

# 原发性肝癌患者 VEGF、MMP-13、SF 和 BXTM 联合检测的临床研究

侯文权<sup>1</sup>, 周凌云<sup>2</sup>, 侯文锋<sup>3</sup>, 徐 胜<sup>2</sup> (1. 江苏省沭阳县人民医院 223600; 2. 江苏省沭阳县中心医院住院部 223600; 3. 山西省太原康明眼科医院 030000)

**【摘要】 目的** 探讨原发性肝癌(primary hepatocarcinoma, PHC)中血管内皮生长因子(VEGF)、基质金属蛋白酶-13 (MMP-13)、铁蛋白(SF)、肿瘤相关物质(BXTM)的表达及其意义。**方法** 选取 PHC 患者 79 例、健康对照组 25 例。采用免疫组化法检测组织中 VEGF、MMP-13 蛋白的表达;采用电化学发光法检测 SF、BXTM。**结果** VEGF 和 MMP-13 阳性表达率在 PHC 组织明显高于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),与患者年龄、性别、病理分型、肿块最大径等临床病理特征参数没有相关性,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。但与肝癌的转移、癌栓、组织分化程度有相关性,差异有统计学意义( $p < 0.05$ ),VEGF 和 MMP-13 在肝癌中的表达呈正相关  $r = 0.385$ ,差异有统计学意义( $p < 0.05$ )。SF、BXTM 对原发性肝癌诊断的灵敏度为 69.9% 和 72.2%,联合检测对原发性肝癌诊断的灵敏度可提高为 91.3%,差异有统计学意义( $p < 0.05$ ),但特异性差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。**结论** VEGF、MMP-13、SF 和 BXTM 的联合检测对 PHC 患者的及时诊断、个性化治疗和预后积极意义。

**【关键词】** 原发性肝癌; 免疫组化法; 血管内皮生长因子; 肿瘤相关物质; 铁蛋白

DIO:10.3969/j.issn.1672-9455.2010.17.026

中图分类号:R735.7

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2010)17-1842-02

**Clinical research of VEGF, MMP-13, SF and BXTM joint inspection in patients with primary hepatocarcinoma** HOU

Wen-quan<sup>1</sup>, ZHOU Ling-yun<sup>2</sup>, HOU Wen-feng<sup>3</sup>, XU Sheng. 1. The People's Hospital of Shuyang, Jiangsu 223600, China; 2. Inpatient Department of Central Hospital of Shuyang, Jiangsu 223600, Chian; 3. Kangming Eye Hospital of Taiyuan, Shanxi 030012, China

**【Abstract】 Objective** To investigate the expressions of vascular endothelial growth factor (VEGF), matrix metalloproteinases-13 (MMP-13), iron protein (SF) and cancer related material (BXTM) in patients with primary hepatocarcinoma and those clinical significance. **Methods** Immunohistochemical method was used to detect tissue VEGF and MMP-13 protein expressions and electrochemical luminescence method was used to detect BXTM and SF in 79 PHC patients and 25 normal people. **Results** MMP-13 and VEGF protein expressions in PHC patients were higher than that of the normal people, with the differences being statistically significant ( $P < 0.05$ ). MMP-13 and VEGF protein expressions had no correlation with age, sex, pathological type and the biggest bump diameter of patients, with the differences being not statistically significant ( $P > 0.05$ ), but they had correlation with liver metastasis, tumor emboli and organization differentiation, with the differences being statistically significant ( $P < 0.05$ ). The protein expression of VEGF in PHC patients was positively correlated with MMP-13, and the difference was statistically significant ( $r = 0.385, P < 0.05$ ). The diagnostic sensitivity of SF and BXTM were 69.9% and 72.2% respectively, and it could be increased to 91.3% by the joint inspection, and the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** VEGF, MMP-13, SF and BXTM joint inspection have positive significance in diagnosis, treatment and prognosis of PHC.

**【Key words】** PHC; immunohistochemical methods; VEGF; BXTM; SF

肝癌是常见恶性肿瘤之一,其死亡率居我国恶性肿瘤第 2 位<sup>[1]</sup>,其发生与肝硬化有密切相关,早期多无特异性症状,往往发现时已到晚期,失去有效治疗时期。因而早期诊断肝癌对其转归和预后就非常关键。本研究通过对 79 例原发性肝癌患者和 25 例健康人群进行血管内皮生长因子(VEGF)、基质金属蛋白酶-13 (MMP-13)、铁蛋白(SF)、肿瘤相关物质(BXTM)联合测定,探讨能否提高肝癌早期检出率,为临床提供依据。

## 1 临床资料

**1.1 一般资料** 选取 2007 年 11 月至 2010 年 3 月来本院治疗已明确诊断的 PHC 手术切除病例(术前均未进行化疗和放疗)79 例,年龄(58.9±12.4)岁,其中男 48 例,女 31 例,男女比 1.55/1。肝癌肿块位于右肝 49 例,左肝 19 例,左右肝均见

11 例。所有病例均行癌肿切除,其中 36 例术中置放门静脉和(或)肝动脉化疗泵。健康对照组为门诊同期健康体检者(正常组织取自良性肝脏疾病形态正常的肝脏组织)25 例(男 14 例,女 11 例)。

**1.2 方法** 组织标本经 10% 甲醛固定,石蜡包埋,常规切片 4 μm。采用免疫组化法。鼠抗人 VEGF 抗体和鼠抗人 MMP-13 单克隆抗体购自上海晶美生物工程公司(美国 Lab Vision 公司生产)按试剂盒说明书进行操作。用已知的阳性切片作阳性对照,用磷酸盐缓冲液(PBS)代替一抗作为空白对照,显微镜下(×400)取 5 个不同视野各计数 100 个癌细胞。血清标本于 6:00~9:00 时空腹采血 5 mL,分离血清,立即检测 SF 和 BXTM,仪器采用日立 7600 电化学发光模块,试剂由罗氏公司

提供。全部检测由专人按照操作规程统一操作。

**1.3 结果** Bcl-xl 和 VEGF-C 的阳性染色标准主要为细胞浆内出现棕黄色颗粒。AFP ≥ 400 ng/mL, SF ≥ 275 ng/mL、BXTM ≥ 71 U/mL 为阳性结果。

**1.4 统计学方法** 统计学处理采用 SPSS13.0 软件分析。两均数比较用  $\chi^2$  检验, 多组均数比较用方差分析。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结果**

VEGF 和 MMP-13 阳性表达率在 PHC 组织明显高于对照组 ( $P < 0.05$ ), 见表 1。与患者年龄、性别、有无包膜、肿块最大径等临床病理特征参数无相关性 ( $P > 0.05$ )。但与肝癌的转移、癌栓、组织分化程度有相关性 ( $P < 0.05$ ), 见表 2。VEGF 与 MMP-13 呈正相关。

**表 1 VEGF 和 MMP-13 在对照组和 PHC 组中表达情况 [n(%)]**

项目	n	VEGF	P	MMP-13	P
对照组	79	50(63.3)		47(59.5)	
PHC 组	25	1(4.0)	<0.05	2(8.0)	<0.05

**表 2 VEGF 和 MMP-13 的表达与 PHC 患者临床病理特征 [n(%)]**

项目	n	VEGF	P	MMP-13	P
性别	男	48 32(66.6)	>0.05	29(60.4)	>0.05
	女	31 18(58.1)		18(58.1)	
年龄(岁)	≤50	21 14(66.6)	>0.05	13(61.9)	>0.05
	>50	58 36(62.0)		34(58.6)	
直径(cm)	<5	33 20(60.6)	>0.05	18(54.5)	>0.05
	≥5	46 30(65.2)		29(63.0)	
包膜	有	12 7(58.3)	>0.05	6(50.0)	>0.05
	无	67 43(64.2)		41(61.2)	
分化程度	高	16 4(25.0)	<0.05	4(25.0)	<0.05
	中低	63 46(73.0)		43(68.3)	
癌栓	无	52 29(55.8)	<0.05	27(51.9)	<0.05
	有	27 21(77.8)		20(74.1)	
AFP(ng/mL)	≤400	24 14(58.3)	>0.05	15(62.5)	>0.05
	>400	55 36(65.5)		32(58.2)	

原发性肝癌组检测结果: AFP 阳性 58 例, 占 73.4%, SF 阳性 55 例, 占 69.9%, BXTM 阳性 57 例, 占 72.2%, 联合检测灵敏度达 91.3%。

**3 讨论**

VEGF 是目前已知作用最强的促血管生长因子之一, 有研究表明 VEGF 可诱导肿瘤血管新生, 促进肿瘤生长、转移<sup>[2-3]</sup>。本研究表明, 正常组织中 VEGF 呈低水平、稳定的表达, 阳性率 4%。VEGF 在 PHC 患者肝细胞及血管内皮细胞均有表达, 阳性率高达 63.3%, 且癌组织中的表达比癌旁组织高, 表明肝癌组织和非癌组织 VEGF 表达有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 与患者年龄、性别、病理分型、AFP 值、肿块最大径等临床病理特征参数无明显相关; 与肿瘤分化程度、有无转移及癌栓等有相关性; 与国内外文献报道较一致<sup>[4-5]</sup>。其机制可能为 (1) 缺氧: 肝癌实质是一种富血管肿瘤, 在其发展过程中对氧的依赖性相当大, 早期主要依靠门静脉血流代偿; 但随癌细胞的浸润

和转移使周围组织难以满足其对氧的需求, 促使新生血管形成, 改善肝癌细胞的氧供。肝癌的恶性程度越高, 其生长发展越快, 缺氧出现越早且程度重, VEGF 分泌越多。(2) 雌激素增多: 肝癌患者由于肝功能受损雌二醇灭活减少而相对增高, 使肝细胞过度增生至癌变, 促进 VEGF 的合成和表达。(3) 新生血管的结构不完善通透性大, VEGF 可使癌细胞的同质黏附性减低<sup>[6]</sup>, 使肿瘤细胞易发生分离、脱落穿过血管壁进入血管向远处转移, 故加速了肿瘤浸润和转移。

MMP-13 是基质金属蛋白酶类 (MMPs) 的一员。本研究表明, MMP-13 在 PHC 患者肝细胞阳性率高达 59.5%, 且癌组织中的表达比癌旁组织高, 表明肝癌组织和非癌组织 MMP-13 表达有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 与患者年龄、性别、病理分型、肿块大小等临床病理特征参数无明显相关; 与恶性程度、侵袭潜力和转移发生及预后密切相关。与国外报道一致<sup>[7]</sup>。其机制可能为 MMP-13 破坏局部组织结构, 促进肿瘤生长; 破坏基底膜屏障, 利于肿瘤转移; 为了改善缺氧的状况对细胞外基质的改建, 促进肿瘤新生血管的形成。

本研究资料显示单独监测 AFP、SF、BXTM 中的灵敏度依次为 73.4%、69.9%、72.2%, 而联合检测灵敏度达到 91.3%, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 特异性差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。主要用于健康人群筛查及肿瘤患者动态疗效监测。

综上所述, 作者认为 VEGF 和 MMP-13 均有利于 PHC 的早期诊断、个性化治疗和预后; AFP、SF、BXTM 可用于健康人群筛查及肿瘤患者动态疗效监测。

**参考文献:**

- [1] 陆再英. 内科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008.
- [2] An FG, Matauda M, Fujii H, et al. Expression of vascular endothelial growth factor in surgical specimens of hepatocellular carcinoma[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2000, 126:153-160.
- [3] 陈嵘, 卢运龙, 赵枫, 等. 血管内皮因子及微血管密度在肝癌中的表达与临床病理意义[J]. 右江民族医学院学报, 2001, 23(5):685.
- [4] Kalra N, Kumar V. C-fos is a mediator of the c-myc-induced apoptotic signaling in serum-deprived hepatoma cells via the p38 mitogen-activated protein kinase pathway [J]. Biol Chem, 2004, 279(24):25313.
- [5] Spaziani A, Alisi A, Sanna D, et al. Role of p38 MAPK and RNA-dependent protein kinase (PKR) in hepatitis C virus core -dependent nuclear delocalization of cyclin B<sub>1</sub> [J]. J Biol Chem, 2006, 281(16):10983.
- [6] 毛华, 赵敏芳, 袁爱力, 等. 血管内皮生长因子对肝癌细胞侵袭能力和同质性黏附作用影响[J]. 肿瘤, 2002, 22(3):197-199.
- [7] Shinsuke S, Mitsuru S, Haruki S, et al. Direct cell interaction enhances proMMP22 production and activation in coculture of laryngeal cancer cells and fibroblasts; involvement of EMMRIN and MT12MMP [J]. Experimental Cell Research, 2004, 293(2):259-266.