

DOI:10.3971/j.issn.1000-8578.2009.07.010

# 胃癌组织中 HGF、c-Met 的表达及意义

曹爱良<sup>1</sup>, 曹培国<sup>2</sup>, 吴勇军<sup>3</sup>, 李 箐<sup>3</sup>

## Expression and Prognostic Significance of HGF/c-Met in Gastric Carcinoma

CAO Ai-liang<sup>1</sup>, CAO Pei-guo<sup>2</sup>, WU Yong-jun<sup>3</sup>, LI Zheng<sup>3</sup>

1. Department of Oncology, The Worker's Hospital, Xiangtan Iron and Steel Company, Xiangtan 411101, China; 2. Department of Oncology, The Third Xiangya Hospital of the Central South University; 3. Department of Pathology, The 1st Peoples Hospital of Xiangtan City

Corresponding Author: CAO Pei-guo, caopeiguo@cscsco.org.cn

**Abstract: Objective** To detect the association of the expressive levels of hepatocyte growth factor and c-Met with the clinicobiologic behavior in gastric carcinoma and the correlation between these two factors.

**Methods** Immunohistochemistry method was used to detect the expression of HGF and c-Met in gastric cancer and normal tissues near the tumor borderline. **Results** The expression of HGF had the positive correlation with histologic types, infiltration depth, clinical stage and lymph node metastasis ( $P < 0.05$ ). No correlation was found in age or tumor diameter ( $P > 0.05$ ). The expression of c-Met had the positive correlation with histologic types and lymph node metastasis ( $P < 0.05$ ). No correlation was found in age, tumor diameter, infiltration depth and clinical stage ( $P > 0.05$ ). And HGF had a positive correlation with c-Met in gastric cancer ( $r = 0.342, P < 0.05$ ). **Conclusion** HGF and c-Met may improve the growth and metastasis of gastric carcinoma. They could be prognostic markers for gastric carcinoma.

**Key words:** Gastric carcinoma; Hepatocyte growth factor; c-Met; Immunohistochemistry

**摘要:目的** 探讨 HGF 和 c-Met 的表达与胃癌临床病理生物学行为的关系以及它们之间的相关性。**方法** 应用免疫组化方法检测 52 例胃癌患者癌组织中 HGF、c-Met 的表达。**结果** HGF 的表达与组织学分级、浸润深度、临床分期、淋巴结转移显著相关 ( $P < 0.05$ ), 与年龄、肿瘤大小无关 ( $P > 0.05$ )。c-Met 的表达与组织学分级及淋巴结转移密切相关, 而与肿瘤大小、年龄、浸润深度、临床分期无关 ( $P > 0.05$ )。且两者表达呈正相关 ( $r = 0.342, P < 0.05$ )。**结论** HGF 及 c-Met 促进了胃癌组织的生长与转移, 具有协同作用, 可作为胃癌的预后评估因子。

**关键词:** 胃癌; 肝细胞生长因子; 肝细胞生长因子受体; 免疫组织化学

中图分类号: R735.2 文献标识码: A 文章编号: 1000-8578(2009)07-0575-03

## 0 引言

肝细胞生长因子(HGF)是目前生物学活性最广泛的生物因子,其受体即原癌基因 c-met 编码的蛋白 c-Met,被 HGF 激活的 c-Met 受体对多种细胞的增殖、分化和浸润运动等均有调节作用,因而与人类多种肿瘤的发生、发展有关。而胃癌的发病率近年来呈升高趋势,影响它的因素很多,本研究采用免疫组化技术检测胃癌组织中 HGF、c-Met 的表达水平,以探讨 HGF 在胃癌的发生、发展和侵袭转移中的作用及可能机制。

## 1 资料与方法

1.1 研究对象 52 例胃癌及相应癌旁正常组织石蜡标本来自湘潭市第一人民医院及湘钢职工医院 2001 年 8 月~2005 年 11 月接受胃大部分切除术的腺癌患者,术前均未接受放疗和化疗。男 34 例,女 18 例,年龄 27~81 岁,平均 54.8 岁。病理均为腺癌,其中高、中分化腺癌共 23 例,低分化腺癌 29 例,52 例胃癌发生淋巴结转移 37 例,发生血行及种植转移 3 例。按国际抗癌联盟(UICC)1997 年修订的 PTNM 分期标准分为 I 期 5 例,II 期 12 例,III 期 20 例,IV 期 15 例,肿瘤体积  $\geq 5$  cm 者 23 例, $< 5$  cm 者 29 例。

1.2 试剂 兔抗人 HGF 多克隆抗体、兔抗人 c-met 多克隆抗体及即用型 SABC 免疫组化试剂盒均购自武汉博士德公司,4℃冰箱保存。

1.3 试验方法 全部标本经 10% 中性甲醛固定,石蜡包埋,连续 5  $\mu$ m 切片,常规 HE 染色,所有病例

收稿日期:2008-06-12;修回日期:2009-01-04

作者单位:1. 411101 湖南湘潭钢铁公司职工医院肿瘤科;2. 中南大学湘雅三医院肿瘤科;3. 湘潭市第一人民医院病理科

通信作者:曹培国, E-mail: caopeiguo@cscsco.org.cn

作者简介:曹爱良(1971-),女,硕士,副主任医师,主要从事肿瘤内科工作

组织学分类按三级分级法。按照 SABC 检测试剂盒说明书所示步骤进行 HGF 和 c-Met 染色。

1.4 结果判定标准 胞浆染成棕黄色颗粒为 HGF 表达阳性细胞,根据表达阳性细胞占全部肿瘤细胞的百分比分级<sup>[1]</sup>:(-):阳性细胞≤10%或无;( + ):阳性细胞占 11%~50%;( + + ):阳性细胞占 51%~75%;( + + + ):阳性细胞>75%。( - )者为阴性表达组,( + )~( + + + )者为阳性表达组。c-Met 的阳性表达以胞浆为主,阳性判断采用半定量标准<sup>[2]</sup>:A 按切片中显色细胞数比例计分:0 分:无显色细胞;1 分:显色细胞占细胞总数<25%;2 分:显色细胞占细胞总数的 25%~50%;3 分:显色细胞超过切片中细胞总数的 50%。B 按切片中细胞显色强度计分:0 分:细胞无染色;1 分:呈浅黄色(弱染色);2 分:呈棕黄色(中度染色);3 分:呈棕褐色(强染色)。A + B>3 分记为阳性,≤3 分记为阴性。

1.5 统计学方法 采用 SPSS11.0 统计软件进行处理,采用  $\chi^2$  检验、fisher 精确检验,相关性分析采用直线相关分析。以  $\alpha=0.05$  为检验水准, $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 胃癌及癌旁正常组织中 HGF、c-Met 的表达

HGF 及 c-Met 阳性表达均主要位于肿瘤细胞

胞浆内,呈棕黄色至深棕色,见图 1~3。52 例癌灶周围正常组织内未见 HGF 阳性表达细胞,c-Met 表达阳性率为 42.3%;胃癌组织中 HGF 及 c-Met 表达阳性率分别为 67.3%和 78.8%。在胃癌组织及癌旁正常组织中 HGF 及 c-Met 的表达具有差异( $P<0.05$ ),见表 1。

表 1 不同组织中 HGF/ c-Met 的表达

Table 1 Correlation between the expressions of HGF and c-Met in gastric cancer and normal tissue adjacent cancer

Groups	n	The expression of HGF		P	The expression of c-Met		P
		+	-		+	-	
Normal tissue adjacent cancer	52	0	52		22	30	
Gastric cancer	52	35	17	<0.005	41	11	<0.05

### 2.2 HGF、c-Met 与胃癌临床病理因素间的关系

由表 2 可看出,HGF 在胃癌组织中的表达与患者年龄及肿瘤大小无关,与肿瘤的组织学分型、临床分期、浸润深度、有无淋巴结转移有关( $P<0.05$ );c-Met 在胃癌组织中的表达与患者年龄、肿瘤大小、临床分期、浸润深度无关( $P\geq 0.05$ ),与胃癌的组织学分型、有无淋巴结转移相关( $P<0.05$ )。

表 2 胃癌组织中 HGF、c-Met 的表达与临床病理因素的关系

Table 2 Correlation between the expressions of HGF and c-Met and the clinicopathological factors in gastric cancer

Parameters	n	The expression of HGF		P	The expression of c-Met		P
		+	-		+	-	
Age							
≤50	18	14	4	0.1294	16	2	0.1329
>50	34	21	13		25	9	
Tumor size							
≥50mm	23	18	5	0.0796	18	5	0.2646
<50mm	29	17	12		23	6	
Histologic differentiation							
undifferentiated	29	27	2	0.0000091	27	2	0.0055
differentiated	23	8	15		14	9	
Depth of tumor invasion*							
PT <sub>1-2</sub>	14	5	9	0.0045	10	4	0.2091
PT <sub>3-4</sub>	38	30	8		31	7	
Stage(PTNM)							
I~II	17	7	10	0.0059	11	6	0.0665
III~IV	35	28	7		30	5	
Lymph node metastasis							
Positive	37	28	9	0.0365	32	5	0.0361
Negative	15	7	8		9	6	

\* PT<sub>1-2</sub>:肿瘤侵犯固有膜、粘膜下层、肌层或浆膜下层,PT<sub>3-4</sub>:肿瘤穿透浆膜层,伴或不伴侵犯邻近组织

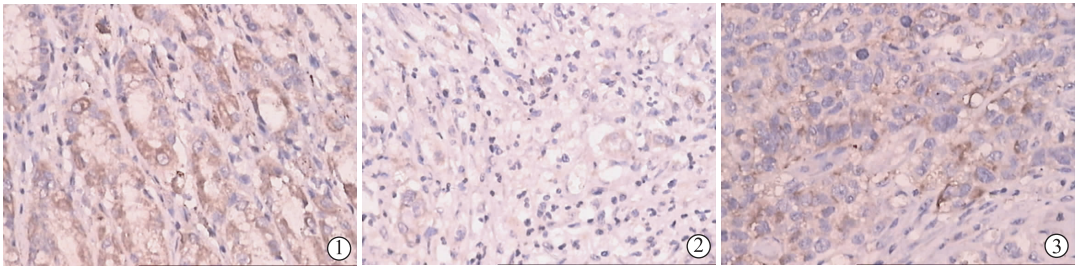


图 1 癌旁正常组织 c-Met 阳性 (SABC×200) 图 2 癌细胞 HGF 阳性 (SABC×200)  
图 3 癌细胞 c-Met 阳性 (SABC×200)

Figure 1 Expression of c-Met in normal tissue adjacent cancer (SABC×200)

Figure 2 Expression of HGF in gastric cancer (SABC×200)

Figure 3 Expression of c-Met in gastric cancer (SABC×200)

### 2.3 HGF 与 c-Met 表达的相关性

通过直线相关分析,发现在胃癌组织中 HGF 与 c-Met 的表达存在正相关性,相关系数  $r = 0.342, P < 0.05$ ,见表 3。

表 3 胃癌组织中 HGF 及 c-Met 的表达相关性

Table 3 Correlation between expressions of HGF and c-Met in gastric cancer

c-Met	HGF		n
	+	-	
+	31	10	41
-	4	7	11
n	35	17	52

用直线相关分析,  $r = 0.342 (P < 0.05)$

### 3 讨论

HGF 基因位于第七号染色体长臂(7q21.1), DNA 长度约为 70 KD,其编码产物 HGF 是由 728 个氨基酸组成的蛋白质分子<sup>[3]</sup>。c-Met 是原癌基因 c-met 编码的蛋白,是一类具有自主性磷酸化活性的跨膜受体<sup>[4]</sup>。1991 年 Bottaro 等<sup>[5]</sup>证实 HGF 的受体即为 c-Met。研究表明 HGF 是一种具有多种功能的细胞因子<sup>[6]</sup>,参与如胚胎发生、创伤愈合、器官再生、炎症及肿瘤浸润的病理生理过程,在多种组织器官的发生、发展、损伤、修复以及恶性肿瘤的发展转移中起着不可忽视的作用。HGF 主要通过与其受体 c-Met 结合,激活 HGF/SF-met 信号通路而发挥生物学效应。

Horiguchi 等<sup>[7]</sup>研究发现 HGF 过表达加速了二乙基硝胺(DEN)诱导的肝癌生成,在几乎所有诱导形成的肿瘤中均检测到 c-Met 的激酶的活性增高。彭挺生等<sup>[8]</sup>用流式细胞术检测 HGF- $\alpha$ 、HGF- $\beta$ 、c-Met 在两株骨肉瘤细胞株中的表达,发现 HGF 可以刺激骨肉瘤细胞株 MG-63 和 HOS 的体外增殖和黏附能力。赵仲生等<sup>[9]</sup>检测 105 例胃癌组织中

HGFmRNA 的表达,显示正常胃黏膜 HGFmRNA 表达阴性,胃癌组织阳性表达率为 57.1%,并伴随胃癌侵袭深度的加深而升高。江晨等<sup>[9]</sup>检测 88 例胃癌组织,发现在有淋巴结转移及远处转移组中 HGF、c-Met 的表达率均明显高于无淋巴结转移及远处转移组。本实验结果显示在 52 例胃癌组织中 HGF 和 c-Met 的表达阳性率分别为 67.3% 和 78.8%,且胃癌组织及癌旁正常组织中 HGF 及 c-Met 的表达具有差异( $P < 0.05$ );同时发现 HGF 在胃癌中的表达与患者年龄、肿瘤大小无关( $P \geq 0.05$ )。而与肿瘤的组织学类型、浸润深度、临床分期及淋巴结转移密切相关( $P < 0.05$ )。而 c-Met 的表达与患者年龄、肿瘤大小、浸润深度、临床分期差异均无统计学意义( $P \geq 0.05$ ),但与肿瘤的组织学类型及淋巴结转移相关( $P < 0.05$ ),与文献报道一致,提示了 HGF 与 c-Met 的高表达,尤其是 HGF 的高表达可能在胃癌的发生发展、浸润、转移中起重要作用。表明高表达 HGF 及 c-Met 的胃癌细胞可能具有更强的分泌 HGF 的能力,具有更大的破坏力,这可能是 HGF 与其受体结合形成 HGF/c-Met 信号转导通路促进了肿瘤细胞的增殖、运动、黏附及迁移<sup>[11]</sup>。

Tomita N 等<sup>[12]</sup>研究发现在上皮细胞中, HGF 显著增加它本身及其特异受体 c-Met 的表达,体外试验表明 c-Met 的配体 - 间质细胞产生的 HGF 可刺激 c-Met 蛋白的激酶活性,而且极微量的 HGF 即可激活 c-Met 蛋白酪氨酸激酶。由此可见 HGF 与 c-Met 结合可形成 HGF/SF-met 自分泌环信号通路。本研究发现在胃癌组织中 HGF 与 c-Met 表达分别为 67.3% 和 78.8%,且呈正相关( $r = 0.342, P < 0.05$ ),提示在胃癌组织中, HGF/SF 与 c-Met 的高表达密切相关,对肿瘤的生长、转移具有协同作用。在试验中我们还发现,两者均表达阳性的 31 例

(下转第 582 页)

- man breast cancer[J]. *Cancer Res*, 1996, 56 (4): 860-865.
- [7] Zehentner BK, Carter D. Mammaglobin: a candidate diagnostic marker for breast cancer[J]. *Clin Biochem*, 2004, 37 (4): 249-257.
- [8] Zehentner BK, Persing DH, Deme A, et al. Mammaglobin as a novel breast cancer biomarker: multigene reverse transcription-PCR assay and sandwich ELISA[J]. *Clin Chem*, 2004, 50 (11): 2069-2076.
- [9] Suchy B, Austrup F, Driesel G, et al. Detection of Mammaglobin expressing cells in blood of breast cancer patients[J]. *Cancer Lett*, 2000, 158(2):171-178.
- [10] Lin YC, Chen SC, Hsueh S, et al. Lack of correlation between expression of human Mammaglobin mRNA in peripheral blood and known prognostic factors for breast cancer patients [J]. *Cancer Sci*, 2003, 94 (1): 99-102.
- [11] Ring AE, Zabaglo L, Ormerod MG, et al. Detection of circu-

- lating epithelial cells in the blood of patients with breast cancer: comparison of three techniques[J]. *Br J Cancer*, 2005, 92 (5): 906-912.
- [12] Ntoulia M, Stathopoulou A, Ignatiadis M, et al. Detection of Mammaglobin A-mRNA-positive circulating tumor cells in peripheral blood of patients with operable breast cancer with nested RT-PCR[J]. *Clin Biochem*, 2006, 39 (9): 879-887.
- [13] Piccart-Gebhart MJ, Procter RM, Leyland JB, et al. Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer[J]. *N Engl J Med*, 2005, 353 (16): 1659-1672.
- [14] Kallergi G, Mavroudis D, Georgoulas V, et al. Phosphorylation of FAK, PI-3K, and impaired actin organization in CK-positive micrometastatic breast cancer cells [J]. *Mol Med*, 2007, 13(1-2): 79-88.

[编辑:安 凤;校对:贺 文]

(上接第 577 页)

胃癌中,临床分期在Ⅲ期以上、组织学分型为低分化腺癌、有淋巴结转移的均高达 25 例,浸润至浆膜层者达 26 例;在两者均表达阴性的 7 例患者,均为高、中分化腺癌,仅 3 例浸润至浆膜层,且仅 2 例临床分期在Ⅲ期以上及有淋巴结转移,提示 HGF 与 c-Met 的共同高表达,与胃癌的发生、发展、浸润、转移密切相关,可能与其更易形成 HGF/c-Met 信号转导通路促进胃癌的恶性发展有关,也有可能是其他因素促进了 HGF 的分泌及 c-Met 的表达。

由本试验结果可推断 HGF 及 c-Met,尤其是 HGF 在胃癌的发生、发展、浸润、转移中可能起重要作用,联合检测 HGF 和 c-Met 有助于胃癌的病情估计及预后判断,阻断 HGF 与 c-Met 的结合亦可能成为一个抗肿瘤治疗的新靶点。

#### 参考文献:

- [1] 尹芳,乔泰东,时永全,等. 紧密连接分子 Occludin mRNA 在胃癌中的表达和分布[J]. *中华肿瘤杂志*, 2002, 24(12):557-560.
- [2] Shijubo N, Uede T, Kon S, et al. Vascular endothelial growth factor and osteopontin in stage I lung adenocarcinoma [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 1999, 160(4): 1269-1273.
- [3] Michalopoulos GK, Zarnegar R. Hepatocyte growth factor [J]. *Hepatology*, 1992, 15(1):149-155.
- [4] Cooper CS, Park M, Blair DG, et al. Molecular cloning of a

new transforming gene from a chemically transformed human cell line[J]. *Nature*, 1984, 311(5981): 29-33.

- [5] Bottaro DP, Rubin JS, Faletto DL, et al. Identification of hepatocyte growth factor receptor as the c-met proto-oncogene product [J]. *Science*, 1991, 251(2): 802.
- [6] Kim CH, Moon SK, Bae JU, et al. Expression of hepatocyte growth factor and c-Met in hypopharyngeal squamous cell carcinoma[J]. *Acta Otolaryngol*, 2006, 126(1): 88-94.
- [7] Horiguchi N, Takayama H, Toyoda M, et al. Hepatocyte growth factor promotes hepatic carcinogenesis through c-Met autocrine activation and enhanced angiogenesis in transgenic mice treated with diethylnitrosamine[J]. *Oncogene*, 2002, 21 (12): 1791-1799.
- [8] 彭挺生,李智,邱锯世,等. 细胞因子 HGF 体外增强骨肉瘤细胞株的增殖和黏附性[J]. *中山大学学报(医学科学版)*, 2006, 27(5): 529-532.
- [9] 赵仲升,茹国庆,马杰. IGF-II 和 HGFmRNA 表达与胃癌微血管密度的关系[J]. *中华肿瘤杂志*, 2004, 26(11): 673-677.
- [10] 江晨,崔琳,纪萍,等. 胃癌组织中 HGF/c-Met 的组织芯片检测及其与肿瘤血管生成关系[J]. *齐鲁医学杂志*, 2005, 20(3): 211-213.
- [11] 姜虹,吴焕明. HGF-c-met 信号转导与肿瘤侵袭和转移的关系 [J]. *国外医学·生理、病理科学与临床分册*, 2003, 23(3): 235-237.
- [12] Tomita N, Morishita R, Taniyama Y, et al. Angiogenic property of hepatocyte growth factor is dependent on upregulation of essential transcription factor for angiogenesis, ets-1[J]. *Circulation*, 2003, 107(10): 1411-1417.

[编辑:安 凤;校对:贺 文]