

VEGF 与 MMP-2 在胃腺癌组织中的表达及其与肿瘤侵袭转移的相关性研究

刘琳,熊永炎,田素芳

Expression of VEGF and MMP-2 in gastric adenocarcinoma and their involvement in tumor invasion and metastasis

LIULin, XIONGYong-yan, TIAN Su-fang

Department of Pathology, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan 430071, China

Abstract: **Objective** To investigate the expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and matrix metalloproteinase (MMP-2) in gastric carcinoma. **Methods** The level of VEGF and MMP-2 of 80 in situ specimens and 40 metastatic specimens from patients with gastric cancer were tested with immunohistochemical technology. **Results** The positive expression of VEGF and MMP-2 were observed in 77 cases (96.25%) and in 69 (86.25%) respectively. And in metastatic specimens they were observed positively in 34 cases (85.00%) and in 28 cases (70.00%) each. There were significant correlation between the positive expression of VEGF and depth of invasion, lymphatic metastasis, extent of differentiation. MMP-2 positivity was correlated with differentiation, depth of invasion and lymphatic metastasis. **Conclusion** VEGF and MMP-2 play important roles in the invasion and metastasis of gastric cancer.

Keywords: Gastric carcinoma; Vascular endothelial growth factor; Matrix metalloproteinase; Immunohistochemistry

摘要: **目的** 探讨血管内皮生长因子(VEGF)和基质金属蛋白酶-2(MMP-2)在胃癌组织中的表达及其与胃癌侵袭转移的关系。**方法** 采用 S-P 免疫组化染色法检测了 VEGF 和 MMP-2 在 80 例胃癌原发灶和 40 例淋巴结转移灶中的表达。**结果** VEGF、MMP-2 在胃癌原发灶组织中的阳性表达率分别为 96.25%、86.25%, 在淋巴结转移灶中分别为 85.00%、70.00%。VEGF 蛋白表达与肿瘤浸润深度、淋巴结转移关系密切,而与肿瘤分化程度无关;MMP-2 与肿瘤分化、浸润深度、淋巴结转移均有关。**结论** VEGF、MMP-2 在肿瘤侵袭转移中起重要作用,可作为胃癌预后判断的指标。

关键词: 胃癌; 血管内皮生长因子; 基质金属蛋白酶-2; 免疫组化

中图分类号: R735.2 文献标识码: A 文章编号: 1000-8578(2004)01-0014-03

0 引言

肿瘤的侵袭与转移是一多因素多步骤的复杂过程,与多种细胞因子和成分相关,其中血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是最重要的血管生成因子之一,而基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase 2, MMP-2)在细胞外基质降解、肿瘤血管化等过程中发挥重要作用。我们同时检测 VEGF 和 MMP-2 蛋白在胃腺癌原发灶和转移灶中的表达,以探讨二者在胃癌侵袭和转移等生物学行为中的作用。

1 材料和方法

1.1 标本的来源和处理

收集我科 1999 ~ 2001 年间存档的手术切除的胃腺癌标本 80 例,有相应淋巴结转移灶者 40 例。所有病例均经病理确诊,其中男性 63 例,女性 17 例,年龄 27 ~ 80 岁,中位年龄 55.4 岁。标本均经 10% 中性福尔马林固定,石蜡包埋,连续切片厚 4 μ m。

1.2 染色方法

HE 染色用于肿瘤常规病理诊断(包括组织学分类、分级、浸润深度及转移状况)。免疫组化 SP 法的操作步骤按试剂盒说明进行。所用抗 VEGF 抗体、抗 MMP-2 抗体及 SP 试剂盒、EDTA 抗原修复液均购于福州迈新生物技术公司,抗体和试剂盒均为即用型。

1.3 染色结果的评估标准

1.3.1 VEGF 染色判断标准 以镜下胞浆着棕黄染色为阳性细胞。-: 无阳性细胞;+: 阳性细胞数低于 25%;++: 阳性细胞数 25% ~ 50%;+++:

收稿日期: 2003-02-21; 修回日期: 2003-04-21
基金项目: 湖北省自然科学基金资助课题(98J087)
作者单位: 430071 武汉大学中南医院病理科

阳性细胞数超过 50%。

1.3.2 MMP-2 染色判断标准 以镜下胞浆出现棕黄色颗粒为 MMP-2 阳性表达细胞,每例取 10 个高倍(×400)视野,每个视野计数 100 个细胞,无阳性细胞为阴性表达(-),阳性细胞百分率 30% 为低表达(+),阳性细胞率 >30% 为高表达(++)。

1.4 统计学处理

采用 SPSS10.0 统计软件进行秩和检验。 $P < 0.05$ 为显著性检验水准。

2 结果

2.1 VEGF 在胃腺癌组织中的表达

VEGF 主要表达在癌细胞胞浆中。在 80 例胃腺癌原发灶中阳性表达者达 77 例,阳性表达率为 96.25% ,其中(+)有 21 例(26.25%),(++)和(+++)各有 28 例(35.00%)。VEGF 的表达与胃腺癌的浸润深度($P < 0.01$)和淋巴结转移($P < 0.05$)相关,而与肿瘤分化程度($P > 0.05$)无关。原发灶 VEGF 表达与 40 例淋巴结转移灶比较差异有显著性($P < 0.05$) ,见表 1。

表 1 VEGF 蛋白表达与胃腺癌侵袭转移的关系						
病理因素	例数	VEGF				P
		-	+	++	+++	
分化程度						
高分化	27	2	6	9	10	>0 .05
中分化	23	0	5	7	11	
低分化	30	1	10	12	7	
浸润深度						
粘膜及粘膜下层	10	2	6	1	1	<0 .01
肌 层	15	0	4	8	3	
浆膜层	55	1	11	19	24	
淋巴结						
转移组	40	2	13	16	9	<0 .05
未转移组	40	1	8	12	19	
部位						
原发灶	80	3	21	28	28	<0 .05
淋巴结转移灶	40	6	11	16	7	

2.2 MMP-2 在胃腺癌组织中的表达

MMP-2 主要表达于癌细胞胞浆,在成纤维细胞中有弱表达。在 80 例胃腺癌中阳性表达者达 69 例,阳性表达率为 86.25% ,其中低表达 21 例(26.25%),高表达 48 例(60.00%)。MMP-2 与肿瘤组织分化程度($P < 0.01$)、浸润深度($P < 0.05$)和淋巴结转移($P < 0.05$)均相关。原发灶 MMP-2

的表达与淋巴结转移灶比较无显著差异,见表 2。

表 2 MMP-2 蛋白表达与胃腺癌侵袭转移的关系					
病理因素	例数	MMP-2			P
		-	+	++	
分化程度					
高分化	27	6	11	10	<0 .01
中分化	23	3	6	14	
低分化	30	2	4	24	
浸润深度					
粘膜及粘膜下层	10	3	5	2	<0 .05
肌 层	15	4	2	9	
浆膜层	55	4	14	37	
淋巴结					
转移组	40	9	11	20	<0 .05
无转移组	40	2	10	28	
部位					
原发灶	80	11	21	48	>0 .05
淋巴结转移灶	40	12	6	22	

3 讨论

3.1 VEGF 与胃癌

血管内皮生长因子(VEGF)又称血管通透因子(vascular permeability factor,VPF),是一种多肽类细胞因子,其生物学作用一方面通过与其受体结合,刺激血管内皮细胞增殖,并诱导产生蛋白水解酶、间质胶原酶和组织因子来促进血管形成;另一方面,提高血管通透性,引起血浆蛋白、纤维蛋白原外渗,沉积在血管外基质中,从而为新生毛细血管网的建立、肿瘤浸润及转移提供适合的基础。Peper 等发现在 VEGF 作用下,血管内皮细胞分泌胶原酶和血浆酶原活化因子(PAS),促进细胞外蛋白水解,内皮细胞可借此穿过血管下基质向肿瘤组织迁移,肿瘤细胞也可利用这些蛋白酶向相反方向运动,从而使肿瘤细胞浸润更为便利^[1]。本实验观察到肿瘤浸润愈深,VEGF 阳性表达率愈高,表明 VEGF 表达与胃癌的浸润相关。同时 VEGF 表达率在淋巴结转移阳性者显著高于阴性者。Maehara 等人也发现 VEGF 阳性表达与肿瘤浸润深度、淋巴结转移直接相关^[2]。VEGF 可通过与表达于淋巴管内皮细胞的受体结合,引起淋巴管增殖,癌细胞由于其与淋巴管接触点的增多而易于侵犯淋巴管,并发生淋巴结转移^[3-4]。本实验结果中 VEGF 与胃腺癌组织的分化程度尚无明显关系,提示 VEGF 可能不是参与分化的主要因素。Masahide 等人发现 VEGF 本身不能促进癌细胞的增殖,认为低增生状态的胃癌细胞是通过分泌 VEGF 诱导血管形成,提供肿瘤生长所需营养,从而促进癌细胞的增生^[5]。我们在原发灶

和转移灶的研究中发现 VEGF 阳性表达率有显著性差异,原发灶 VEGF 表达阳性率高于转移灶。可能原因是原发灶肿瘤细胞增生活跃,侵袭和转移活动频繁,需要充分的营养支持,癌细胞大量分泌 VEGF 促进新生血管形成。而在转移灶癌细胞尚处在低增生状态,尚未分泌足够的 VEGF。

3.2 MMP-2 与胃癌

MMPs 是一类具有降解细胞外基质和基底膜能力的蛋白水解酶,在肿瘤细胞突破基底膜屏障而浸润转移中起重要作用。MMP-2 是 MMPs 家族中主要成员之一,主要降解 I 型胶原。近年在有关乳腺癌、肺癌、泌尿系统肿瘤等的研究中发现,MMP-2 与肿瘤的恶性程度密切相关,MMP-2 高表达的癌细胞在侵袭、转移中突破各种屏障的能力较高。在本实验中,MMP-2 在胃低分化腺癌组织中的表达高于高分化者,差异具有显著性意义 ($P < 0.01$),表明 MMP-2 与胃癌恶性程度密切相关。随浸润程度加深,MMP-2 表达的阳性率逐渐升高,浸润达全层者 MMP-2 高表达阳性率达 67.27%,且伴淋巴结转移者 MMP-2 的表达明显高于无淋巴结转移者,与国外学者研究结果相同^[6],揭示癌细胞大量表达 MMP-2,降解细胞外基质和基底膜,重塑局部微环境,促进肿瘤新生血管形成,从而促成肿瘤的侵袭和转移。Ray 等人认为肿瘤细胞的最佳侵袭状态是要求癌细胞有能力与 ECM 粘着、分离并在其中游走,对 ECM 和基底膜的降解能力是肿瘤侵袭和转移的必要前提,MMP-2 与其抑制因子 TIMP-2 的平衡对这一过程起重要作用,细胞与基质粘附过紧或过松都不利于肿瘤细胞的侵袭发生^[7]。我们发现 MMP-2 在原发灶和转移灶中的阳性表达率分别为 86.25% 和 70.00%,二者无显著性差异。表明 MMP-2 的主要作用在于降解细胞外基质和基底膜,以利于癌细胞从原发灶脱离,并在转移部位形成适宜微环境供其增生。

3.3 VEGF 和 MMP-2 在肿瘤侵袭与转移中的相互关系

Garzetti 等在对卵巢肿瘤的研究中发现 VEGF 与 MMP-2 的表达具有明显相关性,认为 VEGF 可

能通过调节金属蛋白酶的形成,使 MMP-2 表达升高,从而在肿瘤侵袭和转移中起作用^[8]。Tolnay 等在非小细胞肺癌的研究中也发现 VEGF 与 MMP-2 的相关性,认为 MMP-2 一方面通过对基底膜分解,促进 VEGF 及其他血管形成因子的作用,另一方面,通过对细胞外基质的水解,以促进毛细血管芽的形成^[9]。对胃癌中二者表达的相关性有待进一步探讨。

总之,VEGF 和 MMP-2 的表达与肿瘤分化程度、浸润深度、淋巴结转移等密切相关,二者可作为肿瘤恶性程度、侵袭与转移行为判断的有用指标。

参考文献:

- [1] Peper MS, Wasiw, Feriara AN, et al. In vitro angiogenic and proteolytic properties of bovine lymphatic endothelial cells [J]. *Exp Cell Res*, 1994, 210 (2): 299-320.
- [2] Maehara Y, Kabashima A, Koga T, et al. Vascular invasion and potential for tumor angiogenesis and metastasis in gastric carcinoma [J]. *Surgery*, 2000, 128 (3): 408-416.
- [3] Yonemura Y, Fushida S, Bando E, et al. Lymphangiogenesis and the vascular endothelial growth factor receptor (VEGFR)-3 in gastric cancer [J]. *European journal of cancer (Oxford, England: 1990)*, 2001, 37 (7): 918-923.
- [4] Yonemura Y, Endo Y, Fujita H, et al. Role of vascular endothelial growth factor C expression in the development of lymph node metastasis in gastric cancer [J]. *Clinical cancer research*, 1999, 5 (7): 1823-1829.
- [5] Masahide I, Shinichi O, Hiroaki S, et al. The expression of vascular endothelial growth factor and proliferative activity of cancer cells in gastric cancer [J]. *Lancet*, 1999, 354: 264-270.
- [6] Moni g SP, Baldus SE, Henneken JK, et al. Expression of MMP-2 is associated with progression and lymph node metastasis of gastric carcinoma [J]. *Histopathology*, 2001, 39 (6): 597-602.
- [7] Ruy JM, Stetler-Stevenson WG. TIMP-2 expression modulates human melanoma cell adhesion and motility [J]. *Ann NY Acad Sci*, 1994, 732 (9): 233-247.
- [8] Garzetti G, Andrea C, Guendalina L, et al. Expression of vascular endothelial growth factor related to 72-Kilodalton metalloproteinase immunostaining in patients with serous ovarian tumor [J]. *Cancer*, 1999, 85 (10): 2219-2225.
- [9] Edina Tolnay, Thorsten W, Cornelius K, et al. Expression of type IV collagenase correlates with the expression of vascular endothelial growth factor in primary non-small cell lung cancer [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 1997, 123 (5): 652-658.

(贺文校对)