维普资讯 http://www.cqvip.com

c-MET 和 COX-2 在肝细胞癌中表达的意义及其相关性

卢长伟，董家鸿 （第三军医大学附属西南医院肝胆外科医院、全军肝胆外科研究所，重庆 400038）

［摘 要］ **目的** 探讨 c-MET 和 COX-2 在肝细胞癌组织中表达的意义及其相关性。**方法** 将 2006 年 1 月至 2006 年 12 月手术后经病理证实为肝细胞癌患者 28 例分为肝硬化组和非肝硬化组，再根据癌肿的大小分为大于 5 cm 组和小于 5 cm 组。采用免疫组织化学法对 28 例肝细胞癌患者肝组织进行染色，利用美国 SimplePCI6 专业图像分析系统截取显微镜下的 10～15 个视野，测算 c-MET 和 COX-2 的平均光密度值。**结果** 肝硬化组的 c-MET 和 COX-2 平均光密度值均比非肝硬化组高；大于 5 cm 组的 c-MET 和 COX-2 平均光密度值均比小于 5 cm 组高；c-MET 和 COX-2 呈正相关。**结论** HGF-c-MET-COX-2-VEGF 通路可能是促进肝细胞癌血管生成的一个潜在通路，为肝细胞癌抗血管生成治疗策略提供新的靶点。

［关键词］ 环氧水合酶类；c-MET；肝肿瘤
［中图分类号］ R735.7 ［文献标识码］ A ［文章编号］ 1672-5042(2007)03-0161-03

Relationship between c-MET and COX-2 expressed in hepatocellular carcinoma and its significance

LU Chang-wei, DONG Jia-hong (Institute of Hepatobiliary Surgery, Southwest Hospital, Third Medical Military University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To study the relationship between c-MET and COX-2 expressed in hepatocelluar carcinoma as well as its significance. **Methods** Twenty eight cases hepatocelluar carcinoma were identified by pathology from January to December in 2006, Mean optical density of hepatocelluar carcinoma tissue slides stained by immunohistochmemical method was detected with professional photo analysis system (named SimplePCI6, made in USA). **Results** Mean optical density of c-MET and COX-2 in hepatocellular carcinaoma with hepatic cirrhosis is higher than without liver cirrhosis, and in hepatocellular carcinoma more than 5 cm higher than the ones of less than 5 cm.; c-MET and COX-2 was positively correlated. **Conclusion** c-MET and COX-2 may highly correlated in hepatocellular carcinoma, especially in angiogenesis of hepatocellular carcinoma. It is concluded that COX-2 may be downstream factor of c-MET. HGF-c-MET-COX-2-VEGF may be a potential pathway, which plays a great role in angiogenesis in hepatocellular carcinaoma.

Keywords: cyclooxygenase; c-MET; hepatocellular carcinoma

c-MET 是由原癌基因 c-MET 编码的一个蛋白，是肝细胞生长因子唯一受体蛋白。环氧合酶－2（cyclooxygenase-2，COX-2）是前列腺素合成限速酶，是炎症过程中的一个重要的诱导酶，已经有许多研究表明，COX-2 在肿瘤的血管生成中起重要作用，与肿瘤的复发和转移有关，在正常的肝组织中不表达 COX-2。研究表明，c-MET 和 COX-2 分别与 VEGF 有密切关系[1-2]，c-MET 和 COX-2 可能通过促进肿瘤的血管生成，影响肿瘤的复发和转移。近年来，以抑制肿瘤血管生成的策略来治疗肿瘤的研究成为一个崭新的热点，但是目前国内外文献均无肝细胞癌中 c-MET 和 COX-2 相互作用关系的研究，因此本研究拟探讨肝细胞癌中 c-MET 和 COX-2 表达的意义及其相关性。

［作者简介］ 卢长伟（1981－），男，四川省隆昌县人，七年制研究生，主要从事肝癌血管方面的研究。电话：13996039521，E-mail：sealque@sina.com

［收稿日期］ 2007-03-15 ［修回日期］ 2007-04-20

1 材料与方法

1.1 材料

2006 年 1 月至 2006 年 12 月经肝胆外科研究所手术切除病理证实为肝细胞癌患者的肿瘤组织标本 28 例，所选取的标本均为乙肝病毒携带、肿瘤大于 2 cm 且无肝外转移者，年龄 28～75 岁，平均 47.8 岁，男性 26 例，女性 2 例。其中肝硬化 13 例，无肝硬化 15 例。肿瘤大于 5 cm 11 例，小于 5 cm 17 例。所用 COX-2 和 c-MET 兔抗人多克隆抗体，PV-9000 二步法免疫组化检测试剂和浓缩型 DAB 试剂盒均为北京中杉金桥生物技术有限公司产品。SimplePCI 6 专业图像分析系统来自 Cimpix 公司。

1.2 方法

1.2.1 取材 手术切除肝细胞癌病灶，于切除的肿瘤组织内取标本一小块，经 40 g/L 的多聚甲醛固定，常规石蜡包埋，4 μm 厚度连续切片，分别做常规 HE 染色和免疫组化染色。

1.2.2 C-MET 和 COX-2 检测 采用 PV-9000 二步法免疫组化检测系统进行检测。简述如下：脱蜡、水化组织切片，3% H_2O_2 去离子水孵育 10 min，以阻断内源性过氧化酶，以微波枸

维普资讯 http://www.cqvip.com

橼酸盐进行抗原修复，滴加一抗，4 ℃过夜后PBS冲洗，滴加试剂1（Plymer helper）37 ℃孵育20 min，PBS冲洗后滴加试剂2（Polyperoxidase-anti-mouse/rabbit IgG），以DAB溶液显色，自来水冲洗、复染、脱水、透明、密封。用PBS代替一抗作为染色的阴性对照，用已知的COX-2和C-MET染色阳性的乳腺癌组织切片标本作为二者的阳性对照。

1.2.3 结果判断 于400倍显微镜下全面观察每张切片，染色阳性细胞为单纯细胞浆着色而核无着色，胞浆内有棕黄色至深棕黄色（或棕红色）颗粒者。每张切片采集10～15个视野（即10～15张测试图像），用SimplePCI 6专业图像分析系统（Cimpix INC. USA）测算其平均光密度值。

1.2.4 统计学处理 应用SPSS11.5软件进行 t 检验和线性回归分析对所得结果进行分析，平均光密度值以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

2 结果

2.1 肝硬化组与非肝硬化组的表达

COX-2与c-MET在肝细胞癌中，肝硬化组与非肝硬化组的表达之平均光密度值差异非常显著（$P<0.01$），详见表1。

表1 COX-2和c-MET在两组中的表达（$\bar{x} \pm s$，OD）

组 别	例数	COX-2	C-MET
无肝硬化组	15	0.3098±0.0358	0.2957±0.0421
肝硬化组	13	0.4205±0.0299*	0.3965±0.0252*

*：与无肝硬化组比较，$P<0.01$

2.2 不同大小肿瘤中的表达

COX-2和C-MET在肝细胞癌中，大于5 cm组与小于5 cm组的表达差异详见表2。

表2 肝细胞癌COX-2和c-MET的表达（$\bar{x} \pm s$，OD）

肿瘤大小	例数	COX-2	C-MET
肿瘤<5 cm	17	0.3242±0.0502	0.3090±0.0524
肿瘤>5 cm	11	0.4182±0.0383*	0.3912±0.0327#

*：与肿瘤<5 cm组比较，$P<0.01$；#：与肿瘤<5 cm组比较，$P<0.05$

2.3 COX-2和c-MET的相关性

将COX-2和c-MET的平均光密度值进行线性回归分析，系数为0.7929，回归方程显著，方程有意义（方差 F 分析 F 值为44.02，$P<0.01$），提示c-MET和COX-2呈高度正相关。

3 讨论

研究标明，COX-2和c-MET在结直肠癌、胃癌、乳腺癌、非小细胞肺癌、肾癌等恶性肿瘤中过表达，在恶性肿瘤的发生发展过程中起一定作用，尤其与恶性肿瘤的血管生成密切相关。COX-2特异抑制剂能降低VEGF的表达，产生抗血管生成作用，这与VEGF启动子结合Sp蛋白的位点有关，可能与蛋白质降解体依赖的Sp1、Sp4蛋白质的降解有关[3]。在正常的肝脏组织中不表达COX-2，虽然很早就在肝细胞癌中检测到COX-2的表达，但是其在肝细胞癌的发生发展过程中究竟起何作用，仍然未有定论。在肝细胞癌中，COX-2上调VEGF的表达，其机制可能是通过前列腺素合成，而COX-2上调VEGF的表达的效应可以被COX-2抑制剂NS-398阻断，提示COX-2的上调表达与VEGF表达和肝细胞癌血管生成密切相关，COX-2酶在原发性肝细胞癌的发生发展过程中有重要作用[4-5]。Horiguchi等报道在HGF转基因小鼠中通过HGF自分泌途径，HGF/c-MET信号转导通路c-MET激酶活性增强，促进由突变剂二乙基亚硝基诱导的肝细胞癌的产生，微血管密度明显升高且可以观察到VEGF表达水平的升高，提示c-MET可以通过上调VEGF的表达促进肿瘤血管生成[6]。因此认为，COX-2和C-MET参与了肿瘤血管生成，在肿瘤的发生发展过程中有重要作用，探索二者在肝细胞癌当中的相互关系有积极的意义。

目前尚未见肝细胞癌中COX-2和c-MET相互关系的报道。本研究主要通过免疫组织化学法对28例肝细胞癌患者组织染色，利用美国Simple PCI6专业图像分析系统截取显微镜下的10～15个视野，测算c-MET和COX-2的平均光密度值，分析和探索在肝细胞癌中COX-2和c-MET表达的意义。首先，目前一般认为肿瘤大于2 cm时，主要靠新生血管来提供营养支持，若无新生血管血供支持，肿瘤中心将坏死。肿瘤越大，越需要新生血管来提供营养支持。已经有研究证明c-MET和COX-2均可上调VEGF的表达[3,6]。因此，COX-2和c-MET在较大的肝细胞癌中呈更高表达来促进肿瘤血管生成，与肿瘤越大越需要新生血管形成提供营养支持相适应。肝硬化是肝细胞变性、坏死，引起炎细胞浸润，继而出现纤维组织增生和肝细胞结节状再生的过程，所以易于解释伴有肝硬化的肝细胞癌炎症因子COX-2表达会比非肝硬化组更高。肝细胞生长因子作用于唯一受体蛋白c-MET而促进肝细胞的增生，肝硬化肝细胞增生需要肝细胞生长因子的刺激，因此受体蛋白c-MET的表达水平相应的会更高。表达水平更高的c-MET和COX-2，进一步促进VEGF的上调表达，增强肿瘤血管生成，促进肿瘤的增长。最后，HGF以一种剂量依赖的方式刺激胃癌细胞SC-M1的生长，在胃粘膜细胞中，HGF上调COX-2基因的表达和前列腺素的合成，可以被NS398阻断。Jones等通过对实验大鼠胃上皮细胞的研究认为HGF

维普资讯 http://www.cqvip.com

通过c-MET磷酸化和ERK-2细胞信号转导途径,来诱发激活COX-2基因的表达[7-8]。另外的研究表明,在过表达COX-2的食管癌细胞中,以抑制COX-2导致c-MET表达下降[9]。结合本实验结果,c-MET和COX-2正相关,本文认为在肝细胞癌中,HGF作用c-MET,c-MET再与COX-2相互作用,COX-2再作用于VEGF,后者促进血管生成,即HGF-c-MET-COX-2-VEGF这条途径可能是促进肝细胞癌肿瘤血管生成,从而促进肿瘤生长的重要途径之一,可以为肝细胞癌抗血管生成的血管抑制治疗策略提供新的靶点和思路。

[参考文献]

[1] 彭 利,左连富,王顺祥,等.肝癌组织中COX-2、VEGF、MMP-2、MMP-9的表达及相互关系的免疫组化研究[J].实用肿瘤杂志,2005,20(2),134-136.

[2] 王玉萍,楚天骄,党秋红,等.乳腺癌中肝细胞生长因子及其受体C-Met和血管内皮生长因子表达的意义[J].实用诊断与治疗杂志,2006,20(5),336-338.

[3] Abdelrahim M, Safe S. Cyclooxygenase-2 inhibitors decrease vascular endothelial growth factor expression in colon cancer cells by enhanced degradation of Sp1 and Sp4 proteins[J]. Mol Pharmacol, 2005,68(2):317-329.

[4] Tang TC, Poon RT, Lau CP, et al. Tumor cyclooxygenase-2 levels correlate with tumor invasiveness in human hepatocellular carcinoma[J]. World J Gastroenterol,2005,11(13):1896-1902.

[5] Cheng AS, Chan HL, To KF, et al. Cyclooxygenase-2 pathway correlates with vascular endothelial growth factor expression and tumor angiogenesis in hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma[J]. Int J Oncol,2004,24(4):853-860.

[6] Horiguchi N,Takayama H, Toyoda M,et al. Hepatocyte growth factor promotes hepatocarcinogenesis through c-MET autocrine activation and enhanced angiogenesis in transgenic mice treated with diethylnitrosamine[J]. Oncogene,2002,21(12):1791-1799.

[7] Chen JH, Wu CW, Kao HL, et al. Effects of COX-2 inhibitor on growth of human gastric cancer cells and its relation to hepatocyte growth factor[J]. Cancer Lett,2006,239(2):263-270.

[8] Jones MK, Sasaki E, Halter F, et al. HGF triggers activation of the COX-2 gene in rat gastric epithelial c ells: action mediated through the ERK2 signaling pathway[J]. FASEB,1999,13(15):2186-2194.

[9] Herrera LJ, El-Hefnawy T, Queiroz PE, et al. The HGF receptor c-MET is overexpressed in esophageal adenocarcinoma[J]. Neoplasia, 2005,7(1):75-84.

[10] Csiki I, Morrow JD, Sandler A, et al. Targeting cyclooxygenase-2 in recurrent non-small cell lung cancer: a phase II trial of celecoxib and docetaxel[J]. Clin Cancer Res ,2005,11(18):6634-6640.

(编辑:蒋登金)

(上接第157页)

加对虹膜的刺激引起虹膜炎症,使晶状体代谢发生障碍继发白内障,也可由于强行还纳恢复虹膜损伤晶体。为防止术中虹膜脱露,应注意术前控制眼压,术中结膜下麻醉药物中禁用肾上腺素,术中也应尽量减少肾上腺素棉球止血(前房大量出血除外)。如术中已发生了球状虹膜脱露,对虹膜不易恢复原位者,可用虹膜整复器使切口裂开放出部分房水再行整复,如虹膜仍不能复位不要勉强还纳,因为还纳之后还可能脱出,宜在虹膜根部用虹膜剪刀做小的纵行虹膜切口,切开后球状隆起变平就易将虹膜送回。

2.2 虹膜切除过小

周边虹膜切除的目的主要是沟通前后的通道,如果切除范围过小往往于瞳孔散大时压挤虹膜又把缺损区封闭,为了使缺损区暴露,反复用虹膜整复器深入前房整复虹膜也可造成发生外伤性白内障的机会,因此虹膜切除范围不易过小。

2.3 虹膜色素遗留

有少数人虹膜的实质层同色素上皮之间不是紧密相连的,故手术时如果只切除虹膜的前层,将色素遗留,这样将达不到治疗目的,再次处理遗留色素层时易损伤晶体,为此不宜由原切口进行切除,对切口上的虹膜色素可用生理盐水轻轻冲洗干净以免再入前房。

2.4 虹膜色素游离

手术中剪完虹膜在前房水中常有脱落浮动的色素颗粒,在排除色素颗粒过程中用虹膜复位器反复加压角膜以及反复冲洗前房,均可造成晶体的损伤。

青光眼是眼科常见病,手术治疗又是治疗该病的最好的方法,所以必须重视。以上阐述的各种青光眼术后并发白内障的原因都是手术操作中的方法技术问题,只要加强责任心提高手术技巧是完全可以避免的。

[参考文献]

[1] 张繁友,姜熔光,邹吉新.白内障术后激素性青光眼3例[J].中华现代眼科学杂志,2004,1(1):83-84.

[2] 王 燕,王诚忠.青光眼滤过手术后白内障手术的临床观察[J].中华眼科杂志,1995,31(4):304.

[3] 唐爱东.戊二醛消毒液致青光眼术后白内障1例[J].眼外伤职业眼病杂志,2005,27(10):791-792.

(编辑:朱志立)