

血管内皮生长因子和 Ki-67 在人脑星形细胞瘤中的表达及相关性

廖志东 谢寿城 匡亚玲

【摘要】 目的 研究血管内皮生长因子(VEGF)和 Ki-67 抗原在人脑星形细胞瘤中的表达及二者的相关性。方法 应用免疫组化 S-P 法检测 30 例正常脑组织和 60 例人脑星形细胞瘤(I~II 级 28 例, III 级 20 例, IV 级 12 例)中 VEGF 和 Ki-67 的表达。结果 VEGF 和 Ki-67 在正常脑组织中均不表达,而在各级别的人脑星形细胞瘤中均有表达,差异有统计学意义($P<0.05$)。VEGF 和 Ki-67 的表达在高级别星形细胞瘤中均明显高于低级别星形细胞瘤,差异均有统计学意义($P<0.05$),且 VEGF 与 Ki-67 的表达呈正相关($r=0.310, P<0.05$)。结论 VEGF 和 Ki-67 的表达可为人脑星形细胞瘤的恶性程度和临床病理分级提供重要的依据。

【关键词】 星形细胞瘤; 血管内皮生长因子; Ki-67

【中图分类号】 R730.264 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-8925(2009)08-0817-03

Expression and correlation of vascular endothelial growth factor and Ki-67 antigen in human brain astrocytoma LIAO Zhi-dong*, XIE Shou-cheng*, KUANG Ya-ling. *Department of Pathology, Meizhou People's Hospital, Meizhou 514000, China

【Abstract】 Objective To study the expressions of vascular endothelial growth factor (VEGF) and Ki-67 antigen and their correlation in human brain astrocytoma. **Methods** Immunohistochemistry with SP method was employed to detect the expressions of VEGF and Ki-67 in 60 human brain astrocytoma tissue (grade I - II 28 cases, grade III 20 cases, grade IV 12 cases) and 30 normal tissues adjacent to the tumors. **Results** VEGF and Ki-67 were not expressed in the normal brain tissues adjacent to the astrocytoma, but their expressions were detected in all the astrocytoma tissues of different grades ($P<0.05$). High-grade astrocytomas showed significantly higher VEGF and Ki-67 expression than low-grade astrocytomas ($P<0.05$), and a positive correlation was noted between VEGF and Ki-67 expressions ($r=0.310, P<0.05$). **Conclusion** VEGF and Ki-67 expressions can provide important evidence for evaluating the malignancy and clinicopathological grading of human astrocytoma.

【Key words】 Astrocytoma; Vascular endothelial growth factor; Ki-67

星形细胞瘤在神经胶质瘤中最为常见,常呈浸润性生长,一般恶性度不高,生长缓慢,但有明显的恶变趋势。血管内皮生长因子(VEGF)是新生血管形成过程中重要的介质,在多种肿瘤的血管生成、浸润、转移中起重要作用。Ki-67 是一种核蛋白抗原,多用于判断肿瘤的良恶性及良恶性程度,也用于探讨细胞增殖活性、细胞周期与肿瘤生长方式、侵袭方式、复发转移等生物学行为及预后的关系^[1,2]。本研究通过对 60 例星形细胞瘤标本的免疫组化研究,探讨 VEGF 和 Ki-67 在脑形细胞瘤中的表达及其相关性,以及其临床病理意义。

材料与方法

一、材料

选取梅州市人民医院自 2006 年 1 月至 2009 年 1 月手术切除的星形细胞瘤标本 60 例,年龄 7~72 岁,平均 38.63 岁。按照 WHO(2000 年)胶质瘤分级标准为 I~II 级 28 例, III 级 20 例, IV 级 12 例,全为原发性。对照组为 30 例同期行脑外伤颅内高压减压术取出的正常脑组织。鼠抗人 VEGF 和 Ki-67 单克隆抗体均购自福州迈新生物技术公司。

二、方法

标本放置于 40 g/L 甲醛固定 12 h,常规脱水、透明,石蜡包埋,4 μm 连续切片。抗原修复:采用 1 mol/L EDTA 抗原修复液(pH9.0),高温高压抗原修复法,修复 20 min,室温自然冷却,常规处理切片备

用。免疫组化染色;按试剂盒说明逐步进行免疫组化染色,苏木素对比复染、脱水、透明、中性树胶封片。以 PBS 代替一抗为阴性对照,以已知阳性片为阳性对照。

三、结果判定标准

VEGF 免疫组化染色以胞质染色呈棕黄色或棕褐色者为阳性反应细胞;VEGF 表达强度根据阳性物质着色深浅及面积判定结果。VEGF 表达强度的判断:综合阳性表达的颜色深浅和范围,将表达强度分为 4 级,“-”表示没有阳性表达、极弱的显色甚至不能确定的表达或极少分布的阳性表达;“+”表示阳性表达,呈分布较广的浅黄色、较局限的黄色或局限的棕黄色;“++”表示明显阳性表达,呈分布较广的黄色、较局限的棕黄或棕褐色;“+++”表示极明显阳性表达,呈弥漫分布的黄色或较广的棕黄或棕褐色。Ki-67 免疫组化染色以胞核染色呈棕黄色者为阳性反应细胞,选择标记良好的区域观察 10 个高倍视野,计算阳性细胞所占百分比即为 Ki-67 标记指数,其中以不表达为阴性,表达小于 25%为阳性“+”,表达在 25%~50%为中阳性“++”,表达大于 50%为强阳性“+++”。

四、统计学方法

采用 SPSS11.0 统计软件,等级资料的比较采用 Kruskal-Willis H 检验,VEGF 和 Ki-67 相关性分析采用 Pearson 相关分析,以 P≤0.05 为差异有统计学意义。

结 果

一、星形细胞瘤中 VEGF 的表达

VEGF 主要在胞质表达,阳性细胞呈片状或散在分布(图 1),表达结果分析见表 1。60 例标本中 VEGF 表达的阳性率为 65%(39/60),30 例正常脑组织中无表达。VEGF 在 I~II、III、IV 级星形细胞瘤中阳性标本表达率分别为 46.4%、80.0%、83.3%,各级别之间阳性率比较差异有统计学意义 (P<0.05),从平均秩次判断,级别越高的星形细胞瘤中 VEGF 的

阳性率越高。

二、星形细胞瘤中 Ki-67 的表达

Ki-67 主要在细胞核中表达,阳性细胞呈点状、散在分布(图 2),表达结果分析见表 2。60 例标本中 Ki-67 表达的阳性率为 87%(49/60),30 例正常脑组织中无表达。Ki-67 在 I~II、III、IV 级星形细胞瘤中阳性标本表达率分别为 71.4%、85.0%、100%,各级别之间阳性率比较差异有统计学意义(P<0.05),从平均秩次判断,级别越高的星形细胞瘤中 Ki-67 的阳性率越高。

三、星形细胞瘤中 VEGF 和 Ki-67 表达的相关性分析

星形细胞瘤细胞中 Ki-67 标记指数随肿瘤级别增高而增高。VEGF 的表达与 Ki-67 标记指数呈高度正相关关系(r=0.310,P<0.05),Ki-67 标记指数越高,VEGF 表达越强。

表 1 VEGF 在各级星形细胞瘤中的表达

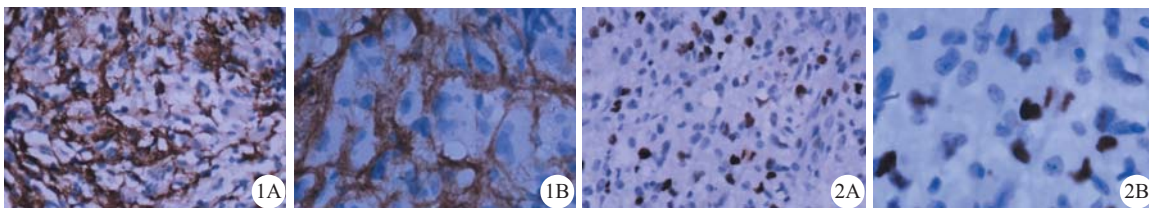
Tab.1 Expression of VEGF in brain astrocytomas of different grades

级别	例数	阳性数(%)	表达强度				平均秩次
			-	+	++	+++	
I~II 级	28	13(46.4%)	15	10	2	1	22.25
III 级	20	16(80.0%)	4	7	6	3	35.25
IV 级	12	10(83.3%)	2	2	3	5	41.83
χ ² 值							13.952
P 值							0.001

表 2 Ki-67 在各级星形细胞瘤中的表达

Tab.2 Expression of Ki-67 in brain astrocytomas of different grades

级别	例数	阳性数(%)	表达强度				平均秩次
			-	+	++	+++	
I~II 级	28	20(71.4%)	8	14	4	2	23.04
III 级	20	17(85.0%)	3	6	6	5	33.88
IV 级	12	12(100%)	0	3	4	5	42.29
χ ² 值							12.357
P 值							0.002



1A:×200,1B:×400;2A:×200,2B:×400

图 1 VEGF 在星形细胞瘤中的表达(SP 法) 图 2 Ki-67 在星形细胞瘤中的表达(SP 法)

Fig.1 Immunohistochemistry for VEGF expression in brain astrocytomas (SP) Fig.2 Immunohistochemistry for Ki-67 expression in brain astrocytomas(SP)

讨 论

既往一些研究显示:(1)肿瘤中 VEGF 的表达升高与肿瘤血管密度和恶性程度呈正相关;(2)体外实验证实 VEGF 的表达直接影响肿瘤血管的生成和肿瘤的生长速度^[3,4]。脑星形细胞瘤呈高度血管增殖,血管内皮增生所致的新生血管形成已成为脑星形细胞瘤分级的标准之一。星形细胞瘤中常富含血管,新生血管形成和(或)血管内皮的增生是恶性星形细胞瘤一个非常典型的病变特征。星形细胞瘤的血管内皮增生随恶性程度增加而明显增加,在低级别(WHO I~II)与高级别(WHO III~IV)的患者中,VEGF 的表达差异具有重要意义。

Ki-67 抗原是存在于增殖细胞核的一种非组蛋白性核蛋白,其表达随细胞周期不同时相而不同,与其他反映细胞增殖的指标不同,Ki-67 抗原半衰期短,细胞脱离增殖周期后降解快,更加能够反映肿瘤细胞的增殖活性、恶性程度以及判断患者的预后^[5-7]。

本组实验结果表明:在各级别星形细胞瘤中,VEGF、Ki-67 的表达均随肿瘤的级别增高而增高。该结果说明 VEGF 和 Ki-67 在星形细胞瘤的发生及恶性进展中起到重要的作用。另外,VEGF 蛋白的表达和 Ki-67 表达呈正相关;出现两者异常改变者多为 III~IV 级星形细胞瘤,且与 I~II 级星形细胞瘤和正常脑组织比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。提示 VEGF 和 Ki-67 的过表达,特别是两者同时呈异常表达时,可能有协同和促进星形细胞瘤恶性发展的作用。

目前,一般手术切除并不能完全把星形细胞瘤

切除干净,对于这种情况,术后辅以放疗和化疗可以提高患者生存率。但是,星形细胞瘤仍然是高复发性、伴恶性进展的肿瘤,预后非常差。故科研人员需要探索这种疾病的基本病理情况和分子水平情况,以期得到更好的、更有效的治疗方法。本研究表明 VEGF 和 Ki-67 在星形细胞瘤中的过表达与其恶性程度有着密切相关的联系,它们能够促进肿瘤血管的新生,与肿瘤生长增殖相关。对于这样的提示,可以根据肿瘤的恶性程度和病理分级的高低指导临床手术切除后,在放化疗方面应用抑制血管增生和肿瘤增殖的各种手段来减少复发和延缓恶性变,从而提高治疗效果,提高患者生存率。

参 考 文 献

- [1] Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown[J]. *J Cell Physiol*, 2000, 182(3): 311-322.
- [2] 黎军, 孙炜. Ki-67 抗原在复发性垂体腺瘤中的表达研究[J]. *中国临床神经外科杂志*, 2003, 8(5): 124-126.
- [3] Zhang W, DeMattia JA, Song H, et al. Communication between malignant glioma cells and vascular endothelial cells through gap junctions[J]. *J Neurosurg*, 2003, 98(4): 846-853.
- [4] 董伦, 浦佩玉, 王虎, 等. 胶质瘤中 EGFR 扩增、过表达及其与肿瘤增殖关系的研究[J]. *中华神经医学杂志*, 2005, 4(12): 1204-1207
- [5] Schroder R, Feisel KD, Ernestus RI. Ki-67 labeling is correlated with the time to recurrence in primary glioblastomas [J]. *J Neurooncol*, 2002, 56(2): 127-132.
- [6] Kayaselcuk F, Zorludemir S, Gumurduhu D, et al. PCNA and Ki-67 in central nervous system tumors: correlation with the histological and grade[J]. *J Neurooncol*, 2002, 57(2): 115-121.
- [7] 丁涟沭, 刘道坤, 邓传宗, 等. 幕上星形细胞肿瘤 Ki-67 抗原表达及其预后作用[J]. *中华神经医学杂志*, 2004, 3(5): 334-336.

(收稿日期:2009-04-26)

(本文编辑:卢丽玉)