

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2021.05.020
网络首发 <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.r.20210122.1427.038.html>(2021-01-25)

伴微乳头结构肺腺癌中 c-Met、VEGF 的表达及意义^{*}

邱 静¹,戴晓丽²,王 琪¹,王婷婷¹,梁晓东¹
(1. 江苏省盐城市第三人民医院病理科 224000;2. 江苏医药职业学院,江苏盐城 224000)

[摘要] 目的 探讨肝细胞生长因子受体 c(c-Met)、血管内皮细胞生长因子(VEGF)在含微乳头结构肺腺癌(MPPAC)中表达及意义。方法 搜集具有完整临床病理资料的肺腺癌患者 116 例,按微乳头结构(MPP)是否大于 5%将 116 例肺腺癌病例分为 MPPAC 组(56 例)和 MPP 阴性组(60 例),50 例癌旁肺组织为对照组,通过免疫组织化学 SP 法检测各组标本中 c-Met 及 VEGF 的表达。结果 c-Met 阳性表达率在 MPPAC 组、MPP 阴性组、对照组分别为 69.64%(39/56)、51.67%(31/60)、6.00%(3/50),组间比较差异有统计学意义(均 $P<0.05$);VEGF 阳性表达率在 MPPAC 组、MPP 阴性组、对照组分别为 66.07%(37/56)、50.00%(30/60)、8.00%(4/50),组间差异有统计学意义(均 $P<0.05$)。Spearman 等级相关性分析显示,MPPAC 组中 c-Met 与 VEGF 表达呈正相关($r=0.783,P<0.01$);且 c-Met、VEGF 在有淋巴结转移的患者及 TNM 分期Ⅲ~Ⅳ期患者中表达水平较无淋巴结转移及 TNM 分期Ⅰ~Ⅱ的患者明显升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 c-Met、VEGF 在 MPPAC 中高表达,它们与淋巴结转移及肿瘤分期有关。c-Met、VEGF 共同参与了 MPPAC 的发生发展及侵袭转移,且两者可能具有协同作用。

[关键词] 肺肿瘤;腺癌;微乳头结构;原癌基因蛋白质 c-met;血管内皮生长因子 A
[中图分类号] R734.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2021)05-0806-05

Expression and significance of c-Met and VEGF in lung adenocarcinoma with micropapillary structure^{*}

QIU Jing¹,DAI Xiaoli²,WANG Qi¹,WANG Tingting¹,LIANG Xiaodong¹

(1. Department of Pathology, the Third People's Hospital of Yancheng City, Yancheng, Jiangsu 224000, China; 2. Jiangsu Vocational College of Medicine, Yancheng, Jiangsu 224000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the expression and significance of hepatocyte growth factor receptor c (c-Met) and vascular endothelial cell growth factor (VEGF) in lung adenocarcinoma with micropapillary structure (MPPAC). **Methods** A total of 116 lung adenocarcinoma patients with complete clinical and pathological data were collected. According to whether the micropapillary structure (MPP) was greater than 5%, patients were divided into the MPPAC group (56 cases) and the MPP-negative group (60 cases), and 50 cases of paracancerous tissue were selected as the control group. The expressions of c-Met and VEGF in the specimens of each group were detected by immunohistochemical SP method. **Results** The expression rate of c-Met protein in the MPPAC group, MPP-negative group and control group were 69.64% (39/56), 51.67% (31/60), and 6.00% (3/50), respectively, there were statistically significant differences between the groups ($P<0.05$). The positive expression rate of VEGF in the MPPAC group, MPP-negative group, and control group were 66.07% (37/56), 50.00% (30/60), and 8.00% (4/50), respectively, there were statistically significant differences between the groups ($P<0.05$). Spearman rank correlation analysis showed that the expression of c-Met and VEGF in the MPPAC group was positively correlated ($r=0.783,P<0.01$), and the expression levels of c-Met and VEGF in patients with lymph node metastasis and TNM stage Ⅲ—Ⅳ were higher than patients without lymph node metastasis and TNM stage Ⅰ—Ⅱ, the differences were statistically significantly ($P<0.05$). **Conclusion** The positive expression rates of c-Met and VEGF in MPPAC are high, and they are related to lymph node metastasis and tumor staging. c-Met and VEGF jointly participate in the occurrence,

^{*} 基金项目:盐城市医学科技发展计划项目(YK2018126)。 作者简介:邱静(1979—),副主任医师,硕士,主要从事肿瘤病理诊断研究。

development, invasion and metastasis of MPPAC, and the two may have a synergistic effect.

[Key words] lung neoplasms; adenocarcinoma; micropapillary pattern; proto-oncogene proteins c-met; vascular endothelial growth factor A

肺癌是全球发病率和病死率最高的恶性肿瘤之一,5 年生存率仅有 14%^[1]。近年来,肺腺癌所占比率有明显增长趋势,目前已成为多数国家最常见的肺癌组织学亚型。肺腺癌又分为众多亚型,其中,伴微乳头状结构肺腺癌(pulmonary adenocarcinoma with a micropapillary pattern, MPPAC)由 AMIN 等^[2]在 2002 年首次报道,2011 版肺腺癌组织学分类新标准首次将含有微乳头结构(micropapillary pattern, MPP)≥5%递增量的浸润性肺腺癌单独划分为一个新的组织学亚型,常与肺癌的其他亚型(如贴壁生长型、腺泡型、乳头型、实体型等)混合存在,纯型罕见。与普通型肺腺癌比较,MPPAC 整体预后较差,易发生淋巴结转移及远处转移^[3]。目前,有关 MPPAC 潜在分子机制尚不完全清楚。而肝细胞生长因子受体 c(c-Met)为酪氨酸蛋白激酶家族成员,许多恶性肿瘤都伴有 c-Met 基因的扩增和过度表达^[4],c-Met 信号通路有可能成为 MPPAC 的潜在治疗靶点。此外,血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)作为重要的促血管生成因子^[5],其表达与 MPPAC 的关系也受到关注。目前国内对于 c-Met、VEGF 与 MPPAC 关系的研究尚少,本研究对 116 例肺腺癌根治标本分组进行免疫组织化学染色,比较 c-Met、VEGF 在 MPPAC 组及 MPP 阴性组中的表达,探讨两者表达的相关性,以及其与 MPPAC 患者临床病理因素的关系,分析其在肿瘤的发生发展及侵袭转移中的作用,为探寻有效的靶向药物治疗提供一定的理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集 2016 年 5 月至 2019 年 5 月在江苏省盐城市第三人民医院行肺癌手术切除标本 116 例(排除术前放/化疗及合并其他肿瘤患者)及 50 例癌旁正常肺组织,所有标本均经病理证实为腺癌,根据 2011 年发表的肺腺癌新分类诊断标准:以 MPP 是否大于 5%将 116 例肺腺癌病例分为 56 例 MPPAC 组和 60 例 MPP 阴性组,50 例癌旁正常肺组织为对照组。入选标本的组织学类型、分化程度及分期等均经高年资病理医师确诊。MPPAC 组中男 32 例,女 24 例;年龄 51~79 岁,中位年龄 66 岁;占主要成分的肿瘤组织学分型,贴壁型 2 例、腺泡/乳头型 31 例、实体型 9 例,微乳头型 14 例;根据 IASLC 第八版国际肺癌 TNM 分期,Ⅰ期 23 例、Ⅱ期 19 例、Ⅲ期 9 例、Ⅳ期 5 例;无淋巴结转移者 27 例,有淋巴结转移者 29 例。MPP 阴性组中男 23 例,女 37 例;年龄 28~82 岁,中位年龄

63 岁;占主要成分的肿瘤组织学分型,贴壁型 13 例、腺泡/乳头型 36 例、实体型 11 例;根据 IASLC 第八版国际肺癌 TNM 分期,Ⅰ期 29 例、Ⅱ期 21 例、Ⅲ期 7 例、Ⅳ期 3 例;无淋巴结转移者 31 例,有淋巴结转移者 29 例。

1.2 方法

采用免疫组织化学 SP 法检测 c-Met 及 VEGF 在各组的表达。兔抗人 c-Met 多克隆抗体、兔抗人 VEGF 单克隆抗体购自美国 Santa Cruz 公司,SP 系列免疫组织化学检测试剂盒及 DAB 试剂盒均购自北京中杉金桥生物技术有限公司。石蜡标本 4 μm 切片,脱蜡至水、3% H₂O₂ 封闭、高温高压法修复抗原、自然冷却,滴加封闭用正常山羊血清,30 min 后去山羊血清,滴加稀释的一抗,4℃孵育过夜,次日复温,滴加二抗,DAB 显,苏木素染核,脱水,封片。结果判定:相应部位出现棕黄色或棕褐色颗粒,c-Met 主要表达于细胞膜和细胞质;VEGF 主要表达于细胞质。评分标准:采用半定量积分法^[6]。按着色强度:未着色记 0 分,浅黄色为弱阳性记 1 分;棕黄色为阳性记 2 分;棕褐色为强阳性记 3 分;每张切片选取 10 个高倍视野(×400),计数阳性细胞百分比,阳性细胞所占比例小于或等于 5%为 0 分,>5%~25%为 1 分,>25%~50%为 2 分,>50%为 3 分;上述两种评分相加,≥3 分为阳性,<3 分为阴性。结果由 2 名高年资病理医师进行盲法判读。

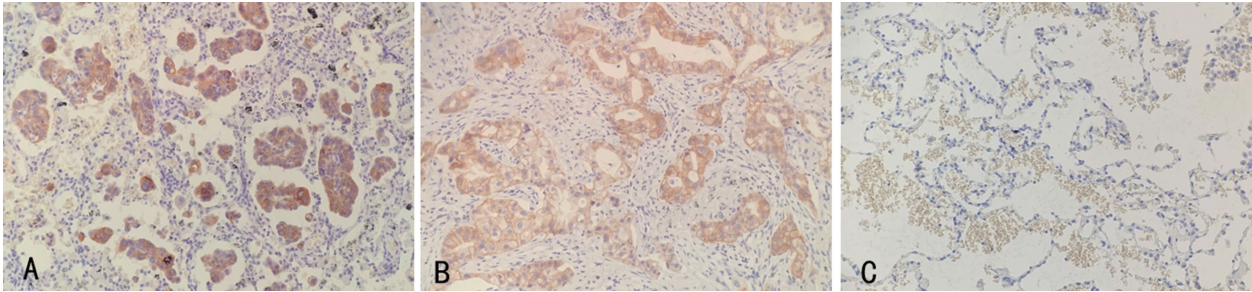
1.3 统计学处理

采用 SPSS22.0 软件对数据进行分析。采用 χ^2 比较 c-Met、VEGF 表达各组组织中的差异。采用 Spearman 等级相关分析检验 c-Met 与 VEGF 的表达在 56 例 MPPAC 患者中的相关性。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

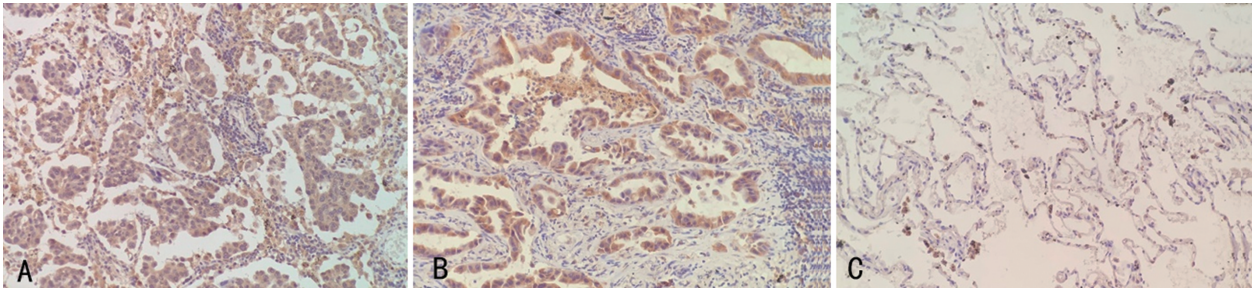
2.1 MPPAC 组、MPP 阴性组和对照组肺组织中 c-Met、VEGF 的表达

c-Met 阳性表达定位于细胞膜和胞质内,为棕黄色或棕褐色颗粒,其在各组中的表达情况见图 1,MPPAC 组中 c-Met 阳性表达率为 69.64%(39/56),明显高于 MPP 阴性组 51.67%(31/60)和对照组 6.00%(3/50),差异有统计学意义(均 $P<0.05$); VEGF 表达定位于细胞质内,为棕黄色或棕褐色颗粒,其在各组中的表达情况见图 2,MPPAC 组中 c-Met 阳性表达率为 66.07%(37/56),明显高于 MPP 阴性组 50.00%(30/60)和对照组 8.00%(4/50),差异有统计学意义(均 $P<0.05$)。



A;MPPAC 组;B;MPP 阴性组;C;对照组。

图 1 c-Met 在各组组织中的表达(免疫组织化学,200×)



A;MPPAC 组;B;MPP 阴性组;C;对照组。

图 2 VEGF 在各组组织中的表达(免疫组织化学,200×)

2.2 MPPAC 组肺腺癌组织 c-Met 表达与 VEGF 的关系

本研究中,c-Met 与 VEGF 在 MPPAC 组中共阳性表达 36 例,共阴性表达 16 例,经 Spearman 等级相关分析证明 c-Met 表达与 VEGF 表达呈正相关($r=0.783,P<0.01$),见表 1。

2.3 MPPAC 组肺腺癌组织中 c-Met、VEGF 表达与临床病理因素的关系

MPPAC 组患者组织 c-Met、VEGF 的表达与肿

瘤的分期及有无淋巴结转移有关($P<0.05$),而与患者性别、年龄、有无吸烟史、肿瘤大小及组织学分型无关($P>0.05$),见表 2。c-Met、VEGF 在 MPPAC 组各组织学分型中的表达见图 3、4。

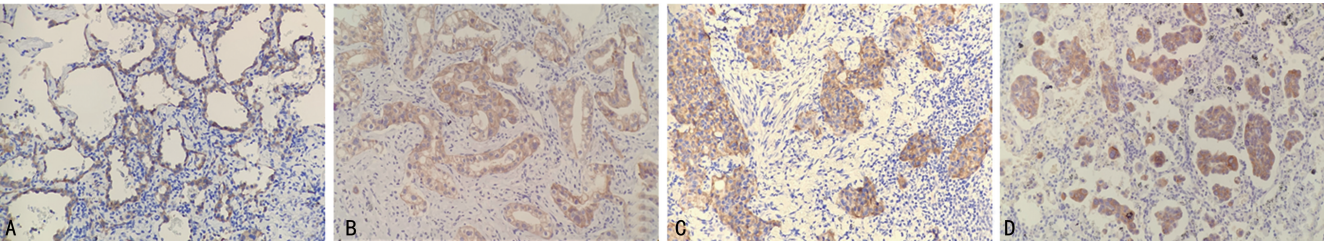
VEGF	c-Met		合计
	阳性	阴性	
阳性	36	1	37
阴性	3	16	19
合计	39	17	

表 2 MPPAC 组 c-Met、VEGF 的表达与临床病理因素的关系

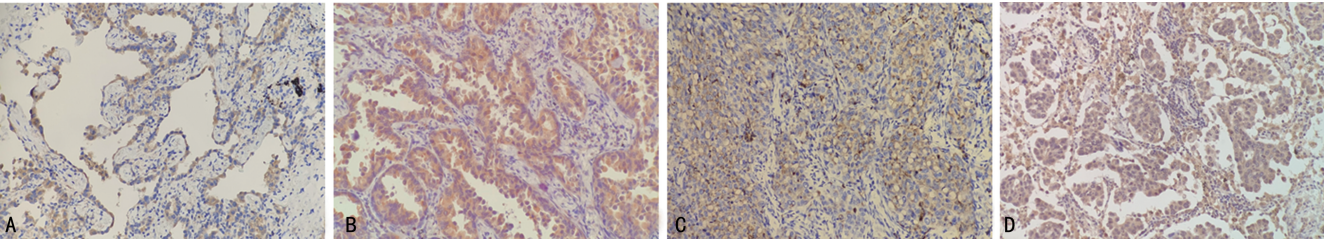
临床病理特征	n	c-Met(n)		χ^2	P	VEGF(n)		χ^2	P
		阳性	阴性			阳性	阴性		
性别				0.176	0.675			1.122	0.290
男	32	22	10			21	11		
女	24	17	7			16	8		
年龄(岁)				1.380	0.240			1.301	0.254
≤60	14	10	4			9	5		
>60	42	29	13			28	14		
吸烟史				3.279	0.070			3.236	0.072
有	30	21	6			20	10		
无	26	18	11			17	9		
肿瘤大小(cm)				1.100	0.294			2.572	0.109
<3	29	20	9			19	10		
≥3	27	19	8			18	9		
组织学分型				0.984	0.805			1.684	0.641
贴壁型	2	1	1			1	1		
腺泡/乳头型	31	21	10			20	11		

续表 2 MPPAC 组 c-Met、VEGF 的表达与临床病理因素的关系

临床病理特征	n	c-Met(n)		χ^2	P	VEGF(n)		χ^2	P
		阳性	阴性			阳性	阴性		
实体型	9	6	3			5	4		
微乳头型	14	11	3			11	3		
TNM 分期				7.380	0.007			5.199	0.023
I ~ II 期	42	26	16			25	17		
III ~ IV 期	14	13	1			12	2		
淋巴结转移				11.419	0.001			13.956	0.000
有	29	26	3			25	4		
无	27	13	14			12	15		



A:贴壁型;B:腺泡/乳头型;C:实体型;D:微乳头型。
图 3 c-Met 在 MPPAC 组肺腺癌中的表达(免疫组织化学,200×)



A:贴壁型;B:腺泡/乳头型;C:实体型;D:微乳头型。
图 4 VEGF 蛋白在 MPPAC 组肺腺癌中的表达(免疫组织化学,200×)

3 讨 论

肺癌是目前全球第一大癌症,在我国肺癌的发病率和病死率居于恶性肿瘤的首位。近年来,肺腺癌发病率逐年提高。MPP 作为恶性肿瘤的一种特殊的病理学形态,首先在乳腺癌中被描述,含有 MPP 的乳腺癌发现时临床分期较晚,预后较差^[7]。MPPAC 是一类浸润程度较强、易转移、预后差的恶性肿瘤。MP-PAC 可与任何一种肺腺癌组织学亚型混合存在,至今未发现单纯 MPPAC 报道。目前对于 MPPAC 的研究较少,其潜在的分子机制尚不完全明确,寻找以 MPPAC 为主的肺腺癌发生发展和预后相关的生物学标志物,检测癌基因与抑癌基因产物对肿瘤的影响,以寻求有效的靶向治疗成为近年来研究的热点。

c-Met 基因为一种原癌基因,为肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)的唯一受体,其编码的蛋白属于酪氨酸激酶家族成员。活化后可激活多个下游信号通路,促进细胞的增殖、分化、抑制细胞凋亡,促进肿瘤血管生成等^[8]。许多肿瘤中都伴有 c-Met 基因的扩增和过表达,如胃癌、结肠癌^[9-10]等,c-

Met 阳性表达的癌细胞更具有侵袭性和远处转移的能力^[11],且有研究表明肺癌中 Met 基因扩增与分子靶向药物的耐药性相关^[12]。

血管生成在肿瘤的生长、增殖及侵袭转移过程中至关重要。VEGF 是目前发现的作用最强的促血管内皮细胞增殖与生成因子之一,可较好地诱导血管新生。它与肿瘤血管内皮细胞相应受体结合后,可刺激肿瘤血管内皮增生,诱导血管生成,增加血管通透性等,为肿瘤的生长、浸润和转移提供物质基础^[5]。研究表明^[13]具有 MPP 结构的肿瘤发生淋巴结转移可能与肿瘤组织中的 VEGF 表达明显升高有关。

本研究发现,c-Met、VEGF 在 MPPAC 组肺腺癌中的表达明显高于 MPP 阴性组肺腺癌及对照组肺组织,差异有统计学意义($P<0.05$),且在 TNM 分期 III ~ IV 期、有淋巴结转移的肺腺癌组织中均呈高表达,差异有统计学意义($P<0.05$),提示 c-Met 及 VEGF 的过表达与 MPPAC 的发生发展及侵袭转移有关。且结果显示 c-Met、VEGF 表达与患者的性别、年龄、吸烟史、肿瘤大小及组织学分型无明显相关性。

Spearman 等级相关分析表明, c-Met 表达与 VEGF 表达在 MPPAC 组肺腺癌组织中关系密切 ($r = 0.783, P < 0.01$)。且 c-Met 表达与 VEGF 表达呈正相关, 与文献报道一致^[14], 表明在 MPPAC 中 c-Met 与 VEGF 均对肿瘤的发生发展存在协同作用, 两者共同参与促进肿瘤生长、增殖及调控肿瘤血管生成。研究表明^[15], c-Met 活化后可促进 VEGF 的表达, 而 VEGF 可促进血管内皮细胞分裂, 刺激肿瘤的血管生成, 故推测 MPPAC 易发生浸润、淋巴结转移及预后差可能与 c-Met 和 VEGF 在促进肿瘤血管生成方面的协同作用有关。因此, MPPAC 患者中 c-Met 与 VEGF 联合检测对判断病情、指导治疗、评价预后有一定价值。

综上所述, MPPAC 中 c-Met、VEGF 均高表达, 且在淋巴结转移、TNM 分期 III ~ IV 期患者组织中表达更高, 说明 c-Met、VEGF 在 MPPAC 的发生发展中可能起重要作用, 其高表达可能增加 MPPAC 患者侵袭、转移的风险, 与患者生存率降低和预后差相关。c-Met 表达与 VEGF 表达的相关性说明在 MPPAC 中 c-Met 与 VEGF 均对肿瘤的发生发展起协同作用, c-Met 可能通过促进 VEGF 的表达, 从而促进肿瘤的增殖、迁移、侵袭及血管再生等。提示 c-Met、VEGF 的测定可以作为 MPPAC 发生发展的潜在生物标志物, 对 MPPAC 的恶性程度及预后情况作出更加准确的判断, 为临床诊断与治疗提供依据。c-Met、VEGF 信号通路可成为 MPPAC 治疗中很有前途的靶点, 抑制 c-Met、VEGF 的表达或许能够延长 MPPAC 患者复发时间, 提升总体生存期。

参考文献

- [1] OTT S, GEISER T. Epidemiology of lung tumors [J]. Ther Umsch, 2012, 69(7): 381-388.
- [2] AMIN M B, TAMBOLI P, MERCHANT S H, et al. Micropapillary component in lung adenocarcinoma: a distinctive histologic feature with possible prognostic significance [J]. Am Surg Pathol, 2002, 26(3): 358-364.
- [3] CLAY T D, DO H, SUNDARAJAN V, et al. The clinical relevance of pathologic subtypes in metastatic lung adenocarcinoma [J]. Thorac Oncol, 2014, 9(5): 654-663.
- [4] GUMUSTEKIN M, KARGI A, BULUT G, et al. HGF/c-Met overexpression, but not mutation, correlates with progression of non-small cell lung cancer [J]. Pathol Oncol Res, 2012, 18(2): 209-218.
- [5] NAKAMURA T, MATSUMOTO K. Angiogenesis inhibitors: from laboratory to clinical application [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2005, 333(2): 289-291.
- [6] 王爱民, 焦海涛, 吴建龙, 等. 胃癌组织 EGFR、c-Met、Ki67 表达变化及其临床意义 [J]. 山东医药, 2017, 57(8): 75-76.
- [7] 梁月勉, 王维娜. 乳腺浸润性微乳头状癌 30 例临床病理分析 [J]. 诊断病理学杂志, 2015, 22(8): 459-463.
- [8] MA P C, MAULIK G, CHRISTENSEN J, et al. c-Met: structure, functions and potential for therapeutic inhibition [J]. Cancer Metastasis Rev, 2003, 22(4): 309-325.
- [9] 方瑜, 王琳, 李桂梅, 等. c-Met、VEGF 在 AFP 阳性胃癌中的表达及意义 [J]. 安徽医科大学学报, 2015, 50(3): 357-360.
- [10] 吕士红, 艾迎春. c-Met 和 Ezrin 在大肠癌中的表达 [J]. 牡丹江医学院学报, 2016, 37(2): 9-12.
- [11] GUMUSTEKIN M, KARGI A, BULUT G, et al. HGF/c-Met overexpression, but not mutation, correlates with progression of non-small cell lung cancer [J]. Pathol Oncol Res, 2012, 18(2): 209-218.
- [12] ENGELMAN J A, ZEJNULLAHU K, MITSUDOMI T, et al. MET amplification leads to gefitinib resistance in lung cancer by activating ERBB3 signaling [J]. Science, 2007, 316(5827): 1039-1043.
- [13] KAMEI S, KONO K, AMEMIYA H, et al. Evaluation of VEGF and VEGF-C expression in gastric cancer cells producing alpha-fetoprotein [J]. J Gastroenterol, 2003, 38(6): 540-547.
- [14] 刘文静, 马杰, 李克, 等. 大肠癌组织 c-Met 和 VEGF 表达及其与微血管密度关系的初步研究 [J]. 中华肿瘤防治杂志, 2012, 19(15): 1159-1161.
- [15] LIN Y M, HUANG Y L, FONG Y C, et al. Hepatocyte growth factor increases vascular endothelial growth factor-A production in human synovial fibroblasts through c-Met receptor pathway [J]. PLoS One, 2012, 7(11): e50924.