

肿瘤发病机制与治疗

DOI: 10.13406/j.cnki.cyxh.000011

尿激酶型纤溶酶原激活剂与血管内皮生长因子
在胃癌中的表达及其意义成晓舟, 郭天康, 达明绪, 郝相勇, 景武堂, 胡东平
(甘肃省人民医院普外科, 兰州 730000)

【摘要】目的:探讨尿激酶型纤溶酶原激活剂(urokinase-type plasminogen activator, u-PA)以及血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)在胃癌中的表达和意义。**方法:**免疫组化法检测 98 例胃癌组织和 30 例癌旁正常组织中 u-PA 和 VEGF 的表达, 并分析其相互关系。**结果:**胃癌组织中 u-PA 与 VEGF 的表达明显高于癌旁正常组织($P=0.000$), u-PA 与 VEGF 在低分化、浸润达浆膜层、有淋巴结转移及 TNM 分期(Ⅲ期+Ⅳ期)组阳性表达率均明显高于中、高分化、浸润未达浆膜层、无淋巴结转移及 TNM 分期(Ⅰ期+Ⅱ期)组($P<0.05$)。u-PA 与 VEGF 的表达呈显著正相关($r_s=0.568, P=0.000$)。**结论:**u-PA 与 VEGF 在胃癌组织中均有较高的阳性表达率, 并且与胃癌的侵袭转移相关, 它们共同参与了胃癌的发生、发展, 可作为判断胃癌侵袭转移潜能的重要分子生物学指标; 同时, 二者在胃癌的浸润转移过程中可能具有协同作用, 联合检测 u-PA 和 VEGF 对胃癌的早期诊断、治疗和预后具有积极的指导作用。

【关键词】胃癌; 尿激酶型纤溶酶原激活剂; 血管内皮生长因子

【中图分类号】R735.2

【文献标志码】A

【收稿日期】2013-03-01

Expression and significance of urokinase-type plasminogen activator and
vascular endothelial growth factor in gastric carcinomaCheng Xiaozhou, Guo Tiankang, Da Mingxu, Hao Xiangyong, Jing Wutang, Hu Dongping
(Department of General Surgery, the People's Hospital of Gansu Province)

【Abstract】Objective: To investigate the expression and significance of urokinase-type plasminogen activator (u-PA) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in gastric carcinoma. **Methods:** Expressions of u-PA and VEGF was detected by immunohistochemistry in 98 gastric carcinoma specimens and 30 tumor-adjacent normal tissues. Relationship between u-PA and VEGF was analyzed. **Results:** Positive expression of u-PA and VEGF was significantly higher in gastric carcinoma than in tumor-adjacent normal tissues ($P=0.000$). Expression of u-PA and VEGF in gastric carcinoma with low differentiation, serous membrane involvement, lymph node metastasis, TNM stage (Ⅲ+Ⅳ) was significantly higher than that of u-PA and VEGF in gastric carcinoma moderate or high differentiation, no serous membrane involvement, no lymph node metastasis, TNM stage (Ⅰ+Ⅱ) ($P<0.05$). Expression of u-PA was positively correlated with expression of VEGF ($r_s=0.568, P=0.000$). **Conclusions:** u-PA and VEGF are highly expressed in gastric carcinoma tissues. They have correlation with invasion and metastasis of gastric carcinoma, and both of them are involved in the occurrence and development of gastric carcinoma, which can be used as potential molecular marker determining the invasion and metastasis of gastric carcinoma. Meanwhile, they may have synergistic effect on the invasion and metastasis of gastric carcinoma. Combined detection of u-PA and VEGF may play positive role in early diagnosis, treatment and prognosis of gastric carcinoma.

【Key words】 gastric carcinoma; urokinase-type plasminogen activator; vascular endothelial growth factor

胃癌是世界上最常见的恶性肿瘤之一, 其在恶性肿瘤中的死亡率居第 2 位^[1], 我国胃癌的年发病率占世界胃癌的 42%, 是影响人民健康的主要疾病之一^[2]。胃癌患者由于其症状、体征不典型, 检测时缺乏特异性标志物, 绝大多数患者在确诊时已进入

晚期, 无法行胃癌根治手术, 导致胃癌患者 5 年生存率不足 20%^[3], 其浸润和转移是影响生存质量的主要因素, 也是影响治疗效果的重要因素之一^[4]。多数研究表明胃癌的浸润和转移是多基因、多因子协同作用的结果^[5], 尿激酶型纤溶酶原激活剂 (urokinase-type plasminogen activator, u-PA) 能激活纤溶酶原使之转变为纤溶酶, 降解细胞外基质和基底膜, 与肿瘤侵袭转移密切相关^[6]。血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 是目前发

作者介绍: 成晓舟, Email: chengxizh@163.com,

研究方向: 胃肠道肿瘤的基础与临床。

通信作者: 郭天康, Email: guotiankang59@126.com。

优先出版: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13406/j.cnki.cyxh.000011.html>

现的最重要的血管生成促进因子,它与恶性肿瘤患者预后的关系是近年来的研究热点^[7]。本研究旨在通过采用免疫组化法检测 u-PA 与 VEGF 在胃癌组织中的表达,探讨其与胃癌生物学行为的关系,并进一步为临床诊断、治疗及预后提供较为可靠依据。

1 材料与方法

1.1 标本来源

收集甘肃省人民医院和兰州大学第一医院 2011 年 10 月至 2012 年 10 月期间手术切除并经病理证实的 98 例胃癌标本,所有患者术前均未接受过放化疗,其中男 62 例,女 36 例,年龄 39~75 岁,平均年龄 53 岁,中位年龄 55 岁,根据 2003 年国际抗癌联盟颁布的胃癌 TNM 分期标准为胃癌患者进行临床分期,Ⅰ、Ⅱ期 30 例,Ⅲ、Ⅳ期 68 例;高、中分化腺癌 45 例,低分化腺癌 53 例;浸润达浆膜层者 60 例,浸润未达浆膜层者 38 例;发生淋巴结转移者 66 例,未发生淋巴结转移者 32 例。随机选取上述手术切除标本的癌旁正常胃组织(距胃癌组织边缘 5 cm 以上)作为对照组。所选组织均经 4%多聚甲醛固定 24 h,常规石蜡包埋,4 μm 厚连续切片,供免疫组化检测。

1.2 主要试剂

兔抗人 VEGF 多克隆抗体、兔抗人 u-PA 多克隆抗体、SP 试剂盒、DAB 显色试剂盒均购自武汉博士德生物技术有限公司。

1.3 检测方法

采用免疫组化 SP 法,操作严格按照试剂盒说明进行,以 PBS 液代替一抗作为阴性对照。

1.4 结果判定

u-PA 和 VEGF 阳性染色均以肿瘤细胞胞质为主,细胞质呈棕黄色染色者为阳性细胞,随机选取每张切片的 5 个高倍(400)视野,计数阳性细胞数并计算阳性细胞的百分率,阳性细胞数<5%定义为(-),5%~25%定义为(+),25%~50% 定义为(++),>50% 定义为(+++)。以(+~+++)均视为阳性表达,(-)视为阴性表达。

1.5 统计学分析

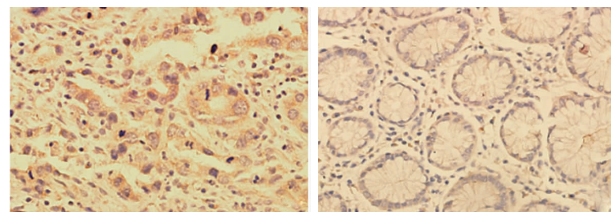
采用 SPSS 19.0 统计软件对数据进行分析,计数资料组间比较采用 χ^2 检验,等级资料相关性分析采用 Spearman 秩相关分析。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 u-PA 和 VEGF 在胃癌组织和癌旁正常组织中的表达

u-PA 和 VEGF 阳性表达主要位于癌细胞胞质内,癌旁正

常胃黏膜细胞胞质少量表达,呈棕黄色或棕褐色(图 1、图 2)。检测出 u-PA 和 VEGF 在胃癌组的阳性表达率分别为 77.6% 和 75.5%,明显高于癌旁正常组(6.7%和 10.0%)($\chi^2=48.483$, $P=0.000$; $\chi^2=41.126$, $P=0.000$)(表 1)。

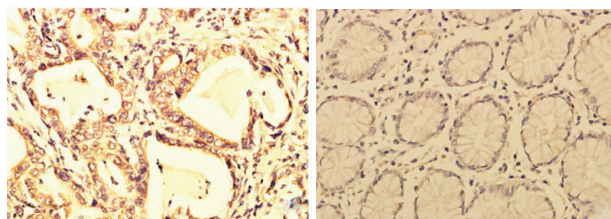


A. u-PA 在胃癌组织中的
阳性表达

B. u-PA 在癌旁正常组织中的
阴性表达

图 1 免疫组化 SP 法检测 u-PA 在胃癌组织和癌旁正常组织中的表达 (400 ×)

Fig.1 Expression of u-PA in gastric carcinoma and tumor-adjacent normal tissues detected by immunohistochemical SP method (400 ×)



A. VEGF 在胃癌组织中的
阳性表达

B. VEGF 在癌旁正常组织中的
阴性表达

图 2 免疫组化 SP 法检测 VEGF 在胃癌组织和癌旁正常组织中的表达 (400 ×)

Fig.2 Expression of VEGF in gastric carcinoma and tumor-adjacent normal tissues detected by immunohistochemical SP method (400 ×)

2.2 胃癌组织中 u-PA 和 VEGF 的表达与临床病理特征的关系

98 例胃癌组织中, u-PA 表达在胃癌分化程度、浸润深度、淋巴结转移、TNM 分期各组中的差异均具有统计学意义($\chi^2=5.662$, $P=0.017$; $\chi^2=4.932$, $P=0.026$; $\chi^2=16.284$, $P=0.000$; $\chi^2=7.650$, $P=0.006$); VEGF 表达在胃癌分化程度、浸润深度、淋巴结转移、TNM 分期各组中的差异亦具有统计学意义($\chi^2=5.510$, $P=0.019$; $\chi^2=10.415$, $P=0.001$; $\chi^2=9.532$, $P=0.002$; $\chi^2=15.215$, $P=0.000$)(表 2)。

2.3 u-PA 和 VEGF 在胃癌组织中表达的相关性分析

在 98 例胃癌组织中, u-PA 和 VEGF 同为阳性者 62 例, 同为阴性者 10 例, 二者在胃癌组织中的表达呈显著正相关($r_s=0.568$, $P=0.000$), 见表 3。

表 1 u-PA 和 VEGF 在胃癌组织和癌旁正常组织中的表达

Tab.1 Expression of u-PA and VEGF in gastric carcinoma and tumor-adjacent normal tissues

组别	例数 (n)	u-PA 表达			χ^2 值	P 值	VEGF 表达			χ^2 值	P 值
		阳性(n)	阴性(n)	阳性率(%)			阳性(n)	阴性(n)	阳性率(%)		
胃癌组织	98	76	22	77.6	48.483	<0.000 1	74	24	75.5	41.126	0.000
癌旁正常组织	30	2	28	6.7			3	27	10.0		

表 2 胃癌组织中 u-PA 和 VEGF 的表达与临床病理特征的关系

Tab.2 Relationship between clinicopathological characteristics and expressions of u-PA and VEGF in gastric cancer

临床病理特征	例数 (n)	u-PA 表达		χ^2 值	P 值	VEGF 表达		χ^2 值	P 值
		阳性 (n)	阳性率 (%)			阳性 (n)	阳性率 (%)		
分化程度									
高、中分化	45	30	66.7	5.662	0.017	29	64.4	5.510	0.019
低分化	53	46	86.8			45	84.9		
浸润深度									
达浆膜层	60	51	85.0	4.932	0.026	52	86.7	10.415	0.001
未达浆膜层	38	25	65.8			22	57.9		
淋巴结转移									
有转移	66	59	89.4	16.284	<0.000 1	56	84.8	9.532	0.002
无转移	32	17	53.1			18	56.3		
TNM 分期									
I + II	30	18	60.0	7.650	0.006	15	50.0	15.215	0.000
III + IV	68	58	85.3			59	86.8		

表 3 u-PA 和 VEGF 在胃癌组织中表达的相关性分析

Tab.3 Correlation between u-PA and VEGF in gastric carcinoma

u-PA	VEGF				r_s 值	P 值
	-	+	++	+++		
-	10	11	1	0	0.568	0.000
+	14	5	12	13		
++	0	1	7	10		
+++	0	1	7	6		

3 讨论

癌细胞侵袭的 3 步理论,即黏附、降解和运动。肿瘤侵袭和转移过程中的关键在于细胞外基质和基底膜的降解。u-PA 作用系统在细胞外基质和基底膜的降解、促进肿瘤侵袭和转移过程中起核心作用^[8],u-PA 是一种丝氨酸蛋白酶,能催化无活性的纤维蛋白溶酶原转化为纤维蛋白溶酶^[6],同时激活基质金属蛋白酶系统,与纤维蛋白溶酶一起促进细胞外基质和血管基质的降解,从而促进肿瘤的侵袭和转移^[9]。肿瘤的生长、浸润和转移均与肿瘤的血供密切相关^[10],VEGF 是血管内皮细胞的特异性有丝分裂原^[11],是恶性肿瘤细胞分泌的最重要的血管生成促进因子^[12],主要通过刺激血管内皮细胞的增殖、分化与迁移、增加微小血管的通透性及促进基质降解等机制来促进肿瘤的浸润与转移^[7]。

Tan 等^[8]与 Zhang 等^[13]研究报道 u-PA 的激活与恶性肿瘤的侵袭力有关,Beyer 等^[14]研究发现 u-PA 为胃癌的独立预后因素,Afonso 等^[15]研究发现 u-PA 在胃癌、肝癌、结肠癌、乳腺癌等多种恶性肿瘤中的表达均明显高于正常组织,并与患者的不良预后相关。本研究结果表明:在用免疫组化方法检测 98 例

胃癌组织中 u-PA 的表达水平时,u-PA 表达阳性率为 77.6%,显著高于癌旁正常组织的 6.7%,提示 u-PA 可能在胃癌的发生、发展过程中起重要作用,u-PA 的高表达可能成为胃癌早期诊断的重要分子生物学指标之一;本研究还发现 u-PA 的阳性表达率与胃癌分化程度、浸润深度、淋巴结转移、TNM 分期均有关,与 Kaneko 等^[16]的报道类似,其可能原因是高表达 u-PA 基因的癌细胞降解细胞外基质和基膜的能力增强,使这部分细胞更易向组织深层和脉管浸润,并发生远处转移,提示 u-PA 的过表达可反映胃癌的生物学行为,u-PA 可作为判断胃癌侵袭转移潜能的分子生物学指标。

Wu 等^[17]研究发现 VEGF 在正常人多种组织中不表达或少表达,而在恶性肿瘤组织中常过表达,并与多种肿瘤的转移及复发相关。本组资料中,VEGF 在胃癌组织中的总阳性率为 75.5%,显著高于癌旁正常组织中的 10%,与 Kut 等^[18]和 Lieto 等^[19]在报道胃癌组织中 VEGF 的高表达方面类似。VEGF 在人体多种正常组织中低表达,而在肿瘤组织中高表达,说明 VEGF 的表达与肿瘤的发生发展密切相关,其组织中的表达水平可作为胃癌进展状况的指标^[20]。Al-Moundhri 等^[21]研究报道,VEGF 在胃癌组织中呈高表达,并与病理学分级、淋巴结转移呈显著相关

性。Lee 等^[22]报道, VEGF 的表达与胃癌密切相关, 在胃癌的发生、发展和转移中起重要作用。本研究还发现胃癌分化程度不同, VEGF 的表达明显不同, 低分化者 (84.9%) 的阳性率明显高于中、高分化者 (64.4%); 浸润深度达浆膜层者 (86.7%) 明显高于未达浆膜层者 (57.9%); 有淋巴结转移者 (84.8%) 显著高于无淋巴结转移者 (56.3%); 随着临床 TNM 分期的增加, VEGF 在胃癌组织中的阳性表达率亦显著增加, I 期+II 期的阳性率 (50.0%) 明显低于 III+IV 期的阳性率 (86.8%)。此结果与 Onogawa 等^[23]的报道类似。本实验结果表明: 随着胃癌逐渐发展, VEGF 表达逐渐增强, 且与胃癌的分化程度、浸润深度、淋巴结有无转移及 TNM 分期相关, 提示检测胃癌组织中 VEGF 的表达水平可作为反应胃癌生物学行为及判断肿瘤侵袭转移能力的一个重要指标。

Kaneko 等^[16]报道了 u-PA 系统在肿瘤中与血管生成及 VEGF 表达的相关性。本实验结果显示: u-PA 与 VEGF 在胃癌组织中的表达呈正相关, 提示 u-PA 和 VEGF 在胃癌的浸润和转移过程中存在协同作用, 其机制可能是 VEGF 能增强 u-PA 在血管内皮细胞上的表达^[24]; 同时 u-PA 系统所导致的细胞外基质的降解为血管的生成提供了有利条件, 二者均可能成为胃癌分子治疗的新靶点, 联合检测 u-PA 和 VEGF 对胃癌的早期诊断、治疗和预后具有积极的指导作用。

参 考 文 献

- [1] Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics[J]. *CA Cancer J Clin*, 2011, 61(2): 69-90.
- [2] Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistics, 2009[J]. *CA Cancer J Clin*, 2009, 59(4): 225-249.
- [3] Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012[J]. *CA Cancer J Clin*, 2012, 62(1): 10-29.
- [4] Fernandez-Gomez J, Escal S, Gonzalez LO, et al. Relationship between metalloprotease expression in tumour and stromal cells and aggressive behaviour in prostate carcinoma: Simultaneous high-throughput study of multiple metalloproteases and their inhibitors using tissue array analysis of radical prostatectomy samples[J]. *Scand J Urol Nephrol*, 2011, 45(3): 171-176.
- [5] Parkin DM, Bray F, Ferlay J, et al. Global cancer statistics, 2002[J]. *CA Cancer J Clin*, 2005, 55(2): 74-108.
- [6] Zhao Y, Lyons CE Jr, Xiao A, et al. Urokinase directly activates matrix metalloproteinases-9: a potential role in glioblastoma invasion[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 369(4): 1215-1220.
- [7] Bose D, Meric-Bernstam F, Hofstetter W, et al. Vascular endothelial growth factor targeted therapy in the perioperative setting: implications for patient care[J]. *Lancet Oncol*, 2010, 11(4): 373-382.
- [8] Tan X, Egami H, Nozawa F, et al. Analysis of the invasion-metastasis mechanism in pancreatic cancer: involvement of plasmin(ogen) cascade proteins in the invasion of pancreatic cancer cells[J]. *Int J Oncol*, 2006, 28(2): 369-374.
- [9] Shariat SF, Roehrborn CG, McConnell JD, et al. Association of the circulating levels of the urokinase system of plasminogen activation with the presence of prostate cancer and invasion, progression, and metastasis[J]. *J Clin Oncol*, 2007, 25(4): 349-355.
- [10] Cook KM, Figg WD. Angiogenesis inhibitors: current strategies and future prospects[J]. *CA Cancer J Clin*, 2010, 60(4): 222-243.
- [11] Roskoski R Jr. Vascular endothelial growth factor (VEGF) signaling in tumor progression[J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2007, 62(3): 179-213.
- [12] Xu QB. Endothelial progenitor cells in angiogenesis[J]. *Journal of Physiology*, 2005, 57(1): 1-6.
- [13] Zhang H, Liu XF, Li YJ, et al. Epidermal growth factor-mediated NF-kappaB activation promotes uPA expression and invasiveness in pancreatic cancer cells[J]. *Chinese Journal of Oncology*, 2007, 29(12): 909-912.
- [14] Beyer BC, Heiss MM, Simon EH, et al. Urokinase system expression in gastric carcinoma: prognostic impact in an independent patient series and first evidence of predictive value in preoperative biopsy and intestinal metaplasia specimens[J]. *Cancer*, 2006, 106(5): 1026-1035.
- [15] Afonso J, Santos LL, Amaro T, et al. The aggressiveness of urothelial carcinoma depends to a large extent on lymphovascular invasion—the prognostic contribution of related molecular markers[J]. *Histopathology*, 2009, 55(5): 514-524.
- [16] Kaneko T, Konno H, Baba M, et al. Urokinase-type plasminogen activator expression correlates with tumor angiogenesis and poor outcome in gastric cancer[J]. *Cancer Sci*, 2003, 94(1): 43-49.
- [17] Wu TT, Wang JS, Jiann BP, et al. Expression of vascular endothelial growth factor in Taiwanese benign and malignant prostate tissues[J]. *J Chin Med Assoc*, 2007, 70(9): 380-384.
- [18] Kut C, Mac Gabhann F, Popel AS. Where is VEGF in the body? A meta-analysis of VEGF distribution in cancer[J]. *Br J Cancer*, 2007, 97(7): 978-985.
- [19] Lieto E, Ferraraccio F, Orditura M, et al. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and epidermal growth factor receptor (EGFR) is an independent prognostic indicator of worse outcome in gastric cancer patients[J]. *Ann Surg Oncol*, 2008, 15(1): 69-79.
- [20] Seo HY, Park JM, Park KH, et al. Prognostic significance of serum vascular endothelial growth factor per platelet count in unresectable advanced gastric cancer patients[J]. *Jpn J Clin Oncol*, 2010, 40(12): 1147-1153.
- [21] 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.
- [22] Lee SJ, Kim JG, Sohn SK, et al. No association of vascular endothelial growth factor-A (VEGF-A) and VEGF-C expression with survival in patients with gastric cancer[J]. *Cancer Res Treat*, 2009, 41(4): 218-223.
- [23] Onogawa S, Kitadai Y, Amioka, et al. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF)-C and VEGF-D in early gastric carcinoma: correlation with clinicopathological parameters[J]. *Cancer Lett*, 2005, 226(1): 85-90.
- [24] Prager GW, Breuss JM, Steurer S, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) induces rapid pro-urokinase (pro-uPA) activation on the surface of endothelial cells[J]. *Blood*, 2004, 103(3): 955-962.

(责任编辑:唐秋姗)