维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253－3626(2003)04－0473－04

VEGF、CD44v6 及 Ki67 在非小细胞肺癌组织中的表达

张桂蓉，梅同华

(重庆医科大学第二临床学院肺科，重庆 400010)

【摘 要】目的：为探讨血管内皮生长因子(VEGF)、淋巴细胞分化抗原(CD44v6)及细胞核增殖抗原(Ki67)在非小细胞肺癌(non－small cell lung carcinoma，NSCL)组织中的表达。方法：采用 SP 免疫组织化学方法观察 VEGF、CD44v6 及 Ki67 在 62 例 NSCLC 组织的表达。结果：VEGF、CD44v6 及 Ki67 在 NSCLC 组织中阳性表达率均明显高于癌旁正常组织，$P<0.01$，它们的表达与临床分期及有无淋巴结转移有明显相关，Ⅲ－Ⅳ期 NSCLC 组织中此 3 项指标均明显高于Ⅰ－Ⅱ期，有淋巴结转移组其阳性率明显高于无淋巴结转移组，$P<0.05$；VEGF、CD44v6 及 Ki67 阳性的患者 3 年生存率均明显低于阴性者。结论：通过这 3 个指标的检测，可以判断和预测 NSCLC 患者的预后及指导其临床治疗。

【关键词】VEGF；CD44v6；Ki67；非小细胞肺癌

【中国图书分类法分类号】R734 【文献标识码】A 【收稿日期】2002－07－04

The expressions of VEGF, CD44v6 and Ki67 in non－small cell lung carcinoma

ZHANG Guirong, et al

(*Department of Respiratory Disease, the Second College of Clinical Medicine, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate the expressions of VEGF, CD44v6 and Ki67 in non－small cell lung carcinoma. *Methods*: The expressions of VEGF, CD44v6 and Ki67 in NSCLC tissue of 62 cases were studied by immunohistochemical staining. *Results*: All the positive rates were higher than matched normal lung tissues, $P<0.01$. Their expressions were related to clinical stages and the metastasis of lymph nodes. The expression rates of the three markers in NSCLC with the metastasis of lymph nodes were higher than those without metastasis, and the expressions of the three markers in Ⅲ－Ⅳ stages were higher than those in Ⅰ－Ⅱ stages, $P<0.05$. Survival rates of three years were lower among those patients with the positive expressions of these three markers than those with the negative expressions, $P<0.05$. *Conclusion*: The expression testing of the three markers may help in prediction of prognosis and clinical guidance for NSCLC patients.

【Key words】VEGF; CD44v6; Ki67; Non－small cell lung carcinoma(NSCLC)

恶性肿瘤的生长、侵润和转移必需依赖于血管的形成、肿瘤细胞异常分裂增殖并穿过血管壁而进入血管外基质与基质发生粘附等多个环节。因此，寻找特异的血管形成因子、肿瘤细胞间及肿瘤细胞与细胞外基质间发生特异性结合及能反映肿瘤细胞异常分裂与增殖的标记物进行研究、探讨将为抑制肿瘤血管形成和抑制肿瘤细胞生长、转移提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 标本来源

标本取自于我院 1996 年 3 月至 2001 年 6 月期间的非小细胞肺癌(non－small cell lung carcinoma，NSCLC)手术患者，共 62 例，其中男性 38 例，女性 24 例，年龄 23～71 岁。病灶旁正常组织 20 例作为阴性对照，所取组织距病灶切端 5cm 以上。NSCLC 按 1997 年[1]的 TNM 分期方法进行分期，其中Ⅰ期 9 例，Ⅱ期 26 例，Ⅲ－Ⅳ期 27 例，无 0 期病例。按病理形态学分为：鳞状细胞癌 33 例，腺癌 29 例。对 1996 年 3 月至 1998 年 11 月手术切除的 43 例 NSCLC 患者随访生存时间。但其中 2 例因搬迁而失访，1 例死于车祸，仅对剩余 40 例随访生存时间和计算 3 年生存率。

1.2 抗体的来源

CD44v6、Ki67 一抗为鼠抗人单克隆抗体，VEGF 一抗为鼠抗人多克隆抗体，所有抗体均购自于福州迈新生物技术开发公司。

1.3 免疫组织化学染色和结果判断

采用 SP 免疫组织化学方法，用 PBS 液代替一抗作阴性

作者介绍：张桂蓉(1964－)，女，副主任医师，硕士，主要研究方向：肺癌的早期诊断。

维普资讯 http://www.cqvip.com

对照。3 个指标均以阳性细胞数目多少进行分级,参照江小丰[2]和田丽峰[3]的标准选 5 个肿瘤细胞高倍(×400)随机视野(每个视野计数 100 个细胞)计算着色细胞的平均数,VEGF、CD44v6 阳性主要在细胞浆或细胞膜着棕黄色,着色细胞比例<10%为(-),10%~30%(+),30%~70%(++),>70%(+++)。Ki67 阳性主要在细胞核着棕黄色,着色细胞比例<10%(-),10%~20%(+),20%~50%(++),>50%(+++)。

1.4 统计学方法

两因素间差异分析采用 χ^2 及 fisher 精确法检验。Kaplan-Meier 法计算生存率,用 log-rank 检验。$P<0.05$ 为有显著性差异。用 SAS 软件系统完成。

2 结 果

2.1 VEGF、CD44v6 及 Ki67 在正常组织及 NSCLC 组织中的表达

从表 1 可以看出这 3 个指标在 NSCLC 组织中和正常组织中的阳性表达均具有显著性差异,$P<0.005$。

表 1 3 个指标在正常组织及 NSCLC 组织中的表达

	总数	VEGF 阳性例数			阳性率	CD44v6 阳性例数			阳性率	Ki67 阳性例数			阳性率
		+	++	+++	%	+	++	+++	%	+	++	+++	%
NSCLC 组	62	7	12	26	72.6	8	11	24	69.4	10	13	27	80.6
正常组	20	2	0	0	10.0	1	0	0	5.0	0	0	0	0
χ^2				16.3				25				27	
P 值				<0.005				<0.005				<0.005	

表 2 3 个指标的表达情况与不同病理类型的关系

	总数	VEGF 阳性例数			阳性率	CD44v6 阳性例数			阳性率	Ki67 阳性例数			阳性率
		+	++	+++	%	+	++	+++	%	+	++	+++	%
鳞癌	33	4	6	16	78.8	5	6	10	63.6	6	8	13	81.8
腺癌	29	3	6	10	65.5	3	5	14	75.9	4	5	14	79.3
χ^2				1.3				0.78				0.067	
P 值				>0.05				>0.05				>0.05	

表 3 3 个指标的阳性表达情况与 NSCLC 生物学行为的关系

	总数	VEGF			CD44v6			Ki67		
		阳性例数	%	P	阳性例数	%	P	阳性例数	%	P
性别										
男	38	28	73.7	>0.05	26	68.4	>0.05	29	76.3	>0.05
女	24	17	70.8		17	70.8		21	87.5	
年龄										
<60 岁	25	18	72.0	>0.05	18	72.0	>0.05	21	84.0	>0.05
≥60 岁	37	27	73.0		25	67.6		29	78.4	
吸烟										
有	35	28	80.0	>0.05	25	71.4	>0.05	35	100	<0.05
无	27	17	63.0		18	66.7		15	55.6	
肿块直径										
<3cm	29	20	69.0	>0.05	21	72.4	>0.05	19	65.5	<0.05
≥3cm	33	25	75.8		22	66.7		31	93.9	
TNM 分期										
Ⅰ-Ⅱ期	35	21	60.0	<0.05	18	51.4	<0.05	24	68.6	<0.05
Ⅲ-Ⅳ期	27	24	88.9		25	92.6		26	96.3	
淋巴结转移										
有	50	40	80.0	<0.05	38	76.0	<0.05	44	88.0	<0.05
无	12	5	41.7		5	41.7		6	50.0	

维普资讯 http://www.cqvip.com

2.2 VEGF、CD44v6 及 Ki67 的表达情况与不同病理类型的关系

从表 2 可以看出：VEGF、CD44v6、Ki67 在鳞癌和腺癌组织中的表达无显著性差异，$P>0.05$。

2.3 VEGF、CD44v6 和 Ki67 的阳性表达情况与 NSCLC 生物学行为的关系

2.4 NSCLC 中 VEGF、CD44v6 及 Ki67 的表达情况与 3 年生存率之间的关系

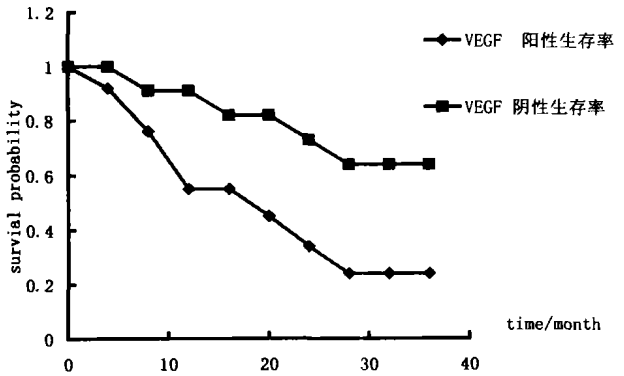


图 1 VEGF 阴性、阳性患者的 3 年生存率比较

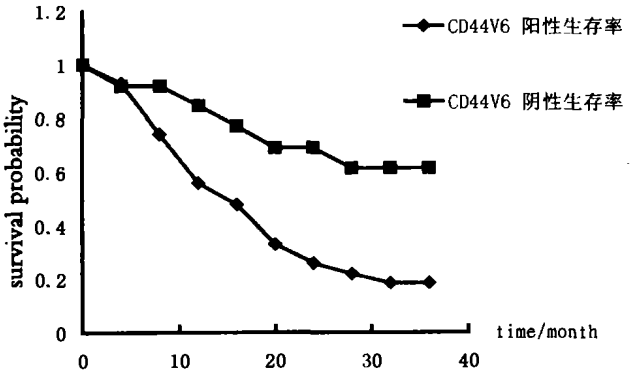


图 2 CD44v6 阴性、阳性患者的 3 年生存率比较

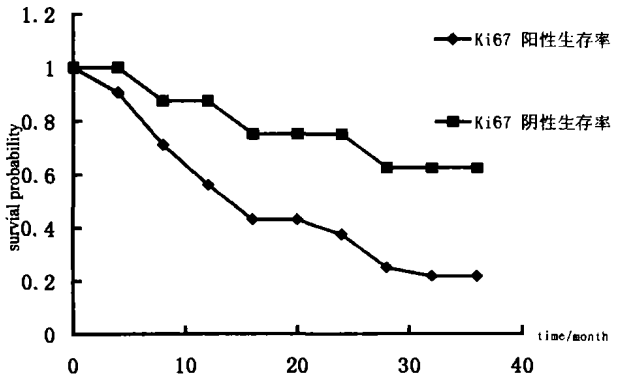


图 3 Ki67 阴性、阳性患者的 3 年生存率比较

3 讨 论

血管内皮生长因子(Vascular endothelial growth factor，VEGF)是一种特异性促使血管内皮细胞增殖的有丝分裂原，它是由多种亚型组成的多家族蛋白质，分子量为 34－42KD，有研究发现在部分实体肿瘤[4,5]中它由瘤细胞产生并分泌，作用于表达其受体的内皮细胞，从而诱导新血管生成，在肿瘤的生长、发展和转移过程中起着重要作用。本研究结果显示，VEGF 在 NSCLC 组织中表达的阳性率明显高于癌旁组织，表明 VEGF 表达与 NSCLC 的发生有着重要关系，本研究结果还显示，VEGF 的表达与 NSCLC 的病理类型无关，而与 NSCLC 的临床分期及淋巴结转移情况有关，Ⅲ－Ⅳ期患者的阳性表达率明显高于Ⅰ－Ⅱ期者，有转移组其阳性表达率明显高于无淋巴结转移组，差异均具有显著性，说明随着病情进展及淋巴结转移，VEGF 阳性表达率明显增加。同时还发现 VEGF 的阳性表达率与患者的年龄，性别、肿块大小及吸烟与否均无明显关系。VEGF 与 NSCLC 患者 3 年生存率的关系为：VEGF 阳性患者的 3 年生存率为 24.0%，VEGF 阴性者的 3 年生存率为 64.0%，二者之间差异具有显著性，此进一步证实 VEGF 表达是 NSCLC 预后不良的标志之一，可望成为今后抑制 NSCLC 生长和防治其淋巴结转移的生物靶点之一。

CD44 是一个多形性整合膜糖蛋白家族，至少由两个标准型 CD44(CD44s)分子和 14 种变异型 CD44(CD44v)分子组成，能与透明质酸、胶原蛋白、层粘连蛋白等多种配体结合，参与细胞与细胞、细胞与基质之间的特异性粘连，与细胞的迁移运动有关[6]。目前认为在 CD44v 的多种亚型中以 CD44v6 最具有代表性[7]。本研究结果显示，CD44v6 的阳性表达率仅与 TNM 分期及有无淋巴结转移有一定关系，与其他各项临床指标无相关性，说明随着病情进展，CD44v6 阳性表达率明显增高。此与 Tran[7] 等发现的 CD44v6 阳性的肿瘤，淋巴结转移危险性增高的结论是一致的。CD44v6 与 NSCIC 患者 3 年生存的关系是 CD44V6 阳性的患者 3 年生存率为 18.5%，阴性的患者 3 年生存率为 61.5%，两者之间差异具有显著性。说明 NSCLC 中、晚期病灶中的癌细胞具有更强的侵袭力和转移趋势，随着侵袭力和转移程度的增加，患者生存时间明显缩短。

为了更好地了解肿瘤细胞的生长及转移等生物学行为，还同时检测了表达在细胞核的另一项指标——增殖相关抗原 Ki67。Ki67 是一种与细胞密切相关的核抗原，存在于细胞周期的 G_1 后期，S、G_2、

维普资讯 http://www.cqvip.com

M 期,而不存在于静止的 G_0 期细胞,Ki67 的确切功能尚不完全清楚,但通过研究它的表达及在核内分布,认为它与细胞有丝分裂有关。本实验分析 Ki67 与 NSCLC 的关系发现,在 NSCLC 中 Ki67 的阳性表达率很高而在癌旁的正常组织无阳性表达,说明 NSCLC 的形成与细胞的异常增殖有关。它的阳性表达除与临床分期和有无淋巴结转移同样有关,与 NSCLC 患者的性别,年龄无相关性外,还与患者的吸烟及肿块大小有关,在吸烟组 Ki67 的阳性表达率高于不吸烟组,两组间差异有显著性,提示吸烟可能有持续激活并扩大细胞增殖性群落的作用。在肿块直径≥3cm 组的阳性表达率明显高于直径<3cm 组,可能是与处于增殖期的细胞数目较多有一定关系。同样,本实验也做了 Ki67 与患者 3 年生存率的比较,发现 Ki67 阳性的患者 3 年生存率为 21.8%,阴性的患者 3 年生存率为 62.5%。因此,通过检测 VEGF、CD44v6 及 Ki67 在 NSCLC 组织中的表达,可以预测患者的预后和制定较好的治疗方案,以提高 NSCLC 患者的 3 年生存率。

参 考 文 献

[1] Lababede o, Meziame MA, Rice TW. TNM staging of lung cancer: a quick reference chart[J]. Chest, 1999; 115: 223 - 235.

[2] 江晓丰,董强刚,冯久贤,等. 非小细胞肺癌组织中血管内皮生长因子表达与树状细胞分布的关系[J]. 肿瘤, 2000; 20: 25 - 27.

[3] 田丽峰. EGFR 和 Ki67 在胃不典型增生和胃癌中的表达及二者相关性[J]. 哈尔滨医科大学学报, 2001, 35: 116 - 118.

[4] Gasparini G, Toi M. Prognostic significance of vascular endothelial growth factor protein in nodenegative breast carcinoma[J]. J Natl Cancer, 1997; 79: 206 - 211.

[5] Inoue K, Oneki Y, Suganuma T, et al. Vascular endothelial growth factor express in primary esophageal squmous cell carcinoma[J]. Cell, 1997; 79: 206 - 211.

[6] 李 利. CD44v6 与肿瘤浸润、转移及预后[J]. 福建医科大学学报, 2000; 34(3): 315 - 317.

[7] Tran TA, Kallakury BV, Sheehan SB, et al. Expression of CD44 standard form and variant isoforms in non - small cell lung carcinoma[J]. Hum Pathology, 1997; 28: 809 - 814.

(上接第 453 页)

bone mass[J]. Cell, 2000; 100(2): 197 - 207.

[4] Martin - Romero C, Santos - Alvarez J, Goberna R, et al. Human leptin enhances activation and proliferation of human circulating T lymphocytes[J]. Cell Immunol, 2000; 199(1): 15 - 24.

[5] Kiess W, Reich A, Meyer K, et al. A role for leptin in sexual maturation and puberty? [J]. Horm. Res, 1999; 51(Suppl 3)55 - 63.

[6] Shimabukuro M, Wang MY, Zhou YT, et al. Protection against lipoapoptosis of beta cells through leptin - dependent maintenance of Bcl - 2 expression[J]. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1998; 95(20): 9558 - 9561.

[7] Halaas JL, Gajiwala KS, Maffei M, et al. Weight - reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene [J]. Science, 1995; 269(5223): 543 - 546.

[8] 刘先俊,刘方欣,漆洪波,等. 人瘦素在毕赤酵母中的表达及其分离纯化[J]. 重庆医科大学学报, 2002; 27(3): 250 - 252.

[9] 汪家政、范 明,主编. 蛋白质技术手册[M]. 北京:科学出版社, 2000; 77 - 101.

[10] 王会文,赵晓瑜. 甲醇酵母表达系统[J]. 生命的化学, 2000; 20(3): 271 - 273.

[11] Qi K, Jiang Z, Ding Z, et al. Cloning of Chinese obese cDNA and its expression in E. coli[J]. Chin Mecl J (Engl), 2000; 113(1): 44 - 48.

[12] Jeong KJ, Lee SY. High - level production of human leptin by fed - batch cultivation of recombinant Escherichia coli and its purification[J]. Appl Environ Microbiol, 1999; 65(7): 3027 - 3032.

[13] Altmann SW, Timans JC, Rock FL, et al. Expression and purification of a synthetic human obese gene product[J]. Protein Expr Purif, 1995; 6(6): 722 - 726.

[14] 吴丽金,陈宇光. 包含体内重组蛋白质的复性[J]. 生命的化学, 2001; 21(4): 315 - 318.