

文章编号:1005-6947(2006)02-0090-04

· 胃癌专题研究 ·

# VEGF-C 和 MMP-7 的表达与胃癌侵袭转移的关系

洪士开, 李绍森, 陆云飞, 林进令, 廖清华, 林坚, 黄源, 曾健

(广西医科大学第一附属医院 胃肠外科, 广西南宁 530021)

**摘要:**目的 探讨胃癌中血管内皮生长因子 C (VEGF-C) 和基质金属蛋白酶 7 (MMP-7) 的表达及两者与胃癌侵袭和淋巴结转移的关系。方法 采用 SP 免疫组化技术, 分别检测 60 例胃癌组织、癌旁组织及 30 例癌周区域淋巴结中 VEGF-C 及 MMP-7 的表达水平。结果 VEGF-C 和 MMP-7 在胃癌组织中的阳性表达率明显高于正常胃黏膜及癌旁组织; 在区域淋巴结癌转移组中的阳性表达率明显高于无癌转移组 ( $P < 0.01$ ); 伴有淋巴结转移的胃癌组织中 VEGF-C, MMP-7 的阳性表达率明显高于无淋巴结转移组 ( $P < 0.05$ ); VEGF-C, MMP-7 表达与淋巴结转移、淋巴管侵犯、浸润深度、TNM 分期有密切关系 ( $P < 0.05$ )。结论 VEGF-C 和 MMP-7 在胃癌中的高表达与胃癌浸润侵袭程度、淋巴结转移有密切关系。

**关键词:** 胃肿瘤/病理学; 肿瘤浸润力; 血管内皮生长因子 C; 基质金属蛋白酶-7

中图分类号: R735.2; R73-37

文献标识码: A

## The expression of VEGF-C and MMP-7 in gastric carcinoma and their correlation with tumor invasion and metastasis

HONG Shi-kai, LI Shao-sen, LU Yun-fei, LIN Jin-ling, LIAO Qing-hua, LIN Jian, HUANG Yuan, ZENG Jian

(Department of Gastrointestinal Surgery, the First Affiliated Hospital, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate the expression of vascular endothelial growth factor-C (VEGF-C) and matrix metalloproteinase-7 (MMP-7) in gastric carcinoma and their correlation with tumor invasion and metastasis. **Methods** Streptavidin peroxidase immunohistochemistry technique (SP) was used to detect the expression of VEGF-C and MMP-7 in 60 gastric carcinoma specimens, 60 specimens of gastric mucosa adjacent to carcinoma, and 30 regional lymph node specimens. **Results** The positive expression rate of VEGF-C, MMP-7 in gastric carcinoma was markedly higher than that in normal gastric mucosa and gastric mucosa adjacent to carcinoma. The positive expression rates of VEGF-C and MMP-7 in metastatic regional lymph nodes were significantly higher than that in non-metastatic regional lymph nodes ( $P < 0.01$ ). The positive expression of VEGF-C and MMP-7 in gastric carcinoma specimens in patients with lymphatic metastasis was significantly higher than that in without lymphatic metastasis ( $P < 0.05$ ). The positive expression level of VEGF-C and MMP-7 was significantly correlated with lymph node metastasis, lymphatic vessel invasion, tumor infiltration depth and UICC TNM staging ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** The increased expression of VEGF-C and MMP-7 in gastric carcinoma closely correlates with tumor invasion and metastasis.

**Key words:** Stomach Neoplasms/pathol; Neoplasms Invasiveness; Vascular Endothelial Growth Factor-C; Matrix Metalloproteinase-7

CLC number: R735.2; R73-37

Document code: A

收稿日期:2005-04-08; 修订日期:2006-01-17。

作者简介:洪士开,男,安徽寿县人,广西医科大学第一附属医院主治医师,主要从事胃癌及乳腺癌诊治方面的研究。

通讯作者:洪士开 电话:0771-5356701; E-mail:hongshikai2001@yahoo.com。

血管内皮生长因子C(vascular endothelial growth factor-C, VEGF-C)是一种潜在性的淋巴管细胞调节因子,能选择性地促进淋巴管增生,与肿瘤的生长、浸润和转移密切相关。基质金属蛋白酶-7(MMP-7)可降解基底膜和基质,突破基质屏障,促进肿瘤侵袭和转移,还可通过毛细血管内生、新生血管形成等促进肿瘤生长和扩散<sup>[1]</sup>。VEGF-C可改变内皮细胞的活化形式,促进MMP-7的表达,推测VEGF-C与MMP-7有一定的关联。本研究采用SP免疫组织化学染色技术(免疫组化),检测VEGF-C和MMP-7在胃癌组织及区域淋巴结中的表达,分析VEGF-C和MMP-7与胃癌临床病理特征的关系,借以为胃癌转移的预测和评估预后提供实验研究依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 标本来源及分组

1.1.1 胃癌组 收集2002年9月—2003年8月在我院行手术切除的胃癌组织标本60例,作为实验组。60例胃癌患者临床资料见表1。

1.1.2 癌旁组织组 60例。均取自胃癌行胃切除的癌旁2cm组织标本。

1.1.3 远端(正常)胃黏膜组 20例。均取自胃癌行胃切除的近侧断端胃黏膜。所有断端均距癌组织5cm以上,组织学检查为基本正常胃黏膜。

1.1.4 胃周肿大淋巴结组 30例。将胃周肿大淋巴结的一半送病理检查,另一半与肿瘤组织和正常黏膜一起置液氮中保存。全部病例经手术和病理证实,且术前均未接受过任何针对肿瘤的治疗。

### 1.2 方法

1.2.1 免疫组化SP法染色 即用型VEGF-C兔多克隆抗体购自北京中山生物技术公司,即用型MMP-7鼠单抗和SP试剂盒均购自福州迈新生物技

术公司。主要步骤:4 $\mu$ m石蜡切片脱腊至水,VEGF-C采用EDTA缓冲液微波修复,MMP-7采用柠檬酸缓冲液高压热力修复。非免疫动物血清封闭10min,切片滴加一抗,4 $^{\circ}$ C过夜;再加入生物素标记的二抗,链霉菌抗生物素-过氧化物酶溶液孵育30min;DAB显色3~8min,苏木素复染,脱水透明封片,镜下观察结果。用已知阴性的胃癌切片作阴性对照,用已知阳性切片作阳性对照,以磷酸盐缓冲液(PBS)代替一抗作空白对照。

1.2.2 结果判断 以细胞膜或细胞浆染有均匀棕黄色颗粒、染色强度高于背景非特异性染色者为阳性细胞。采用双盲法,选择10个高倍视野进行计数。根据染色程度和染色细胞百分率进行综合评分:基本不着色为0分,着色淡为1分,着色适中为2分,着色深为3分;着色细胞占计数细胞百分率 $\leq 5\%$ 为0分,6%~25%为1分,26%~50%为2分, $\geq 51\%$ 为3分。将每张切片平均着色程度得分与平均着色细胞百分率得分各自相乘,为其最后得分:0~1分为阴性(-),2~3分为(+),4~6分为(++),6分以上为(+++)。

### 1.3 统计学处理

采用SPSS10.0统计软件包进行统计学分析。计数资料用 $\chi^2$ 检验,两变量间关系用计数资料相关检验。

## 2 结果

### 2.1 胃正常黏膜、癌旁组织、胃癌组织和胃癌区域淋巴结中VEGF-C和MMP-7的表达

无论VEGF-C还是MMP-7,胃癌组的阳性表达率均显著高于癌旁组织和胃正常黏膜;癌旁组又显著高于正常黏膜。有转移淋巴结显著高于无转移淋巴结组(表1)。

表1 VEGF-C, MMP-7在胃正常黏膜、癌旁组织、胃癌组织、胃癌区域淋巴结中的表达

| 分组      | 例数 | VEGF-C |     |      |       | 阳性率<br>(%)             | MMP-7 |     |      |       | 阳性率<br>(%)          |
|---------|----|--------|-----|------|-------|------------------------|-------|-----|------|-------|---------------------|
|         |    | (-)    | (+) | (++) | (+++) |                        | (-)   | (+) | (++) | (+++) |                     |
| 胃正常黏膜   | 20 | 20     | 0   | 0    | 0     | 0.00                   | 19    | 1   | 0    | 0     | 5.00                |
| 癌旁组织    | 60 | 47     | 10  | 3    | 0     | 21.67 <sup>1)</sup>    | 44    | 10  | 6    | 0     | 26.67 <sup>1)</sup> |
| 胃癌组织    | 60 | 26     | 7   | 9    | 18    | 56.67 <sup>1),2)</sup> | 1     | 11  | 13   | 25    | 81.67 <sup>1)</sup> |
| 有癌转移淋巴结 | 21 | 6      | 5   | 4    | 6     | 71.42                  | 3     | 6   | 7    | 5     | 85.71               |
| 无癌转移淋巴结 | 9  | 8      | 1   | 0    | 0     | 11.11 <sup>3)</sup>    | 7     | 2   | 0    | 0     | 22.22 <sup>3)</sup> |

注:1)与胃正常黏膜组比较 $P < 0.01$ ; 2)与癌旁组织比较, $P < 0.05$ ; 3)与癌转移淋巴结组比较 $P < 0.01$

## 2.2 VEGF-C 和 MMP-7 表达与胃癌临床病理特征的关系

VEGF-C 在胃癌中的表达与胃癌的淋巴结转移、静脉侵犯、淋巴管侵犯、浸润深度、TNM 分期显著有关 ( $P < 0.05$ ); 与年龄、性别、肿瘤大小、分化程度

无关 ( $P > 0.05$ )。MMP-7 在胃癌中表达与胃癌的淋巴结转移、淋巴管侵犯、浸润深度、TNM 分期显著有关 ( $P < 0.05$ ), 与年龄、性别、肿瘤大小、分化程度、静脉侵犯之间无关 ( $P > 0.05$ ) (表 2)。

表 2 胃癌中 VEGF-C 及 MMP-7 的表达与临床病理特征的关系

| 临床病理特征                         | 例数 | VEGF-C |     | $\chi^2$ | $P$   | MMP-7 |     | $\chi^2$ | $P$   |
|--------------------------------|----|--------|-----|----------|-------|-------|-----|----------|-------|
|                                |    | (-)    | (+) |          |       | (-)   | (+) |          |       |
| 年龄(岁)                          |    |        |     |          |       |       |     |          |       |
| ≤60                            | 35 | 16     | 19  | 0.194    | >0.05 | 7     | 28  | 0.156    | >0.05 |
| >60                            | 25 | 10     | 15  |          |       | 4     | 21  |          |       |
| 性别                             |    |        |     |          |       |       |     |          |       |
| 男                              | 33 | 14     | 19  | 0.025    | >0.05 | 6     | 27  | 0.001    | >0.05 |
| 女                              | 27 | 12     | 15  |          |       | 5     | 22  |          |       |
| 肿瘤大小(cm)                       |    |        |     |          |       |       |     |          |       |
| ≤5                             | 22 | 10     | 12  | 0.064    | >0.05 | 4     | 18  | 0.001    | >0.05 |
| >5                             | 38 | 16     | 22  |          |       | 7     | 31  |          |       |
| 分化程度                           |    |        |     |          |       |       |     |          |       |
| 高/中                            | 26 | 12     | 14  | 0.149    | >0.05 | 5     | 21  | 0.025    | >0.05 |
| 低                              | 34 | 14     | 20  |          |       | 6     | 28  |          |       |
| 淋巴结转移                          |    |        |     |          |       |       |     |          |       |
| 阴性                             | 23 | 14     | 9   | 5.659    | <0.05 | 8     | 15  | 6.740    | <0.01 |
| 阳性                             | 37 | 12     | 25  |          |       | 3     | 34  |          |       |
| 静脉侵犯                           |    |        |     |          |       |       |     |          |       |
| 阴性                             | 46 | 24     | 22  | 6.275    | <0.05 | 9     | 37  | 0.200    | >0.05 |
| 阳性                             | 14 | 2      | 12  |          |       | 2     | 12  |          |       |
| 淋巴管侵犯                          |    |        |     |          |       |       |     |          |       |
| 阴性                             | 34 | 19     | 15  | 5.032    | <0.05 | 10    | 24  | 6.431    | <0.05 |
| 阳性                             | 26 | 7      | 19  |          |       | 1     | 25  |          |       |
| 浸润深度                           |    |        |     |          |       |       |     |          |       |
| T <sub>1</sub> /T <sub>2</sub> | 16 | 12     | 4   | 8.910    | <0.01 | 7     | 9   | 9.413    | <0.01 |
| T <sub>3</sub> /T <sub>4</sub> | 44 | 14     | 30  |          |       | 4     | 40  |          |       |
| TNM 分期                         |    |        |     |          |       |       |     |          |       |
| I+II                           | 19 | 15     | 4   | 14.36    | <0.01 | 7     | 12  | 6.36     | <0.05 |
| III+IV                         | 41 | 11     | 30  |          |       | 4     | 37  |          |       |

## 2.3 VEGF-C 和 MMP-7 在胃癌组织中表达的关系

VEGF-C (+)/MMP-7 (+) 34 例, VEGF-C (-)/MMP-7 (+) 15 例, VEGF-C (-)/MMP-7 (-) 11 例, VEGF-C (+)/MMP-7 (-) 0 例。组间比较, 差异有显著性 ( $P < 0.01$ ); 表明 VEGF-C 表

达与 MMP-7 表达具有明显相关性 ( $r = 0.667$ ,  $P < 0.01$ )。

## 3 讨论

目前普遍认为, 淋巴管的新生系由 VEGF-C 激活 VEGFR-3 所引起<sup>[2]</sup>。Karpanen 等<sup>[3]</sup>发现, 在肿瘤

周围的淋巴管内皮细胞和肿瘤转移的淋巴结中有VEGFR-3的高表达。VEGFR-3和其配体VEGF-C能刺激肿瘤诱导的新生淋巴管生成、增生或扩张,从而促进恶性肿瘤的淋巴结转移<sup>[4]</sup>。

Yonemura等<sup>[5]</sup>应用逆转录-多聚酶链反应(RT-PCR)和免疫印迹(Western Blot)研究胃癌组织中VEGF-C的表达,结果显示VEGF-C mRNA在胃癌组织中表达明显高于正常黏膜,并发现VEGF-C表达与淋巴结大小、淋巴管侵犯、静脉侵犯和肿瘤浸润方式有关。王天宝<sup>[6]</sup>的研究提示VEGF-C表达与胃癌肿瘤分化分期、淋巴结转移、远处转移有关。本实验显示:VEGF-C在胃癌组织中的阳性表达率明显高于正常胃黏膜及癌旁组织,Ⅲ,Ⅳ期胃癌VEGF-C表达率明显高于Ⅰ,Ⅱ期胃癌;提示VEGF-C表达在胃癌的发生、发展过程中可能起重要作用。在有癌转移区域淋巴结组中,VEGF-C阳性表达率明显高于无癌转移组。同时发生淋巴结转移的胃癌VEGF-C的阳性表达率明显高于未发生淋巴结转移组;说明VEGF-C在胃癌中的表达与淋巴结转移显著相关。其原因可能是VEGF-C诱导了淋巴管的生成,从而促进肿瘤的淋巴转移。本实验发现VEGF-C表达与胃癌的淋巴结转移、淋巴管侵犯、静脉侵犯、浸润深度有关。提示胃癌可能通过癌细胞合成和旁分泌、自分泌VEGF-C,诱导肿瘤的淋巴管和血管生成,从而促进肿瘤的发生、发展和侵袭转移。

MMP-7又称基质溶解素(matrilysin),能降解细胞基底膜及外基质中Ⅳ型胶原和纤维连接蛋白成分,导致基底膜破坏,肿瘤细胞浸润结缔组织基质,侵入小血管和淋巴管而发生转移<sup>[7]</sup>。本实验显示:MMP-7在胃癌组织中阳性表达率明显高于正常胃黏膜组织和癌旁组织,Ⅲ,Ⅳ期胃癌MMP-7的表达高于Ⅰ,Ⅱ期胃癌。提示MMP-7表达的增强在胃癌的发生发展中可能起重要作用。区域淋巴结组中MMP-7阳性表达率在有癌转移组明显高于无癌转移组。同时发生淋巴结转移的胃癌组织中MMP-7的表达阳性率明显高于未发生组,说明MMP-7表达高的癌细胞更易于侵入淋巴管形成淋巴结的转移。

这与贺荣芳<sup>[8]</sup>的报道一致。本实验发现MMP-7表达与胃癌淋巴结转移、淋巴管侵犯、浸润深度、TNM分期也有关系,说明MMP-7在胃癌的浸润和转移中起重要作用。MMP-7的高表达可以加快细胞外基质(ECM)的降解,促进癌细胞浸润性生长。

本实验60例胃癌中,VEGF-C和MMP-7共同阳性表达34例,共同阴性表达11例,VEGF-C的表达和MMP-7的表达之间存在着明显相关性,说明两者协同促进了胃癌的发展。随着对VEGF-C和MMP-7研究的深入,联合应用上述两项指标检测,可能有助于进一步认识肿瘤转移机制,从而为抗微血管生成治疗胃癌提供理论依据。

#### 参考文献:

- [1] Shiomi T, Okada Y. MT1-MMP and MMP-7 in invasion and metastasis of human cancers [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2003, 22(2): 145-152.
- [2] Van PO, Steele D, Lowe DG, *et al*. Expression of vascular endothelial growth factor VEGFC and VEGF-D, and their receptor VEGFR-3, during different stages of cervical carcinogenesis [J]. *J Pathol*, 2003, 201(4): 544-554.
- [3] Karpanen T, Egeblad M, Karkkainen MJ, *et al*. Vascular endothelial growth factor-C promotes tumor lymphangiogenesis and intralymphatic tumor growth [J]. *Cancer Res*, 2001, 61(5): 1786-1790.
- [4] Mandriota SJ, Jussila L, Jeltsch M, *et al*. Vascular endothelial growth factor-C-mediated lymphangiogenesis promotes tumor metastasis [J]. *EMBO J*, 2001, 20(4): 672-682.
- [5] 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]. *Clin Cancer Res*, 1999, 5(7): 1823-1829.
- [6] 王天宝,董文广,李兆亭. 血管内皮生长因子C在胃癌中表达的意义[J]. *中国普通外科杂志*, 2004, 13(9): 701-702.
- [7] Keishi Y, Masaki M, Takeshi S, *et al*. Clinical significance of matrix metalloproteinase-7 expression in esophageal carcinoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2000, 6(3): 1169-1174.
- [8] 贺荣芳,胡忠良,沈明,等. 胃癌组织中PTEN, VEGF, MMP-9的表达及相关性研究[J]. *中国普通外科杂志*, 2005, 14(3): 173-177.