系
Table 1 The relationships of the expression of bFGFR, COX-2 and MVD with the clinicopathologic feature of gastric cancer

Clinicopathologic feature	<i>n</i>	COX-2 <i>n</i> (%)	bFGFR <i>n</i> (%)	MVD $\bar{x} \pm s$
Clinical stages				
Early stage	8	1(12.5)**	2(25.0) [△]	40.5±7.8**
Advance stage	72	41(56.9)	38(52.8)	49.8±5.3
Differentiation				
High, medium	15	9(60.0) [△]	8(53.3) [△]	40.8±6.5 [△]
Low	65	33(50.8)	32(49.2)	41.6±5.8
Tumor size				
≤4cm	19	8(42.1) [△]	9(47.4) [△]	42.3±6.2 [△]
>4cm	61	34(55.7)	31(50.8)	41.5±6.4
Depth of tumor invasion				
Out of subserosal	53	33(62.66)**	36(64.15)*	49.6±5.3**
Subserosal	27	9(32.33)	6(22.22)	44.6±5.9
Lymph node metastasis				
Negative	16	5(31.3)*	6(37.5)**	43.5±10.6*
Positive	64	37(57.8)	34(53.1)	65.4±12.0
Distant metastasis				
Negative	58	26(44.8)*	23(41.1)*	41.8±6.8*
Positive	22	16(72.7)	17(77.3)	52.8±5.3

Note: *: $P<0.01$, **: $P<0.05$, [△]: $P>0.05$

2.3 bFGFR、COX-2 表达的相关性

在 bFGFR 阳性表达中,COX-2 阳性表达 35 例,阴性 6 例;bFGFR 阴性中,COX-2 阳性表达 8 例,阴性 37 例,bFGFR 表达与 COX-2 成正比($\gamma=0.700,P=0.0000$)。

2.4 bFGFR 及 COX-2 的表达与 MVD 之间的相互关系

bFGFR 阳性及阴性表达时 MVD 分别为(48.7 ± 10.2)、(33.6 ± 5.2); COX-2 阳性及阴性表达时 MVD 分别为(49.6 ± 11.6)、(32.7 ± 4.5),两者差异均有统计学意义($P<0.01$)。

2.5 bFGFR 及 COX-2 表达阳性强度与转移的关系
结果见表 2、3。

表 2 bFGFR 表达的阳性强度与转移的关系

Table 2 The relationship of bFGFR positive strength and metastasis			
Positive strength	n	Lymph node metastasis n(%)	Distant metastasis n(%)
+	17	12(70.0)**	2(11.8)*
++	16	15(93.8)	8(50.0)
+++	7	7(100.0)	7(100.0)

Note: trend chi-square test, *: $P<0.01$, **: $P<0.05$

表 3 COX-2 表达的阳性强度与转移的关系

Table 3 The relationship of COX-2 positive strength and metastasis			
Positive strength	n	Lymph node metastasis n(%)	Distant metastasis n(%)
+	17	13(76.4)**	1(5.9)*
++	10	9(90.0)	3(30.0)
+++	15	15(100.0)	12(80.0)

Note: trend chi-square test, *: $P<0.01$, **: $P<0.05$

3 讨论

目前胃癌仍然是我国发病率及死亡率最高的恶性肿瘤之一,其中浸润及转移是重要的致死原因。在浸润及转移的过程中血管的形成是关键环节。bFGFR 与 bFGF 特异性结合后,将细胞外信号传递到细胞内,促进受体本身和下游信号分子的特定点上酪氨酸磷酸化,激活受体激酶,催化多种功能蛋白,从而发挥其生物学效应。新近研究表明^[3-4] bFGF 的高表达参与了急性放射性骨损伤后小鼠骨髓造血重建及成人皮肤伤口愈合形成疤痕等多种生理病理过程,bFGFR 与大肠癌 Ducks 分期、淋巴结转移有关^[5]。本研究中 bFGFR 在胃癌中的阳性表达率为 50.0%,高于对照组,差异有统计学意义($P<0.01$),与肿瘤浸润深度、淋巴结、远隔转移密切相关,这与我国学者研究大肠癌结果类似^[6]。bFGFR 在胃癌的发生、发展过程中起到重要的作用,其可能的机制是 bFGFR 与 bFGF 结合后通过激活腺苷酸环化酶、鸟苷酸环化酶、酪氨酸激酶等途径将信号转至细胞核影响 RNA 聚合酶 I,加强核糖体的转录,以加速细胞由 G₀ 期到 G₁ 期和 G₁ 期到 S 期的转

换,刺激 DNA 合成增强,促使细胞的分裂与增殖,另该受体能促进肿瘤血管新生,增加肿瘤组织的血液供应,从而为肿瘤细胞快速、无限制地增殖提供氧和营养物质进一步促进肿瘤的生长。因而检测组织中 bFGFR 可作为胃癌的淋巴结及远隔转移的主要指标之一。

研究表明,COX-2 的表达被细胞内外广泛的刺激所诱导,这些刺激因素主要包括:生长因子、细胞因子(如:PDGF、TNF、bFGF、TGF、HGF)和癌基因等。其在一些肿瘤组织中有高表达现象,除能促进肿瘤细胞的增殖外,并与肿瘤内新生血管形成有关。除降结肠癌组织中普遍存在高表达 COX-2,在其他恶性肿瘤中,COX-2 参与了癌症的发生发展^[7-9],由于 COX-2 的高表达在癌前病变、原位癌即已存在,且与正常组织相比,差异有统计学意义,所以一般认为 COX-2 的高表达是肿瘤发生的早期事件,本研究中早期胃癌 COX-2 的表达低于进展期胃癌,与文献报道不一致,需加大研究样本量进一步研究。Shiotani 等^[10]用反转录方法研究胃癌组织中 COX-2 的表达,结果表明,有淋巴结转移胃癌患者肿瘤组织中 COX-2 的表达明显高于无淋巴结转移者。本研究中 COX-2 蛋白的表达较对照组明显增高,差异有统计学意义($P<0.01$),且与胃癌的浸润深度、淋巴结转移及远隔转移密切相关。COX-2 的高表达可能是胃癌具有高侵袭、高转移能力的分子基础,COX-2 促肿瘤形成的机制除与其可以促进肿瘤细胞的增殖,抑制其凋亡有关,还与 COX-2 的过表达可以导致 PGE2 水平增高直接间接促进血管形成有关^[11]。Tsujii 等^[12]经研究发现体外转染 COX-2 基因的人结肠癌细胞株在过度表达 COX-2 的同时促血管生长因子、bFGFR、PDGF 均有上调。本研究中也显示 COX-2 与 bFGFR 之间密切相关($\gamma=0.700,P=0.0000$)。bFGFR 在被相应血管生成因子识别结合后,发挥其促血管生成的生物学作用。本资料中显示 bFGFR 在胃癌中的表达不仅明显高于对照组,而且与胃癌的浸润深度以及转移有密切相关,其阳性表达强度亦与淋巴结及远隔转移显著相关,说明 COX-2、bFGFR 在胃癌微血管形成中起促进作用,这与 bFGFR 与受体特异性结合后新生血管内皮细胞分泌基质降解酶破坏血管基底膜,使其通透性增高,导致肿瘤细胞易穿透血管壁进入血液循环形成转移灶有关;另外二者表达存在正相关,说明它们在肿瘤发生、发展的多个环节起重要作用,因而二者不仅是胃黏膜恶变的指标,更为评估其浸润、转移提供参考指标。

放疗^[1]。肿块切除既能明确诊断,又能克服化疗药物难以通过血脑屏障的缺点。辅助局部治疗包括对侧睾丸放疗和区域性淋巴结放疗对控制局部复发疗效确切。但如不进行系统化疗,则其他部位的复发难免。睾丸原发性 DLBCL 出现中枢神经系统复发很常见,由于血脑屏障的存在,常规系统化疗(如 CHOP)并无预防作用,鞘内预防性化疗能有效改善脑膜的复发率,但并不能解决脑实质复发的问題,有学者提出系统化疗中应用大剂量血脑屏障通过率较高的药物如甲氨喋呤可能有帮助,但目前尚无研究报告。新的单抗药物 rituximab 似乎能改善预后^[6]。而对原发性 DLBCL 生物学本质的进一步阐明有望开发更多靶向性药物以改善其预后。

参考文献:

[1] Zucca E, Conconi A, Mughal TI, et al. Patterns of outcome and prognostic factors in primary large-cell lymphoma of the testis in a survey by the international extranodal lymphoma

study group[J]. J Clin Oncol, 2003, 21(1):20-27.
[2] Hans CP, Weisenburger DD, Greiner TC, et al. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray [J]. Blood, 2004, 103(1):275-282.
[3] Booman M, Douwes J, Glas AM, et al. Primary testicular diffuse large B-cell lymphomas have activated B-cell-like subtype characteristics[J]. J Pathol, 2006, 210(2): 163-171.
[4] Camilleri-Broët S, Crinière E, Broët P, et al. A uniform activated B-cell-like immunophenotype might explain the poor prognosis of primary central nervous system lymphomas: analysis of 83 cases[J]. Blood, 2006, 107(1):190-196.
[5] Booman M, Szuhai K, Rosenwald A, et al. Genomic alterations and gene expression in primary diffuse large B-cell lymphomas of immune-privileged and immunomodulatory pathways [J]. J Pathol, 2008, 216(2): 209-217.
[6] Vitolo U, Zucca E, Martelli M, et al. Primary diffused large B-cell lymphoma of the testis (PTL): a prospective study of rituximab (R)-CHOP with CNS and contralateral testis prophylaxis. Results of the IELSG 10 Study[J]. Blood, 2006, 108: 65a.

[编辑:杨 卉;校对:黄国玲]

(上接第 1050 页)

本研究还发现 MVD 与胃癌的浸润、淋巴结及远隔转移密切相关,其与 bFGFR 及 COX-2 的表达亦密切相关,即阳性表达组的 MVD 明显高于阴性表达组,提示 bFGFR 及 COX-2 的过度表达加速了肿瘤组织血管的形成,以适应癌变组织细胞快速生长,其在胃癌的发生、发展、浸润及转移起到重要作用;二者也是胃癌血管形成的正调控因子,因新生微血管的大量生成增加了肿瘤的血液供应量,肿瘤细胞进入血液循环向远隔转移的危险性也就相应增加;另外诱导的新生微血管在结构及功能均有异常,这使肿瘤细胞能容易地渗透到有缺陷的微血管而产生转移,因此胃癌中 COX-2、bFGFR 和 MVD 的表达不仅反映胃癌内微血管生成情况,也从某种程度上反映了胃癌浸润、转移的能力,联合检测组织中三者的表达不但有助于胃癌的诊断,而且是预测肿瘤浸润、转移、复发的重要判断指标。

参考文献:

[1] Fukumura D, Jain RK. Role of nitric oxide angiogenesis and microcirculation in tumors [J]. Cancer Metastasis Rev,2001, 17(1):77-89.
[2] Weidner N. Current pathologic methods for measuring in tumoral microvessel density within breast carcinoma and other solid tumors [J]. Breast Cancer Res Treat, 1995, 36 (2):169-180.
[3] Wu N, Sun HY, Liu WL,et al. The effects of Ligustrazine on

the expression of bFGF and bFGFR in bone marrow in radiation injured mice [J]. J Huazhong Univ Sci Technology Med Sci,2003,23(4):348-351.
[4] 陈伟,付小兵. 碱性成纤维生长因子及受体在胎儿和成人皮肤内的表达特征及意义[J]. 中国危重病急救医学,2002,14(7): 400-403.
[5] 林瑶光, 韦良宏. 大肠癌 COX-2 和 BFGFR 表达与 Dukes 分期,淋巴结转移之间的关系[J]. 陕西医学杂志,2007,36(3): 293-295.
[6] 韦良宏,林瑶光. 大肠癌和大肠腺瘤 COX-2 和 BFGFR 的表达及意义[J]. 中国现代医学杂志,2007,17(10):1196-1199.
[7] Khuri FR,Wu H, Lee JJ, et al. Cyclooxygenase-2 overexpression is a marker of poor progression in stage I non-small cell lung cancer[J]. Clin Cancer Res, 2001, 7(4):861-867.
[8] Singh B, Berry JA, Shohar A, et al. COX-2 overexpression increases motility and invasion of breast cancer cells [J]. Int J Oncol, 2005, 26(5):1393-1399.
[9] Eibl G, Takata Y, Boros LG, et al. Growth stimulation of COX-2-negative pancreatic cancer by a selective cox-2 inhibitor [J]. Cancer Res, 2005, 65(3):982-990.
[10] Shiotani H,Denda A, Yamamoto K,et al. Increased expression of cyclooxygenase-2 protein in 4-nitroquinoline-1-oxid-induced rat tongue carcinomas and chemopreventive efficacy of a specific inhibitor, nimesulide [J]. Cancer Res,2001,61(4): 1451-1456.
[11] Cheng AS, Chan HL, To KF. Cyclooxygenase-2 pathway correlates with vascular endothelial growth factor expression and tumor angiogenesis in hepatitis- B virus associated hepatocellular carcinoma [J]. Int J Oncol, 2004, 24(4):853- 860.
[12] Tsujii M,Kawano S,Tsuiji S, et al. Cyclooxygenase regulates angiogenesis induced by colon cancer cells [J]. Cell,1998,93 (5):705-716.

[编辑:安 凤;校对:黄国玲]