

VEGF、CD44v6、MMP-2 在食管癌中的表达及其与淋巴结转移的相关性

洪英财, 陈怀生, 林少霖

(暨南大学第二临床医学院/深圳市人民医院胸外科, 广东 深圳 518000)

【摘要】 目的 研究食管癌患者的癌组织发生淋巴结转移与病变组织中血管内皮生长因子(VEGF)、细胞的粘附因子 C4D4 的变异体 v6 (CD44v6)、基质金属蛋白酶-2 (MMP-2)水平的关系。方法 选取 2011 年 3 月至 2014 年 9 月到我科肿瘤科进行治疗的 83 例食管癌患者作为食管癌组, 所有患者均经术后 HE 切片病理检查证实, 另选取 21 例术前诊断为食管癌但术后经组织学检查结果为良性者的食管黏膜标本作为良性组, 比较两组患者中 VEGF、CD44v6 和 MMP-2 的阳性水平, 并对不同表达食管癌患者的淋巴结是否发生转移进行分析, 探讨他们的相关性。结果 VEGF、CD44v6 和 MMP-2 在食管癌组患者病变组织标本中的阳性表达率分别为 77.11% (64/83)、73.49% (61/83) 和 59.04% (49/83), 而在良性组患者食管组织标本中的阳性表达率分别为 14.29% (3/21)、23.81% (5/21) 和 14.29% (3/21), 三者在食管癌组患者病变组织标本中的阳性表达率均显著高于良性组, 经比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); VEGF、CD44v6 和 MMP-2 在发生了淋巴结转移的食管癌患者中的阳性率依次为 85.48% (53/62)、82.26% (51/62) 和 66.13% (41/62), 而在没有发生淋巴结转移的患者中的阳性率依次为 52.38% (11/21)、47.62% (10/21) 和 38.10% (8/21), 发生淋巴结转移的食管癌患者病变组织标本中三者的阳性表达率显著高于没有发生转移者, 经比较差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论 VEGF、CD44v6 和 MMP-2 在食管癌患者癌变组织中的表达水平与其淋巴结是否发生转移具有一定的关系, 其对食管癌患者的早期正确诊断、治疗以及预后效果评估具有重要的意义。

【关键词】 淋巴结转移; 食管癌; 血管内皮生长因子; 细胞的粘附因子 C4D4 的变异体 v6; 基质金属蛋白酶-2

【中图分类号】 R735.1 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2016)06-0888-04

Expression of VEGF, CD44v6, MMP-2 in esophageal cancer and the relationship with lymph node metastasis.

HONG Ying-cai, CHEN Huai-sheng, LIN Shao-lin. Department of Thoracic Surgery, the Second Clinical Medical College of Jinan University, People's Hospital of Shenzhen, Shenzhen 518000, Guangdong, CHINA

【Abstract】 **Objective** To study the correlation between vascular endothelial growth factor (VEGF), CD44 variant 6 (CD44v6), matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) level and lymph node metastasis in patients with esophagus cancer. **Methods** From March 2011 to September 2014, 83 patients of esophageal cancer treated in our hospital and confirmed by postoperative pathological examination were selected as esophageal cancer group, and 21 patients diagnosed as esophageal cancer preoperatively but confirmed as benign by postoperative pathological examination were enrolled as the benign group. The positive expression levels of VEGF, CD44v6 and MMP-2 were compared between the two groups, and the lymph node metastasis in patients with different expression levels was analyzed to explore their correlation. **Results** The positive expression rate of VEGF, CD44v6 and MMP-2 in esophageal cancer group were 77.11% (64/83), 73.49% (61/83) and 59.04% (49/83), respectively, which were significantly higher than those in the benign group of 14.29% (3/21), 23.81% (5/21) and 14.29% (3/21) ($P < 0.05$). The positive expression rate of VEGF, CD44v6 and MMP-2 in patients with lymph node metastasis were 85.48% (53/62), 82.26% (51/62) and 66.13% (41/62), which were significantly higher than those in the patients without lymph node metastasis of 52.38% (11/21), 47.62% (10/21) and 38.10% (8/21) ($P < 0.05$). **Conclusion** The expression levels of VEGF, CD44v6 and MMP-2 in esophageal cancer are correlated to lymph node or metastasis, which has important significance in the early diagnosis, treatment, and prognosis assessment of esophageal cancer.

【Key words】 Lymph node metastasis; Esophageal cancer; Vascular endothelial growth factor (VEGF); CD44 variant 6 (CD44v6); Matrix metalloproteinase-2 (MMP-2)

食管癌是一种在全球范围内发生率均较高的恶性肿瘤疾病, 而且我国在食管癌高发以及高死亡率国家中都排在了前几位^[1]。食管癌患者在早期并没有明显症状, 因此通常食管癌患者被确诊后已经属于晚期, 对其预后极为不利。众所周知, 影响恶性肿瘤发

生发展的因素多种多样, 但对其具体的影响机制却没有明确的认识^[2]。肿瘤出现浸润以及淋巴结发生转移是与恶性肿瘤治疗以及预后效果有直接关系的两个主要生物行为特征, 恶性肿瘤细胞在繁殖与扩散转移的过程中与体内的粘附因子水平、基质降解酶含量以

及血管的通透能力等都有紧密的联系,并且已有研究表明恶性肿瘤病变组织中的各项因子,如血管内皮生长因子(VEGF)、细胞的粘附因子C4D4的变异体v6 (CD44v6)以及基质金属蛋白酶-2 (MMP-2)的阳性表达情况与癌组织中淋巴结是否发生转移有一定的相关性^[3]。笔者对我院治疗的83例食管癌患者病变组织中的VEGF、CD44v6以及MMP-2的表达水平与淋巴结转移的关系进行研究,以期对食管癌患者的早期诊断、治疗以及对预后效果评估提供相应的指导和临床依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2011年3月到2014年9月共有83例食管癌患者到我院肿瘤科治疗,所有患者均手术后经HE切片病理检查证实,将其作为本研究的食管癌组。83例患者中男性53例,女性30例;年龄41~71岁,平均(52.43±6.9)岁;淋巴结发生转移者62例,未发生转移者21例。所有患者在手术切除治疗前均未采取任何化疗和放疗治疗措施。选取21例术前诊断为食管癌但术后经组织学检查结果为良性的患者的食管黏膜标本作为良性组。

1.2 试剂和方法 研究中所用的兔抗人VEGF抗体的生产厂家为美国Antibody Diagnosis公司,所使用的鼠抗人CD44v6以及MMP-2抗体的生产厂家均为美国的Chemicon公司。根据说明书的要求进行免疫组织的化学染色,首先将制作的切片标本进行脱蜡以及水化处理,然后使用浓度为3%的双氧水进行处理,利用微波对抗原进行修复,并滴加一定量的抗体后、利用DAB显色液进行显色。实验中所使用的阳性对照标本为VEGF、CD44v6以及MMP-2表达显示结

果为阳性的食管癌组织,阴性对照标本为使用磷酸盐缓冲液(PBS)代替一抗染色的标本^[4]。

1.3 评价方法 根据细胞染色的程度以及阳性细胞的总数量对实验结果进行判定,首先根据细胞的着色程度进行评分,如果细胞未出现显色情况则记录为0分,细胞染色显示为黄色时计1分,细胞染色后显示为棕黄色时计2分,如果细胞染色后出现了明显的棕褐色时计3分。根据观察到VEGF、CD44v6以及MMP-2阳性细胞数目在同一类细胞总数目中所占比例的多少对其进行评分:其中阳性细胞数目所占比例未超过5%时计0分,未超过25%时计1分,尚未超过50%时计3分,超过75%后计4分。将两种评分的分数进行相加,结果在3分以上判定为阳性,结果为3分或以下时为阴性^[5]。

1.4 统计学方法 应用SPSS17.0统计软件进行数据分析,计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用独立样本 t 检验,计数资料以百分率(%)表示,采用 χ^2 检验,VEGF与CD44v6、MMP-2的相关性采用Spearman相关性分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 VEGF、CD44v6和MMP-2在不同食管组织中的阳性表达率比较 图1中显示的A、B、C分别表示VEGF、CD44v6以及MMP-2在食管癌的病变组织标本中的染色图片,VEGF以及MMP-2的阳性表达均发生于病变细胞的胞浆中,而CD44v6的阳性表达则均发生于病变细胞的胞膜中。VEGF、CD44v6和MMP-2在食管癌患者病变组织标本中的阳性表达率均高于良性组,其差异均有统计学意义($P<0.05$),见表1。

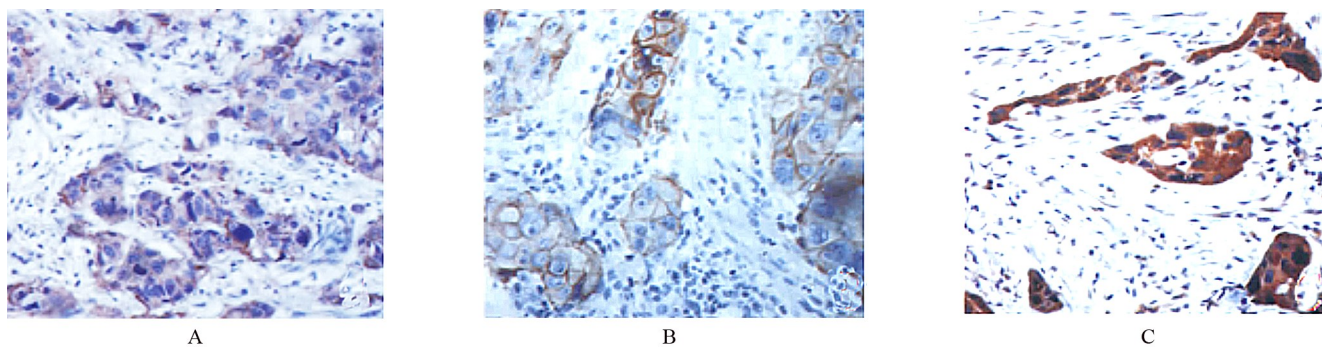


图1 VEGF、CD44v6以及MMP-2在食管癌患者的病变组织标本中染色显示图($\times 400$)

注:A,VEGF;B,CD44v6;C,MMP-2。

表1 不同食管组织标本中VEGF、CD44v6和MMP-2的阳性表达率比较[例(%)]

组别	例数	VEGF 阳性表达	CD44v6 阳性表达	MMP-2 阳性表达
良性组织组	21	3(14.29)	5(23.81)	3(14.29)
食管癌组织组	83	64(77.11)	61(73.49)	49(59.04)
χ^2 值		6.356	7.596	9.369
P 值		<0.05	<0.05	<0.05

2.2 淋巴结转移与否与VEGF、CD44v6、MMP-2水平的关系 VEGF、CD44v6和MMP-2在发生淋巴结转移的食管癌患者中的阳性率均显著高于未发生转移组织,其差异均具有统计学意义($P<0.05$),见表2。

2.3 VEGF与CD44v6、MMP-2的相关性 将VEGF与CD44v6进行Spearman相关性分析, r 值为0.258, P 值为0.004,食管癌病变组织标本中VEGF的

水平与 CD44v6 的水平呈现正相关的关系,将 VEGF 与 MMP-2 的表达进行 Spearman 相关性分析,其中 r 值

为 0.598, P 值为 0.002,食管癌病变组织标本中 VEGF 水平与 MMP-2 水平也呈现正相关关系。

表 2 淋巴结转移与 VEGF、CD44v6、MMP-2 水平的相关性[例(%)]

组别	VEGF		CD44v6		MMP	
	阴性($n=19$)	阳性($n=64$)	阴性($n=22$)	阳性($n=61$)	阴性($n=34$)	阳性($n=49$)
淋巴结转移($n=62$)	9(14.52)	53(85.48)	11(17.74)	51(82.26)	21(33.87)	41(66.13)
淋巴结未转移($n=21$)	10(47.62)	11(52.38)	11(52.38)	10(47.62)	13(61.90)	8(38.10)
χ^2 值	9.624		5.362		8.269	
P 值	<0.05		<0.05		<0.05	

3 讨论

恶性肿瘤病变的出现是一个极其复杂的过程,其包括了肿瘤的形成、繁殖、扩散以及转移等,这些过程大都会伴随着基因的突变、血管的产生、细胞的凋亡以及病灶的转移等^[6]。因此,在肿瘤的出现过程中必定大量的蛋白类物质以及细胞因子等参与到该过程中。其中 VEGF、CD44v6 以及 MMP-2 的表达水平是目前在研究肿瘤的发生以及是否转移时关注的焦点。

本研究结果表明,VEGF、CD44v6 以及 MMP-2 在食管癌患者黏膜组织中的阳性表达率分别为 77.11%、73.49% 和 59.04%,而在良性食管组织标本中的阳性表达率依次为 14.29%、23.81%、14.29%,三者食管癌病变组织标本中的阳性表达率显著的高于在良性标本的表达率。其中 VEGF 是最常见的并且具有较高特异性的一种血管通透性因子,它通常是在血管的通透能力提高后导致新血管的快速生长并产生腹水时产生的,VEGF 在大肠癌、乳腺癌以及其他恶性肿瘤中都具有很高的表达情况,而且它的表达与肿瘤是否发生侵袭性转移以及患者手术治疗后的预后效果都有着紧密的联系^[7]。目前,已经有研究证实,VEGF 的表达情况不仅可以评价病变处血管上皮细胞的增殖、转移以及生长情况,还可以对病灶的生长速度以及转移的方向进行评估^[8]。本研究结果表明,VEGF 在淋巴结发生和没有发生转移的食管癌病变组织标本中的阳性率依次为 85.48% 以及 52.38%,因此可以认为食管癌患者病变黏膜组织 VEGF 的水平与淋巴结是否发生了转移有一定关系^[9]。

CD44v6 是一种在肿瘤组织中大量存在的跨膜糖蛋白类物质,它具有良好的分子粘附的作用,能够是肿瘤细胞与周围的基质中存在的各类结构性蛋白进行反应,当 CD44v6 在体内的表达水平过量后会导致周围基质发生构型上的改变,进而导致肿瘤细胞的位置发生转移,进一步增加了肿瘤细胞生长以及迁移,因此目前大部分的研究都认为 CD44v6 作为一种反应蛋白参与了病灶处细胞的生长以及迁移^[10]。并且研究已经证实,CD44v6 蛋白在大肠癌以及胃癌患者的病变组织中都有较高的表达,并且与恶性肿瘤的浸润以及转移都有密不可分的关系^[11]。本研究中 CD44v6 在

淋巴结发生和没有发生转移的食管癌病变组织中的阳性表达率依次为 82.26% 以及 47.62%,差异有统计学意义。因此,食管癌患者病变黏膜组织中 CD44v6 表达与淋巴结是否发生转移有一定关系,这一结果与目前已有的研究结果是一致的。

MMP-2 是一种没有被糖化的明胶酶,它作为一种关键酶参与了肿瘤细胞外基质和基底膜中存在的 IV 型胶原的降解过程,从而能对细胞外基质造成损伤,在一定程度上加快了恶性肿瘤细胞向其他组织的浸润以及扩散情况^[12]。由于其在 IV 型胶原的降解过程中的特异性,MMP-2 已经成为了评价肿瘤侵袭程度以及是否转移的主要的一种基质金属蛋白酶指标。研究也已经发现,MMP-2 在消化道肿瘤、泌尿系统中流以及乳腺癌中具有较高的表达,并且与病灶的转移、浸润有密切的关系^[13]。本研究中,MMP-2 在淋巴结发生和没有发生转移的食管癌病变组织标本中的阳性表达率依次为 66.13% 以及 38.10%,结果具有明显的差异。因此,食管癌患者病变组织中 MMP-2 的表达也与淋巴结是否发生转移有一定关系,可以认为,如果食管癌组织中的 MMP-2 的分泌量越多,那么肿瘤细胞以及淋巴结的转移发生的概率就会越高。

通过上述分析,笔者认为 VEGF、CD44v6 以及 MMP-2 三者对血管的血管的形成和生长、病灶的生长、迁移等不良的生物学行为起到了一定的促进作用^[14],并且都与肿瘤中的淋巴结是否发生了转移有着一定关系。本文进一步对三者之间关系进行研究后发现,食管癌病变组织标本中 VEGF 的水平与 CD44v6 以及 MMP-2 的水平呈现正相关关系,这也更加说明了三者同时与淋巴结是否发生了转移具有相关性。

综上所述,VEGF、CD44v6 以及 MMP-2 在食管癌患者癌变组织中的水平与其淋巴结是否发生转移具有一定的关系,其对食管癌患者的早期正确诊断、治疗以及预后效果评估具有重要的意义。

参考文献

- [1] 王成师,钱普东,濮娟,等. CT 在食管癌淋巴结转移放疗靶区勾画中的价值探讨[J]. 海南医学, 2014, 25(6): 834-836.
- [2] 庆琳琳,胡继春,赵晓志. 食管癌组织中 ERK、VEGF-C、CD44V6 表达的相关性研究[J]. 河北医药, 2013, 35(3): 360-361.

甲胎蛋白在原发性肝癌的诊断和预后判断中的临床价值

甘雨¹, 于新发², 周成宇², 罗美华², 黄维², 吕伟标², 董嘉尧³, 林欣琪¹, 陈思东¹

(1. 广东药学院, 广东 广州 510310;

2. 佛山市顺德区第一人民医院, 广东 佛山 528300;

3. 南方医科大学, 广东 广州 510515)

【摘要】 目的 探讨癌组织和血清中的甲胎蛋白(AFP)水平与原发性肝癌(PHC)的临床特点和预后关系, 为临床诊治提供依据。方法 选取 2004 年 11 月至 2014 年 6 月期间顺德人民医院收治的均经组织学病理证实为新发 PHC 患者 62 例, 分别应用免疫组化 S-P 法和化学发光免疫分析法检测所有患者的 AFP, 分析不同 AFP 水平患者的临床特点和生存时间的差异。结果 PHC 患者中, 肝癌组织中 AFP 的表达程度与血清中 AFP 的浓度之间呈正相关的($\chi^2=22.71, P<0.001, r=0.488$); PHC 患者血清中 AFP 浓度高低与肿瘤大小有关($\chi^2=7.83, P=0.025$); 组织中 AFP 表达程度与有无 HBV 感染有关($\chi^2=4.08, P=0.043$); PHC 组织中 AFP 阳性组生存时间长于阴性组(39.0 个月 vs 24.9 个月), 差异无统计学意义($\chi^2=1.90, P>0.05$)。结论 血清中甲胎蛋白的浓度与原发性肝癌肿瘤大小有关; HBV 感染影响肝癌患者甲胎蛋白的表达量, 定期监测甲胎蛋白浓度变化, 有助于早期肝癌的发现。肝癌组织中 AFP 阳性患者生存期高于阴性, 但差异无统计学意义, 今后可加大样本量进行进一步的探讨。

【关键词】 原发性肝癌; 甲胎蛋白; 临床特点; 预后

【中图分类号】 R735.7 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2016)06-0891-04

Application of alpha-fetoprotein in the diagnosis of primary hepatic carcinoma and prediction of the patients' prognosis. GAN Yu¹, YU Xin-fa², ZHOU Cheng-yu², LUO Mei-hua², HUANG Wei², LV Wei-biao², DONG Jia-yao³, LIN Xin-qi¹, CHENG Si-dong¹. 1. Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510310, Guangdong, CHINA; 2. The First People's of Shunde District of Foshan, Foshan 528300, Guangdong, CHINA; 3. Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong, CHINA

【Abstract】 Objective To investigate the relationship between the clinical characteristics and prognosis of primary hepatic carcinoma (PHC) and alpha-fetoprotein (AFP) in cancer tissue and serum. **Methods** A total of 62 patients diagnosed as PHC in the First People's of Shunde District of Foshan from November 2004 to June 2014 was enrolled. AFP in the cancer tissue and serum were detected by immunohistochemically and chemoluminescence immunoassay, respectively. The clinical characteristics and survival time in patients with different levels of AFP were analyzed. **Results** In patients

通讯作者: 陈思东。E-mail: chensidong1@126.com

[3] 王琳, 李苏宜. 食管鳞癌干细胞相关标志物的研究进展[J]. 世界华人消化杂志, 2013, 21(6): 490-497.

[4] 王旺, 波拉提, 马楠. 乳腺浸润性导管癌超声表现和腋窝淋巴结转移与 c-erbB-2 基因表达相关性分析[J]. 海南医学, 2014, 25(1): 12-14.

[5] 郭庆喜, 蒲霞, 王玺皓, 等. 结直肠癌组织中 CD44V6、MMP-7 和 E-cadherin 表达及临床意义[J]. 现代预防医学, 2013, 40(23): 4478-4481.

[6] 樊善继, 徐海帆, 胡泽成, 等. 大肠癌患者组织多项基质金属蛋白、VEGF-C、VEGF-D、Ets-1、CD44V6 及 VEGFR-3 的变化[J]. 海南医学院学报, 2014, 20(2): 177-183.

[7] 葛欣, 谷庆, 唐益庭, 等. 转录因子 YY1 在食管癌中的表达及其对食管癌细胞功能的影响[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2014, 34(7): 930-936.

[8] 徐卫国, 王宇鹏, 孙红, 等. 大肠癌组织中 NRP-2、NRP-1 的表达及其与肿瘤淋巴结转移的相关性研究[J]. 重庆医学, 2013, 42(4): 382-384.

[9] 李斌, 李劲松, 袁宁. 78 例食管癌患者 CK20 mRNA、CD44v6、NF- κ B 表达的临床意义[J]. 重庆医学, 2011, 40(20): 1995-1996.

[10] 刘琪, 左文述, 王新昭, 等. 乳腺癌原发灶和淋巴结转移灶激素受体及 HER-2 与 Ki-67 表达相关性分析[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2013, 20(15): 1153-1157.

[11] 张金玲, 费雁, 陈伟, 等. MMP-2、MMP-14、TIMP-2 在胃癌组织中的表达及意义[J]. 华中科技大学学报(医学版), 2013, 42(2): 227-230.

[12] 李超, 徐小玲, 王玲, 等. 食管鳞状细胞癌组织中 Periostin、VEGF 的表达及意义[J]. 临床与实验病理学杂志, 2014, 30(12): 1350-1353.

[13] Lv Y, Wang W, Jia WD, et al. High preoperative levels of serum periostin are associated with poor prognosis in patients with hepatocellular carcinoma after hepatectomy [J]. Eur J Surg Oncol, 2013, 39(10): 1129-1135.

[14] Wang W, Sun QK, He YF, et al. Overexpression of periostin is significantly correlated to the tumor angiogenesis and poor prognosis in patients with esophageal squamous cell carcinoma [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2014, 7(2): 593-601.

(收稿日期: 2015-06-29)