

# 幽门螺杆菌感染胃癌组织MMP-2和MMP-9表达及其对胃癌侵袭转移能力的影响

王 舰, 李胜军, 赵成海, 罗恩杰

王舰, 中国医科大学口腔医学院 辽宁省沈阳市 110002  
李胜军, 中国医科大学基础医学院免疫学教研室 辽宁省沈阳市 110001  
赵成海, 中国医科大学基础医学院病理生理教研室 辽宁省沈阳市 110001  
罗恩杰, 中国医科大学基础医学院病原生物学教研室 辽宁省沈阳市 110001  
通讯作者: 王舰, 110002, 辽宁省沈阳市和平区南京北街117号, 中国医科大学口腔医学院. wangjcmu@sina.com  
电话: 024-22892645  
收稿日期: 2006-12-11 接受日期: 2007-01-10

## Expression of matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9 in *H pylori*-infected gastric cancer tissues and their effects on the invasion and metastasis of gastric cancer

Jian Wang, Sheng-Jun Li, Cheng-Hai Zhao, En-Jie Luo

Jian Wang, School of Stomatology, China Medical University, Shenyang 110002, Liaoning Province, China  
Sheng-Jun Li, Department of Immunology, China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China  
Cheng-Hai Zhao, Department of Pathophysiology, China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China  
En-Jie Luo, Department of Pathogenic Biology, China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China  
Correspondence to: Jian Wang, School of Stomatology, China Medical University, 117 Nanjing North Street, Heping District, Shenyang 110002, Liaoning Province, China. wangjcmu@sina.com  
Received: 2006-12-11 Accepted: 2007-01-10

## Abstract

**AIM:** To detect the expression of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) in gastric tissues with *H pylori* infection, and to analyze the effect of *H pylori* infection on the invasion and metastasis of gastric cancer.

**METHODS:** A total of 42 cases of gastric cancer specimens were included in this study. *H pylori* infection was determined by improved Giemsa

method and the expression of MMP-2 and MMP-9 were detected by immunohistochemistry. Fisher's exact was used to analyze the correlation between *H pylori* infection and the clinical pathological features of gastric cancer.

**RESULTS:** *H pylori* infection was confirmed in 26 of 42 cases, and it was correlated with the staging and lymph node metastasis, but not with the sex, age of patients and histological types. *H pylori* infection was also significantly correlated with the expression of MMP-9 and MMP-2 ( $\chi^2 = 7.77, P < 0.01$ ;  $\chi^2 = 8.08, P < 0.01$ ).

**CONCLUSION:** *H pylori* infection may promote the invasion and metastasis of gastric cancer by increasing the expression of MMP-2 and MMP-9.

**Key Words:** *H pylori*; Gastric cancer; Matrix metalloproteinase-2; Matrix metalloproteinase-9; Immunohistochemistry

Wang J, Li SJ, Zhao CH, Luo EJ. Expression of matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9 in *H pylori*-infected gastric cancer tissues and their effects on the invasion and metastasis of gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007;15(7):755-757

## 摘要

**目的:** 分析幽门螺杆菌感染对胃癌转移侵袭能力的影响, 同时对其基质金属蛋白酶2(MMP-2)和基质金属蛋白酶9(MMP-9)表达情况进行检测。

**方法:** 采用改良的Giemsa法检测幽门螺杆菌感染, 免疫组化法检测42例胃癌标本MMP-9和MMP-2表达情况。采用Fisher's exact检验对幽门螺杆菌感染和胃癌患者临床病理特征的相关性进行分析。

**结果:** 胃癌组织中幽门螺杆菌感染率为61.9% (26/42)。幽门螺杆菌感染与胃癌的分期和淋巴结转移状况相关, 与患者性别、发病年龄、及组织类型无相关性。幽门螺杆菌感染与MMP-9和MMP-2表达均具有相关性( $\chi^2 =$

## ■背景资料

幽门螺杆菌感染是胃癌发病的重要原因之一, 且其与胃癌的不良预后相关。金属基质蛋白酶则与多种恶性肿瘤的转移侵袭能力相关。本文分析了幽门螺杆菌感染对胃癌转移侵袭能力的影响, 同时通过检测MMP-9和MMP-2, 对其机制亦进行了探讨。

## ■创新盘点

本研究发现幽门螺杆菌感染能够增加胃癌的侵袭转移能力,其机制可能与MMP-9和MMP-2表达增加有关。

7.77,  $P<0.01$ ;  $\chi^2 = 8.08$ ,  $P<0.01$ ).

**结论:** 幽门螺杆菌感染能够增加胃癌的侵袭转移能力,其机制可能与MMP-9和MMP-2表达增加有关。

**关键词:** 幽门螺杆菌; 胃癌; 基质金属蛋白酶-9; 基质金属蛋白酶-2; 免疫组化

王舰, 李胜军, 赵成海, 罗恩杰. 幽门螺杆菌感染胃癌组织MMP-2和MMP-9表达及其对胃癌侵袭转移能力的影响. 世界华人消化杂志 2007;15(7):755-757

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/755.asp>

## 0 引言

目前, 幽门螺杆菌感染已经被国际上确认为胃癌的重要病因之一, 且其与胃癌的不良预后相关. 而胃癌的侵袭转移是导致胃癌不良预后的重要因素. 基质金属蛋白酶(MMPs)家族成员中的MMP-9和MMP-2能有效的分解基底膜的主要成分IV型胶原蛋白<sup>[1]</sup>, 两者的过度表达常引起恶性肿瘤的转移侵袭能力增强. 因此, 我们对幽门螺杆菌感染的胃癌患者的侵袭转移能力进行分析, 同时对MMP-2和MMP-9表达情况进行检测, 以探讨幽门螺杆菌感染对胃癌侵袭转移能力的影响及其相关机制.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 来自于中国医科大学附属第一、第二医院胃癌组织标本42例, 男28例, 女14例, 平均年龄52.4岁. 标本获取后即冷冻于液氮之中, 并保存在-80℃条件下备用. 患者具体临床特征见表1.

### 1.2 方法

**1.2.1 免疫组化染色** 冰冻切片在室温下风扇吹干. 采用40 g/L多聚甲醛固定30 min. 300 mL/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 1份加纯甲醇50份混合, 室温浸泡30 min, 以灭活内源性过氧化物酶. 滴加50 g/L BSA封闭液, 室温下20 min. 滴加单克隆MMP-9和MMP-2抗体, 然后PBS(pH: 7.2-7.6)清洗. 滴加生物素化山羊抗小鼠IgG. 滴加试剂SABC, 20-37℃下20 min. PBS(pH: 7.2-7.6)清洗5 min. 然后DAB显色. 染色结果判断: 镜下任选5个视野, 阳性细胞(存在明显棕黄染色)占总细胞数25%以上为MMP-9和MMP-2阳性表达. 采用改良的Giemsa法判断幽门螺杆菌感染是否阳性.

**统计学处理** 采用Fisher's exact检验分析幽门螺杆菌与患者临床病理特征之间的相关性, 采用 $\chi^2$ 检验分析幽门螺杆菌感染与MMP-9和

表 1 胃癌患者的临床病理特征

| 因素      | 分类    | n  | %    |
|---------|-------|----|------|
| 性别      | 男     | 28 | 66.7 |
|         | 女     | 14 | 33.3 |
| 年龄(诊断时) | >50   | 25 | 59.5 |
|         | ≤50   | 17 | 40.5 |
| 分期      | T1    | 18 | 42.9 |
|         | T2-T4 | 24 | 57.1 |
| 淋巴结转移   | N0    | 19 | 45.2 |
|         | N1-N3 | 23 | 54.8 |
| 组织类型    | 弥漫型   | 24 | 57.1 |
|         | 肠型    | 18 | 42.9 |

表 2 *H. pylori*感染与患者临床病理特征之间的相关性

| 因素      | 分类    | n  | <i>H. pylori</i> (+) | <i>H. pylori</i> (-) | P    |
|---------|-------|----|----------------------|----------------------|------|
| 性别      | 男     | 28 | 18                   | 10                   | 0.18 |
|         | 女     | 14 | 8                    | 6                    |      |
| 年龄(诊断时) | >50   | 25 | 15                   | 10                   | 0.18 |
|         | ≤50   | 17 | 11                   | 6                    |      |
| 分期      | T1    | 18 | 5                    | 13                   | 0.03 |
|         | T2-T4 | 24 | 21                   | 3                    |      |
| 淋巴结转移   | N0    | 19 | 6                    | 13                   | 0.01 |
|         | N1-N3 | 23 | 20                   | 3                    |      |
| 组织类型    | 弥漫型   | 24 | 14                   | 10                   | 0.22 |
|         | 肠型    | 18 | 12                   | 6                    |      |

MMP-2表达之间的相关性,  $P<0.05$ 有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 幽门螺杆菌感染与胃癌患者临床病理特征之间的相关性** 改良Geimsa法染色显示, 42例胃癌标本中有26例存在幽门螺杆菌感染. 采用Fisher's exact检验分析,  $P<0.05$ 有统计学意义, TNM分期按照国际癌症协会(UICC)标准. 结果显示, 幽门螺杆菌与胃癌分期及淋巴结转移状况具有相关性, 而与患者性别、发病年龄、组织类型及肿瘤大小均无相关性(表2).

**2.2 幽门螺杆菌感染与MMP-9表达的相关性** 免疫组化染色结果显示, 26例幽门螺杆菌感染的胃癌病例中, 有18例存在MMP-9染色, 16例幽门螺杆菌感染阴性的患者中, 仅有4例检出MMP-9阳性. 两者差异显著( $\chi^2 = 7.77$ ,  $P<0.01$ , 表3), 26例幽门螺杆菌感染的胃癌病例中, 有21例存在MMP-2染色, 16例幽门螺杆菌感染阴性的患者中, 有6例检出MMP-2阳性. 两者差异显著( $\chi^2 = 8.08$ ,  $P<0.01$ , 表3).

表 3 *H. pylori*感染与MMP-9, MMP-2表达的相关性

|                      | <i>n</i> | MMP-9<br>(+)   | MMP-9<br>(-) | MMP-2<br>(+)   | MMP-2<br>(-) |
|----------------------|----------|----------------|--------------|----------------|--------------|
| <i>H. pylori</i> (+) | 26       | 18             | 8            | 21             | 5            |
| <i>H. pylori</i> (-) | 16       | 4 <sup>b</sup> | 12           | 6 <sup>b</sup> | 10           |

<sup>b</sup>*P*<0.01 vs *H. pylori*(+)阳性组.

### 3 讨论

自1983年幽门螺杆菌被发现以来, 幽门螺杆菌感染已经被认为是胃癌发病的重要原因<sup>[2-3]</sup>. 通常情况下, 幽门螺杆菌感染会引起胃黏膜上皮出现慢性炎症, 进而发生黏膜萎缩及不典型增生, 甚至在部分患者中出现恶性转化<sup>[1,4]</sup>. 幽门螺杆菌感染引起胃上皮炎症与一些细胞因子相关. 当幽门螺杆菌与胃上皮细胞黏附后, 会诱导IL-8的分泌, 而IL-8作为局部的一种化学趋化因子能够吸引多形态单核细胞, 而后者则是破坏胃黏膜屏障导致幽门螺杆菌侵入黏膜下层的关键性因素<sup>[5]</sup>. 幽门螺杆菌引起的黏膜损伤常以粒细胞和淋巴细胞浸润为特征, 后者可诱导细胞介导的免疫反应<sup>[6-7]</sup>, 相关的细胞因子包括IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ 和IL-1 $\beta$ 等<sup>[8-10]</sup>.

作为一种常见的恶性肿瘤, 胃癌致死率在癌症中占第2位. 其较高的致死率常与其较早发生侵袭转移有关. 研究显示幽门螺杆菌阳性的胃癌易发生转移<sup>[11]</sup>. 李新华 *et al*<sup>[12]</sup>证实幽门螺杆菌能促进裸鼠移植癌的生长及肺转移. 另有研究显示, 金属基质蛋白酶家族中部分成员与恶性肿瘤的侵袭性和转移性增强有关<sup>[13-14]</sup>. MMP-2的激活与胃癌进展密切相关, 可作为胃癌的预后因素, 幽门螺杆菌感染可引起胃癌细胞MMP-3的分泌增强及活性增强<sup>[15]</sup>. 金属基质蛋白酶能够降解基底膜和细胞外基质中的主要成分胶原, 从而使肿瘤细胞可以浸润到周围组织并向远处转移. 我们的研究显示, 幽门螺杆菌感染阳性的胃癌比阴性胃癌更易发生局部的浸润和淋巴结转移. 同时幽门螺杆菌感染阳性的胃癌与MMP-2和MMP-9表达增多具有相关性. 因此本文研究结果提示, 幽门螺杆菌感染导致胃癌转移侵袭能力增强可能与MMP-2和MMP-9表达增多有关.

### 4 参考文献

- Blaser MJ, Atherton JC. *Helicobacter pylori* persistence: biology and disease. *J Clin Invest* 2004; 113: 321-333
- 庄小强, 林三仁. 幽门螺杆菌与胃癌的研究进展. *世界华人消化杂志* 2000; 8: 206-207
- 姚永莉, 张万岱. 幽门螺杆菌致病因子研究进展. *世界华人消化杂志* 2002; 10: 455-458
- Uemura N, Okamoto S, Yamamoto S, Matsumura N, Yamaguchi S, Yamakido M, Taniyama K, Sasaki N, Schlemper RJ. *Helicobacter pylori* infection and the development of gastric cancer. *N Engl J Med* 2001; 345: 784-789
- Rad R, Gerhard M, Lang R, Schoniger M, Rosch T, Schepp W, Becker I, Wagner H, Prinz C. The *Helicobacter pylori* blood group antigen-binding adhesin facilitates bacterial colonization and augments a nonspecific immune response. *J Immunol* 2002; 168: 3033-3041
- Bamford KB, Fan X, Crowe SE, Leary JF, Gourley WK, Luthra GK, Brooks EG, Graham DY, Reyes VE, Ernst PB. Lymphocytes in the human gastric mucosa during *Helicobacter pylori* have a T helper cell 1 phenotype. *Gastroenterology* 1998; 114: 482-492
- Ernst PB, Gold BD. The disease spectrum of *Helicobacter pylori*: the immunopathogenesis of gastroduodenal ulcer and gastric cancer. *Annu Rev Microbiol* 2000; 54: 615-640
- Bodger K, Crabtree JE. *Helicobacter pylori* and gastric inflammation. *Br Med Bull* 1998; 54: 139-150
- Crabtree JE, Court M, Aboshkiwa MA, Jeremy AH, Dixon MF, Robinson PA. Gastric mucosal cytokine and epithelial cell responses to *Helicobacter pylori* infection in Mongolian gerbils. *J Pathol* 2004; 202: 197-207
- Naumann M, Crabtree JE. *Helicobacter pylori*-induced epithelial cell signalling in gastric carcinogenesis. *Trends Microbiol* 2004; 12: 29-36
- Morgner A, Miehle S, Fischbach W, Schmitt W, Muller-Hermelink H, Greiner A, Thiede C, Schetelig J, Neubauer A, Stolte M, Ehninger G, Bayerdorffer E. Complete remission of primary high-grade B-cell gastric lymphoma after cure of *Helicobacter pylori* infection. *J Clin Oncol* 2001; 19: 2041-2048
- 李新华, 张桂英, 罗非君, 徐美华, 李乾. 胃癌细胞系幽门螺杆菌感染对金属蛋白酶表达的影响. *世界华人消化杂志* 2003; 11: 544-546
- Wu ZY, Li JH, Zhan WH, He YL. Lymph node micrometastasis and its correlation with MMP-2 expression in gastric carcinoma. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 2941-2944
- Dicken BJ, Graham K, Hamilton SM, Andrews S, Lai R, Listgarten J, Jhangri GS, Saunders LD, Damaraju S, Cass C. Lymphovascular invasion is associated with poor survival in gastric cancer: an application of gene-expression and tissue array techniques. *Ann Surg* 2006; 243: 64-73
- Kate V, Ananthakrishnan N, Badrinath S. Effect of *Helicobacter pylori* eradication on the ulcer recurrence rate after simple closure of perforated duodenal ulcer: retrospective and prospective randomized controlled studies. *Br J Surg* 2001; 88: 1054-1058

### ■同行评价

本文研究了幽门螺杆菌感染对胃癌转移侵袭能力的影响, 同时对其基质金属蛋白酶2(MMP-2)和基质金属蛋白酶9(MMP-9)表达情况进行检测. 文章有较好的理论和临床意义.

电编 张敏 编辑 王晓瑜