

• 论 著 •

# 幽门螺杆菌 L 型感染对胃癌侵袭和转移能力的影响

罗永健<sup>1</sup>, 鄢家明<sup>2</sup>, 鲜 义<sup>3</sup>

(1. 甘洛县人民医院病理科, 四川凉山 616850; 越西康虹医院; 2. 内科; 3. 胃镜科, 四川简阳 616650)

**摘 要:**目的 探讨幽门螺杆菌 L 型(Hp-L 型)感染对胃癌侵袭和转移能力的影响。方法 选取胃癌患者 80 例, 每例患者采集癌组织及癌旁正常组织各 1 份, 制作切片标本, 采用革兰染色、免疫组化染色、透射电镜对组织标本进行 Hp-L 型、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)、血管内皮生长因子(VEGF)检测。结果 癌组织标本 Hp-L 型阳性率为 67.50%, 高于癌旁正常组织的 23.75% ( $P < 0.05$ )。癌组织标本 MMP-9、VEGF 阳性率均高于癌旁正常组织 ( $P < 0.05$ )。Hp-L 型阳性癌组织 VEGF、MMP-9 阳性率均高于 Hp-L 型阴性癌组织 ( $P < 0.05$ )。胃癌组织 Hp-L 型阳性率与癌细胞局部和远处淋巴结转移及侵袭深度相关, 与肿瘤大小无关。结论 Hp-L 型感染与胃癌的发生密切相关, 也有可能对胃癌转移和侵袭产生影响。

**关键词:** 幽门螺杆菌 L 型; 胃癌; 侵袭; 转移

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2015.08.045

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2015)08-1113-02

## Influence of L-type Helicobacter pylori infection on invasion and metastasis of gastric cancer

Luo Yongjian<sup>1</sup>, Yan Jiaming<sup>2</sup>, Xian Yi<sup>3</sup>

(1. Department of Pathology, Ganluo People's Hospital, Liangshang, Sichuan 616850; 2. Internal Medicine; 3. Department of Endoscopy, Yuexi Kanghong Hospital, Jianyang, Sichuan 616650, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate the influence of L-type Helicobacter pylori(Hp-L) infection on invasion and metastasis of gastric carcinoma. **Methods** Carcinoma tissues and normal tissues were collected from 80 patients with gastric cancer, and detected for Hp-L, matrix metalloproteinases-9(MMP-9) and vascular endothelial growth factor(VEGF) by using Gram staining, immunohistochemistry staining and transmission electron microscope. **Results** Positive rate of Hp-L in carcinoma tissues was 67.50%, higher than the 23.75% of normal tissues ( $P < 0.05$ ). Positive rates of MMP-9 and VEGF of carcinoma tissues were also higher than normal tissues ( $P < 0.05$ ). Positive rates of VEGF and MMP-9 of carcinoma tissues positive with Hp-L were higher than carcinoma tissues negative with Hp-L ( $P < 0.05$ ). The positive rate of Hp-L in carcinoma tissues was correlated with local and distant lymph node metastasis, and invasion depth, but not correlated with the size of tumor. **Conclusion** Hp-L infection might be correlated with carcinogenesis of gastric cancer, and could also influence metastasis and invasion of gastric cancer.

**Key words:** L-type Helicobacter pylori; gastric cancer; invasion; metastasis

幽门螺杆菌(Hp)L 型(Hp-L 型)属于细胞壁缺陷型 Hp, 也称 Hp 球形体<sup>[1]</sup>。有研究显示 Hp-L 型感染与胃癌的发生密切相关, 但 Hp-L 型感染与胃癌转移、侵袭的相关性研究较少<sup>[2]</sup>。基质金属蛋白酶-9(MMP-9)能够降解细胞外基质和基底膜的大多数蛋白质, 从而促进肿瘤的转移和侵袭<sup>[3]</sup>。血管内皮生长因子(VEGF)对肿瘤转移和侵袭也具有促进作用。本研究采用革兰染色、免疫组织化学(免疫组化)染色及透射电镜对 160 份胃癌组织标本进行检测, 分析 Hp-L 型感染及 MMP-9、VEGF 表达。现报道如下。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 2012 年 1 月至 2014 年 1 月接受治疗的胃癌患者 80 例, 其中男 47 例、女 33 例, 年龄 36~71 岁, 平均 (49.69±8.67) 岁。

### 1.2 方法

**1.2.1 标本采集与处理** 采集所有受试对象癌组织及癌旁正常组织标本各 1 份, 10% 甲醛溶液固定, 经 TP1020 型全自动脱水机(德国徕卡公司)常规脱水后, 制备石蜡包埋标本; 使用 RM2235 型切片机(德国徕卡公司)进行组织切片, 切片厚度 4 μm; 切片常规脱水后, 加入 3% 过氧化氢溶液孵育 5 min 以除去内源性过氧化物酶的活性<sup>[4]</sup>; 对切片进行常规 HE 染色、免疫组化法染色和革兰染色, 染色后光学显微镜观察, 同时采用日本 Jeol 公司 JEM-1200EX 型透射电镜进行观察。染色操作严格按照试剂盒说明书进行, Hp-L 型、VEGF、MMP-9 染色

试剂盒均购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

**1.2.2 Hp-L 型感染判断标准** (1) 革兰染色检测: 油镜 (×1 000) 下随机选择 10~15 个视野, 计算 Hp-L 型和 Hp 型细菌平均数, 若平均数小于 20 或未见细菌判为阴性, 若平均数大于或等于 20 判为阳性<sup>[5]</sup>。(2) 免疫组化染色检测: 胃黏膜上皮细胞或细胞膜呈棕黄色判为 Hp 阳性。免疫组化染色与革兰染色 Hp-L 型同时阳性判为 Hp-L 型感染阳性<sup>[6]</sup>。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS19.0 软件进行数据处理和统计学分析。计数资料以例数或百分率表示, 组间比较采用  $\chi^2$  检验。  $P < 0.05$  为比较差异有统计学意义。

### 2 结 果

**2.1 不同组织检测结果比较** 癌组织 Hp-L 型检测阳性 54 例, 阳性率为 67.50%, 高于癌旁正常组织的 23.75% ( $P < 0.05$ ); 癌组织 MMP-9、VEGF 阳性率均高于癌旁正常组织 ( $P < 0.05$ )。癌组织与癌旁正常组织各指标检测阳性率比较, 见表 1。

**2.2 癌组织标本 Hp-L 型检测结果与 MMP-9、VEGF 的相关性** Hp-L 型阳性癌组织标本 VEGF、MMP-9 阳性率高于 Hp-L 型阴性癌组织标本 ( $P < 0.05$ )。胃癌患者 Hp-L 型感染与 MMP-9、VEGF 的相关性见表 2。

**2.3 胃癌临床病理因素与 Hp-L 型的相关性** 胃癌患者 Hp-L 型阳性率与癌细胞局部和远处淋巴结转移、浆膜侵袭相关, 与肿瘤大小无关。胃癌临床病理因素与 Hp-L 型相关性见表

3。

表 1 癌组织与癌旁正常组织各指标检测  
阳性率比较[%(n)]

| 分组       | n  | Hp-L      | VEGF      | MMP-9     |
|----------|----|-----------|-----------|-----------|
| 癌组织      | 80 | 67.50(54) | 91.25(73) | 90.00(72) |
| 癌旁正常组织   | 80 | 23.75(19) | 25.00(20) | 37.50(30) |
| $\chi^2$ |    | 7.876     | 5.289     | 6.937     |
| P        |    | 0.014     | 0.037     | 0.029     |

表 2 癌组织 Hp-L 型检测结果与 MMP-9、VEGF 相关性

| Hp-L 型   | n  | MMP-9 阳性[n(%)] | VEGF 阳性[n(%)] |
|----------|----|----------------|---------------|
| 阳性       | 54 | 45(83.33)      | 41(75.93)     |
| 阴性       | 26 | 12(46.15)      | 10(38.46)     |
| $\chi^2$ |    | 4.974          | 6.185         |
| P        |    | 0.043          | 0.032         |

表 3 胃癌临床病理因素与 Hp-L 型相关性

| 临床病理因素   | n  | Hp-L 阳性(n) | $\chi^2$ | P     |
|----------|----|------------|----------|-------|
| 肿瘤大小(cm) |    |            | 0.807    | 2.845 |
| <3       | 30 | 21         |          |       |
| ≥3       | 50 | 32         |          |       |
| 浆膜侵袭     |    |            | 5.063    | 0.039 |
| 阳性       | 40 | 30         |          |       |
| 阴性       | 40 | 49         |          |       |
| 局部淋巴转移   |    |            | 4.524    | 0.047 |
| 阳性       | 32 | 24         |          |       |
| 阴性       | 48 | 28         |          |       |
| 远处淋巴结转移  |    |            | 4.361    | 0.049 |
| 阳性       | 22 | 18         |          |       |
| 阴性       | 58 | 36         |          |       |

3 讨 论

Hp 在胆汁、胃液、抗菌药物、溶酶菌、环境中氧浓度改变等因素影响下极易出现细胞壁缺陷,产生 Hp-L 型<sup>[7]</sup>。Hp-L 型可通过对细胞 DNA 的长期损伤和破坏加快胃癌的发生和发展。有研究证明 Hp-L 型抗原性降低,因此可在宿主体内持续存在,从而加重胃黏膜炎症<sup>[8]</sup>。本研究则通过采用革兰染色、免疫组化染色、透射电镜对胃癌患者肿瘤组织标本进行检测,并分析了 Hp-L 型感染与 MMP-9、VEGF 表达水平的相关性。

本研究结果显示,胃癌组织标本 Hp-L 型阳性率为 67.50%、VEGF 阳性率为 91.25%、MMP-9 阳性率为 90.00%,癌旁正常组织 Hp-L 阳性率为 23.75%、VEGF 阳性率为 25.00%、MMP-9 阳性率为 37.50%;癌组织各指标阳性率均高于癌旁正常组织(P<0.05)。Hp-L 型阳性癌组织标本 VEGF、MMP-9 阳性率则高于 Hp-L 型阴性癌组织标本(P<0.05),与程峰<sup>[9]</sup>的研究结果相似,可能与 VEGF 能够促进胃癌转移和侵袭有关。VEGF 能够增加血管通透性,为血管内皮细胞和纤维细胞的植入提供基质,促进血管支持物的生成,从

而促进胃癌转移和侵袭。而且,VEGF 能够直接抑制内皮细胞的凋亡或刺激内皮细胞的增殖,并在肿瘤血管形成早期诱导内皮细胞产生组织因子、间质胶原酶、蛋白水解酶和金属蛋白酶等,降解原有的基底膜,从而导致新生血管的形成,大量形成。肿瘤生长和转移以新生血管的形成为基础,当肿瘤直径大于或等于 2 mm 时,必须依赖于新生血管实现与其他血管系统的连续性。因此,VEGF 能够通过促进新生血管的形成,大量增加肿瘤组织的转移和侵袭能力<sup>[10]</sup>。此外,祝迎锋等<sup>[11]</sup>的研究显示,MMP-9 能够降解细胞外基质和基底膜的大多数蛋白质,从而使肿瘤细胞能够穿过细胞外基质和基底膜。其次,MMP-9 能够增强 VEGF 对新血管形成的促进作用,从而也促进了胃癌的转移和侵袭。本研究同时分析了胃癌临床病理因素与 Hp-L 型感染的关系,研究结果显示, Hp-L 型阳性率与癌细胞局部和远处淋巴结转移及侵袭深度相关,与肿瘤大小无关,与类似研究结果有所不同<sup>[12]</sup>,可能与病例选择、肿瘤组织生物学行为分析方法等存在差异有关。此外,本研究纳入的患者例数相对较少,因此有待扩大样本量后进一步深入研究。

综上所述, Hp-L 型感染与胃癌的发生有着密切的关系,也有可能对胃癌的转移和侵袭产生影响。

参考文献

[1] 蔡兆根,于东红,田甜,等. 胃癌组织中幽门螺杆菌 L 型感染与淋巴管形成关系的研究[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志,2012, 21(2):166-170.

[2] 蔡兆根,于东红,吴海波,等. 胃癌中幽门螺杆菌 L 型感染和淋巴管生成因子与淋巴结转移的关系[J]. 华中科技大学学报:医学版,2014,43(1):32-38.

[3] 来艳君,梁波. 胃癌患者与健康者血清基质金属蛋白酶-9 的差异分析[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(20):2546-2547.

[4] 赵淑芳,于东红. EZH2 在胃癌组织中的表达及与 Hp-L 型感染关系的探讨[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志,2013,22(3):224-229.

[5] 柯桥利,台令华,于东红,等. MDM2 在胃癌组织中的表达及与 Hp-L 型感染关系的研究[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2014,(3):242-247.

[6] 于兴燕,于东红,杨景欣,等. Ezrin 在胃癌组织中的表达及与 Hp-L 型感染关系的探讨[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志,2014,23 (1):64-70.

[7] Marazzina D,Reichmann O,Schwab C,et al. Hp-DGFEM for Kolmogorov-Fokker-Planck equations of multivariate levy processes [J]. Math Models Methods Appl Sci,2012,22(1):30-37.

[8] Morello L. Itala 35/45 HP alla Pechino-Parigi (Parte II) [J]. Ingegneria dell'Autoveicolo,2013,66(1):22-32.

[9] 程烽. 抗 Hp IgG 抗体和胃蛋白酶原联合检测在早期胃癌筛查中的应用进展[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(17):2109-2111.

[10] 欧玉荣,康敏,周蕾,等. 胃癌中幽门螺杆菌 L 型感染与 MIF、MMP9、VEGF 表达的关系[J]. 南方医科大学学报,2014,(2): 180-187.

[11] 祝迎锋,李莉,于东红,等. 胃癌组织中 HMGB1 表达与幽门螺杆菌 L 型感染的相关性研究[J]. 诊断病理学杂志,2014,21(5): 304-307.

[12] 陈鹤林,朱小琪. 幽门螺杆菌感染胃癌组织 MMP-2、TIMP-2 表达及其对胃癌侵袭和转移的影响[J]. 中国病原生物学杂志,2013,8 (9):793-795.