

DOI:10.3724/SP.J.1008.2008.00404

神经生长因子及其受体在胰腺癌组织中的表达及其临床意义

竹锡锋¹, 刘 瑞^{1*}, 金 刚¹, 胡先贵¹, 郑建明²

1. 第二军医大学长海医院普外三科, 上海 200433

2. 第二军医大学长海医院病理科, 上海 200433

[摘要] **目的:** 研究神经生长因子(NGF)及其受体 P75NGFR 和 TrkA 在胰腺癌组织中的表达及其与临床病理学指标间的关系。**方法:** 采用免疫组化技术检测 NGF、P75NGFR 和 TrkA 在 65 例胰腺癌、18 例癌旁正常胰腺及慢性胰腺炎组织中的表达和分布, 并分析其表达与临床病理学指标间的关系。**结果:** NGF 及 TrkA 在胰腺癌组织中的表达较癌旁正常胰腺及慢性胰腺炎组织高; 而 P75NGFR 的表达无显著性差异。NGF 的表达与肿瘤大小密切相关, 与淋巴结转移也有关; 而 P75NGFR 和 TrkA 两者的表达只与淋巴结转移密切相关。NGF 的表达与胰腺癌组织学分型、肿瘤分期、肿瘤大小、淋巴结转移都有关, 而与肿瘤大小的关系最为密切; P75NGFR 的表达仅与淋巴结转移有关; 而 TrkA 的表达与淋巴结转移和肿瘤分期有关。淋巴结转移和 TrkA 的阳性表达与预后密切相关。**结论:** NGF、P75NGFR 和 TrkA 在胰腺癌的发展中有一定的作用, TrkA 与胰腺癌的关系尤为密切, 可作为重要的靶标分子用于胰腺癌的基因治疗。

[关键词] 胰腺肿瘤; 神经生长因子; P75NGFR; TrkA**[中图分类号]** R 735.9 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2008)04-0404-04

Expression of nerve growth factor and nerve growth factor receptor in human pancreatic cancer and its clinical significance

ZHU Xi-feng¹, LIU Rui^{1*}, JIN Gang¹, HU Xian-gui¹, ZHENG Jian-ming²

1. Third Department of General Surgery, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

2. Department of Pathology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433

[ABSTRACT] **Objective:** To explore the expression of nerve growth factor (NGF), its receptor P75NGFR and TrkA in the human pancreatic cancer tissues, and to study the relationship between the expression and clinical-pathological indices. **Methods:** The expression and morphological distribution of NGF, P75NGFR and TrkA were investigated in 65 pancreatic cancer tissues and 18 normal pancreas and chronic pancreatitis tissues by means of immunohistochemistry; the relationship between the expression and clinical-pathological indices was also investigated. **Results:** The expression of NGF and TrkA in human pancreatic cancer tissues was higher than that in the normal pancreas and chronic pancreatitis. Expression of P75NGFR had no significant change in the two groups. The expression of NGF was positively correlated with tumor size and was also associated with lymphatic invasion. The expression of P75NGFR and TrkA was closely correlated with lymphatic invasion. We also found that the expression of NGF was correlated with histological differentiation, tumor stage, tumor size and lymphatic invasion; the closest relationship was found between the expression of NGF and tumor size. The expression of P75NGFR was correlated with lymphatic invasion, the expression of TrkA was correlated with both lymphatic invasion and tumor TNM stage. Patient's prognosis after surgery was mainly correlated with lymphatic invasion and the positive expression of TrkA. **Conclusion:** NGF, P75NGFR and TrkA participate in the progress of pancreatic cancer. TrkA is closely related to pancreatic cancer and can serve as an important target for gene therapy of pancreatic cancer in the future.

[KEY WORDS] pancreatic neoplasms; nerve growth factor; P75NGFR; TrkA

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2008, 29(4):404-407]

[收稿日期] 2007-07-29 **[接受日期]** 2008-02-24**[基金项目]** 全军“十一五”科技攻关国际合作项目(06H016)。Supported by the “Eleventh-Five-Year” International Collaboration Project for Tackling Key Problems in Science and Technology of PLA(06H016).**[作者简介]** 竹锡锋, 硕士, 主治医师, E-mail: zhuxifeng@sina.com

* 通讯作者(Corresponding author). Tel: 021-25072074, E-mail: huangliur@163.com

胰腺癌恶性程度高,预后差,5年生存率很低,究其原因主要是由于它特殊的生物学行为,即高侵袭性和高转移率,其中以神经浸润发生率最高,有文献报道胰腺癌神经浸润率达64%~100%^[1]。因此,深入探讨胰腺癌侵袭转移的分子生物学机制,对预防胰腺癌的侵袭转移、提高患者预后具有重要的意义。

神经生长因子(NGF)是一类发现最早、研究最为透彻的神经营养因子,目前研究表明,NGF及其受体P75NGFR和TrkA在肿瘤的发展及预后评估等方面具有重要作用^[2-3]。

本研究通过收集83例胰腺标本,其中胰腺癌组织标本65例,癌旁正常胰腺及慢性胰腺炎组织标本18例,应用免疫组化方法检测胰腺癌、癌旁正常胰腺及慢性胰腺炎组织中NGF、P75NGFR和TrkA的表达和分布,并结合临床资料,分析NGF、P75NGFR和TrkA在胰腺癌组织中的表达与胰腺癌临床病理学指标间的关系,以明确NGF、P75NGFR和TrkA在胰腺癌发展中的作用及其临床意义。

1 材料和方法

1.1 取材 83例胰腺标本均取自2003~2005年间第二军医大学长海医院手术切除标本,其中,胰腺癌组织标本65例,癌旁正常胰腺及慢性胰腺炎组织标本18例。胰腺癌病理类型按2000年WHO胰腺外分泌肿瘤组织学分型,其中腺鳞癌、黏液性囊腺癌共计5例,其余均为经典导管腺癌。按Bloom-Richardson评分标准进行组织学分级:I级(高分化),II级(中分化),III级(低分化)。男性50例,女性33例,男女之比1.52:1。年龄为33~83岁,中位年

龄60岁。65例胰腺癌标本中,肿瘤部位:48例发生在胰头,17例发生在胰体尾及全胰;肿瘤大小:肿瘤最大直径 ≤ 2 cm者12例,大于2 cm小于5 cm者43例, ≥ 5 cm者10例。其中56例标本有神经浸润,35例标本有淋巴结转移,3例标本有远处转移,60例患者已经死亡,5例患者仍存活。

1.2 试剂 NGF单克隆抗体、P75NGFR单克隆抗体以及EnVision通用试剂盒均购自上海长岛公司;而TrkA多克隆兔抗人抗体购自ADI抗体公司。

1.3 免疫组织化学方法 4 μ m厚石蜡切片常规脱蜡,水化组织切片,然后行抗原修复:将切片浸入0.01 mol/L、pH 6.0的柠檬酸盐缓冲液中,水浴锅煮20 min,冷却后置入PBS液洗 3×3 min,加入一抗(P75 1:100, TrkA 1:50, NGF 1:100),4 $^{\circ}$ C过夜,再用PBS洗 3×3 min,然后再加入二抗(EnVision法)试剂,37 $^{\circ}$ C、30 min后,用PBS液洗 3×3 min, DAB显色10 min,最后苏木精衬染、分化、蓝化、脱水、树脂封片。

1.4 统计学处理 所得数据用SPSS 11.0软件的 χ^2 检验、最优尺度回归法和Cox生存分析模型等进行处理,检验水准为 $\alpha=0.05$ 或 $\alpha=0.10$ 。

2 结果

2.1 NGF、TrkA和P75NGFR在胰腺癌、癌旁正常胰腺及慢性胰腺炎组织中的表达差异 胰腺癌组织中NGF阳性表达最常见于细胞胞质(图1A)。其中,65例胰腺癌中41例(63.1%)NGF表达阳性,18例癌旁正常胰腺及慢性胰腺炎组织中只有6例NGF表达阳性(33.3%),两者差异有统计学意义($\chi^2=5.1, 0.01 < P < 0.05$)。

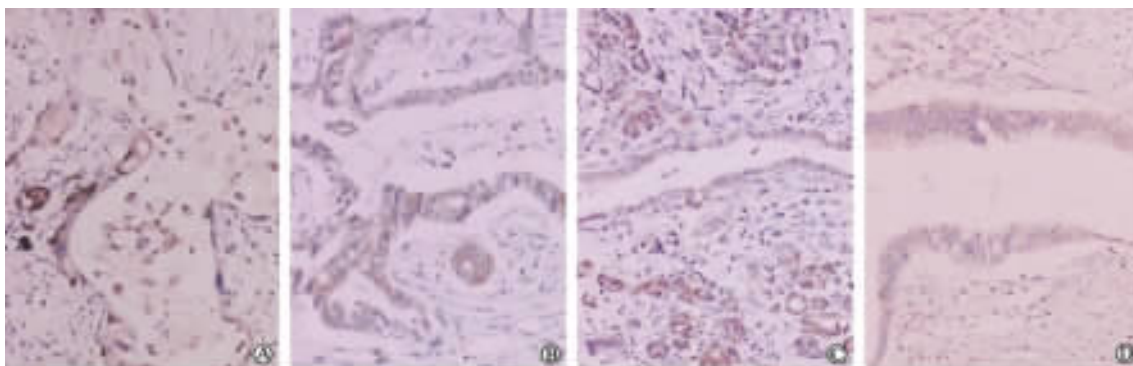


图1 NGF、TrkA和P75NGFR在胰腺癌组织中的阳性表达

Fig 1 Positive expression of NGF, TrkA and P75NGFR in human pancreatic cancer (EnVision)

A: Moderately differentiated duct adenocarcinoma of pancreas, NGF was expressed in the endochylema; B: Moderately differentiated duct adenocarcinoma of pancreas, TrkA was expressed in the endochylema; C: TrkA was weekly positive in acinous cells and conduction cell epithelium in the tissues of latero-cancer pancreas; D: Moderately differentiated duct adenocarcinoma of pancreas, P75NGFR was weekly positive in the endochylema and cell membrane. Original magnification: $\times 400$

TrkA 免疫反应阳性信号分布于胞质胞膜(图 1B)及腺泡细胞和小导管上皮细胞(图 1C)。其中, 65 例胰腺癌中 39 例(60%) TrkA 表达阳性, 18 例癌旁正常胰腺及慢性胰腺炎组织中只有 6 例 TrkA 表达阳性(33.3%), 两者差异有统计学意义($\chi^2 = 4.0, 0.01 < P < 0.05$)。

胰腺癌组织切片中 P75NGFR 阳性表达常见于胞质胞膜(图 1D)。其中, 65 例胰腺癌中 20 例(30.8%) P75NGFR 表达阳性, 18 例癌旁正常胰腺及慢性胰腺炎组织中只有 2 例 P75NGFR 表达阳性(11.1%), 两者差异没有统计学意义($\chi^2 = 1.9, P > 0.05$)。

2.2 NGF、P75NGFR 和 TrkA 在 65 例胰腺癌组织中的表达及其与胰腺癌各临床病理学指标间的关系 使用单因素 χ^2 检验处理显示, NGF、P75NGFR 和 TrkA 在胰腺癌组织中的表达与性别、年龄、组织

学分型、肿瘤部位、肿瘤分期、神经浸润及远处转移均无相关性($P > 0.05$), 但 NGF 在胰腺癌组织中的表达与肿瘤大小密切相关($P = 0.010$), 与淋巴结转移也有关($P = 0.065$), 而 P75NGFR 和 TrkA 两者在胰腺癌组织中的表达只与淋巴结转移有关(P 值分别为 0.018、0.020), 而与肿瘤大小无关。进一步使用多因素最优尺度回归法处理显示: NGF 在胰腺癌组织中的表达与组织学分型、肿瘤分期、肿瘤大小、淋巴结转移有关(P 值分别为 0.040、0.045、0.002、0.064); 但 P75NGFR 在胰腺癌组织中的表达仍仅与淋巴结转移有关($P = 0.074$); 而 TrkA 在胰腺癌组织中的表达与淋巴结转移和肿瘤分期都有关(P 值分别为 0.011、0.063), 如表 1 所示。而进一步由 Cox 生存分析模型得出, 胰腺癌患者术后生存率主要与淋巴结转移和 TrkA 的表达有关(P 值分别为 0.053、0.097)。

表 1 NGF、P75NGFR、TrkA 的表达与临床病理学指标间的关系

Tab 1 Relationship of NGF, P75NGFR and TrkA expression with clinical-pathological indices

Clinical-pathological indices	χ^2 test <i>P</i> value			Optimal Scaling <i>P</i> value		
	NGF	P75NGFR	TrkA	NGF	P75NGFR	TrkA
Sex	0.134	0.153	0.721	0.220	0.303	0.901
Age	0.583	0.758	0.792	0.749	0.799	0.353
Histological differentiation	0.824	0.151	0.910	0.040	0.110	0.228
Tumor site	0.379	0.814	0.281	0.174	0.905	0.377
Neural invasion	0.458	0.477	0.210	0.497	0.860	0.134
Lymphatic invasion	0.065	0.018	0.020	0.064	0.074	0.011
Tumor size	0.010	0.568	0.616	0.002	0.718	0.269
Tumor stage	0.231	0.455	0.114	0.045	0.428	0.063
Distant metastasis	0.497	0.687	0.394	0.797	0.736	0.313

3 讨论

3.1 NGF、P75NGFR 和 TrkA 在胰腺癌、癌旁正常胰腺及慢性胰腺炎组织中的表达 胰腺癌神经浸润发生率高, 侵犯神经的癌细胞可以沿神经纤维扩散到远离瘤体的神经节, 在此处形成转移结节是导致胰腺癌术后复发的根本原因^[4]。然而胰腺癌神经浸润的发生机制至今尚不清楚。近年从细胞生物学角度来分析胰腺癌嗜神经生长的机制, 研究^[5-6]发现, NGF 和 TrkA 与胰腺癌神经浸润的关系十分密切, 由胰腺癌肿瘤细胞产生的 NGF 与胰周神经束膜细胞大量表达的相关抗体 TrkA 间存在相互作用, 为癌细胞与神经组织的结合提供了某种驱动力。本研究发现, 胰腺癌组织中 NGF 和 TrkA 表达的阳性率明显高于癌旁正常胰腺和慢性胰腺炎组织, 说明 NGF 及其高亲和力受体 TrkA 的表达水平与胰腺

癌发生、发展及分化程度都有较密切的关系, 是反映胰腺癌进展情况、生物学行为和预后的重要标记物, 其结果与国外文献报道^[5]一致; 但 NGF 和 TrkA 在正常胰腺和慢性胰腺炎组织中表达的意义尚不十分清楚, 可能与生长调节有关。另外, 本研究还发现, 虽然在 65 例胰腺癌组织中神经浸润的阳性率达到 83.9%, 但 NGF、P75NGFR 和 TrkA 在胰腺癌组织中的表达与胰腺癌神经浸润都没有显著相关性, 与部分资料报道不符, 这主要与胰腺癌胰内神经浸润阳性率较高有关, 也不排除与本研究样本量较少有关。

3.2 NGF、P75NGFR 和 TrkA 在 65 例胰腺癌组织中的表达与胰腺癌各临床病理学指标间的关系 NGF、P75NGFR 和 TrkA 与胰腺癌各临床病理学指标间的关系有多组报道, 但结果不尽一致。有人认为与肿瘤的大小、组织学分级、神经浸润、淋巴结

转移、血管侵犯等均密切相关,有人认为只与肿瘤的预后有关^[7-10]。本研究结果显示,若从单因素来考虑,NGF、P75NGFR和TrkA在胰腺癌组织中的表达与患者的性别、年龄、组织学分型、肿瘤部位、肿瘤分期、神经浸润及远处转移均无相关性($P>0.05$),但NGF在胰腺癌组织中的表达与肿瘤大小和淋巴结转移有关(P 值分别为0.010、0.065)。而P75NGFR和TrkA两者在胰腺癌组织中的表达只与淋巴结转移有关(P 值分别为0.018、0.020),与肿瘤大小无关。若从多因素来考虑,则NGF在胰腺癌组织中的表达与组织学分型、肿瘤分期、肿瘤大小、淋巴结转移都有关(P 值分别为0.040、0.045、0.002、0.064),其中,NGF的表达与肿瘤大小间关系最为密切,这说明,在本研究结果看来,主要是肿瘤的大小决定了NGF在胰腺癌组织中表达的量的多少,胰腺癌患者肿瘤越大,NGF表达的量越多,恶性程度越高,嗜神经性越强,越容易发生淋巴结转移,预后越差,这也从一个侧面说明NGF在胰腺癌的发展中起着重要的作用;而P75NGFR在胰腺癌组织中的表达仍仅与淋巴结转移这个临床病理学指标有关($P=0.074$);TrkA在胰腺癌组织中的表达与淋巴结转移和肿瘤分期都有关(P 值分别为0.011、0.063)。

本研究发现,NGF、P75NGFR、TrkA在胰腺癌组织中的表达都与淋巴结转移有关(P 值分别为0.064、0.074、0.011),另外,淋巴结转移还与胰腺癌患者的预后密切相关($P=0.053$),因此,根据本研究结果可以认为,淋巴结转移是评估胰腺癌患者的一个重要指标。本研究还发现,除了淋巴结转移与胰腺癌患者的预后密切相关外($P=0.053$),TrkA的表达与胰腺癌患者的预后也密切相关($P=0.097$),与先前部分资料报道相符。这说明,同其他恶性肿瘤一样,TrkA的表达与胰腺癌的生长、侵袭和转移也密切相关,它在胰腺癌组织中呈阳性表达,提示预后不良。这也提示,临床上可以通过检测胰腺癌患者TrkA的表达水平来判断胰腺癌患者的预后,并且,还可以把TrkA作为一个重要的靶标分子,用于胰腺癌的基因治疗。在不久的将来,有望通过抑制TrkA在胰腺癌组织中的表达及阻断TrkA和NGF结合并发生作用,来部分地抑制胰腺癌的神

经浸润,并进而达到改善胰腺癌患者预后乃至最终治愈胰腺癌的目的。

(志谢 本研究统计学处理部分得到第二军医大学卫生勤务学系统统计学教研室孟虹副教授的无私帮助,在此表示感谢!)

[参考文献]

- [1] 胡先贵. 胰腺癌的神经侵犯和外科处理[J]. 外科理论和实践, 2005,10:210-211.
- [2] Okada Y, Eibl G, Guha S, Duffy J P, Reber H A, Hines O J. Nerve growth factor stimulates MMP-2 expression and activity and increases invasion by human pancreatic cancer cells[J]. Clin Exp Metastasis, 2004, 21:285-292.
- [3] Tokusashi Y, Asai K, Tamakawa S, Yamamoto M, Yoshie M, Yaginuma Y, Miyokawa N, et al. Expression of NGF in hepatocellular carcinoma cells with its receptors in non-tumor cell components [J]. Int J Cancer, 2005, 114:39-45.
- [4] 祝为桥, 纪祥瑞, 周福亭, 李宁毅. 涎腺腺样囊性癌组织中神经生长因子及其受体的表达[J]. 现代口腔医学杂志, 2003, 17: 104-108.
- [5] Zhu Z W, Friess H, diMola F F, Zimmermann A, Graber H U, Korc M, et al. Nerve growth factor expression correlates with perineural invasion and pain in human pancreatic cancer[J]. Clin Oncol, 1999, 17:2419-2428.
- [6] Kishibe K, Yamada Y, Ogawa K. Production of nerve growth factor by mouse hepatocellular carcinoma cells and expression of TrkA in tumor-associated arteries in mice[J]. Gastroenterology, 2002, 122:1978-1986.
- [7] Takahashi S, Hasebe T, Oda T, Sasaki S, Kinoshita T, Konishi M, et al. Extra-tumor perineural invasion predicts postoperative development of peritoneal dissemination in pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. Anticancer Res, 2001, 21(2B):1407-1412.
- [8] Yi S Q, Miwa K, Ohta T, Kayahara M, Kitagawa H, Tanaka A, et al. Innervation of the pancreas from the perspective of perineural invasion of pancreatic cancer[J]. Pancreas, 2003, 27: 225-229.
- [9] Zhu Z, Kleeff J, Kaye H, Wang L, Korc M, Büchler M W, et al. Nerve growth factor and enhancement of proliferation, invasion, and tumorigenicity of pancreatic cancer cells[J]. Mol Carcinog, 2002, 35:138-147.
- [10] Meriggi F, Forni E. Extended lymphadenectomy for carcinoma of pancreatic head. Personal experience[J]. G Chir, 2002, 23: 383-390.

[本文编辑] 曹 静