

# c-Met、TIMP2 与宫颈鳞癌浸润转移的相关性

吴恒香<sup>1</sup>, 纪新强<sup>2</sup>, 周成军<sup>3</sup>

The Relation with Invasion and Metastasis in Cervical Carcinoma of c-Met and Tissue Inhibitor of Metalloproteinase2

WU Heng-xiang<sup>1</sup>, JI Xin-qiang<sup>2</sup>, ZHOU Cheng-jun<sup>3</sup>

1. Department of Gynecotokology, The First Renmin Hospital of Jinan, Jinan 250011, China; 2. Department of Gynecotokology, The Affiliated Hospital of Medical College of Qingdao University; 3. Department of Pathology, The Second Hospital of Shandong University

**Abstract :Objective** To investigate the expression and clinical significance of c-met protein and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 (TIMP-2) in cervical carcinoma. **Methods** The expression of c-met and TIMP-2 were detected by SP immunohistochemistry method in 40 cervical carcinoma tissues 13 cervical intraepithelial neoplasm(CIN) tissues and 15 normal cervical epithelium and cervicitis tissues. Significant differences were analyzed by rank-sum test. **Results** The positive expression of c-met increased remarkably from normal tissue to CIN and then to cervical carcinoma. The expression of c-met was positively correlated with clinical stage and lymph node metastasis. In CIN tissue, the positive expression of TIMP2 was much higher than those of normal cervical epithelium and cervicitis tissues. The expression of TIMP2 decreased significantly with clinical stage and lymph node metastasis. while both had no relevant to pathologic grade. **Conclusion** Overexpression of c-met facilitates the malignant progress of cervical carcinoma. The TIMP expression may be an early event in malignant transformation of cervical squamous cells. The c-met and TIMP expressions might be useful factors of patients with cervical carcinoma.

**Key words :**Hepatocyte growth factor receptor; Tissue inhibitor of metalloproteinase 2; Cervical carcinoma; Invasion and metastasis; Correlativity

**摘要:**目的 研究肝细胞生长因子的受体 c-Met 与基质金属蛋白酶抑制剂 TIMP2 在宫颈鳞癌组织中表达的意义及其与宫颈鳞癌临床分期、病理分级和淋巴结转移的关系。方法 采用 SP 法检测 40 例宫颈鳞癌、13 例宫颈上皮内瘤样病变(CIN)、15 例正常宫颈组织中 c-Met 和 TIMP2 的表达,对结果进行秩和检验分析。结果 正常宫颈、CIN 和宫颈鳞癌组织中 c-Met 表达依次增高,宫颈癌的临床分期越晚,c-Met 表达越强。TIMP2 表达 CIN 中明显高于正常组织,到宫颈鳞癌又呈下降趋势,临床分期越晚,表达越弱。有淋巴结转移组与无淋巴结转移组比较,c-Met 表达增高,TIMP2 表达降低,而两者均与病理分级无关。结论 c-Met 与宫颈鳞癌发生发展有关,TIMP2 可能是宫颈鳞癌发展过程中的一早期事件。c-Met、TIMP2 可成为判断宫颈癌转移、预后的良好参考指标。

**关键词:**肝细胞生长因子受体; 基质金属蛋白酶抑制剂 2; 宫颈癌; 浸润转移; 相关性

**中图分类号:**R737.33 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-8578(2007)05-0366-03

## 0 引言

c-Met 癌基因产物是肝细胞生长因子(HGF)的受体,在许多恶性肿瘤的发生、发展、转移中起着重要作用<sup>[1]</sup>。但其在宫颈癌进展中表达的研究国内尚未见报道。基质金属蛋白酶(MMP)是一类最重要降解基质的蛋白水解酶,金属蛋白酶组织抑制物 2(TIMP2)可特异性抑制 MMP2 活性,并可终止 MMP 家族所有成员的水解活性,还可抑

制肿瘤血管形成,被认为是转移抑制基因之一<sup>[2]</sup>,但其对宫颈癌侵袭转移的作用尚有争议。本研究应用免疫组化法检测正常宫颈上皮、宫颈上皮内瘤变(CIN)、宫颈鳞癌中 c-Met 蛋白和 TIMP2 的表达,进而探讨组织中 c-Met、TIMP2 与宫颈癌临床分期、淋巴结转移等的相互关系,希望能发现早期预测宫颈癌转移和预后的新指标,并为其治疗提供新的思路。

## 1 资料与方法

### 1.1 资料

收集 2001~2005 年间在莱芜市人民医院手术切除及活检的存档腊块标本,宫颈鳞癌 40 例,CIN

收稿日期:2006-10-30;修回日期:2006-12-20

作者单位:1. 250011 济南市第一人民医院妇产科,2. 青岛大学附属医院妇产科,3. 山东大学第二医院病理科

作者简介:吴恒香(1974-),女,研究生在读,主治医师,主要从事妇科肿瘤的研究

13 例,同期正常宫颈组织 15 例。宫颈鳞癌病人年龄 28 ~ 65 岁,平均年龄 49.6 岁;临床分期采用国际妇产科联盟 (FIGO) 2000 年修订的标准, 期 10 例, 期 19 例, 期 10 例, 期 1 例,其中 21 例伴有淋巴结转移,19 例无淋巴结转移;宫颈鳞癌组织学细胞分级, 级 4 例, 级 22 例, 级 14 例。CIN 患者年龄 23 ~ 58 岁,平均年龄 41.5 岁。正常对照组的年龄 31 ~ 68 岁,平均年龄 52.5 岁。

1.2 试剂与方法

采用免疫组织化学 SP 法检测 c-Met 及 TIMP2 表达。鼠抗人 TIMP2 单克隆抗体,兔抗人 c-Met 多克隆抗体,通用型 SP 试剂盒,均购自北京中山生物工程有限公司。

1.3 结果判定

观察阳性反应采用双盲法。SP 法阴性 (-):不着色;弱阳性 (+):细胞内出现淡棕黄色;强阳性 (+++):细胞内有棕黄色颗粒沉着;着色介于弱阳性和强阳性之间为中等阳性 (++)。

1.4 统计学方法

免疫组化结果采用 SPSS 13.0 软件进行统计分析,不同组织间、病理分级、临床分期、淋巴结转移的比较采用秩和检验,采用 Spearman 等级相关分析。

2 结果

2.1 c-Met 在不同宫颈组织中的表达

c-Met 在正常宫颈上皮、CIN、宫颈鳞癌中表达水平依次显著升高,阳性率分别为 33.33 % (5/15)、69.23 % (9/13)、87.5 % (35/40), ( $\chi^2 = 22.29, P = 0.000$ )。

2.2 TIMP2 在不同宫颈组织中的表达

TIMP2 在正常宫颈上皮中阳性率为 60 % (9/15),但多为弱阳性;在 CIN 中阳性率为 76.92 % (10/13),表达高于正常组织;到宫颈鳞癌又呈下降趋势,阳性率为 52.5 % (21/40),但三者比较差别均无统计学意义 ( $\chi^2 = 4.65, P = 0.098$ )。

2.3 c-Met 与宫颈癌临床分期、转移和病理分级的关系

c-Met 在临床分期为 和 期患者中表达高于 和 期的患者 ( $Z = -2.21, P = 0.041$ ),有淋巴结转移者中表达高于无淋巴结转移者, ( $Z = -3.18, P = 0.003$ ),但不同病理分级间无差别 ( $Z = -1.562, P = 0.154$ )。c-Met 表达与临床分期和淋巴结转移正相关,  $r$  分别为 0.354 和 0.508,  $P$  分别为 0.025 和 0.001;但与病理分级无关 ( $r = 0.25, P = 0.119$ ),见表 1。

表 1 c-Met 在不同临床分期、病理分级和淋巴结转移中的表达

Table with 5 columns: Category, Case number, c-Met (-), c-Met (+), c-Met (++), c-Met (+++). Rows include Clinical Stage, Lymph Node Metastasis, and Pathological Grade.

2.4 TIMP2 与宫颈癌临床分期、转移和病理分级的关系

TIMP2 在临床分期为 和 期患者中表达低于 和 期的患者 ( $Z = -2.87, P = 0.006$ ),有淋巴结转移者中表达低于无淋巴结转移者 ( $Z = -3.09, P = 0.003$ ),但不同病理分级间无差别 ( $Z = -0.668, P = 0.547$ )。TIMP2 表达与临床分期和淋巴结转移负相关,  $r$  分别为 -0.459 和 -0.494,  $P$  分别为 0.003 和 0.001;但与病理分级无关 ( $r = -0.107, P = 0.511$ ),见表 2。

表 2 TIMP2 在不同临床分期、病理分级和淋巴结转移中的表达

Table with 5 columns: Category, Case number, TIMP2 (-), TIMP2 (+), TIMP2 (++), TIMP2 (+++). Rows include Clinical Stage, Lymph Node Metastasis, and Pathological Grade.

3 讨论

c-Met 蛋白与 HGF 特异性结合后,受体自身酪氨酸磷酸化,进而可启动多条信号转导途径的级联激活,对多种组织器官的生长、发育、损伤修复以及细胞的分裂、分化、运动、分泌等发挥重要的调节作用[3]。已有学者证实在妇科恶性肿瘤中存在 HGF/c-Met 系统过表达,并发现随着肿瘤恶性进展, Met 表达水平升高,且对 HGF 的诱导更易表现为侵袭性生长[4]。本研究发现, c-Met 在 CIN 中的表达强度较正常宫颈上皮升高,而在宫颈浸润癌中表达水平最高,说明 c-Met 的过度表达与宫颈癌的发生发

展有关。研究发现 HGF/c-Met 系统可能通过影响细胞粘附因子、细胞外基质 (extra cellular matrix, ECM) 降解酶表达及增强瘤细胞侵袭力, 诱导新生血管生成等参与肿瘤转移<sup>[5-7]</sup>。本研究 c-Met 在临床分期晚、有淋巴结转移病人的癌组织中高表达, 提示它在宫颈癌浸润转移中亦起一定作用。

一般认为 TIMP2 表达与肿瘤细胞的侵袭转移呈负相关。但少数学者却持不同观点, 如 Sier 等<sup>[8]</sup> 研究发现, 宫颈癌组织中活化的 MMP2 与患者病死率显著相关。TIMP2 表达增强有可能促使 MMP2 活化而有助于宫颈癌侵袭转移<sup>[8]</sup>。本研究发现, TIMP2 阳性率和表达强度在 CIN 中高于正常宫颈上皮。我们认为 CIN 中 TIMP2 表达增强是宿主对宫颈癌变细胞增殖生长的一种应答。许多研究表明, MMP 过表达与宫颈癌侵袭、转移和预后密切相关<sup>[9]</sup>, 当 MMP 过量表达于宫颈癌变细胞时, 宿主细胞受到癌变细胞刺激后的自身防御反应而产生更多的 TIMP2, 宫颈癌变细胞也可能通过自分泌或旁分泌机制, 既产生 MMP 又产生拮抗其作用的 TIMP2, 抑制癌变细胞易浸润、转移的特性。但这种相互作用达到一定程度时, TIMP2 的上升趋势呈现出相对于 MMP 的降低, 使 MMP 活性显著增强, 有利于癌细胞降解 ECM 而侵袭转移。我们研究中宫颈浸润癌 TIMP2 阳性率与 CIN 相比呈下降趋势, TIMP2 在临床分期晚、有淋巴结转移病人的癌组织中低表达支持这一观点。虽然 TIMP2 对 MMP2 活化是必需的, 但体外分析指出, MMP2 活化最有效的分子比率为 MMP2 : MT1-MMP : TIMP2 为 1 : 2 : 1, TIMP2 过多则可阻碍 MMP2 的活化, 抑制癌细胞的侵袭、转移。Zhou 等<sup>[10]</sup> 研究也认为, TIMP1、2 蛋白在宫颈细胞癌变过程中表达水平上调从而起抑制癌变细胞易浸润、转移的特性。但鳞癌组与 CIN 组比较差异无显著性, 推测在子宫颈鳞癌的发展过程中 TIMP 的表达是一早期事件。

临床分期及淋巴结转移与宫颈癌的预后密切相关, 本研究提示, c-Met、TIMP2 可能成为判断宫颈癌预后的良好参考指标。Baykal 等<sup>[11]</sup> 对 94 例 FIGO 分期 IB 宫颈癌患者分析表明 c-Met 过表达与患者无病存活率和 5 年存活率显著相关, 而且是患者无病存活的一个独立变量。Branca 等<sup>[12]</sup> 对 150 例宫颈癌研究, 认为 MMP2/TIMP2 比值倒置是预后不良的征兆。单变量分析, TIMP2 (而非 MMP2) 对患者存活率有预测价值。我们认为 c-Met、TIMP2 是观察宫颈癌侵袭进展、转移及预后的重要

参数。那些 c-Met 高表达、TIMP2 表达减低的癌组织更易发生转移, 因而预后不良。因此阻断 HGF/c-Met 系统的配对表达或信号转导, 予以外源性 MMP 抑制剂或提高内源性 TIMP 活性可作为抗宫颈癌侵袭和转移治疗的策略之一。

#### 参考文献:

- [1] Boon EM, Kovarikova M, Derksen PW, et al. MET signaling in primary colon epithelial cells leads to increased transformation irrespective of aberrant Wnt signalling[J]. Br J Cancer, 2005, 92(6): 1078-1083.
- [2] 绍彬, 聂青和. 基质金属蛋白酶组织抑制剂 (TIMPs) 的基础及临床研究现状[J]. 实用肝脏病杂志, 2005, 8(3): 182-186.
- [3] Khoury H, Naujokas MA, Zuo D, et al. HGF converts ErbB2/Neu epithelial morphogenesis to cell invasion[J]. Mol Biol Cell, 2005, 16(2): 550-561.
- [4] Wong AS, Roskelley CD, Pelech S, et al. Progressive changes in Met-dependent signaling in a human ovarian surface epithelial model of malignant transformation[J]. Exp Cell Res, 2004, 299(1): 248-256.
- [5] Crouch S, Spidel CS, Lindsey JS. HGF and ligation of alpha-beta5 integrin induce a novel, cancer cell-specific gene expression required for cell scattering[J]. Exp Cell Res, 2004, 292(2): 274-287.
- [6] Park YH, Ryu HS, Choi DS, et al. Effects of hepatocyte growth factor on the expression of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors during the endometrial cancer invasion in a three-dimensional coculture[J]. Int J Gynecol Cancer, 2003, 13(1): 53-60.
- [7] Sengupta S, Kiziltepe T, Sasisekharan R. A dual-color fluorescence imaging-based system for the dissection of antiangiogenic and chemotherapeutic activity of molecules[J]. FASEB J, 2004, 18(13): 1565-1567.
- [8] Sier CF, Zuidwijk K, Zijlmans HJ, et al. EMMPRIN-induced MMP-2 activation cascade in human cervical squamous cell carcinoma[J]. Int J Cancer, 2006, 118(12): 2991-2998.
- [9] Sheu BC, Lien HC, Ho HN, et al. Increased expression and activation of gelatinolytic matrix metalloproteinases is associated with the progression and recurrence of human cervical cancer[J]. Cancer Res, 2003, 63(19): 6537-6542.
- [10] Zhou CY, Yao JF, Chen XD. Expression of matrix metalloproteinase-2, 9 and their inhibitor-TIMP 1, 2 in human squamous cell carcinoma of uterine cervix[J]. Ai Zheng, 2002, 21(7): 735-739.
- [11] Baykal C, Ayhan A, Ai A, et al. Overexpression of the c-Met/HGF receptor and its prognostic significance in uterine cervix carcinomas[J]. Gynecol Oncol, 2003, 88(2): 123-129.
- [12] Branca M, Ciotti M, Giorgi C, et al. Matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and its tissue inhibitor (TIMP-2) are prognostic factors in cervical cancer, related to invasive disease but not to high-risk human papillomavirus (HPV) or virus persistence after treatment of CIN[J]. Anticancer Res, 2006, 26(2B): 1543-1556.

[编辑:周永红]