

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^[1]。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 μ 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 χ^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 (%)	MMP-7				阳性率 (%)
		(-)	(+)	(++)	(+++)		(-)	(+)	(++)	(+++)	
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 ¹⁾	44	10	6	0	26.67 ¹⁾
胃癌组织	60	26	7	9	18	56.67 ^{1),2)}	1	11	13	25	81.67 ¹⁾
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 ³⁾	7	2	0	0	22.22 ³⁾

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		χ^2	P	MMP-7		χ^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 ₁ /T ₂	16	12	4	8.910	<0.01	7	9	9.413	<0.01
T ₃ /T ₄	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^[2]。Karpanen 等^[3]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^[4]。

Yonemura等^[5]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^[6]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^[7]。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^[8]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.