

·临床研究·

VEGF 和 MMP-9 在肝癌病理诊断中的应用价值 *

郭晓东¹ 张芋月² 赵景民¹ 熊璐¹ 周光德¹ 赵雨来¹

(1 解放军第 302 医院 北京 100039 2 总后丰台综合仓库(62370 部队)药材供应站 北京 100039)

摘要 目的:探讨血管内皮生长因子(VEGF)和基质金属蛋白酶-9(MMP-9)在原发性肝癌(PHC)组织中的表达及病理诊断价值。方法:采用免疫组化法检测 80 例 PHC 标本和 30 例正常组织中 VEGF 和 MMP-9 的表达。结果:PHC 组 VEGF 和 MMP-9 阳性表达率分别为 68.8%、62.5%,均显著高于对照组(23.3%、26.7%) 相比较有显著性差异($P<0.05$)。肿瘤直径 ≥ 5 cm、无包膜和低分化肿瘤组织中 VEGF 和 MMP-9 阳性表达均显著高于肿瘤直径 <5 cm、包膜完整和高分化肿瘤组,相比较有显著性差异($P<0.05$)。而 VEGF 和 MMP-9 阳性表达在不同性别和年龄构成之间、有癌栓组和无癌栓组之间、AFP 阳性组和阴性组之间差异无统计学意义($P>0.05$)。结论:VEGF 和 MMP-9 在 PHC 组织中呈高表达,VEGF 和 MMP-9 可以作为 PHC 的预后指标。

关键词 血管内皮生长因子;基质金属蛋白酶-9;原发性肝癌组织;免疫组化

中图分类号:R735.7 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2012)25-4845-03

Application Value of VEGF and MMP-9 in Pathological Diagnosis of Liver Cancer*

GUO Xiao-dong¹, ZHANG Ning-yue², ZHAO Jing-min¹, XIONG Lu¹, ZHOU Guang-de¹, ZHAO Yu-lai¹

(1 302 Hospital of PLA Beijing, Beijing, 100039, China;

2 Medical supply station of the General Logistics Department the Fengtai integrated warehouse (62,370 troops), Beijing 100039, China)

ABSTRACT Objective: To study the expression of VEGF and MMP-9 in tissue of primary hepatocarcinoma (PHC) and application value in pathological diagnosis of PHC. **Methods:** The VEGF and MMP-9 expression from 80 cases of PHC tissues and 30 cases of normal tissue were detected by immunohistochemical method. **Results:** The VEGF and MMP-9 positive rate of the PHC group was 68.8% and 62.5%, and the normal tissue group was 23.3% and 26.7%, respectively, having significant differences ($P<0.05$). The VEGF positive rate in tissue of tumor diameter ≥ 5 cm, no capsule and poorly differentiated tumor were significantly higher than the diameter <5 cm, encapsulated, high - moderately differentiated tumor ($P<0.05$). The VEGF positive rate was no significantly different among the different gender and age, with or without thrombosis, AFP-positive group and negative group ($P>0.05$). **Conclusion:** The VEGF and MMP-9 have high expression in PHC tissues. The VEGF and MMP-9 can be used as prognostic indicators of PHC.

Key words: VEGF; MMP-9; Primary hepatocarcinoma; Immunohistochemical method

Chinese Library Classification: R735.7 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2012)25-4845-03

前言

原发性肝癌(primary hepatocarcinoma, PHC)是临床常见的恶性肿瘤,其发病率位居我国恶性肿瘤首位,死亡率居第 2 位,其预后极差,在诊断后的五年生存率不足 5%,近年来其发病率在世界范围内有增高趋势^[1,2]。外科手术治疗仍然是其主要的治疗方式,但由于肝癌极易侵袭、转移,患者就诊时已进入中晚期,从而失去了最佳手术治疗时机,同时,复发率高仍是根治性切除治疗存在的最大难点^[3]。目前有关肝癌肿瘤侵袭和转移的机制尚不十分清楚。血管内皮生长因子(VEGF)可以诱导肿瘤血管的形成,增加血管通透性,协助肿瘤细胞进入脉管系统,促进肿瘤的侵袭及转移,在肿瘤的发生和发展过程中起重要作用^[4,5]。基质金属蛋白酶类(MMPs)通过降解基质蛋白的作用参与恶性肿瘤的侵袭和转移,MMP-9 为 MMPs 中重要代表之一^[6]。因此,本研究采用免疫组化法检测 VEGF 和

MMP-9 在 PHC 组织中的表达,旨在为阐述 VEGF 和 MMP-9 在 PHC 形成以及发展中的作用,为 PHC 的早期诊断、治疗和预后判断提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择 2006 年 10 月~2011 年 4 月在我院接受手术切除治疗的 PHC 患者为研究对象,其中资料完整并获成功随访者 80 例。所有患者均符合诊断标准^[7],均行肿瘤切除术,术后经病理证实,术前未进行任何放化疗治疗。80 例患者中,男 47 例,女 33 例;年龄 47~73 岁,平均年龄(56.2 ± 11.6)岁;肝癌肿块位置:左肝 51 例,右肝 17 例,左右肝均见 12 例。另取 30 例良性肝脏疾病而形态正常的肝脏组织标本为对照组,经镜下诊断为正常肝脏组织,其中男 19 例,女 11 例;年龄 45~78 岁,平均年龄(54.5 ± 12.3)岁。肝癌组和对照组的性别和年龄构成比较

* 基金项目:国家“十二五”科技重大专项课题(2012ZX10002-003)

作者简介:郭晓东(1981-),主治医师,研究方向:肝病诊断与治疗,电话:13911161582, E-mail: gxd302@163.com

(收稿日期:2012-05-21 接受日期:2012-06-18)

差异无统计学意义($P>0.05$) ,具可比性。

1.2 检测方法

将所有 PHC 患者手术切除组织标本予以 10%甲醛固定、石蜡包埋、常规 4 μ m 切片 HE 染色、ABC 免疫组化法检测 ,实验步骤严格按照说明书进行。将已知的阳性切片作为阳性对照 ,磷酸盐冲洗液替代一抗作为空白对照。所有试剂鼠抗人 VEGF 抗体和鼠抗人 MMP-9 单克隆抗体均选用美国 Lab Vision 公司产品。

1.3 免疫组化结果判定

VEGF 和 MMP-9 阳性定位于细胞膜或 / 和细胞浆 ,呈棕黄色颗粒。采用彩色病理图像分析系统计算阳性细胞的扫描面积 ,采用平均光密度代表的表达强度。每个切片选择 4 个视野 ,每个视野测定 3 次后取平均值。显微镜下观察 4 个高倍镜视野

记录阳性染色细胞百分数(%) ,并根据染色强度及范围分别计分 ,计分标准按文献标准执行^[8]。

1.4 统计学方法

所有计量资料采用均数 $\pm$ 标准差表示($\bar{x}\pm s$) ,数据分析采用 SPSS13.0 统计分析软件 ,两组计数资料比较采用 χ^2 检验 ,两组计量资料比较采用 t 检验 ,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 VEGF 和 MMP-9 在 PHC 组和对照组组织中的表达比较

PHC 组 VEGF 和 MMP-9 阳性表达率分别为 68.8%、62.5% ,均显著高于对照组(23.3%、26.7%) ,相比较有显著性差异($P<0.05$)。结果见表 1。

表 1 VEGF 和 MMP-9 在 PHC 组和对照组组织中的表达比较(例 ,%)
Table 1 The comparison of expression of VEGF and MMP-9 in tissue in PHC group and control group

Groups	n	VEGF		MMP-9	
		Positive(cases)	Positive rate(%)	Positive(cases)	Positive rate(%)
PHC group	80	55	68.8	50	62.5
Control group	30	7	23.3	8	26.7

2.2 VEGF 和 MMP-9 阳性表达与肝癌病理特征的关系

肿瘤直径 ≥ 5 cm、无包膜和低分化肿瘤组织中 VEGF 和 MMP-9 阳性表达均显著高于肿瘤直径 <5 cm、包膜完整和高分化肿瘤组 ,相比较有显著性差异 ($P<0.05$) ; 而 VEGF 和

MMP-9 阳性表达在不同性别和年龄构成之间、有癌栓组和无癌栓组之间、AFP 阳性组和阴性组之间差异无统计学意义 ($P>0.05$)。结果见表 2。

表 2 VEGF 和 MMP-9 阳性表达与肝癌病理特征的关系(例 ,%)
Table 2 The relationship between positive expression of VEGF and MMP-9 and HCC pathological feature

Clinical and pathological features		n	VEGF		P	MMP-9		P
			Cases	%		Cases	%	
Gender	Male	47	34	72.3	>0.05	30	63.8	>0.05
	Female	33	21	63.6		20	60.6	
Aage	≤ 50	20	12	60.0	>0.05	11	55.0	>0.05
	>50	60	43	71.7		39	65.0	
Diameter(cm)	<5	32	10	31.3	<0.05	8	25.0	<0.05
	≥ 5	48	45	93.8		42	87.5	
Capsule	Yes	13	2	15.4	>0.05	3	23.1	<0.05
	No	67	53	79.1		47	70.1	
Differentiation degree	High-middle	15	3	20.0	<0.05	1	6.7	<0.05
	Low	65	52	80.0		49	75.4	
Tumor thrombus	No	51	34	66.7	>0.05	31	60.8	>0.05
	Yes	29	21	72.4		19	65.5	
AFP	Positive	22	17	77.3	>0.05	15	68.2	>0.05
	Negative	58	38	65.5		32	60.3	

3 讨论

当前对于 PHC 的侵袭、转移机制尚不清楚 ,但肿瘤的增

殖、浸润及转移必须要经历异位处组织细胞外基质和基底膜的破坏 ,这将主要依赖于 MMPs 和 VEGF 的作用 ,还有赖于血管和淋巴道的形成。大量研究表明 ,MMP-9 在多种恶性肿瘤细胞

中呈现过表达,认为该蛋白酶在恶性肿瘤浸润和转移中起重要作用^[9]。而 VEGF 可对血管形成起到强有力的促进作用,并且可以诱导肿瘤血管的形成并提高血管通透性以协助肿瘤的侵袭和转移,因此在肿瘤的方法及发展过程中起着重要的作用^[10,11]。本研究结果表明,PHC 组 VEGF 和 MMP-9 阳性表达率分别为 68.8%、62.5%,均显著高于对照组 ($P<0.05$)。表明 VEGF 和 MMP-9 在肝癌血管生成和细胞外基质及基底膜的破坏中具有重要的作用,原发性肝癌的发生发展与 VEGF 和 MMP-9 有关。

本研究通过临床病理特与 VEGF 和 MMP-9 表达关系的研究发现,肿瘤直径 ≥ 5 cm 和低分化肿瘤组织中 VEGF 和 MMP-9 阳性表达均显著高于肿瘤直径 <5 cm 和高中分化肿瘤。这提示 VEGF 和 MMP-9 高表达者恶性度高、侵袭力强、易发生转移、预后差,故肿瘤直径和肿瘤分化程度与 PHC 发生发展、生物学行为有密切关系,可作为反映预后的指标。本文研究结果还显示,无包膜或者包膜不完整的肿瘤组织中 VEGF 和 MMP-9 阳性表达率高,分析其原因是由于无包膜或者包膜不完整的肝癌呈快速生长和侵袭状态,此时会引起肝组织的血液需求量不足而导致局部缺氧,从而刺激肿瘤细胞大量分泌 VEGF,促进新生血管生成以改善血液供应^[12-14]。此外,通过破坏局部组织结构和基底膜屏障,促进了肿瘤的生长、转移以及新生血管的形成^[15],因而引起 VEGF 和 MMP-9 的表达水平升高。

综上所述,VEGF 和 MMP-9 在 PHC 组织中呈高表达,VEGF 和 MMP-9 表达与肿瘤包膜有无、肿瘤直径和分化程度有关。因此,我们认为 VEGF 和 MMP-9 可以作为 PHC 预后指标。

参考文献(References)

- [1] 张大红,朱卫国,岳顺.血管内皮生长因子在原发性肝癌组织中的表达及临床意义[J].细胞与分子免疫学杂志,2011,27(2):199-201
Zhang Da-hong, Zhu Wei-guo, Yue Shun. Expression and clinical significance of VEGF in tissue of primary hepatocellular carcinoma[J]. Chin J Cell Mol Immunol, 2011,27(2):199-201(In Chinese)
- [2] 赵海琳,闫惠平.CA19-9 等肿瘤标志物对原发性肝癌的诊断价值分析[J].中国现代医学杂志,2011,21(4):1413-1415
Zhao Hai-lin, Yan Hui-ping. Study on clinical value of tumor markers in patients with hepatocellular carcinoma[J]. China Journal of Modern Medicine, 2011,21(4):1413-1415(In Chinese)
- [3] 张新果,何树光.血清 TSGF 和 AFP 联合检测在原发性肝癌诊断中的应用价值[J].检验医学与临床,2011,8(15):1839-1840
Zhang Xin-guo, He Shu-guang. The application value of the combined detection of serum TSGF and AFP on the primar liver cancer[J]. Laboratory Medicine and Clinic, 2011,8(15):1839-1840(In Chinese)
- [4] 李娟,张岭漪.血管内皮生长因子与非酒精性脂肪性肝病[J].临床肝胆病杂志,2011,27(8):869-870
Li Juan, Zhang Ling-yi. Vascular endothelial growth factor and nonalcoholic fatty liver disease[J]. J Clin Hepatol, 2011,27(8):869-870(In Chinese)
- [5] Carpenter B, Lin Y, Stoll S, et al. VEGF is crucial for the hepatic vascular development required for lipoprotein uptake [J]. Development, 2005,132(14): 3293-3303
- [6] 班媛媛,李道胜.基质金属蛋白酶-7 在非小细胞肺癌中表达的意义[J].社区医学杂志,2011,9(2):1-3
Ban Yuan-yuan, Li Dao-sheng. Expression of MMP-7 in non-small cell lung cancer and its significance [J]. Journal of Community Medicine, 2011,9(2):1-3(In Chinese)
- [7] 杨秉辉,夏景林.原发性肝癌的临床诊断与分期标准[J].中华肝脏病杂志,2001,9(6):324-325
Yang Bing-hui, Xia Jing-lin. Primary liver cancer diagnosis and staging [J]. Chinese Journal of Hepatology, 2001,9(6):324-325(In Chinese)
- [8] Kong SY, Park JW, Lee JA, et al. Association between vascular endothelial growth factor gene polymorphisms and survival in hepatocellular carcinoma patients[J]. Hepatology, 2007, 46(2):446-455
- [9] 邹宁,任云青,李培莉,等. CD147 蛋白和 MMP-9 在子宫腺肌病中的表达和意义[J].中国免疫学杂志,2011,27(2):144-146
Zou Ning, Ren Yun-qing, Li Pei-li, et al. Expression of CD147 protein and MMP-9 and the significance in patients with adenomyosis[J]. Chinese Journal of Immunology, 2011,27(2):144-146(In Chinese)
- [10] 王永来,刘彩刚,陈双,等. HIF21 α 与 VEGF 在子宫内膜癌组织血管生成中的作用[J].中华肿瘤防治杂志,2007,14(15):1156-1158
Wang Yong-lai, Liu Cai-gang, Chen Shuang, et al. Effect of HIF21 α and VEGF in tumor angiogenesis of endometrial cancer [J]. Chin J Cancer Prev Treat, 2007,14(15):1156-1158(In Chinese)
- [11] 王洪蕊,马德花,赵淑萍. p53 和 VEGF 蛋白表达与子宫内膜癌的关系[J].现代生物医学进展,2008,8(10):1900-1902
Wang Hong-rui, Ma De-hua, Zhao Shu-ping. The relation of cervix carcinoma with the expression of P53 and VEGF [J]. Progress in modern biomedicine, 2008,8(10):1900-1902(In Chinese)
- [12] Mathonnet M, Descottes B, Valleix D, et al. Quantitative analysis using ELISA of vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor in human colorectal cancer, liver metastasis of colorectal cancer and hepatocellular carcinoma [J]. World J Gastroenterol, 2006,12(23):3782-3783
- [13] 彭利,徐卓,张萌,等. NS2398 对肝细胞癌 VEGF、MMP29 表达的调节[J].肿瘤防治研究,2006,33(12):859-861
Peng Li, Xu Zhuo, Zhang Meng, et al. Regulation of NS2398 on Expressions of VEGF and MMP29 in Hepatocellular Carcinoma SMMC27721 Cell Lines[J]. Cancer Research on Prevention and Treatment, 2006,33(12):859-861(In Chinese)
- [14] 朱彩荣,曾祥凤,陈亚进,等. MMP-2、TIMP-2 和 VEGF-C 在肝细胞性肝癌中的表达及其与淋巴结转移关系的研究[J].中国病理生理杂志,2005,21(7):1336-1339
Zhu Cai-rong, Zeng Xiang-feng, Chen Ya-jin, et al. Relationship between the expression of MMP-2, TIMP-2 and VEGF-C in hepatocellular carcinoma with or without lymph node metastasis [J]. Chinese Journal of Pathophysiology, 2005,21(7):1336-1339(In Chinese)
- [15] 廖文德,陈发龙,曾丽霞. uPA、MMP-2 和 VEGF 在原发性肝细胞癌中的表达[J].诊断病理学杂志,2008,15(3):228-230
Liao Wen-de, Chen Fa-long, Zeng Li-xia. Expression of urokinase-type plasminogen activator, matrix metallo proteinase-2 and vascular endothelial growth factor in hepatocellular carcinoma[J]. J Diag Pathol, 2008,15(3):228-230(In Chinese)