MMP-9、*VEGF*、*bFGF* 在非何杰金淋巴瘤的表达及临床意义

赵文辉 张清媛 康欣梅
(哈尔滨医科大学附属肿瘤医院 哈尔滨 150040)

摘要 目的:探讨 *MMP-9*、*VEGF*、*bFGF* 在非何杰金淋巴瘤(*NHL*)中的表达及意义。方法:免疫组化法。结果 *MMP-9*、*VEGF*、*bFGF* 在 *NHL* 中表达率分别为 43.66%、33.80%、25.35%,均高于正常淋巴结组织中的表达,差异均有显著性(P_m=0.0023, P_v=0.001, P_b=0.0049)。组 5 年生存率明显低于 *MMP-9*(-)组(P=0.008)。*VEGF* 在 *T* 细胞型中表达率高于 *B* 细胞型(P=0.019),*VEGF* 阳性组治疗缓解率低(P=0.045)。巨块型 *NHL* 中 *bFGF* 表达率较高(P=0.028),*bFGF*(+)组 5 年生存率明显低于 *bFGF*(-)组(P=0.041)。*MMP-9*、*VEGF*、*bFGF* 之间无协同表达。结论:*MMP-9*、*VEGF*、*bFGF* 在 *NHL* 中的表达高于正常淋巴组织,可能与淋巴组织恶变有关。*MMP-9*、*bFGF* 均与生存期呈负相关,是 *NHL* 预后差的指标,联合检测更有助于判断预后。*VEGF* 阳性组治疗效果差,提示 *VEGF* 阳性 *NHL* 患者加用 *VEGF* 靶向治疗可能会提高疗效。

关键词:*MMP-9*; *VEGF*; *bFGF*; 非何杰金淋巴瘤
中图分类号:*R*733.1 文献标识码:*A*

Expression and Significance of MMP-9, VEGF and bFGF in non-Hodgkin's lymphoma

ZHAO Wen-hui, ZHANG Qing-yuan, KANG Xin-mei
(The Tumor Hospital Affiliated to Harbin Medical University, Harbin 150040)

ABSTRACT Objective: To investigate the expression and clinical significance of Matrix Matalloproteinase 9, Vascular Endothelial Growth Factor and basic Fibroblast Growth Factor in non-Hodgkin's lymphoma. **Methods:** The expression of MMP-9, VEGF and bFGF were evaluated in 71 cases of non-Hodgkin's lymphoma by means of immunohistochemistry. **Results:** The expression of MMP-9, VEGF and bFGF were detected in non-Hodgkin's lymphoma and the expression rates were 43.66%, 33.80%, 25.35% respectively. The 5-year survival rate of patients with MMP-9 (+) is lower(P=0.008). The positive rate of VEGF expression in T cell type was higher than in B cell type(P=0.019). The complete and partial response rates were significantly higher in VEGF-negative group than in the VEGF-positive group(P=0.045). The expression of bFGF was related with bulky tumor and overal survival. The positive rate of bFGF in non-bulky tumor was lower than in bulky tumor(P=0.028). Overal survival was lower in bFGF-positive group than in bFGF-negative group(P=0.041). There was no relationship among the expression of VEGF, bFGF and MMP-9. **Conclution:** As well as in many other solid tumors, we detected the expression of MMP-9, VEGF and bFGF in non-Hodgkin's lymphoma(NHL). MMP-9 and bFGF were related with overal survical and may be marks of unfavorable prognosis in non-Hodgkin's lymphoma. VEGF could serve as a predictor of poor response to chemotherapy, so the combination of VEGF target drug and chemotherapy may benefit VEGF-positive patient.

Key words: MMP-9; VEGF; bFGF; Non-Hodgkin's lymphoma

前言

细胞外基质的降解和肿瘤的血管生成与肿瘤的侵袭播散密切相关。MMP-9 是基质金属蛋白酶(MMP)家族中的重要成员,通过降解细胞外基质对肿瘤的浸润和转移起重要作用[1];血管内皮生长因子(VEGF)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)是最主要的两种促血管生成因子,促进肿瘤血管新生。非何杰金淋巴瘤(NHL)是一组异质性肿瘤,应用形态学及分子免疫学相结合的分类法对其进行分类,尚不能充分反映肿瘤的生物学行为,是目前个体化治疗的障碍。为此,我们在 71 例非何杰金淋巴瘤组织及 30 例正常淋巴组织中检测了 MMP-9 和 VEGF、bFGF 的表达,并分析其表达与肿瘤临床特征及预后的关系,以指导临床治疗方案的选择及预后的评定。

作者简介:赵文辉(1977),女,硕士,住院医师
主要研究方向:乳腺癌及淋巴瘤耐药的研究
E-mail: zhaowenhui1977@163.com
(收稿日期:2006-05-08 接受日期:2006-06-10)

1 材料和方法

1.1 材料

1990 年 1 月至 1995 年 12 月在哈尔滨医科大学附属肿瘤医院收治的经病理组织学确诊的 NHL71 例,其中滤泡中心型 5 例,弥漫大 B 细胞型 42 例,T 免疫母细胞型 6 例,周围 T 细胞型 18 例。临床分期按 Ann Arbor-Colswolds 分期标准:I 期 5 例,II 期 29 例,III 期 30 例,IV 期 7 例。71 例中 19 例为巨块型,35 例有 B 症状。68 例接受 CHOP 方案化疗,3 例接受 MacopB 方案化疗,化疗 6-10 周期不等,其中 20 例加用了局部放疗(2.0Gy × 20,每周 5 次)。全部患者化疗六周期后评价疗效,其中 CR+PR 49 例,SD 14 例,PD 8 例,全组病例均随访 5 年以上;选取同期手术切除的正常淋巴结 30 例作为正常对照。

1.2 方法

免疫组织化学染色。单克隆抗体、EADM 消化液及 ABC 试剂盒均购自北京中山生物技术有限公司。4μm 厚蜡块标本常规脱蜡脱水,EDTA 消化液消化,加入 3% 的过氧化氢,微波炉修复抗原,按试剂盒说明依次加入试剂 A、B、C,二氨基显色,以上每个步骤之后都用 PBS 液冲洗。苏木素复染,脱水,

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

中性树胶封固。用北京中山生物公司提供的阳性 MMP- 9、VEGF、bFGF 乳腺癌切片作阳性对照,以 PBS 液代替一抗作阴性对照。

1.3 结果判断

MMP- 9阳性着色主要位于细胞浆中,阳性细胞数≥15%即为阳性表达; VEGF、bFGF 阳性着色为棕黄色或棕褐色,阳性着色主要位于细胞浆中,当阳性细胞数≥10%即为阳性表达。

1.4 统计学分析

相关性分析用 X^2 检验;用 Kaplan- Meier 法作生存分析。

2 结果

2.1 MMP- 9、VEGF、bFGF 在正常淋巴结及 NHL 中的表达情况

MMP- 9、VEGF、bFGF 在 NHL 中的表达率分别为 43.66%、33.80%、25.35%均明显高于在正常淋巴结组织中的 6.67%、0%、0%表达率,差异均有显著性(Pm= 0.0023, Pv= 0.001, Pb = 0.0049)。

2.2 MMP- 9、VEGF、bFGF 在 NHL 中的表达与临床指标的关系

MMP- 9阳性表达率为 43.66% (31/71), MMP- 9 的表达与生存期相关,MMP- 9(-)患者生存期大于 5 年的占 52.50% (21/40),MMP- 9(+)患者生存期大于 5 年的仅占 22.58% (7/31),MMP- 9(+)患者生存期较短,显著差异(P= 0.008)。经生存分析,MMP- 9 阳性组生存曲线低于阴性组,且有统计学意义(图 1)。MMP- 9 的表达与 NHL 的病理类型、临床分期、B 症状、巨块型、治疗结果、结外浸润无相关性。

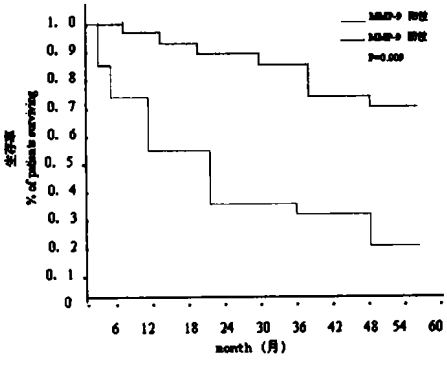

图 1 (MMP- 9阳性、MMP- 9阴性 NHL 生存曲线)

Fig. 1 Survival curve of patients with non- Hodgkin's lymphoma according to the expressions of MMP- 9

VEGF 阳性表达率为 33.80% (24/71),在 T 细胞型中表达率为 54.17%,在 B 细胞型中表达率 23.40%,差异有显著性(P = 0.019);VEGF(-)患者治疗缓解率为 76.60%,而 VEGF(+)患者治疗缓解率为 54.17%,明显低于 VEGF(-)患者,差异有显著性(P= 0.045)。VEGF 的表达与 NHL 的临床分期、B 症状、巨块型、结外浸润及生存期无相关性。

bFGF 阳性表达率为 25.35% (18/71),巨块型患者中 bFGF 阳性表达 47.37% (9/19),而非巨块型患者中 bFGF 阳性表达率为 17.31% (9/52),表达率低于巨块型组,且差异有显著性(P= 0.028);bFGF 的表达与生存期相关,bFGF(-)患者 47.17% (25/53)生存期大于 5 年,bFGF(+)患者只有 16.67% (3/18)生存期大于 5 年,两组间有显著差异(P= 0.041)。经生存分析,bFGF(+)组生存曲线明显低于 bFGF(-)组,且有统计学意义。bFGF 的表达与 NHL 的病理类型、临床分期、B 症状、治疗结果、结外浸润无相关性。

2.3 MMP- 9、VEGF、bFGF 在弥漫大 B 细胞型 NHL 中的表达

MMP- 9、VEGF、bFGF 在弥漫大 B 细胞型 NHL 中的表达率分别为 45.24%、23.81%、21.44%,bFGF、MMP- 9 阳性表达的弥漫大 B 细胞型 NHL 的生存曲线分别低于阴性组的生存曲线,且有统计学差异(图 2),VEGF 阳性组的生存曲线也低于阴性组的生存曲线,但无统计学意义。

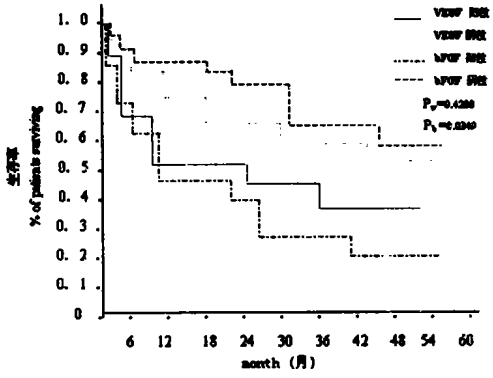

图 2 (VEGF、bFGF 表达的弥漫大 B 细胞淋巴瘤生存曲线)

Fig. 2 Survival curve of patients with Diffuse large cell lymphoma according to the different expressions of VEGF and bFGF

2.4 NHL 中 MMP- 9、VEGF、bFGF 表达之间的关系

MMP- 9、VEGF、bFGF 表达之间统计学上未见相关性,即未发现 VEGF、bFGF、MMP- 9 之间有协同表达。

3 讨论

基质金属蛋白酶 MMP- 9 及血管生成因子 VEGF、bFGF 在乳腺癌、肺癌及胃肠癌等实体瘤中的表达及作用研究较为深入,但在淋巴瘤中的研究很少。本实验结果显示:和在许多实体瘤中一样,我们在 NHL 中也检测到 MMP- 9、VEGF、bFGF 的表达,与在正常淋巴结组织中的表达相比较,差异均有显著性,提示 MMP- 9 和 VEGF、bFGF 在 NHL 的发病中起重要作用,其检测可能会对判断恶性淋巴瘤有帮助。

MMP- 9 亦称明胶酶 B,是目前研究较多的与肿瘤发生、发展、侵袭和转移关系最密切的一类基质金属蛋白酶。对人体多种肿瘤进行的研究表明,在不同实体瘤中 MMP- 9 有不同程度的增高,并与肿瘤进展及预后相关。2002 年 Kuittinen[3] 在何杰金淋巴瘤中检测了 MMP- 9、MMP- 2 的表达,发现与其他实体瘤相反,有 MMP- 2 表达的病人预后较好,MMP- 9 的表达与浸润表型及分期无相关性。2003 年 Koh- ichi Sakata[4] 在 NHL 中检测到了 MMP- 9 的表达,并发现与进展型 NHL 及不良预后相关。本实验结果表明:MMP- 9 的表达与 NHL 的浸润进展表型无相关性,但 MMP- 9 阳性组病人 5 年生存率(25%)明显低于 MMP- 9 阴性组病人(75%),阳性病人预后不良。在其它实体瘤中 MMP- 9 主要通过降解细胞外基质、参

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

与血管生成来促进肿瘤的侵袭和转移。在淋巴瘤中 MMP-9 的作用可能与 IL-6 参与的免疫调节过程相关,具体机制尚需进一步研究。

VEGF 是一种肝素结合的血管生成因子,不仅能促进血管生成,也能促进肿瘤细胞的生长,在很多实体肿瘤,如乳腺癌、肺癌、胃肠癌、胰腺癌中具有重要的预后价值,也逐渐成为生物治疗的一个靶点。近年来在淋巴瘤中也展开了此方面的研究,Salven[5]曾检测了 NHL 患者治疗前血清中 VEGF 水平,发现血清中 VEGF 水平增高与治疗效果差、预后不良密切相关。Francesco Bertolini[6]等报道在 NHL 中完全缓解病人的 VEGF 水平明显低于疾病进展病人水平,可能是独立的预后指标。我们应用免疫组化方法检测了 VEGF 在 NHL 组织中的表达,发现 33.80% 的标本中有 VEGF 的阳性表达,而且在不同的病理类型中其表达存在差异,在滤泡中心型中表达最低,在成 T 免疫母细胞及周围 T 细胞中表达率高,提示 VEGF 的表达可能与 T 细胞淋巴瘤恶性度相对高有关,VEGF 在淋巴瘤中的表达可能赋予肿瘤细胞强的增殖能力,其检测对判断 NHL 的生物学行为有帮助。我们还发现 VEGF 阳性病人治疗有效率较低,与前人测得血清中 VEGF 水平高缓解率低的报道一致,VEGF(+)组治疗缓解率低,提示 VEGF 阳性的 NHL 患者加用 VEGF 靶向治疗可能会提高疗效。经生存分析,VEGF 阴性组生存曲线稍高于 VEGF 阳性组,VEGF 阳性病人生存期相对短,但未达统计学差异,可能与研究样本小及随访时间短有关。

人 bFGF 是体内分布最广泛的生长因子之一,研究发现,消化、神经、呼吸、内分泌系统肿瘤中均有不同程度的 bFGF 的表达,并与很多实体瘤的血管密度、侵袭转移及预后不良相关。bFGF 在淋巴瘤中的研究开展的较晚,1999 年 Gruber[7]在慢性 B 细胞白血病中检测到 bFGF 的表达,并发现其表达与化疗抵抗有关。2001 年 Sezer[8]报道化疗敏感的多发骨髓瘤患者血清中 bFGF 水平低。2002 年 Pazgal I[9]首次报道 NHL 治疗前后血清中 bFGF 水平无变化,组织中 bFGF 的表达与 NHL 的不良预后密切相关。本实验应用免疫组化方法检测到 NHL 中 bFGF 的表达率为 25.35%,与 Pazgal I 等人检测的 23% 阳性率相近。bFGF 在非巨块型淋巴瘤中阳性表达率为 17.31%,而在巨块型淋巴瘤中表达率高达 47.37%,有统计学意义,可能与 bFGF 具有强烈的促细胞生长、分裂等作用有关。研究还发现,bFGF 阴性组生存期大于 5 年的占 47.17%,而 bFGF 阳性组生存期大于 5 年的仅占 16.67%,Kaplan-Meier 生存分析也显示:bFGF 阳性生存曲线明显低于 bFGF 阴性生存曲线,进一步证明 bFGF 的表达与 NHL 的生存期短、不良预后相关,提示 bFGF 可能会成为 NHL 的一个独立预后因子。

弥漫大 B 细胞型淋巴瘤占我国 NHL 的多数,本实验有 42 例弥漫大 B 细胞型淋巴瘤,经生存分析发现 bFGF、MMP-9 阳性表达的弥漫大 B 细胞型 NHL 的生存曲线分别低于弥漫大 B 细胞型 NHL 的阴性组的生存曲线,且有统计学差异,VEGF 阳性组的生存曲线也低于阴性组的生存曲线,但无统计学意义。从生存曲线还可以看到,弥漫大 B 细胞型 NHL 的生存率在一年内下降明显,尤其在 bFGF、MMP-9 阳性表达组下降更显著,一年后随时间的延长趋于平缓,说明 bFGF 和/或 MMP-9 表达的弥漫大 B 细胞型 NHL 起病更凶险,一年内死亡率较高,bFGF、MMP-9 的表达可能促进了弥漫大 B 细胞型 NHL 的进展,提示在临床中对于 bFGF 和/或 MMP-9 表达的弥漫大 B 细胞型淋巴瘤应该选择较为猛烈的化疗方案。

参 考 文 献

[1] Senota A, Itoh F, Yamamoto H, et al. Relation of matrilysin messenger RNA expression with invasive activity in human gastric cancer[J]. Clin Exp Metastasis, 1998, 16(4): 313~321

[2] Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE, et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling[J]. Nature. 2000, 403: 503-511

[3] Kuittinen O, Soini Y, Turpeenniemi-Hujanen T, et al. Diverse role of MMP-2 and MMP-9 in the clinicopathological behavior of Hodgkin's lymphoma[J]. Eur J Haematol, 2002, 69: 205-212

[4] Koh-ichi Sakata, Masaaki Satoh, Masanori Someya, et al. Expression of Matrix Metalloproteinase 9 is a prognostic factor in patients with non-Hodgkin's lymphoma[J]. Cancer, 2004, 100: 356-365

[5] Yangou C, Gomm J, Coope RC, Law M, et al. Fibroblast growth factor 2 in breast cancer: occurrence and prognostic significance[J]. Br J Cancer, 1997, 75: 28-33

[6] Bertolini F, Paolucci M, Peccatori F, et al. Angiogenic growth factors and endostatin in non-Hodgkin's lymphoma. [J]. British Journal of Haematology, 1999, 106: 504-509

[7] Gruber G, Schwarzmeier JD, Shehata M, et al. Basic fibroblast growth factor is expressed by CD19/CD11c-positive cells in hairy cell leukemia [J]. Blood, 1999, 94: 1077-1085

[8] Sezer O, Jakob C, Euker J, et al. Serum levels of the angiogenic cytokines basic fibroblast growth factor, vascular endothelial growth factor and hepatocyte growth factor in multiple myeloma[J]. Eur J Haematol, 2001, 66: 83-88

[9] Pazgal I, Zimra Y, Tzabar C, et al. Expression of basic fibroblast growth factor is associated with poor outcome in non-Hodgkin's lymphoma[J]. Br J Cancer, 2002, 86: 1770-1775

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net