

· 论 著 ·

MMP-7、MMP-9、VEGF-C、VEGF-D 在胃癌中的表达及其临床意义

赵海滨¹, 张伟杰², 周志华¹, 张建东³, 赵玲娜¹

[摘要] 目的 探讨基质金属蛋白酶 7(MMP-7)、基质金属蛋白酶 9(MMP-9)、血管内皮生长因子-C(VEGF-C)、血管内皮生长因子-D(VEGF-D)在胃癌组织中的表达及其临床意义。方法 采用免疫组织化学染色检测 133 例胃癌 MMP-7、MMP-9、VEGF-C、VEGF-D 的表达情况。结果 MMP-7、MMP-9 表达与肿瘤的浸润深度、淋巴结转移、TNM 分期、分化程度密切相关($P < 0.05$),与肿瘤大小及患者性别无关($P > 0.05$)。VEGF-C 和 VEGF-D 的表达与肿瘤分化程度、浸润程度、淋巴结转移及临床分期显著相关($P < 0.05$),而与肿瘤大小及患者性别无相关性($P > 0.05$)。结论 MMP-7、MMP-9、VEGF-C、VEGF-D 的表达与胃癌的生物学行为密切相关,可作为判断胃癌进展和预后的有用指标。

[关键词] 胃癌;基质金属蛋白酶 7;基质金属蛋白酶 9;血管内皮生长因子-C;血管内皮生长因子-D

中图分类号: R735.2 文献标志码: A 文章编号: 1672-271X(2010)03-0197-03

Expression and significance of MMP-7, MMP-9, VEGF-C, and VEGF-D in gastric carcinomas

ZHAO Hai-bin¹, ZHANG Wei-jie², ZHOU Zhi-Hua¹, ZHANG Jian-dong³, ZHAO Ling-Na¹. 1. Department of Pathology, 2. Department of General Surgery, 3. Department of Gastrointestinal, 101 Hospital of PLA, Wuxi, Jiangsu 214044, China

[Abstract] **Objective** To investigate the expression and significance of MMP-7, MMP-9, VEGF-C, and VEGF-D in gastric carcinoma. **Methods** Immunohistochemical staining was employed to detect the expression of MMP-7, MMP-9, VEGF-C, and VEGF-D in 133 cases of gastric carcinoma. **Results** Expression of MMP-7 and MMP-9 were correlated with tumor invasion, lymph node metastasis, TNM staging and tumor differentiation ($P < 0.05$), and were not associated with tumor size and patient gender ($P > 0.05$). Expression of VEGF-C and VEGF-D was related to tumor invasion and lymph node metastasis ($P < 0.05$), while the significant correlation between VEGF expression and tumor size and patient gender was not observed ($P > 0.05$). **Conclusion** Expression of MMP-7, MMP-9, VEGF-C, and VEGF-D was tightly associated with biological behavior of gastric carcinoma, which may be an available index for predicting tumor progression and prognosis.

[Key words] gastric cancer; MMP-7; MMP-9; VEGF-C; VEGF-D

胃癌是我国最常见的恶性肿瘤之一,肿瘤的生长性状及侵袭程度是影响疾病转归和预后的重要因素。肿瘤浸润和转移是一个多步骤、复杂的肿瘤细胞与宿主细胞相互作用的过程,不同细胞因子对肿瘤的生长和转移发挥各自的作用^[1],但最终都将导致细胞的恶性增殖。其中基质膜破坏、微血管形成

对胃癌的转移及浸润显得尤其重要。本文对 133 例胃癌组织进行基质金属蛋白酶 7(MMP-7)和基质金属蛋白酶 9(MMP-9)、血管内皮生长因子-C(VEGF-C)和血管内皮生长因子-D(VEGF-D)表达的研究,探讨它们的表达与胃癌分化程度、分期、淋巴结转移及侵袭转移的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集本院 2002 年 6 月至 2008 年 7 月外科手术切除胃癌组织标本 133 例,男 109 例,女 24 例,年龄 27 ~ 85 岁,平均(47.6 ± 8.7)岁。所有患者术前均未接受化疗或放疗。管状腺癌 77 例,乳

基金项目: 江苏大学 2008 年度临床医学科技发展基金资助项目(JLY20080086)

作者简介: 赵海滨(1969-),男,江苏海安人,本科,主治医师,从事肿瘤病理学临床及研究工作

作者单位: 214044 江苏无锡,解放军 101 医院,1. 病理科,2. 普外科,3. 消化内科

头状腺癌 6 例,粘液腺癌 8 例,低分化癌 28 例,印戒细胞癌 14 例;淋巴结转移 90 例;TNM 分期:Ⅰ期 + Ⅱ期 44 例,Ⅲ期 + Ⅳ期 89 例。按组织学分型:高、中分化 48 例,低分化 85 例;癌组织浸润浆膜 96 例,未浸润浆膜 37 例。

1.2 方法 采用免疫组化染色方法检测 MMP-7、MMP-9、VEGF-C 和 VEGF-D 四种蛋白。所有标本均经 4% 甲醛液固定、脱水、石蜡包埋,4μm 厚切片。免疫组化采用 Envision 二步法,DAB 显色,光镜观察其组织学形态。MMP-7、MMP-9 抗体为鼠抗人单克隆抗体(上海太阳生物技术有限公司)、兔抗人 VEGF-C、VEGF-D 多克隆抗体(试剂盒购自武汉博士德生物技术有限公司),均为即用型工作液。

1.3 结果判断 采用双盲法,每组均设有阳性和阴性对照。MMP-7、MMP-9 为细胞浆内出现胞浆染色,呈棕黄色颗粒沉着。根据癌细胞阳性细胞数占癌细胞总数的百分比和染色的深浅进行判断。结果判断分为 4 级:癌细胞无着色者为阴性(-),阳性细胞数≤25% 为弱阳性(+),26% ~ 75% 为中度阳性(++) , >75% 为强阳性(++)。VEGF 的阳性表达为胞浆着色,根据阳性细胞率和阳性细胞着色强度分别记分。根据 2 项积分表达分为 5 级:0 分为阴性(-),1 ~ 2 分为弱阳性(+),3 ~ 4 分为中等强度阳性(++),5 ~ 6 分为高强度阳性(+++),7 分以上为强阳性(+++)

1.4 统计学处理 应用 SPSS13.0 软件包进行统计分析。计数资料比较采用 χ^2 检验,四种蛋白表达率与临床参数之间关系采用等级相关分析,四种蛋白表达相关性采用偏相关分析, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MMP-7、MMP-9、VEGF-C、VEGF-D 与胃癌临床相关参数的分析 在 133 例胃癌中,MMP-7、MMP-9、VEGF-C 和 VEGF-D 分别有 107 例、109 例、61 例和 60 例呈阳性表达。统计结果显示,上述四个分子的表达在淋巴结转移组高于无淋巴结转移组,Ⅲ + Ⅳ

期高于 Ⅰ + Ⅱ 期,高、中分化组高于低分化组,浸润浆膜组高于无浸润浆膜组,组间比较有统计学意义($P < 0.05$),而与性别、年龄、肿瘤大小均无相关性($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 MMP-7、MMP-9、VEGF-C、VEGF-D 在胃癌临床相关参数组间情况分析(例)

临床相关参数	MMP-7		MMP-9		VEGF-C		VEGF-D	
	阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
性别								
男	90	19	89	20	47	62	45	64
女	17	7	20	4	14	10	15	9
年龄(岁)								
<55	61	11	63	9	35	37	34	38
≥55	46	15	46	15	26	35	26	35
临床分期								
Ⅰ + Ⅱ 期	26	18	29	15	10	34	10	34
Ⅲ + Ⅳ 期	81	8**	80	9**	51	38**	50	39**
淋巴结转移								
N0	21	22	24	19	7	36	9	34
N1 ~ 3	86	4**	85	5**	54	36**	51	39**
浸润深度								
未浸润浆膜	16	21	22	15	11	26	11	26
浸润浆膜	91	5**	87	9**	50	46*	49	47*
分化程度								
高、中分化	26	22	28	20	13	35	12	36
低分化	81	4**	81	4**	48	37**	48	37**
肿块大小(cm)								
<5	69	21	75	15	37	53	35	55
≥5	38	5	34	9	24	19	25	18*

注:两组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

2.2 MMP-7、MMP-9、VEGF-C、VEGF-D 四种蛋白相互关系的分析 MMP-7 与 MMP-9 之间、VEGF-C 与 VEGF-D 之间有良好的相关性($r = 0.309$ 、 $P = 0.000$, $r = 0.251$ 、 $P = 0.004$),MMP-7 与 VEGF-C、MMP-7 与 VEGF-D、MMP-9 与 VEGF-C、MMP-9 与 VEGF-D 相关性分析均未见统计学意义($P > 0.05$)。

2.3 MMP-7、MMP-9、VEGF-C、VEGF-D 与临床参数关系的分析 四种蛋白与肿瘤分化程度、淋巴结转移、临床分期、浸润深度均存在相关性,见表 2,各种蛋白阳性表达率大多随着肿瘤分化程度、淋巴结转移严重程度、临床分期、浸润深度的情况而进一步提高,但与性别、年龄及肿瘤大小无相关性($P > 0.05$)。

表 2 MMP-7、MMP-9、VEGF-C、VEGF-D 与临床参数关系分析

检测项目	分化程度		淋巴结转移		临床分期		浸润深度	
	R_s	P	R_s	P	R_s	P	R_s	P
MMP-7	0.213	0.014	0.262	0.002	0.159	0.068	0.241	0.005
MMP-9	0.179	0.041	0.236	0.007	0.181	0.038	0.239	0.006
VEGF-C	0.257	0.003	0.264	0.002	0.289	0.001	0.025	0.773
VEGF-D	0.247	0.004	0.200	0.022	0.198	0.023	0.186	0.033

3 讨论

基质金属蛋白酶(MMPs)是一类以金属离子锌为辅助因子的蛋白水解酶,通过作用于细胞外基质在肿瘤的扩散转移中扮演重要角色。MMP-7、MMP-9 是该家族的两个重要成员,其中 MMP-7 通过水解细胞外基质,提高细胞运动能力参与肿瘤细胞的侵袭和转移过程^[2],并可激活该家族其他成员^[3];MMP-9 可作用于Ⅳ型胶原蛋白,促进癌细胞对周围组织的浸润,并能上调肿瘤血管化的损害程度,是血管发生启动系统中的重要成员。MMP-9 具有调节微循环和血管生长的作用,血管的发生常依赖于基质金属蛋白酶的活性,Riedel 等^[4]发现 VEGF 和 MMP-9 在肿瘤的发生、发展中可能发挥了协同作用,VEGF 上调了 MMP-9 的过度分泌,高表达的 VEGF 促进 MMP-9 的转录。

本研究中淋巴结转移组 MMP-7、MMP-9 阳性表达率明显高于无淋巴结转移组,说明两者在胃癌细胞突破基底膜向周围淋巴结转移过程中起着重要的作用。低分化组 MMP-7、MMP-9 表达率明显高于高中分化组,表明分化差的癌细胞具有更强的诱导 MMPs 表达的能力,因而具有更强的浸润及转移能力。MMP-7、MMP-9 在Ⅲ+Ⅳ期的表达水平显著高于Ⅰ+Ⅱ期胃癌,说明 MMP-7、MMP-9 的表达与肿瘤的 TNM 分期密切相关,是胃癌重要的恶性生物学指标^[5]。

在肿瘤生长及转移过程中,血管生成是一个重要环节,血管内皮生长因子(VEGF)是最有效的启动因子。VEGF-C、VEGF-D 是促进肿瘤淋巴管生成的重要因子^[6-9]。定位于淋巴管的 VEGFR-3(血管内皮生长因子受体 3),受到 VEGFR 家族中淋巴刺激因子 VEGF-C、VEGF-D 的诱导并与之结合,在肿瘤淋巴管生成过程中,发挥着重要的作用,是评价胃癌患者是否存在淋巴结转移可能性的重要指标之一。本研究显示,VEGF-C、VEGF-D 表达强度与肿瘤的分化程度、浸润、淋巴结转移及 TNM 分期有关,

大多随着分化程度降低、淋巴结转移程度、浸润深度及 TNM 分期程度而加深。因此,胃癌组织中 VEGF-C、VEGF-D 的高表达是导致胃癌出现侵袭性和淋巴结转移的重要因素。

综上所述,MMP-7、MMP-9、VEGF-C、VEGF-D 可作为胃癌重要的恶性生物学指标,有助于判断胃癌患者淋巴结转移、肿瘤浸润情况,可预测预后。

【参考文献】

- [1] Shnayder Y, Kuriakose MA, Yee H, et al. Adhesion molecules as prognostic factors in nasopharyngeal carcinoma [J]. *Laryngoscope*, 2001, 111(10): 1842-1846.
- [2] Vargo-Gogola T, Crawford HC, Fingleton B, et al. Identification of novel matrix metalloproteinase-7 (matrilysin) cleavage sites in murine and human Fas Ligand [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2002, 408(2): 155-161.
- [3] Varro A, Kenny S, Hemers E, et al. Increased gastric expression of MMP-7 in hypergastrinemia and significance for epithelial-mesenchymal signaling [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2007, 292(4): 1133-1140.
- [4] Riedel F, Gotte K, Schwalb J, et al. Expression of 92-kDa type IV collagenase correlates with angiogenic markers and poor survival in head and neck squamous cell carcinoma [J]. *Int J Oncol*, 2000, 17(6): 1099-105.
- [5] Miwa S, Miyagawa S, Soeda J, et al. Matrix metalloproteinase-7 expression and biologic aggressiveness of cholangiocellular carcinoma [J]. *Cancer*, 2002, 94(2): 428-434.
- [6] 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.
- [7] Stacker SA, Caesar C, Baldwin ME, et al. VEGF-D promotes the metastatic spread of tumor cells via the lymphatics [J]. *Nat Med*, 2001, 7(2): 186-191.
- [8] 计 骏, 严 超, 张 俊, 等. 血管内皮生长因子-C 在胃癌中的表达及其与淋巴结转移的关系 [J]. *中华实验外科杂志*, 2004, 21(5): 530-532.
- [9] 倪 效, 燕 敏, 严 超, 等. 血管内皮生长因子 D 促进胃癌淋巴管生长 [J]. *中华胃肠外科杂志*, 2008, 11(4): 362-366.

(收稿日期:2009-12-08;修回日期:2010-03-08)

(本文编辑:潘雪飞; 英文编辑:王建东)