

Flt-1、PDGFR和MVD的表达与胃癌浸润、转移的相关性

林瑶光, 张君红, 李佳荃

■背景资料

胃癌是我国发病率及死亡率最高的恶性肿瘤之一, 目前血管生长因子及其受体的表达日益受到重视。其中Flt-1、PDGFR与胃癌关系研究较少, 本文应用免疫组化法研究两种受体及MVD在胃癌中的表达, 探讨他们与胃癌浸润、转移的相关性, 为胃癌的病情判断和预后评估提供依据。

林瑶光, 张君红, 广西医科大学第一附属医院老年消化内科 广西壮族自治区南宁市 530021

李佳荃, 广西医科大学医学实验中心 广西壮族自治区南宁市 530021

广西科技厅科研基金资助项目, No.0342010-4

作者贡献分布: 林瑶光对此文作主要贡献; 此课题由林瑶光设计; 研究过程由林瑶光与张君红操作完成; 研究所用试剂及分析工具由李佳荃提供; 数据分析由张君红完成; 本文写作由林瑶光与张君红完成。

通讯作者: 林瑶光, 530021, 广西壮族自治区南宁市, 广西医科大学第一附属医院老年消化内科. 371456560@qq.com
电话: 0771-5356596

收稿日期: 2008-12-10 修回日期: 2009-01-07

接受日期: 2009-01-12 在线出版日期: 2009-02-28

Relations of Flt-1, PDGFR and MVD expression with invasiveness and metastasis of gastric carcinoma

Yao-Guang Lin, Jun-Hong Zhang, Jia-Quan Li

Yao-Guang Lin, Jun-Hong Zhang, Department of Geriatric Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Jia-Quan Li, Guangxi Medical University Laboratory Center, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: the Science and Technology Government Agency Research Program of Guangxi Zhuang Autonomous Region, China, No. 0342010-4

Correspondence to: Yao-Guang Lin, Department of Geriatric Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. 371456560@qq.com

Received: 2008-12-10 Revised: 2009-01-07

Accepted: 2009-01-12 Published online: 2009-02-28

Abstract

AIM: To investigate the correlation of vascular growth factor receptor (Flt-1), platelet-derived growth factor receptor (PDGFR), and MVD with invasiveness, and metastasis of gastric cancer.

METHODS: Tissue samples from 71 gastric carcinoma (GC), 29 paracarcinoma and 39 normal gastric tissues were examined by using immunohistochemistry for the expression of angiogenic factor receptor and CD34.

RESULTS: The positive rates of Flt-1, PDGFR

were significantly higher in gastric cancer tissues than in paracarcinoma or than in normal tissues (53.5% vs 13.8%, 12.8%; 49.3% vs 10.3%, 10.2%, all $P < 0.01$). The high positive expression of the above two receptors had significant correlation with regional invasion, clinical grading, lymph and blood stream metastasis in gastric cancer, but not with size or differentiation degree. The MVD counts of GC were significantly higher than that of patients with paracarcinoma or with normal tissues (45.2 ± 15.2 vs 35.1 ± 5.0 , 28.6 ± 4.2 , both $P < 0.01$). The MVD was significantly correlated with regional invasion, clinical grade, lymph and blood stream metastasis in GC. The positive expression rate of Flt-1 was positively correlated with PDGFR ($r = 0.5235$, $P < 0.01$).

CONCLUSION: The expression of Flt-1, PDGFR and MVD might be significantly correlated with growth, invasion and metastasis of gastric carcinoma. The two receptors together may play coordinative roles in angiogenesis, invasion and metastasis of gastric carcinoma.

Key Words: Gastric carcinoma; Flt-1; Platelet-derived growth factor receptor; Microvessel density

Lin YG, Zhang JH, Li JQ. Relations of Flt-1, PDGFR and MVD expression with invasiveness and metastasis of gastric carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(6): 606-609

摘要

目的: 探讨血管内皮生长因子受体-1(Flt-1)、血小板衍生生长因子受体(PDGFR)和微血管密度(MVD)与胃癌浸润及转移的相关性。

方法: 选择71例手术切除的胃癌标本为观察组, 29例胃癌旁标本及39例正常胃黏膜组织为对照组。应用免疫组织化学方法检测组织中Flt-1、PDGFR蛋白表达及CD34计数。

结果: 与对照组及癌旁组相比, 在胃癌组中的Flt-1、PDGFR阳性率有显著差异(53.5% vs 13.8%, 12.8%; 49.3% vs 10.3%, 10.2%, 均 $P < 0.01$)。Flt-1、PDGFR的表达与胃癌的浸

■同行评议者

陈卫昌, 教授, 苏州大学附属第一医院消化内科

润、淋巴和远处转移及临床分期密切相关, 与肿瘤大小、组织分型无关. MVD在胃癌组与癌旁及对照组之间表达有显著性差异(45.2 ± 15.2 vs 35.1 ± 5.0 , 28.6 ± 4.2 , 均 $P < 0.01$). MVD与胃癌浸润深度、淋巴和远处转移及临床分期有显著相关. Flt-1、PDGFR在胃癌中阳性表达以及与微血管密度呈显著相关. Flt-1表达阳性率与PDGFR存在正相关($r = 0.5235$, $P < 0.01$).

结论: 胃癌组织中Flt-1、PDGFR的阳性表达和MVD的升高可作为胃癌生长、转移及预后的重要判定指标. 他们在胃癌的发生、浸润、转移中可能存在相互诱导、相互协同或叠加作用.

关键词: 胃肿瘤; 血管生长因子受体-1; 血小板衍生生长因子受体; 微血管密度

林瑶光, 张君红, 李佳荃. Flt-1、PDGFR和MVD的表达与胃癌浸润、转移的相关性. 世界华人消化杂志 2009; 17(6): 606-609

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/606.asp>

0 引言

胃癌是我国发病率及死亡率最高的恶性肿瘤之一, 男女世界调整死亡率均居首位^[1]. 目前认为胃癌的发生及发展是一个涉及多阶段、多基因、多因素异常积累的复杂过程, 而各种血管生长因子及其受体的表达日益受到重视. 其中血管内皮生长因子受体-1(fms样酪氨酸激酶-1, Flt-1)及血小板衍生生长因子受体(platelet-derived growth factor receptor, PDGFR)是较重要的组成成分. 本文应用免疫组化法研究两种受体和微血管密度(microvessel density, MVD)在胃癌中的表达, 探讨他们与胃癌浸润、转移的相关性, 为胃癌的病情判断和预后评估提供依据.

1 材料和方法

1.1 材料 选择2003-03/2004-08我院外科手术切除并经病理确诊的胃癌组织71例, 其中男49例, 女22例, 年龄20-87(平均年龄为46)岁. 肿瘤直径 >4 cm, 55例, ≤ 4 cm, 16例; 高、中分化腺癌13例, 低分化、未分化腺癌58例; 临床和病理上证实有区域淋巴结转移的56例, 无淋巴结转移的15例; 向肝脏或远处器官转移22例. 按国际抗癌联盟PTNM分期标准分期其中I期7例, II期6例, III期35例, IV期23例; 选择癌旁组织29例, 因幽门梗阻、消化性溃疡、穿孔等行胃大部分切除术

表1 各组中Flt-1、PDGFR和MVD的表达

组织类型	n	阳性 n(%)		
		Flt-1	PDGFR	MVD
胃癌	71	38(53.5) ^b	35(49.3) ^b	45.2 ± 15.2 ^b
癌旁	29	4(13.8)	3(10.3)	35.1 ± 5.0 ^c
对照组	39	5(12.8)	4(10.2)	28.6 ± 4.2

^b $P < 0.01$ vs 癌旁及对照组; ^c $P < 0.05$ vs 对照组.

病例的正常胃组织39例作为对照组, 上述标本经100 g/L甲醛固定, 石蜡包埋, 连续切片5张, 厚4 μ m, 分别行HE染色及Flt-1、PDGFR、CD34的免疫组化染色.

1.2 方法 PDGFR检测采用免疫组化SP法, Flt-1、CD34使用二步法. 鼠抗人mAb CD34、DAB显色剂、SP试剂盒及二步法试剂盒均购自福州迈新生物技术有限公司, 兔抗人mAb PDGFR购自BOSTER公司. 严格按照说明书操作. 应用德国LECIA病理图像分析仪分析. Flt-1、PDGFR免疫阳性物质定位于胞质, 参考半定量积分法^[2], 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分阳性细胞数小于5%, 1分阳性细胞数5%-25%, 2分 $>26\%$ -50%, 3分 $>51\%$ -75%, 4分 $>75\%$; 最后按染色强度与阳性细胞之和判断结果, 大于2分为阳性, 小于2分为阴性. MVD计数参照Weidner^[3]报道的方法, 先在低倍镜($\times 100$)下全面观察切片, 以确定肿瘤内血管密度最高处, 高血管密度区多位于肿瘤边缘. 再在高倍镜($\times 200$)下, 以与周围细胞和结缔组织成分明显区别的任一棕色染色的内皮细胞或细胞作为一个血管记数, 只要结构不相连, 其分枝结构也可作为一个血管计数. 记录3个视野内的微血管数, 取其平均数.

统计学处理 采用SPSS10.0统计软件包, 多个样本率的比较、两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, 相关分析为计数资料的相关分析.

2 结果

2.1 Flt-1、PDGFR和MVD在胃癌、癌旁组及对照组中的表达 Flt-1、PDGFR和MVD在胃癌中的表达明显高于癌旁及对照组, Flt-1主要表达在肿瘤细胞及血管内皮细胞上(图1A), 正常对照组表达较弱, PDGFR在肿瘤细胞及少量间质中有阳性表达(图1B, 表1).

■ 研发前沿

联合研究两种血管生长因子受体与胃癌的关系报道较少, 本研究显示两种受体在胃癌的发生、浸润、转移中可能存在相互诱导、相互协同或叠加作用, 但他们之间如何相互作用尚需进一步研究.

■ 创新盘点

本文联合研究两种血管生长因子受体与胃癌的关系, 发现二者之间有正相关, 并且二者均阳性组MVD比二者均阴性组高, 指出二者在胃癌的转移、浸润中可能具有协同、叠加作用.

■应用要点

两种血管生长因子受体与胃癌的浸润、转移具有协同、叠加作用,术前检测Flt-1、PDGFR在胃癌组织中的表达,对估计胃癌的转移情况,指导手术有重要的价值。

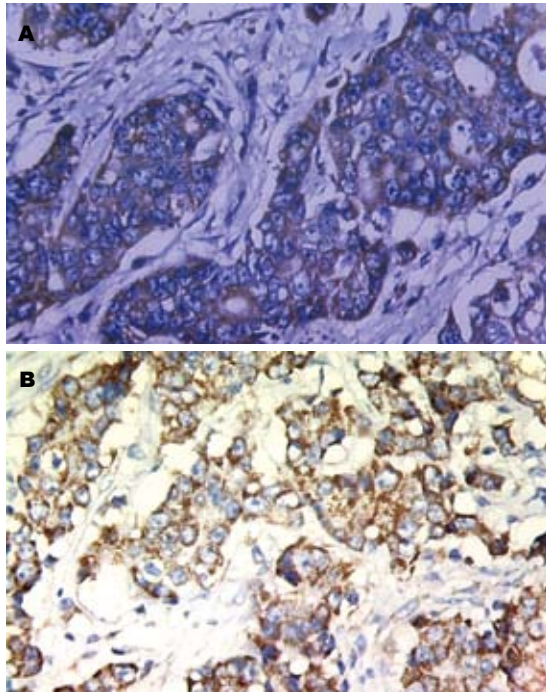


图1 Flt-1及PDGFR在胃癌中的阳性表达。A: Flt-1(二步法×400); B: PDGFR(SP×400)。

2.2 Flt-1、PDGFR和MVD与胃癌临床病理特征的关系 Flt-1、PDGFR的表达与胃癌的大小、分化程度、组织分型无关,而与胃癌的浸润深度、临床分期、淋巴结转移及远处转移有密切相关($P<0.01$ 或 0.05 ,表2)。

2.3 Flt-1、PDGFR阳性表达之间的相互关系 PDGFR阳性表达时,Flt-1阳性28例,阴性7例;PDGFR阴性表达时,Flt-1阳性10例,阴性26例;Flt-1表达阳性率与PDGFR存在正相关($r = 0.5235$, $P<0.01$)。

2.4 胃癌Flt-1、PDGFR之间的关系以及与MVD的相关性 胃癌组织中Flt-1、PDGFR表达均阳性及二者表达均阴性MVD计数分别为 59.1 ± 14.3 、 33.4 ± 5.1 ,二组有显著性差异($P<0.01$)。

2.5 胃癌二种受体与淋巴及远处转移的关系 二者表达均阳性及二者均阴性者伴有淋巴结转移及远处转移的发生率分别为89.3%(25/28)、57.7%(18/26)和53.6%(15/28)、19.2%(5/26),有显著性差异($P<0.01$)。

3 讨论

Flt-1是血管内皮生长因子受体家族中的成员之一,他主要在血管内皮细胞(EC)内表达,通常情况下Flt-1呈低表达,仅用于维持正常的微血管密度、基本渗透功能,以利于营养物质代谢。Flt-1激活后具有调节内皮细胞之间以及内皮细胞

表2 Flt-1、PDGFR和MVD与胃癌临床病理特征的关系

组织类型	n	阳性 n(%)		mean ± SD
		Flt-1	PDGFR	
临床分期				
I + II	13	3(38.5) ^a	2(15.4) ^b	40.5 ± 7.8 ^a
III + IV	58	35(56.9)	33(56.9)	49.8 ± 5.3
组织分型				
腺癌	60	34(56.7)	30(50.0)	41.5 ± 6.4
黏液癌	3	1(33.3)	2(66.7)	40.8 ± 6.7
印戒细胞癌	8	3(37.5)	3(37.5)	41.2 ± 5.8
分化程度				
高、中分化	13	7(53.8)	5(38.5)	40.6 ± 6.5
低、未分化	58	31(53.4)	30(51.7)	41.3 ± 5.7
肿瘤的大小(cm)				
≤4	16	8(50.0)	6(37.5)	42.1 ± 6.2
>4	55	30(54.5)	29(52.7)	41.8 ± 6.3
浸润深度				
未及浆膜层	26	8(30.8) ^b	7(26.9) ^b	40.8 ± 5.6 ^a
达浆膜及以外	45	30(66.7)	28(62.2)	48.8 ± 4.9
淋巴结转移				
无	15	6(40.0) ^b	4(26.7) ^a	42.5 ± 9.6 ^a
有	56	32(57.1)	31(55.4)	65.4 ± 12.0
远处转移				
未转移	49	22(44.9) ^a	18(36.7) ^b	41.7 ± 6.8 ^a
转移	22	16(72.7)	17(77.3)	51.8 ± 5.2

^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ 。

与基底膜之间的相互作用,能促进血管腔的形成。本研究显示Flt-1在胃癌组织中的表达率为53.5%,明显高于对照组,与国内学者研究结果一致^[4-5]。Flt-1可通过Src依赖途径、调节激动蛋白重组和调节Flk-1的磷酸化活性来促进肿瘤细胞迁移和浸润^[6-7]。我们的结果发现Flt-1与胃癌的病理分期、淋巴道及远处转移均有密切相关($P<0.01$ 或 $P<0.05$),说明Flt-1与胃癌的发生、发展、浸润及转移存在密切的关系。其中的机制可能与抑癌基因p53的丢失、宿主微环境如缺氧的改变调节^[8]有关。此外Flt-1基因中存在增强子序列-976/-937,共40 bp,含有与低氧诱导因子-1(HIF)连接位点相对应的核苷酸序列,低氧条件下可以从转录水平增强Flt-1的表达^[9];另一原因为VEGF对其受体表达有诱导作用,缺氧时VEGF表达升高直接上调特异性受体表达,两者结合后促进胃癌组织内皮细胞的增殖和分化,并诱导内皮细胞重塑成血管结构,该种自发扩增系统可能代表一种重要的肿瘤血管形成机制。

PDGFR为分子量约180 kDa的单链膜糖蛋白,表现为两种形式,即PDGFR- α 和

■名词解释

Flt-1: 血管内皮生长因子受体家族中的成员之一,他在不同的生理病理条件下具有不同的功能:在胚胎时期,有抑制血管形成的作用,而在成人时期则具有促进血管生成的作用。Flt-1激活后具有调节内皮细胞之间以及内皮细胞与基底膜之间的相互作用,能促进血管腔的形成。

PDGFR- β , 二者除在正常组织中的内皮细胞、平滑肌细胞和成纤维细胞以及神经细胞等多种细胞均有分布外, 在多种人肿瘤细胞呈高表达如胰腺癌^[10]、乳腺癌^[11]等, 且表达水平与肿瘤恶性程度呈正相关, 表明PDGFR的高表达有利于上述各种肿瘤的生长. PDGFR在胃癌发生发展中的作用研究报道较少. 本研究中PDGFR在胃癌组织中的阳性表达率为49.3%, 明显高于对照组, 与Kim *et al*^[12]等研究结果一致; 伴有淋巴结转移、及远处转移者PDGFR的阳性表达率亦明显高于癌旁及正常组($P<0.01$). 而正常组PDGFR的表达率极低(10.2%), 可见PDGFR在胃癌的发生、发展、浸润及转移密切相关. 其可能发生的机制为: 通过酪氨酸磷酸化信号转导, 促进肿瘤细胞增殖及肿瘤的血管形成^[13].

研究表明, VEGF与Flt-1结合后, 增加血管内皮细胞通透性, 使血管内的蛋白外渗, 形成内皮细胞迁移的支架和血管生成的临时基质, 而PDGFR活化后能提高细胞外基质的降解代谢, 有利于血管的形成, 本研究显示Flt-1、PDGFR在胃癌组织中的阳性表达者MVD值明显高于Flt-1、PDGFR阴性表达者, Flt-1、PDGFR表达均阳性者, 伴有淋巴结和远处转移的MVD分别高于二者均阴性和无转移者, 说明Flt-1、PDGFR在胃癌微血管形成中起促进作用, 其高表达与胃癌的转移行为有密切关系.

胃癌中Flt-1与PDGFR表达的相关性报道甚少. 本研究结果显示Flt-1、PDGFR在有淋巴结转移的56例胃癌的阳性表达率明显高于15例无转移的胃癌组织中的表达率, 差异具有显著性($P<0.01$); 在22例有远处转移的胃癌组中的阳性率比无远处转移的胃癌阳性率高, 有显著性差异($P<0.01$), 这与二种血管内皮生长因子和两者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, 与其通透性增高使肿瘤细胞易穿透血管壁进入血液循环形成转移灶有关; 另外二种血管生长因子受体之间的表达存在正相关, 并且与微血管密度的表达亦存在正相关, 提示二种受体之间有相互叠加、相互诱导血管形成的作用, 他们之间的相互作用机制尚需进一步探讨. 术前检测Flt-1、PDGFR在胃癌组织中的表达, 对估计胃癌的转移情况, 指

导手术有重要的价值.

4 参考文献

- 1 孙秀娣, 牧人, 周有尚, 戴旭东, 张思维, 皇甫小梅, 孙杰, 李连第, 鲁凤珠, 乔友林. 中国胃癌死亡率20年变化情况分析及其发展趋势预测. *中华肿瘤杂志* 2004; 26: 4-9
- 2 陆红, 陈晓宇, 刘文忠, 彭延申, 萧树东. 环氧酶-2蛋白在胃癌组织中的表达. *胃肠病学* 2000; 5: 150-152
- 3 Weidner N. Current pathologic methods for measuring intratumoral microvessel density within breast carcinoma and other solid tumors. *Breast Cancer Res Treat* 1995; 36: 169-180
- 4 朱浩图, 韩军, 马琳. 结直肠癌中PDGFR- β 的表达及意义. *实用肿瘤学杂志* 2007; 21: 409-412
- 5 Pallares J, Rojo F, Iriarte J, Morote J, Armadans LI, de Torres I. Study of microvessel density and the expression of the angiogenic factors VEGF, bFGF and the receptors Flt-1 and FLK-1 in benign, premalignant and malignant prostate tissues. *Histol Histopathol* 2006; 21: 857-865
- 6 Lesslie DP, Summy JM, Parikh NU, Fan F, Trevino JG, Sawyer TK, Metcalf CA, Shakespeare WC, Hicklin DJ, Ellis LM, Gallick GE. Vascular endothelial growth factor receptor-1 mediates migration of human colorectal carcinoma cells by activation of Src family kinases. *Br J Cancer* 2006; 94: 1710-1717
- 7 Roberts DM, Kearney JB, Johnson JH, Rosenberg MP, Kumar R, Bautch VL. The vascular endothelial growth factor (VEGF) receptor Flt-1 (VEGFR-1) modulates Flk-1 (VEGFR-2) signaling during blood vessel formation. *Am J Pathol* 2004; 164: 1531-1535
- 8 Yoshiji H, Gomez DE, Shibuya M, Thorgerirsson UP. Expression of vascular endothelial growth factor, its receptor, and other angiogenic factors in human breast cancer. *Cancer Res* 1996; 56: 2013-2016
- 9 Gerber HP, Condorelli F, Park J, Ferrara N. Differential transcriptional regulation of the two vascular endothelial growth factor receptor genes. Flt-1, but not Flk-1/KDR, is up-regulated by hypoxia. *J Biol Chem* 1997; 272: 23659-23667
- 10 Hwang RF, Yokoi K, Bucana CD, Tsan R, Killion JJ, Evans DB, Fidler IJ. Inhibition of platelet-derived growth factor receptor phosphorylation by STI571 (Gleevec) reduces growth and metastasis of human pancreatic carcinoma in an orthotopic nude mouse model. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 6534-6544
- 11 Carvalho I, Milanezi F, Martins A, Reis RM, Schmitt F. Overexpression of platelet-derived growth factor receptor alpha in breast cancer is associated with tumour progression. *Breast Cancer Res* 2005; 7: R788-R795
- 12 Kim R, Emi M, Arihiro K, Tanabe K, Uchida Y, Toge T. Chemosensitization by STI571 targeting the platelet-derived growth factor/platelet-derived growth factor receptor-signaling pathway in the tumor progression and angiogenesis of gastric carcinoma. *Cancer* 2005; 103: 1800-1809
- 13 Bergers G, Benjamin LE. Tumorigenesis and the angiogenic switch. *Nat Rev Cancer* 2003; 3: 401-410

同行评价

本研究立意较新, 设计合理, 具有一定的参考价值.

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕