

# 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

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

LIULin, XIONGYan, TIANSu-fan g

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 the positive expression was observed in 34 cases (85.00%) and in 28 cases (70.00%) each. There was significant correlation between the positive expression of VEGF and depth of invasion, lymphatic metastasis, except 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 metallo-proteinase, 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 $\mu$ 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 S-P 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 S-P 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( $\times 400$ )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	
中分化	23	0	5	7	11	$>0.05$
低分化	30	1	10	12	7	
浸润深度						
粘膜及粘膜下层	10	2	6	1	1	
肌层	15	0	4	8	3	$<0.01$
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	
中分化	23	3	6	14	$<0.01$
低分化	30	2	4	24	
浸润深度					
粘膜及粘膜下层	10	3	5	2	
肌层	15	4	2	9	$<0.05$
浆膜层	55	4	14	37	
淋巴结					
转移组	40	9	11	20	$<0.05$
未转移组	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<sup>[1]</sup>。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<sup>[2]</sup>。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<sup>[3-4]</sup>。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<sup>[5]</sup>。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<sup>[6]</sup>,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<sup>[7]</sup>。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<sup>[8]</sup>。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<sup>[9]</sup>。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] PeperMS,Wasiw,FeriaraAN,etal.Invitroangiogenic and proteolytic properties of bovine lymphatic endothelial cells[J].ExppCell Res,1994,210 (2):2998-230.
- [2] MaeharaY,KabashimaA,KogaT,etal.Vascular invasion and potential for tumor angiogenesis and metastasis in gastric carcinoma[J].Surgery,2000,128 (3):408-416.
- [3] YonemuraY,FushidaS,BandoE,etal.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] YonemuraY,EndoY,FujitaH,etal.Role of vascular endothelial growth factor C ex pression in the development of lymph node metastasis in gastric cancer[J].Clinical cancer research,1999,5 (7):1823-1829.
- [5] MasahideI,ShinichiO,HiroakiS,etal.The expression of vascular endothelial growth factor and proliferative activity of cancer cells in gastric cancer[J].Langenbecks Arch Surg,1999,384:264-270.
- [6] Moni gSP,BaldusSE,HenneckenJK,etal.Expression of MMP-2 is associated with progression and lymph node metastasis of gastric carcinoma[J].Histo pathology,2001,39 (6):597-6022.
- [7] RabyJM,Stetler-StevensonWG,TIMP-2 expression modulates human melanoma cell adhesion and motility[J].Ann NY Acad Sci,1994,732 (9):233-247.
- [8] GarzettiG,AndreaC,GuendalinaL,etal.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] EdinaTolnay,ThorstenW,CorneliusK,etal.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)