

本文引文格式:磨福喜,吴雪铭,龙喜带,等.肝细胞癌中 VEGF 和 c-Met 的表达及其与患者临床病理特征的关系[J].右江民族医学院学报,2021,43(3):379-379.

【论著与临床报道】

## 肝细胞癌中 VEGF 和 c-Met 的表达及其 与患者临床病理特征的关系

磨福喜<sup>1</sup>,吴雪铭<sup>2</sup>,龙喜带<sup>2</sup>,林洁<sup>2</sup>,黄炳臣<sup>2</sup>

- (1. 广西河池市人民医院,右江民族医学院附属河池医院病理科,广西 河池 547000;
2. 右江民族医学院附属医院病理科,广西 百色 533000)

**摘要:**目的 检测血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和肝细胞生长因子受体(c-mesenchymal-epithelia transition factor, c-Met)在肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)组织中的表达,探讨两者与 HCC 的临床病理关系及两者之间的相关性。**方法** 应用免疫组织化学 SP 法检测 126 例人 HCC 组织中 VEGF 和 c-Met 的表达。**结果** VEGF 和 c-Met 在 HCC 中的高表达率分别为 54.76% 和 42.86%; VEGF 高表达与淋巴结转移和 TNM 分期有关 ( $P < 0.05$ ),而与患者性别、年龄、肿瘤大小、微血管浸润、Edmondson 分级、肝硬化、HBsAg 状况无关 ( $P > 0.05$ ); c-Met 高表达与 TNM 分期有关 ( $P < 0.05$ ),与患者性别、年龄、肿瘤大小、微血管浸润、Edmondson 分级、肝硬化、HBsAg 状况、淋巴结转移均无明显相关 ( $P > 0.05$ ); VEGF 和 c-Met 的表达无显著相关性 ( $r = 1.11, P > 0.05$ )。**结论** 肝细胞癌中 VEGF 和 c-Met 的表达与 TNM 分期有关。

**关键词:**癌,肝细胞;血管内皮生长因子;肝细胞生长因子受体;侵袭转移

**中图分类号:**R730.261 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-5817(2021)03-0376-04

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2021.03.017

### Expression of VEGF and c-Met in hepatocellular carcinoma and their correlation with clinicopathological characteristics of patients

Mo Fuxi<sup>1</sup>, Wu Xueming<sup>2</sup>, Long Xidai<sup>2</sup>, Lin Jie<sup>2</sup>, Huang Bingchen<sup>2</sup>

- (1. Department of Pathology, Hechi People's Hospital, Hechi Hospital Affiliated to Youjiang Medical University for Nationalities, Hechi 547000, Guangxi, China;
2. Department of Pathology, the Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China)

**Abstract:** **Objective** To detect the expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and c-mesenchymal-epithelia transition factor (c-Met) in hepatocellular carcinoma (HCC), and to explore their association with clinicopathology of HCC as well as the correlation between VEGF and c-Met. **Methods** Immunohistochemical SP method was used to detect the expressions of VEGF and c-Met in 126 cases of HCC tissues. **Results** The high expression rates of VEGF and c-Met in HCC were 54.76% and 42.86%, respectively. The high expression of VEGF was correlated with lymph node metastasis and TNM stage ( $P < 0.05$ ), but not cor-

**基金项目:**国家自然科学基金项目(81860489);广西自然科学基金项目(2018GXNSFAA281043);广西肝胆疾病临床医学研究中心课题(桂科 AD17129025-29)

**第一作者简介:**磨福喜(1986-),女,本科,主治医师,研究方向:临床护理,E-mail:526602666@qq.com

**通讯作者简介:**黄炳臣(1966-),男,本科,副教授,硕士研究生导师,研究方向:病理学教学与临床病理诊断,E-mail:hbc9928@163.com

related with gender, age, tumor size, microvascular infiltration, Edmondson grade, cirrhosis, and HBsAg status ( $P > 0.05$ ). The high expression of c-Met was correlated with TNM stage ( $P < 0.05$ ), but not with gender, age, tumor size, microvascular infiltration, Edmondson grade, cirrhosis, HBsAg status, and lymph node metastasis ( $P > 0.05$ ). There was no significant correlation between the expression of VEGF and that of c-Met ( $r = 1.11, P > 0.05$ ). **Conclusion** The expressions of VEGF and c-Met in HCC were correlated with TNM stage.

**Key words:** carcinoma, hepatocellular; VEGF; c-Met; invasion and migration

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)为消化系统常见恶性肿瘤之一,常发生于慢性肝炎、肝硬化和异常增生结节的基础上,发生过程隐匿,多数患者确诊时已为中晚期,手术及化疗效果差,5年生存率仅10%左右<sup>[1]</sup>。在分子水平研究HCC的侵袭转移及其与微环境和机体的相互作用,寻找预测指标和治疗靶点是当前肝癌研究的热点。由于抗血管生成治疗在消化道多种恶性肿瘤的治疗中取得显著疗效,确定和评估HCC患者抗血管治疗的潜在受益者,对HCC患者的治疗尤为重要。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)可诱导微血管形成和血液循环的建立,是癌细胞生长、侵袭和转移的重要基础,在恶性肿瘤的发生发展和侵袭转移中起重要作用。肝细胞生长因子受体(c-mesenchymal-epithelia transition factor, c-Met)是肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)的特异性受体, HGF与c-Met发生特异性结合,激活HGF/c-Met信号通路,使该通路上多种底物发生磷酸化,调控细胞的增殖和分化<sup>[2]</sup>。我们采用免疫组织化学方法检测VEGF、c-Met在HCC中的表达,探讨两者在HCC侵袭转移的机制,为临床治疗提供参考。

## 1 资料与方法

1.1 资料 收集2018—2020年河池市人民医院和右江民族医学院附属医院病理科存档的126例HCC手术切除石蜡标本,其中男98例,女28例,年龄28~72岁,平均51岁,≤50岁71例、>50岁55例,Edmondson分级I、II级87例,III、IV级39例;肿瘤直径≤5 cm 57例、>5 cm 69例;有微血管浸润46例、无微血管浸润80例;癌旁伴肝硬化106例、无肝硬化20例;HBsAg阳性64例、阴性62例;伴有淋巴结转移40例、无转移86例;TNM分期I+II 80例、III+IV 46例。所有病例术前均未行放疗或生物治疗。

1.2 试剂和方法 所有组织标本离体30 min内切开,10%福尔马林固定24~36 h,石蜡包埋。鼠抗人VEGF单克隆抗体、兔抗人c-Met单克隆抗体、SP即用型免疫组化试剂盒及DAB显色剂均购自北京中杉金桥公司。石蜡组织切片厚4 μm,脱蜡、水化后按照说明书免疫组化染色步骤进行。以PBS缓冲液代替

一抗作阴性对照,用已知阳性的肺腺癌组织作阳性对照。

1.3 结果判定 VEGF染色阳性表达定位于细胞质,c-Met阳性表达定位于细胞膜和细胞质,以黄色、棕黄色、棕褐色为阳性着色,染色结果判定标准为综合阳性细胞比率及阳性强度进行半定量评分,染色强度:无着色为0分、黄色为1分、棕黄色为2分、棕褐色为3分。阳性细胞百分比:阳性细胞数<10%为0分、10%~25%为1分、26%~50%为2分、51%~75%为3分、≥76%为4分。两项得分相乘≥6分为高表达病例组,<6分为低表达病例组。

1.4 统计学方法 用SPSS 17.0软件包处理数据。VEGF和c-Met在HCC中的表达与临床病理特征的差异用 $\chi^2$ 检验,相关分析采用列联相关系数表示,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

2.1 VEGF和c-Met在HCC组织中的表达 VEGF染色阳性表达定位于细胞质,c-Met阳性表达定位于细胞膜和细胞质,呈黄色、棕黄色、棕褐色。VEGF和c-Met在126例HCC中的高表达率分别为54.76%(69/126)和42.86%(54/126)。

2.2 VEGF和c-Met高表达与HCC临床病理特征的关系 VEGF高表达与HCC淋巴结转移和TNM分期差异有统计学意义( $\chi^2 = 5.493, P = 0.019; \chi^2 = 16.149, P < 0.001$ ),与患者性别、年龄、肿瘤大小、微血管浸润、肝硬化、HBsAg状况差异无统计学意义( $P > 0.05$ );c-Met在III、IV期的高表达率为54.35%(25/46),明显高于I、II期患者的36.25%(29/80)( $\chi^2 = 3.906, P = 0.048$ ),与HCC患者年龄、性别、Edmondson分级、肿瘤最大直径、微血管浸润、淋巴结转移、癌旁组织伴肝硬化等临床病理参数差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表1。

2.3 VEGF和c-Met在HCC中表达的相关性 126例HCC癌组织中VEGF和c-Met均阳性表达33例、阴性36例,VEGF阳性而c-Met阴性36例、c-Met阳性而VEGF阴性21例,VEGF和c-Met在HCC中的表达无相关性( $C = 0.110, P = 0.21$ )。

表 1 VEGF 和 c-Met 的表达与 HCC 临床病理参数的关系

参数	n	VEGF		$\chi^2$	P	c-Met		$\chi^2$	P
		高表达	低表达			高表达	低表达		
性别									
男	98	54	44	0.021	0.886	45	53	1.688	0.194
女	28	15	13			9	19		
年龄/岁									
≤50	71	38	33	0.101	0.751	33	38	0.871	0.352
>50	55	31	24			21	34		
肿瘤直径/cm									
≤5	57	32	25	0.080	0.778	25	32	0.043	0.836
>5	69	37	32			29	40		
微血管浸润									
有	46	30	16	3.197	0.074	21	25	0.231	0.631
无	80	39	41			33	47		
Edmondson 分级									
I + II	87	47	40	0.062	0.803	39	48	0.158	0.691
III + IV	39	22	17			16	23		
肝硬化									
有	106	60	46	0.914	0.339	45	61	0.045	0.833
无	20	9	11			9	11		
HBsAg									
阳性	64	39	25	2.002	0.157	32	32	2.710	0.100
阴性	62	30	32			22	40		
淋巴结转移									
有	40	28	12	5.493	0.019	21	19	2.225	0.136
无	86	41	45			33	53		
TNM 分期									
I + II	80	33	47	16.149	<0.001	29	51	3.906	0.048
III + IV	46	36	10			25	21		

### 3 讨论

肿瘤的生长依赖肿瘤细胞的增殖和肿瘤血管的生成。VEGF 是诱导肿瘤血管生成的最重要分子,主要由肿瘤细胞以旁分泌方式与肿瘤血管内皮细胞表达的 VEGFR-1、VEGFR-2 结合,激活下游 P44/P42-MAPK 和 PI3K-AKT 通路,进而促进肿瘤新生血管的生长<sup>[3]</sup>。研究发现 VEGF 蛋白在消化道肿瘤和乳腺癌、子宫颈癌等多种恶性肿瘤中高表达<sup>[4-6]</sup>,并且高表达和肿瘤的转移和患者不良预后相关<sup>[7]</sup>。Li XY 等<sup>[8]</sup>通过检测胃癌组织中 VEGF 的表达发现,VEGF 表达阳性与患者淋巴结远处转移相关。黄澄澄等<sup>[9]</sup>应用免疫组化检测 VEGF 在结直肠腺癌组织中的表达阳性率为 65.7%,随着淋巴结转移和临床分期 VEGF 表达率逐渐增加,与患者的性别、年龄、肿瘤发生部位和肿瘤分化程度无关。吴志国等<sup>[10]</sup>对 98 例 HCC 组织标本进行检测,发现 VEGF 阳性表达与 HCC 患者癌组织分化程度、淋巴结转移、TNM 分期、包膜完整性、门脉侵犯和甲胎蛋白表达均存在明显相关。体外实验发

现<sup>[11]</sup>,抗血管生成药物阿帕替尼作用于 HepG2 细胞后,显著下调凋亡抑制基因 Bcl-2、上调促凋亡基因 Bax 表达,说明 VEGF 通过 Bcl-2 和 Bax 途径促进肝癌细胞增生和抑制凋亡的作用。VEGF 与其受体 VEGFR-1、VEGFR-2 结合,通过诱导肿瘤血管形成,促进肿瘤增殖与侵袭转移。本文实验结果发现,126 例 HCC 组织中 VEGF 的阳性率为 54.76%,伴有淋巴结转移、T 分期越高者,其 VEGF 阳性率越高。提示 VEGF 高表达促进 HCC 的进展和不良预后,其机制可能与肿瘤血管的大量生成,瘤细胞浸润界面扩大和新生毛细血管基底膜的不完整性,肿瘤细胞易于进入血液循环,VEGF 的表达水平可以反映和判断 HCC 的预后。

c-Met 是 Met 基因编码产生的具有自主磷酸化活性的跨膜受体,是存在于受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinase, RTKs)介导的信号通路中的一种多功能跨膜酪氨酸激酶,作为 HGF 的受体,c-Met 与 HGF 结合使酪氨酸激酶磷酸化,激活下游信号通路。研究

表明<sup>[12]</sup>, HGF/c-Met 信号与多种恶性肿瘤的发生发展有关, 异常激活的 c-Met 可增强肿瘤细胞的增殖和侵袭转移能力。张翔等<sup>[13]</sup>对结直肠癌组织及癌旁组织中免疫组化检测 c-Met 表达研究发现, c-Met 在癌组织中的表达明显高于癌旁组织, 其在癌组织中的表达与 TNM 分期、淋巴结转移呈正相关, 阳性患者 3 年存活率明显低于阴性患者。谢斌等<sup>[14]</sup>检测 HCC 中 c-Met 的表达发现其阳性表达率为 38.3%, 其表达与肝内转移、淋巴结转移、包膜形成及癌细胞的分化程度有关, 与 HCC 患者的性别、年龄、肿瘤最大直径和 TNM 分期无关。Tang XL 等<sup>[15]</sup>研究发现, 安罗替尼可以体外抑制肺小细胞癌 H446 细胞 c-Met 信号转导, 降低细胞活力、诱导 G2/M 细胞周期阻滞、降低细胞侵袭和转移, 说明 c-Met 参与多种恶性肿瘤的发生发展, 并与患者的不良预后有关。本实验发现, c-Met 在 III、IV 期 HCC 患者癌组织中的表达率明显高于 I、II 期的患者, 提示 c-Met 参与 HCC 的恶性进展和患者更低的生存率。作为原癌基因, c-Met 与 HGF 结合后, 促进 AKT/mTOR 等多种信号通路的激活, 介导激活下游重要分子, 抑制细胞凋亡、促进细胞增殖和迁移, 可作为预测 HCC 患者预后的指标和潜在治疗靶点。

相关分析显示, HCC 组织中 VEGF 和 c-Met 的表达无相关性, 提示 HCC 的恶性进展是多基因参与、多种信号转导途径的异常调控结果。VEGF 蛋白在 HCC 中的高表达与肿瘤侵袭和淋巴结转移有关, c-Met 的高表达可能预示更加不良的预后和低生存率。联合检测 VEGF 和 c-Met 的表达情况有助于临床对 HCC 患者的治疗选择和预后判断。

#### 参考文献:

[1] Chen WQ, Zheng RS, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.

[2] 汤华. c-Met mRNA、HGF mRNA 的表达与宫颈癌患者盆腔淋巴结转移的相关性研究[J]. 中国妇幼保健, 2017, 32(19): 4830-4832.

[3] Zeng H, Sanyal S, Mukhopadhyay D. Tyrosine Residues 951 and 1059 of vascular endothelial growth factor receptor-2 (KDR) are essential for vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor-induced endothelium migration and proliferation, respectively[J]. J Biol Chem, 2001, 276(35): 32714-32719.

[4] Zhu PF, Ou YJ, Dong YS, et al. Expression of VEGF and HIF-1 $\alpha$  in locally advanced cervical cancer: potential biomarkers for predicting preoperative radiochemotherapy sensitivity and prognosis[J]. Onco Targets Ther, 2016, 9: 3031-3037.

[5] Chen JL, Sun XY, Shao R, et al. VEGF siRNA delivered by polycation liposome-encapsulated calcium phosphate nanoparticles for tumor angiogenesis inhibition in breast cancer[J]. Int J Nanomedicine, 2017, 12: 6075-6088.

[6] Mazedá Inês, Martins SF, Garcia EA, et al. VEGF expression in colorectal cancer metastatic lymph nodes: clinicopathological correlation and prognostic significance[J]. Gastrointest Disord, 2020, 2(3): 267-280.

[7] 沈源, 保丽玲, 吴桂霞, 等. 淋巴管密度、微血管密度与 VEGF 在胃癌中的生物学意义[J]. 暨南大学学报(自然科学与医学版), 2018, 39(3): 223-228.

[8] Li XY, Zhu XR, Wang YW, et al. Prognostic value and association of Lauren classification with VEGF and VEGFR-2 expression in gastric cancer[J]. Oncol Lett, 2019, 18(5): 4891-4899.

[9] 黄澄澄, 唐成佳, 余天雾. HIF-2 $\alpha$  及 VEGF 在结直肠癌组织中的表达及与患者预后的关系[J]. 重庆医学, 2017, 46(34): 4802-4804.

[10] 吴志国, 曾荣耀, 叶禧珑, 等. 生长因子在原发性肝细胞癌中的表达及与预后的相关性[J]. 中国慢性病预防与控制, 2019, 27(11): 859-863.

[11] 吴飞, 程洁, 胡韵, 等. 阿帕替尼诱导肝癌细胞凋亡的作用研究[J]. 右江民族医学院学报, 2021, 43(1): 33-36.

[12] Parikh PK, Ghaté MD. Recent advances in the discovery of small molecule c-Met kinase inhibitors[J]. Eur J Med Chem, 2017, 143: 1103-1138.

[13] 张翔, 杨冕, 胡静, 等. 结直肠癌中 C-MET、COX-2、MSS、Ki-67 的表达及其与预后的相关性分析[J]. 解放军预防医学杂志, 2018, 36(5): 598-601.

[14] 谢斌, 唐春, 吴刚, 等. c-Met、MMP-2、MMP-9 在肝细胞癌中的表达及临床意义[J]. 第三军医大学学报, 2008, 30(12): 1140-1143.

[15] Tang XL, Zheng Y, Jiao DM, et al. Anlotinib inhibits cell proliferation, migration and invasion via suppression of c-Met pathway and activation of ERK1/2 pathway in H446 cells[J]. Anti-Cancer Agents Med Chem, 2021, 21(6): 747-755.

收稿日期: 2021-05-28; 修回日期: 2021-06-11