

## . 论 著 .

## 弥漫性胶质瘤 VEGF、MMP-9 及 uPA 表达水平分析

王 佳 王焕明 封 华 梁 奕 杜柏林 徐海波

**【摘要】目的** 探讨弥漫性胶质瘤组织血管内皮生长因子(VEGF)、基质金属蛋白酶(MMP)-9和尿激酶型纤溶酶原激活剂(uPA)表达水平与胶质瘤级别的相关性。**方法** 收集2013~2016年手术切除的弥漫性胶质瘤标本45例,其中低级别胶质瘤20例(WHO II级),高级别胶质瘤25例(WHO III~IV级)。采用免疫组化染色方法检测VEGF、MMP-9及uPA的表达水平。**结果** 高级别胶质瘤VEGF、MMP-9表达水平明显高于低级别胶质瘤( $P<0.05$ ),不同级别胶质瘤uPA表达水平无明显差异( $P>0.05$ )。**结论** VEGF、MMP-9在弥漫性胶质瘤发生发展中可能具有重要促进作用。

**【关键词】** 弥漫性胶质瘤;病理级别;血管内皮生长因子;基质金属蛋白酶-9;尿激酶型纤溶酶原激活剂;相关性

**【文章编号】** 1009-153X(2017)07-0560-03 **【文献标志码】** A **【中国图书资料分类号】** R 739.41; Q 786

**Relationship of pathological grade of diffuse glioma with the expressions of VEGF, MMP-9 and uPA in glioma tissues**

WANG Jia<sup>1</sup>, WANG Huan-ming<sup>2</sup>, FENG Hua<sup>3</sup>, LIANG Yi<sup>1</sup>, DU Bo-lin<sup>1</sup>, XU Hai-bo<sup>4</sup>. 1. Department of Radiology, General Hospital of the Yangtze River Shipping, Wuhan 430010, China; 2. Department of Neurosurgery, General Hospital of the Yangtze River Shipping, Wuhan 430010, China; 3. Department of Pathology, General Hospital of the Yangtze River Shipping, Wuhan 430010, China; 4. Department of Radiology, Zhongnan Hospital, Wuhan University, Wuhan 430071, China

**【Abstract】 Objective** To evaluate the relationship of pathological grade of diffuse glioma with the expressions of vascular endothelial growth factor (VEGF), matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and urokinase plasminogen activator (uPA) in the glioma tissues.

**Methods** The expressions of MMP-9, VEGF and uPA were determined by immunohistochemical method in 20 samples of diffuse low-grade gliomas tissues (low grade group) and 25 samples of diffuse high-grade gliomas tissues (high grade group). The relationship of pathological grade of gliomas with the expressions of VEGF, MMP-9 and uPA was analyzed. **Results** The rates of positive expressions of VEGF and MMP-9 were significantly higher in the high grade group respectively than those in the low grade group ( $P<0.05$ ), but there was insignificantly difference in the positive expression rate of uPA between both the groups ( $P>0.05$ ). **Conclusion** It is suggested that the high expressions of VEGF, MMP-9 may play important roles in the pathogenesis and development of diffuse gliomas.

**【Key words】** Diffuse glioma; Pathological level; VEGF; MMP-9; uPA; Expression; Relationship

胶质瘤是最常见的中枢神经系统肿瘤,约占颅内肿瘤的半数。研究表明,血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)-9和尿激酶型纤溶酶原激活剂(urokinase plasminogen activator, uPA)参与肿瘤的局部浸润<sup>[1,2]</sup>。本文探讨VEGF、MMP-9及uPA与弥漫性胶质瘤级别的关系。

## 1 资料与方法

**1.1 标本来源** 收集2013~2016年手术切除的弥漫性胶质瘤标本45例,其中男26例,女19例;年龄6~77

岁,平均年龄43.5岁。术前未行放、化疗,均为新发肿瘤。按照WHO 2016版病理分级标准<sup>[4]</sup>:低级别胶质瘤20例(II级),高级别胶质瘤25例(III~IV级),其中II级20例,III级15例,IV级10例。

**1.2 VEGF、MMP-9及uPA表达判定** 所有标本常规石蜡包埋,4 μm连续切片,5张切片为一组,随机取一张HE染色进行病理分级,三张分别用于MMP-9、VEGF及uPA免疫组化染色,余下一张备用。

VEGF、MMP-9抗体均购自福州迈新生物公司, uPA抗体购自武汉博士德生物公司。同一标本分成3份,分别进行检测,采用二步法。取石蜡切片按程序脱腊,3%过氧化氢灭活内源性过氧化酶,放入枸橼酸盐(0.01 mmol/L, pH=6.0)中加热修复,然后加入正常非免疫动物血清进行封闭,加即用型一抗,放入4℃冰箱过夜;加通用型二抗37℃孵育,DAB显色,光镜下观察。常规采用试剂公司提供的阳性染色细胞为阳性对照,PBS代替一抗为空白对照。按照

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2017.08.013

基金项目:武汉市卫计委科研项目(WX14C24);长江航运管理局科技项目(201410010)

作者单位:430010 武汉,长江航运总医院影像科(王 佳、梁 奕、杜柏林),神经外科(王焕明),病理科(封 华);430071 武汉,武汉大学中南医院影像科(徐海波)

Tanaka 定量记分法<sup>[3]</sup>:每张切片在阳性细胞表达较高区域随机选择 5 个高倍镜视野(×400),并且连续计数多于 1 000 个染色细胞。依据评定的显色强度与阳性细胞百分率的乘积分为 4 个等级,即 0~1 分为阴性(-),2~4 分为低表达(+),5~8 分为中表达(++),9 分以上为高表达(+++)。由 2 位中级职称以上病理医师评定最终结果。

1.3 统计学分析 采用 SPSS 17.0 软件分析,计数资料采用 $\chi^2$ 检验,以  $P<0.05$  作为差异有统计学意义。

2 结果

高级别胶质瘤 VEGF、MMP-9 表达水平明显高于低级别胶质瘤( $P<0.05$ ),不同级别胶质瘤 uPA 表达水平无明显差异( $P>0.05$ )。详表 1 和图 1、2。

3 讨论

脑胶质瘤是最常见的颅内原发性肿瘤,呈逐年上升的趋势。弥漫性胶质瘤侵袭性生长依赖肿瘤新生血管的形成。VEGF 是一类能促进血管生成的细胞因子,直接参与诱导肿瘤血管生成。VEGF 可通

过调控胶质瘤血管的生成、形态、生理影响肿瘤的分化、发展、侵袭及复发等生物学行为,VEGF 表达程度与星形细胞瘤发生及恶性程度密切相关<sup>[5,6]</sup>。MMP-9 主要由结缔组织细胞、巨噬细胞和一些肿瘤细胞合成分泌<sup>[7]</sup>。有研究证明,胶质瘤内皮细胞和血管基底膜及浸润边缘的肿瘤细胞均表达 MMP-9,并与胶质瘤的恶性度<sup>[8]</sup>、周围水肿带及肿瘤血管生成紧密相关。MMP-9 高表达与脑胶质瘤的发生、发展和转移密切相关,表达强度随着胶质瘤病理级别的增高而增强<sup>[9,10]</sup>。uPA 是一种丝氨酸蛋白水解酶,是刺激肿瘤侵袭性生长及肿瘤血管形成的重要因子,表达上调与胶质瘤的发生、转化、增殖、侵袭和转移密切相关,在胶质瘤发生、发展中可能起着协同和互相调节的作用<sup>[11]</sup>。uPA、MMP、VEGF 均参与肿瘤的局部浸润,可能与脑胶质瘤的发生和恶性程度有关<sup>[1,2,12]</sup>。

本文结果显示高级别胶质瘤组织 VEGF、MMP-9 表达水平明显高于低级别胶质瘤( $P<0.01$ )。这提示 VEGF、MMP-9 与脑胶质瘤级别密切相关<sup>[13-15]</sup>。有研究发现 MMP 降解构成血脑屏障的基

表 1 不同级别弥漫性胶质瘤 VEGF、MMP-9、uPA 表达水平比较(例)

肿瘤分级	例数	VEGF 表达程度			MMP-9 表达程度			uPA 表达程度		
		-/+	++	+++	-/+	++	+++	-/+	++	+++
低级别组	20	14	6	0	16	4	0	15	5	0
高级别组	25	0	10	15	3	8	14	18	3	4

注:与低级别组比,\*  $P<0.05$ ;VEGF:血管内皮生长因子;MMP-9:基质金属蛋白酶-9;uPA:尿激酶型纤溶酶原激活剂

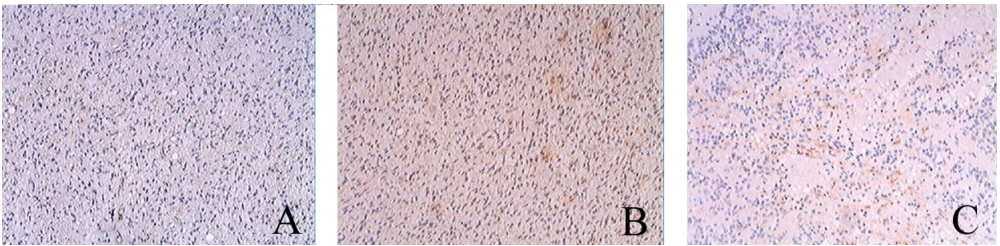


图 1 右额叶少突-星形细胞瘤(WHO II级)免疫组化染色图(×200)

A. 血管内皮生长因子阳性表达(+);B. 基质金属蛋白酶-9 阳性表达(+);C. 尿激酶型纤溶酶原激活剂阳性表达(++)

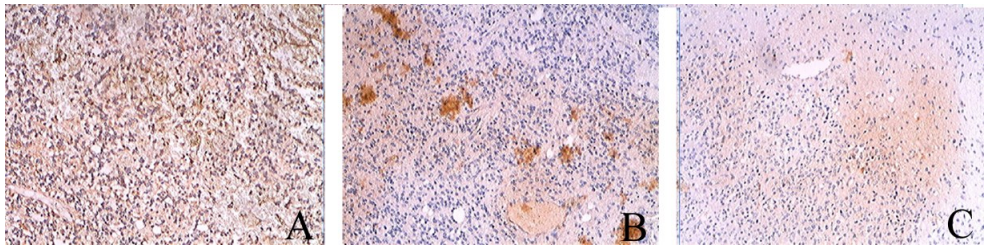


图 2 右额叶间变性少突胶质细胞瘤(WHO III级)免疫组化染色图(×200)

A. 血管内皮生长因子阳性表达(+++);B. 基质金属蛋白酶-9 阳性表达(+++);C. 尿激酶型纤溶酶原激活剂阳性表达(++)

底膜和血管内皮细胞的过度增殖是弥漫性胶质瘤浸润发生的必要条件,MMP-9 和 VEGF 在胶质瘤组织中高表达与胶质瘤恶性进展有关<sup>[15,16]</sup>。本研究显示不同级别胶质瘤 uPA 的表达水平无显著差异( $P>0.05$ )。但有研究结果显示 uPA 表达与胶质瘤病理级别呈正相关<sup>[11,12]</sup>。这与本研究结果不相符,可能是选择不同生物公司 uPA 试剂质量有差异,造成结果不一致。但本研究病例相对较少,不能把脑胶质瘤按 II~IV 级细分为三组,在标本选择上也存在一定的误差,需增加样本数量进一步研究论证。

综上所述,MMP-9 和 VEGF 的表达水平与弥漫性胶质瘤病理级别密切相关,在一定程度上可作为评价弥漫性胶质瘤侵袭性和预后的辅助指标。

【参考文献】

[1] Rabi ZA, Todorovic-Rakovic N, Vujasinovic T, *et al.* Markers of progression and invasion in short term follow up of untreated breast cancer patients [J]. *Cancer Biomark*, 2015, 15(6): 745-754.

[2] Ma YS, Hsiao YP, Lin JH, *et al.* Crude extract of *Rheum palmatum* L inhibits migration and invasion of LS1034 human colon cancer cells acts through the inhibition of matrix metalloproteinase-2/-9 by MAPK signaling [J]. *Environ Toxicol*, 2015, 30(7): 852-863.

[3] Tanaka K, Lwamoto S, Gon G, *et al.* Expression of survivin and its relationship to loss of apoptosis in breast carcinomas [J]. *Clin Cance Res*, 2000, 6(1):127-134.

[4] 杨学军, 江 涛. 解读《世界卫生组织中枢神经系统肿瘤分类(2016 年)》[J]. *中国神经精神疾病杂志*, 2016, 42(6):321-329.

[5] 韩 彤, 张云亭, 刘 力, 等. 星形细胞肿瘤磁敏感加权成像和灌注成像测量指标与肿瘤内微血管密度和血管内皮细胞生长因子的相关性研究[J]. *中华放射学杂志*, 2013, 47(12):1086-1091.

[6] 刘宏雷, 易 力, 翟晓莉. 脑星形细胞瘤中 eIF4E、VEGF 的表达及意义[J]. *河北医药*, 2016, 38(12):1799-1802.

[7] Chakravarti A, Delaney MA, Noll E, *et al.* Prognostic and pathologic significance of quantitative protein expression profiling in human gliomas [J]. *Clin Cancer Res*, 2001, 7(8): 2387-2395.

[8] Komatsu K, Nakanishi Y, Nemoto N, *et al.* Expression and quantitative analysis of matrix metalloproteinase-2 and -9 in human gliomas [J]. *Brain Tumor Pathol*, 2004, 21: 105-112.

[9] Liu MF, Hu YY, Jin T, *et al.* Matrix metalloproteinase-9/neutrophil gelatinase associated lipocalin complex activity in human glioma samples predicts tumor presence and clinical prognosis [J]. *Dis Markers*, 2015, 2015: 138974.

[10] 胡慧敏, 刘彦伟, 江 涛. 恶性增殖和浸润性生长相关分子变化在胶质瘤不同病理学分型中的差异[J]. *中华神经外科杂志*, 2016, 32(6):619-624.

[11] 周长胜, 丁 鹏, 王崇谦, 等. TGF- $\beta$ 1、Ki67、uPA 在胶质瘤中的表达及意义[J]. *华中科技大学学报(医学版)*, 2013, 42(4):432-437.

[12] 高建洲, 孔 昕, 郭 艳, 等. MMP-9 和 uPA 在脑胶质瘤中的阳性表达及意义[J]. *山东医药*, 2013, 53(5):62-64.

[13] Ma C, Li Y, Zhang X, *et al.* Levels of vascular endothelial growth factor and matrix metalloproteinase-9 proteins in patients with glioma [J]. *J Int Med Res*, 2014, 42: 198-204.

[14] 孙文栋, 李春晖. 不同级别胶质瘤 MMP-9、E-cad、nm23 的表达变化 [J]. *中国临床神经外科杂志*, 2013, 18(11): 677-680.

[15] 李永明, 李海洋, 李 玉. 基质金属蛋白酶-9 和血管内皮生长因子在人脑胶质瘤中的表达及意义[J]. *中华实验外科杂志*, 2013, 30(11):2420-2421.

[16] 刘 伟, 王长坤, 只达石. 胶质瘤浸润组织中 MMP-2、MMP-9、VEGF、Flk-1P16 的表达及其临床意义[J]. *吉林大学学报(医学版)*, 2012, 38(4):770-774.

(2016-12-29 收稿, 2017-05-30 修回)

更正声明

本刊 2017 年第 7 期发表《立体定向脑电图引导下射频毁损术治疗下丘脑错构瘤: 1 例报道并文献复习》一文(中国临床神经外科杂志, 2017, 22(7): 497-499.)基金项目更正为: 北京市科学技术委员会(Z141100002114034)。

《中国临床神经外科杂志》编辑部  
2017 年 8 月 15 日