

## HGF在诱导乳腺癌发生、发展及转移侵袭过程中的表达

舒少为,梁国琼,蔡长争,匡文斌

深圳市龙华新区中心医院检验科,广东 深圳 518100

**摘要:**目的 对不同临床分期、分化程度、淋巴转移及治疗前后乳腺癌患者血清及组织细胞生长因子(HGF)进行检测,分析其作用机制及其临床意义。方法 选择2014年1月—2015年3月乳腺癌患者63例(观察组),良性肿瘤人群45例(对照组),正常人群40例(正常组)。检测不同程度乳腺组织HGF蛋白表达。结果 观察组血清HGF浓度为 $(34.61 \pm 3.10) \mu\text{g/L}$ ,高于对照组 $(10.23 \pm 1.94) \mu\text{g/L}$ 和正常组 $(9.45 \pm 1.86) \mu\text{g/L}$  ( $P < 0.05$ );观察组乳腺癌组织HGF阳性率为58.73% (37/63),高于对照组6.67% (3/45)和正常组2.50% (1/40) ( $P < 0.05$ );治疗后血清HGF浓度为 $(17.80 \pm 2.93) \mu\text{g/L}$ ,低于治疗前 ( $P < 0.05$ );Ⅲ期、低分化及淋巴转移患者血清及组织HGF均高于Ⅰ+Ⅱ期、中、高分化及未淋巴转移患者 ( $P < 0.05$ );治疗后乳腺癌组织HGF阳性率低于治疗前 ( $P < 0.05$ )。结论 乳腺癌患者血清HGF浓度及乳腺组织HGF蛋白水平显著升高,且随着分期的增加、分化程度的降低及淋巴转移而增加,HGF与乳腺癌发生、发展及诱导细胞侵袭过程存在密切关系。

**关键词:**细胞生长因子;乳腺癌;侵袭;表达

中图分类号:R737.9 文献标识码:A 文章编号:1009-9727(2015)08-974-03 DOI:10.13604/j.cnki.46-1064/r.2015.08.18

## Expression of hepatocyte growth factor in the invasion process of occurrence, development and metastasis in breast cancer

SHU Shao-wei, LIANG Guo-qiong, CAI Chang-zheng, KUANG Wei-bin

Department of clinical laboratory, Longhua District Central Hospital, Shenzhen 518100, Guangdong, P.R. China

**Abstract:** Objective To detect the serum and hepatocyte growth factor (HGF) in breast cancer patients at different clinical stages, degree of differentiation, lymph node metastasis pre- or post- treatment, and analyze its mechanism and clinical significance. Methods Sixty-three breast cancer patients were selected as the observation group, 45 benign tumor patients were selected as the control group, 40 normal people were selected as the normal group from January 2014 to March 2015. Expression of HGF in different breast tissues were tested. Results The concentration of serum HGF in observation group was  $(34.61 \pm 3.10) \mu\text{g/L}$ , higher than that of the control group  $(10.23 \pm 1.94) \mu\text{g/L}$  and the normal group  $(9.45 \pm 1.86) \mu\text{g/L}$  ( $P < 0.05$ ). The positive rate of HGF in breast cancer tissues was 58.73% (37/63), higher than that of the control group 6.67% (3/45) and the normal group 2.50% (1/40) ( $P < 0.05$ ). HGF concentration after treatment was  $(17.80 \pm 2.93) \mu\text{g/L}$ , lower than that before treatment ( $P < 0.05$ ). Serum and tissue HGF concentration of phase III, low differentiation and lymph node metastasis of breast cancer patients were higher than those of phase I+II, medium and high differentiation, and no lymph node metastasis patients ( $P < 0.05$ ). HGF positive rate of breast cancer tissues after the treatment was lower than that before treatment ( $P < 0.05$ ). Conclusion Serum and breast tissue HGF concentration in breast cancer patients are significantly increased along with the increase of staging, reduction of degree of differentiation and increase of lymph node metastasis. The expression of HGF is closely related to the occurrence, development and induced cell invasion of breast cancer.

**Key words:** Hepatocyte growth factor (HGF); Breast cancer; Invasion; Expression

乳腺癌是妇女最常见的恶性肿瘤之一,临床治疗中,患者治疗效果不佳、失败甚至死亡的主要原因之一是肿瘤的进展与转移。研究已经证实乳腺癌的发生、进展以及侵袭和转移均涉及到不同的基因、分子等<sup>[1]</sup>。肝细胞生长因子(Hepatocyte growth factor, HGF)是由间质细胞分泌的一种多效性生长因子,在肿瘤细胞的侵袭转移过程中,发挥重要作用<sup>[2]</sup>。现检测HGF在不同程度及治疗前后中乳腺癌细胞中的表达水平,为分析其作用机制及临床意义提供依据。

## 1 材料与方法

1.1 材料 选择龙华新区中心医院2014年1月—2015年3月乳腺癌患者63例,为观察组,均为女性,年龄35~72岁,平均 $(53.71 \pm 3.96)$ 岁,Ⅰ期/Ⅱ期/Ⅲ期分别18例/21例/24例,高、中和低分化分别20例、18例和25例,淋巴转移28例;选择同时期良性肿瘤体检人群45例,作为对照组,年龄36~72岁,平均 $(53.68 \pm 4.06)$ 岁;正常人群40例,作为正常组,年龄34~73岁,平均 $(53.70 \pm 3.84)$ 岁;各组年龄差异无统计学意义

基金项目:深圳市龙华新区科技计划项目(No.2013087)

作者简介:舒少为(1973—),男,本科,主管检验技师,研究方向:临床检验。

( $P>0.05$ )。排除病例:其它恶性肿瘤、外伤、溃疡、近期外科手术、炎症等患者。兔抗人 HGF 多克隆抗体免疫组化试剂盒及 DAB 显色试剂盒(均购自武汉博士德公司),HGF 一抗浓度为 1:50,显微镜为日本 OLIMPUS 公司产品。

1.2 方法 检测三组研究对象的血清及乳腺组织 HGF 水平和 HGF 蛋白表达。血清 HGF 检测于清晨抽取空腹外周血 5 mL,酶联免疫吸附法检测;乳腺组织 HGF 蛋白表达应用 S-P 免疫组化二步法测定<sup>[3]</sup>。

1.3 HGF 免疫组化结果判读 HGF 蛋白主要在细胞浆内表达,光镜下细胞浆呈现黄色或褐色着色或颗粒为阳性细胞。排除边缘效应等非特异性染色。每个标本选择 5 个细胞清晰的高倍视野( $\times 400$ )进行观察并计数,每个视野计数 100 个细胞,共计数 500 个细胞,记录阳性细胞数并计算阳性表达率,阳性细胞百分率  $>30\%$  表示为阳性表达<sup>[4]</sup>。

1.4 统计学分析 所有数据均采用 SPSS13.0 统计软件进行统计,数据资料以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,采用  $t$  检验;计数资料应用  $\chi^2$  检验分析, $P<0.05$  差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 各组血清 HGF 浓度及乳腺癌细胞 HGF 蛋白阳性结果比较 观察组血清 HGF 浓度和组织 HGF 阳性率均高于正常组和对照组,差异具有统计学意义( $P<$

0.05),见表 1。

2.2 不同分期、分化程度和转移患者血清 HGF 浓度及乳腺癌细胞 HGF 蛋白阳性结果比较 III 期、低分化及淋巴转移患者血清 HGF 浓度、HGF 蛋白阳性率均高于 I + II 期、中、高分化及未淋巴转移患者,差异均有统计学意义( $P<0.05$ ),见表 2。

2.3 治疗前后血清 HGF 浓度及乳腺癌细胞 HGF 蛋白阳性结果比较 乳腺癌患者每三个月为一个治疗疗程,两个疗程后进行检测。血清 HGF 浓度为  $(17.80\pm 2.93)\mu\text{g/L}$ ,低于治疗前  $(34.61\pm 3.10)\mu\text{g/L}$ ,差异有统计学意义( $t=12.08, P<0.05$ );治疗后乳腺癌组织 HGF 阳性率为 31.75%(20/63),低于治疗前 58.73%(37/63),差异有统计学意义( $\chi^2=10.60, P<0.05$ )。

## 3 讨论

HGF 又被称为分散因子或扩散因子,是一异二聚体,主要来源于间质细胞,成熟的 HGF 蛋白分子由  $\alpha$  链和  $\beta$  链通过二硫键相连接,能够通过旁分泌或自分泌方式作用于邻近细胞,可诱导肿瘤新生血管生长、促进瘤细胞有丝分裂、迁移,在肿瘤发生发展过程发挥重要作用<sup>[5]</sup>。

有研究认为细胞外基质 ECM 的降解和血管的形成是肿瘤形成和转移的基础,HGF 能够调控组织和血管的再生,并且参与多种细胞因子的调控,HGF 水平能够反映肿瘤发生及进展<sup>[6]</sup>。本次实验结果显示,观

表 1 各组血清 HGF 浓度及乳腺癌细胞 HGF 蛋白阳性结果比较

Table 1 Comparison of the serum concentration of HGF and HGF protein positive results in breast cancer cell

组别 Group	例数 No.case	血清 HGF 浓度( $\mu\text{g/L}$ ) Serum concentration of HGF	组织 HGF Protein of tissue 阳性例数(%)Positive rate
正常组 Normal group	40	9.45 $\pm$ 1.86	1(2.50)
对照组 Control group	45	10.23 $\pm$ 1.94	3(6.67)
观察组 Observation group	63	34.61 $\pm$ 3.10 <sup>△</sup>	37(58.73) <sup>△</sup>

注:△与正常组比较,差异有统计学意义( $t=14.67, \chi^2=10.83, P<0.05$ ),△与对照组比较,差异有统计学意义( $t=11.38, \chi^2=9.88, P<0.05$ );

Note:△Compared with control group ( $t=14.67, \chi^2=10.83, P<0.05$ ), △Compared with control group ( $t=11.38, \chi^2=9.88, P<0.05$ ).

表 2 不同分期、分化程度和转移患者血清 HGF 浓度及乳腺癌细胞 HGF 蛋白阳性结果比较

Table 2 Serum HGF concentration and HGF protein positive results at different staging, degree of differentiation and metastasis in breast cancer cells

组别 Group	例数 n	血清 HGF 浓度( $\mu\text{g/L}$ ) Serum concentration of HGF	组织 HGF Protein of tissue 阳性例数(%)Positive rate
临床分期 Clinical staging	I + II 期 I + II stages	39	28.14 $\pm$ 2.97
	III 期 III stages	24	37.56 $\pm$ 3.20 <sup>△</sup>
分化程度 Differentiation degree	中、高分化 Medium and High differentiation	38	29.07 $\pm$ 3.12
	低分化 Low differentiation	25	36.98 $\pm$ 3.36 <sup>△</sup>
是否淋巴转移 Lymph node metastasis	未淋巴转移 No	35	28.06 $\pm$ 2.93
	淋巴转移 Yes	28	37.71 $\pm$ 3.24 <sup>△</sup>

注:△分别与 I + II 期、中、高低分化以及未淋巴转等比较,差异有统计学意义( $t=13.08, 12.95, 12.77; \chi^2=10.19, 11.38, 10.27, P<0.05$ );

Note:△Compared with I+II stages, moderate, high and low differentiation and not differentiation ( $t=13.08, 12.95, 12.77; \chi^2=10.19, 11.38, 10.27, P<0.05$ )

察组血清 HGF 浓度和乳腺癌组织 HGF 阳性率均高于对照组和正常组,差异均具有统计学意义( $P<0.05$ )。提示 HGF 的表达与乳腺癌的发生存在一定的关联,可能促进乳腺癌的发生,出现乳腺肿块、疼痛、乳头溢液、肾脏腋窝淋巴结肿大等临床表现。HGF 主要由成纤维细胞、巨噬细胞等间质细胞产生,能刺激多种上皮和内皮细胞进行有丝分裂、运动及血管内皮细胞再生。诱发乳腺癌发生机制主要为异常增加的 HGF 能够促进 C-Met 蛋白的激活,引起底物蛋白的酪氨酸磷酸化,经过 PI3 k、MAPK 等信号传导通路并逐级放大,抑制细胞凋亡,促进细胞的异常增殖,诱导乳腺癌的发生<sup>[7-8]</sup>。

本次实验结果显示,Ⅲ期、低分化及淋巴转移卵宫颈癌血清 HGF 浓度、HGF 蛋白阳性率均高于 I + II 级、中、高分化及未淋巴转移患者,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。提示随着肿瘤严重程度的增加,血清 HGF 浓度和乳腺癌组织 HGF 阳性率均呈升高趋势。HGF 分泌异常升高促进血管内皮生长因子 VEGF 的上调,降解细胞外基质,对细胞连接进行破坏,不仅能够促进细胞分裂增殖,促进癌肿的发生和发展,还可通过诱导细胞骨架结构重排、黏附分子激活、肿瘤组织血管的生成,加强肿瘤的运动、刺激癌细胞向外浸润,并诱导上皮细胞侵袭、促进乳腺癌细胞的浸润和转移<sup>[9-10]</sup>。研究发现,治疗后,血清 HGF 浓度和乳腺癌组织 HGF 阳性率均显著下降。提示了解机体 HGF 水平的变换对乳腺癌患者的进展及转移、治疗预后的预测等具有一定的临床意义。

综上所述,乳腺癌患者血清 HGF 浓度及乳腺组织 HGF 蛋白水平显著升高,且随着分期的增加、分化

程度的降低而增加,淋巴转移患者显著升高,HGF 与乳腺癌发生、发展及诱导细胞侵袭过程存在密切关系。

#### 参考文献

- [1] 李洁静,庄志刚.乳腺癌相关的信号转导机制研究进展[J].现代肿瘤医学,2015,23(5):703-705.
- [2] Pavan S, Musiani D, Torchiano E, et al. HSP27 is required for invasion and metastasis triggered by hepatocyte growth factor[J]. Int J Cancer, 2014, 34(6): 1289-1299.
- [3] 王玥,赵俊军.HGF 和 TGF- $\beta$ 1 在非小细胞肺癌中的表达及意义[J].大连医科大学学报,2014,36(3):229-233.
- [4] Minuti G, Cappuzzo F, Duchnowska R, et al. Increased MET and HGF gene copy numbers are associated with trastuzumab failure in HER2-positive metastatic breast cancer[J]. Br J Cancer, 2012, 107(5):793-799.
- [5] Sueta A, Yamamoto Y, Yamamoto-Ibusuki M, et al. Differential role of MACC1 expression and its regulation of the HGF/c-Met pathway between breast and colorectal cancer[J]. Int J Oncol, 2015, 46(5):2143-2153.
- [6] 陈曦,孙海斌.胃腺癌中肝细胞生长因子、肝细胞生长因子受体、血管内皮生长因子-C 和-D 表达的关系[J].中国老年学杂志,2014,34(1):251-252.
- [7] 艾碧,方科.MET/HGF 抑制剂在肿瘤治疗中的研究进展[J].中国肿瘤外科杂志,2014,6(6):387-391.
- [8] 斯诚.血清肝细胞生长因子和转化生长因子- $\beta$ 在乳腺癌血清中的表达及临床意义[J].实用预防医学,2014,21(6):747-749.
- [9] 郑筱娇,高洲,沈蓉蓉,等.NK4 拮抗 HGF 促进肿瘤细胞凋亡的生物学效应[J].中国生物化学与分子生物学报,2013,29(7):674-681.
- [10] Natan S, Tsarfaty G, Horev J, et al. Interplay Between HGF/SF-Met-Ras Signaling, Tumor Metabolism and Blood Flow as a Potential Target for Breast Cancer Therapy[J]. Oncoscience, 2013, 1(1):30-38.

收稿日期:2015-04-17 编辑:符式刚

(上接第969页)

- and loss of PTEN cooperate to induce colon cancer in vivo[J]. Oncogene, 2014, 33(12): 1538-1547.
- [5] Chandrasekaran S, Deng H, Fang Y. PTEN deletion potentiates invasion of colorectal cancer spheroidal cells through 3D Matrigel[J]. Integr Biol (Camb), 2015, 7(3): 324-334.
  - [6] 许斌,孟媛,姜彦多.自噬相关基因 Beclin-1 与抑癌基因 PTEN、p53 在大肠癌中的表达和意义[J].现代肿瘤医学,2015,23(4): 530-534.
  - [7] 田华,宋于刚. PTEN 蛋白在大肠癌癌变过程中的表达及其意义[J].现代肿瘤医学,2014,22(11): 2681-2683.
  - [8] 张谷月,张志勇,王晔,等. PTEN 在结肠癌组织中的表达及其临床意义[J].中国老年学杂志,2014,34(12): 3270-3271.
  - [9] 梁艳芳,曾今诚,康东平,等. PTEN、P27 和 BAG-1 在子宫内膜癌中的表达及临床意义[J].重庆医学,2014,43(7): 785-787.
  - [10] Ripple MJ, Parker SA, Trillo-Tinoco J, et al. Activation of c-Myc and

- Cyclin D1 by JCV T-Antigen and beta-catenin in colon cancer[J]. PLoS One, 2014, 9(9): 106257.
- [11] He X, Tan X, Wang X, et al. C-Myc-activated long noncoding RNA CCAT1 promotes colon cancer cell proliferation and invasion[J]. Tumour Biol, 2014, 35(12): 12181-12188.
  - [12] Martino-Echarri E, Henderson BR, Brocardo MG. Targeting the DNA replication checkpoint by pharmacologic inhibition of Chk1 kinase: a strategy to sensitize APC mutant colon cancer cells to 5-fluorouracil chemotherapy[J]. Oncotarget, 2014, 5(20): 9889-9900.
  - [13] Fu X, Shi L, Zhang W, et al. Expression of Indian hedgehog is negatively correlated with APC gene mutation in colorectal tumors[J]. Int J Clin Exp Med, 2014, 7(8): 2150-2155.

收稿日期:2015-05-18 编辑:史金端