

HME、AS 在胃癌组织中的表达及临床意义

卢杰¹ 石海¹ 程芑² 张楠楠¹ 许建明¹ 胡乃中¹

摘要 目的 探讨人巨噬细胞金属弹力酶(HME)、血管抑素(AS)在胃癌组织中的表达及临床意义。方法 采用免疫组化SP法检测胃癌和癌旁组织石蜡标本30例中的HME、AS蛋白的表达情况。结果 ①胃癌组织中HME和AS蛋白的表达的阳性率明显高于胃癌旁组织,差异有统计学意义($P < 0.05$)。②HME的阳性表达与胃癌的分化程度、血管浸润呈正相关性,与其他临床病理参数无显著相关;AS的阳性表达与肿瘤的大小、浸润程度、血管浸润、淋巴及远处转移呈负相关性,与其他临床病理参数无显著相关。③胃癌组织中HME与AS蛋白的阳性表达存在关联性。结论 HME、AS在胃癌组织中存在异常高表达且表达有关联性,两者与胃癌的发生、发展密切相关,这可能为胃癌的诊断、预后判断及治疗提供参考依据。

关键词 胃癌; HME; AS; 免疫组化

中图分类号 R 573.9

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2015)09-1326-04

胃癌是目前世界上最常见的致死原因^[1-2],由于目前胃癌发病机制尚未完全阐明,早期无特异性的症状和体征,所以患者的就诊率低,早期胃癌检出率低,死亡率高。故胃癌早期诊断和预后判定是胃癌研究急需解决的问题。人巨噬细胞金属弹力酶

(human macrophage metalloelastase, HME)是胃癌细胞穿透基底膜和肿瘤浸润组织必不可少的一种活性物质,部分肿瘤细胞也具有分泌巨噬细胞金属弹力酶的作用,HME能分解纤溶酶原生成血管抑素(angiotatin, AS),其能抑制肿瘤的微血管内皮细胞增殖,对早期胃癌诊断及预后评估有重要意义。该研究对HME和AS在胃癌组织中的表达进行探讨,并分析两者在胃癌组织中表达的关联性及其意义。

1 材料与方法

1.1 标本来源 收集2007年6月~2008年1月安徽医科大学第一附属医院病理确诊的30例胃癌患者病理蜡块标本和癌旁正常胃黏膜;胃癌组织和癌旁组织均再次由病理科医师经HE染色镜检确认诊断结果。患者术前均未接受放化疗,术后均经病理证实,同时患者未合并其他恶性肿瘤。30例癌旁正常胃黏膜组织均取自距胃癌组织切缘5 cm以外的正常胃黏膜组织。所有病例临床及病理资料完整,见表1。

1.2 主要试剂 兔抗人Anti-Angiotatin多克隆抗体购自美国Abcam公司;基质金属蛋白酶-12(MMP-12)兔抗人多克隆抗体、免疫组化试剂盒、DAB显色液、柠檬酸盐及PBS均购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.3 实验方法 采用免疫组化SP法对石蜡切片进行染色,石蜡包埋组织切片(厚为3 μm)经常规脱蜡、水化;按要求进行抗原修复后,滴加羊血清封闭抗原,滴加一抗、生物素标记的二抗及链霉素亲和素-过氧化物酶,DAB显色,常规梯度酒精脱水、封

2015-04-14 接收

基金项目:上海市卫生厅基金资助项目(编号:20124271)

作者单位:¹安徽医科大学第一附属医院消化内科,合肥 230032

²上海交通大学医学院附属第三人民医院消化内科,上海 201900

作者简介:卢杰,男,硕士研究生;

石海,男,副教授,副主任医师,硕士生导师,责任作者,

E-mail: shmdah@163.com

of physical function, role-physical, general health, vitality, social function, role-emotional, mental health were improved. There was also no significant difference in the score of body pain. Compared with the postoperative changes of the two groups, there was significant difference in the scores of role-physical, vitality, role-emotional and mental health. **Conclusion** The patients' physical health level can be increased obviously by surgical treatment. By increasing the number of postoperative follow-up and giving patient's rehabilitation guidance and psychological counseling timely, the factors of the negative impact on the mental health can be removed during the postoperative recovery period. As a result, the quality of life of postoperative patients can be further improved positively.

Key words scar contracture; medical intervention; quality of life

片、拍照;所用 HME 抗体的浓度为 1:50;所用 AS 抗体的浓度为 1:100。

1.4 结果判定 HME 染色阳性位于细胞质和(或)细胞膜中呈棕黄色,显色较强时呈棕褐色。AS 染色阳性位于胞质中呈棕黄色,显色强时呈棕褐色,光镜下用高倍镜视野对每例胃癌组织及癌旁组织切片区域连续计数 500 个细胞,计算胃癌细胞所占的阳性比例,其中无细胞被染色的为阴性(-),细胞染色阳性占比例 <10% 为(+),细胞染色阳性比例占 10%~50% 为(++),细胞染色阳性 >50% 为(+++)。为便于统计描述,对本标本进行分类 0~+ 为弱染,定为阴性表达;(+~++) 为强染,定为阳性表达。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 11.0 软件进行分析。计数资料分布采用 χ^2 检验分析进行比较,HME 和 AS 表达的关联性采用 2×2 列联分析进行比较。

2 结果

2.1 胃癌和癌旁组织中 HME、AS 的表达 胃癌组织和癌旁组织各 30 例。HME 在正常的胃黏膜组织中大部分表达为阴性,少部分表达为阳性;在胃癌组织中表达主要分布在细胞质和(或)细胞膜中,染色后呈棕黄色。在癌旁组织中 HME 阳性率为 10.0%(3/30),胃癌组织中阳性率为 66.7%(20/30);明显高于在癌旁中的表达($\chi^2 = 20.376, P < 0.05$),见表 1、图 1。AS 在正常胃黏膜中少部分表达为阳性,多部分表达为阴性;在胃癌组织中的表达主要位于胞质中,其染色阳性表达呈棕黄色颗粒。在癌旁组织中 AS 阳性率为 16.7%(5/30);胃癌组织中阳性率为 73.3%(22/30);显著高于在癌旁中的表达($\chi^2 = 19.461, P < 0.05$),见表 1、图 1。

2.2 HME 和 AS 在胃癌组织中表达的关联性分析

在 30 例胃癌组织 HME 和 AS 的联合检测中发现同时为阳性的为 63.3%(19/30),同时为阴性的为 23.3%(7/30);在 HME 表达阳性的例数中 AS 同时表达为阳性率 95%(19/20),在 AS 表达阳性的例数中 HME 同时表达为阳性的为 86.4%(19/22);HME 和 AS 在胃癌组织中表达存在关联($r = 0.570, P < 0.05$),见表 2。

2.3 HME 和 AS 在胃癌中的表达与胃癌临床病理参数的关系 HME 的阳性表达与胃癌的分化程度、血管浸润有关($P < 0.05$),与其他临床病理参数无显著相关性;AS 的阳性表达与肿瘤大小、浸润程度、血管浸润、淋巴及远处转移有关($P < 0.05$),与其他

临床病理参数无显著相关性,见表 1。

表 1 胃癌组织中 HME 和 AS 的表达与临床病理参数的关系

项目	n	HME 表达		χ^2 值	P 值	AS 表达		χ^2 值	P 值
		阳性	阴性			阳性	阴性		
组织来源									
胃癌组织	30	20	10	20.376	0.000	22	8	19.461	0.000
癌旁组织	30	3	27			5	25		
性别									
男	16	13	3	1.099	0.417	11	5	2.039	0.269
女	14	9	5			6	8		
年龄(岁)									
≤60	19	15	4	1.975	0.225	14	5	2.391	0.238
>60	11	6	5			5	6		
肿瘤大小(cm)									
≤5	15	9	6	3.394	0.139	13	2	13.393	0.001
>5	15	4	11			3	12		
肿瘤位置									
贲门胃底	17	14	3	2.851	0.123	9	8	1.824	0.259
胃体胃窦	13	7	6			10	3		
浸润程度									
黏膜及肌层	14	8	6	0.002	0.466	12	2	13.393	0.001
浆膜及浆膜外	16	9	7			3	13		
血管浸润									
阳性	12	3	9	6.451	0.024	4	8	7.751	0.009
阴性	18	13	5			15	3		
分化程度									
中、高	13	10	3	6.652	0.025	7	6	0.002	0.454
低	17	5	12			9	8		
淋巴转移									
阳性	16	12	4	1.071	0.442	2	14	13.274	0.010
阴性	14	8	6			11	3		
远处转移									
有	10	7	3	1.674	0.260	2	8	6.696	0.019
无	20	9	11			14	6		

表 2 HME 和 AS 在 30 例胃癌组织中的表达情况

项目	AS		总数
	阳性	阴性	
HME			
阳性	19	1	20
阴性	3	7	10
总数	22	8	30

3 讨论

恶性肿瘤的发生和致死主要是因为其能侵袭正常组织并向远处转移,降解破坏细胞外基质是肿瘤侵袭和转移的必要条件,大部分细胞外基质的破坏是由基质弹性金属蛋白酶完成的。基质金属蛋白酶家族(matrix metalloproteinases family, MMPs)是一种细胞外基质肽链内切酶,其催化活性依赖于酶活性

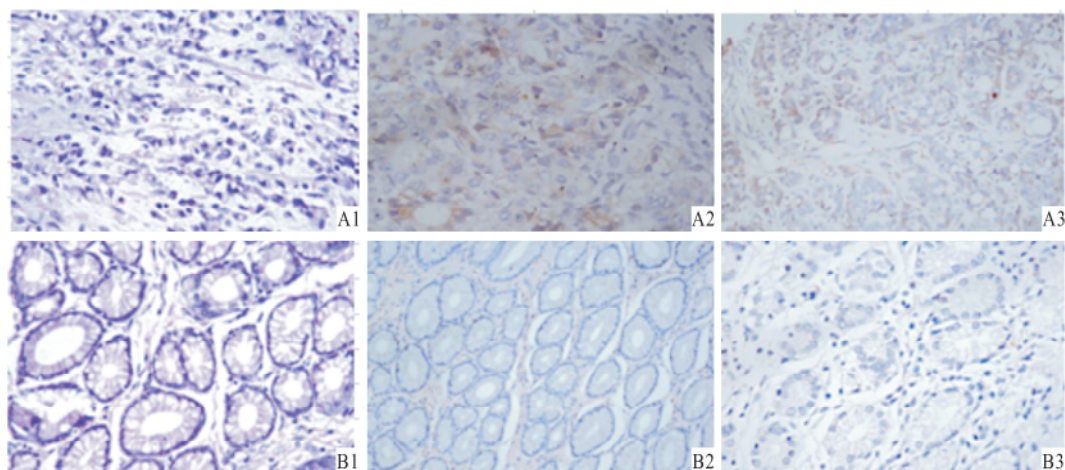


图1 HME及AS在胃癌及癌旁组织中的表达 ×400

A: 胃癌组织; B: 癌旁组织; 1: HE染色; 2: 免疫组化检测HME蛋白表达; 3: 免疫组化检测AS蛋白表达

中心与金属锌离子的结合^[3]; MMPs最初都是以细胞分泌无活性的酶前体形式存在,只有当被激活时才发挥其作用,能影响机体多种生理和病理过程,如癌症、创伤愈合、胚胎发育、组织形成、炎症性疾病等疾病^[4]。研究^[5]表明,很多恶性肿瘤存在MMPs高表达,MMPs通过降解细胞外基质从而促进肿瘤的侵袭和转移^[6-8]。

HME由活化的巨噬细胞分泌,是MMPs中的一员,又称为MMP-12,能降解多种细胞外和非细胞外成分,弹性蛋白是其底物。一方面HME可以通过分解纤溶酶原和Ⅲ型、Ⅴ型、Ⅹ型胶原而产生血管抑素,抑制肿瘤血管生成、肿瘤的侵袭及生长;另一方面其还能分解细胞外基质,如Ⅳ型胶原和纤维蛋白,以促进血管生成,促进肿瘤侵袭和转移^[9]。研究^[10]显示,与其他MMP家族成员具有促进肿瘤浸润转移的作用不同,HME具有独特的抗肿瘤生长及转移的作用。AS并不是直接由肿瘤细胞分泌,而是肿瘤细胞可以产生或激活某种蛋白酶,这种蛋白酶可将体内的前体分解为血管生成抑制剂^[11]。国外研究^[12-14]显示,HME可分解纤溶酶原,从而促进AS生成,抑制肿瘤血管内皮细胞的增殖,促进肿瘤血管内皮细胞凋亡,抑制肿瘤浸润。HME在AS生成的过程中直接作为关键分子发挥作用,使得HME与肿瘤的关系备受关注。

前期的研究^[15]显示,人胃癌细胞能表达HME,并因此减少肿瘤微血管的形成;同时表明HME高表达与抑制胃癌的血管浸润及术后复发显著相关,并可能减少淋巴管浸润和淋巴结转移,提高患者术后生存率;HME的高表达可以降低肿瘤组织的血管

密度,并与较好的预后密切相关,对抑制肿瘤新生血管形成、抑制胃癌的进一步发展及术后复发起着至关重要的作用,基于以上研究结果,设想HME抑制胃癌生长可能与其影响肿瘤血管生成机制有关,本研究将在以往的工作基础上进一步探讨HME抑制胃癌生长作用机制。本实验显示HME在胃癌组织中表达明显高于正常的胃黏膜组织,差异有统计学意义,说明HME蛋白过表达与胃癌发生、发展、转移及预后有着密切的联系,HME的阳性表达与胃癌的分化程度、血管浸润有关,胃癌分化程度越高,HME表达的越高;有血管浸润组织的HME表达明显低于无血管浸润的组织,与其他临床病理参数无显著相关性;AS在胃癌组织中表达明显高于正常的胃黏膜组织,差异有统计学意义,说明AS蛋白过表达也与胃癌的发生有着密切的联系,AS的阳性表达与肿瘤的大小、浸润程度、血管浸润、淋巴及远处转移有关,在肿瘤较大的组织中AS的表达低于肿瘤较小的组织,在肿瘤浸润程度较深,或者有血管浸润、淋巴及远处转移的组织中阳性表达低于肿瘤浸润程度浅,无血管浸润、淋巴及远处转移的组织,与其他临床病理参数无显著相关性。通过对HME和AS在胃癌中表达的列联分析表明HME和AS在胃癌组织表达存在相关性,说明HME表达抑制胃癌生长的机制可能是通过分解纤溶酶原生成AS所致,也为探讨HME如何抑制肿瘤细胞生长的机制提供了线索。以及进一步研究胃癌生长作用及其作用途径,探讨胃癌的发生、发展及预后机理、开发判断胃癌的早期诊断,分子靶向治疗及预后等方面均具有重要意义。

参考文献

- [1] Hong L, Han Y, Liu J, et al. Fibroblast growth factor receptor 2: a therapeutic target in gastric cancer[J]. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2013 7(8): 759–65.
- [2] Giordano A, Cito L. Advances in gastric cancer prevention[J]. *World J Clin Oncol* 2012 3(9): 128–36.
- [3] Maréchal R, Demetter P, Nagy N, et al. High expression of CXCR4 may predict poor survival in resected pancreatic adenocarcinoma[J]. *Br J Cancer* 2009 100(9): 1444–51.
- [4] Valdivia A, Peralta R, Matute-González M, et al. Co-expression of metalloproteinases 11 and 12 in cervical scrapes cells from cervical precursor lesions[J]. *Int J Clin Exp Pathol* 2011 4(7): 674–82.
- [5] Engers R, Gabbert H E. Mechanisms of tumor metastasis: cell biological aspects and clinical implications[J]. *J Cancer Res Clin Oncol* 2000 126(12): 682–92.
- [6] Hagemann T, Gunawan B, Schulz M, et al. mRNA expression of matrix metalloproteases and their inhibitors differs in subtypes of renal cell carcinomas[J]. *Eur J Cancer* 2001 37(15): 1839–46.
- [7] Kerkelä E, Ala-aho R, Klemi P, et al. Metalloelastase (MMP-12) expression by tumour cells in squamous cell carcinoma of the vulva correlates with invasiveness, while that by macrophages predicts better outcome[J]. *J Pathol* 2002 198(2): 258–69.
- [8] Hofmann H S, Hansen G, Richter G, et al. Matrix metalloproteinase-12 expression correlates with local recurrence and metastatic disease in non-small cell lung cancer patients[J]. *Clin Cancer Res* 2005 11(3): 1086–92.
- [9] Bradbury P A, Zhai R, Hopkins J, et al. Matrix metalloproteinase 1, 3 and 12 polymorphisms and esophageal adenocarcinoma risk and prognosis[J]. *Carcinogenesis* 2009 30(5): 793–8.
- [10] Fan J, Wang X, Wu L, et al. Macrophage-specific overexpression of human matrix metalloproteinase-12 in transgenic rabbits[J]. *Transgenic Res* 2004 13(3): 261–9.
- [11] Houghton A M, Grisolan J L, Baumann M L, et al. Macrophage elastase (matrix metalloproteinase-12) suppresses growth of lung metastases[J]. *Cancer Res* 2006 66(12): 6149–55.
- [12] O'Reilly M S, Holmgren L, Shing Y, et al. Angiostatin: a novel angiogenesis inhibitor that mediates the suppression of metastases by a Lewis lung carcinoma[J]. *Cell* 1994 79(2): 315–28.
- [13] Cornelius L A, Nehring L C, Harding E, et al. Matrix metalloproteinases generate angiostatin: effects on neovascularization[J]. *J Immunol* 1998 161(12): 6845–52.
- [14] Dong Z, Kumar R, Yang X, et al. Macrophage-derived metalloelastase is responsible for the generation of angiostatin in Lewis lung carcinoma[J]. *Cell* 1997 88(6): 801–10.
- [15] Cheng P, Jiang F H, Zhao L M, et al. Human macrophage metalloelastase correlates with angiogenesis and prognosis of gastric carcinoma[J]. *Dig Dis Sci* 2010 55(11): 3138–46.

Expressions and clinical significance of HME and AS in gastric cancer

Lu Jie¹, Shi Hai¹, Cheng Peng², et al¹Dept of Gastroenterology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University Hefei 230032;²Dept of Gastroenterology, The Third People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong

University School of Medicine, Shanghai 201900)

Abstract Objective To explore the expression and clinical significance of HME and AS in gastric cancer. **Methods** The expressions of HME and AS in 30 specimens of gastric carcinoma and 30 specimens of normal gastric tissues were detected by immunohistochemical SP method. **Results** ① The expressions of HME and AS in gastric carcinoma was significantly higher than that of normal gastric tissues, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). ② The expression of HME was significantly associated with the depth of the blood vessels invasion and degree of differentiation, nothing to do with other clinicopathological parameters. The expression of AS was significantly associated with the vascular invasion, tumor size, invasion, lymph node and distant metastasis, nothing to do with other clinicopathological parameters. ③ The expression of HME was positively correlated to that of AS in gastric carcinoma. **Conclusion** The high expressions of HME and AS have correlation in gastric carcinoma, their expressions of varying degrees are closely related with the occurrence and development of gastric cancer. This may provide reference for the judgment of the diagnosis, prognosis and treatment of gastric cancer.

Key words gastric carcinoma; HME; AS; immunochemistry