

## • 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  $\mu\text{m}$ ; 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 ( $\times 1000$ ) 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。

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] 程峰. 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.

(收稿日期: 2014-12-14)