

基质金属蛋白酶 7 在大肠正常黏膜、腺瘤及癌组织中的表达

申兴斌¹, 王瑞婷², 金小平¹, 于再东³

The Expression of MMP-7 in NM, Ad and CC

SHEN Xing-bin¹, WANG Rui-ting², JIN Xiao-ping¹, YU Zai-dong³

1. Department of Pathology, Affiliated Hospital of Chengde Medical College, Chengde 067000, China; 2. Department of Pharmacology, Chengde Medical College; 3. Department of Pathology, Luanping Hospital

Abstract Objective To explore the relationship between MMP-7 expression and occurrence, biological behaviors of CC. **Methods** SP immunohistochemical staining was used to examine expression of MMP-7 among 15 cases of NM, 27 cases of Ad and 81 cases of CC paraffin-embedded specimens. Rank sum test was used to analyze the expression of MMP-7. **Results** The expression of MMP-7 from NM to Ad to CC appeared an upward tendency. The significant differences of MMP-7 expression were present any two groups ($P < 0.01$, $P < 0.01$, $P < 0.01$). The expression of MMP-7 was positively correlated with lymph node metastasis ($P < 0.05$), distant metastasis ($P < 0.01$), Duke's stage. Expression in mucous group was higher than that in high differentiation group ($P < 0.01$). The MMP-7 expression in patients aged below 60y was stronger than that in over 60y and 60y ($P < 0.05$). **Conclusion** MMP-7 was involved in the occurrence and development of CC with high specialty, so it could be a predictive and prognostic factor of CC. Decreasing the activity of MMP-7 might be a new pathway for CC treatment.

Key words: Colorectal Carcinoma; Matrix metalloproteinases-7; Immunohistochemical

摘要:目的 探讨基质金属蛋白酶(MMP-7)的表达与大肠癌发生及大肠癌病理指标间的关系。方法 采用免疫组化技术检测 15 例正常大肠黏膜(NM)、27 例大肠腺瘤(Ad)、81 例大肠癌(CC)中 MMP-7 的表达。结果 从 NM 到 Ad 到 CC, MMP-7、TIMP-1 的表达逐渐增高、增强, MMP-7 在组间存在显著差别($P < 0.01$)。MMP-7 表达与大肠癌的淋巴结转移、远处转移、Duke's 分期呈正相关, 黏液癌中表达明显高于高分化腺癌, 年龄低于 60 岁的大肠癌患者 MMP-7 表达显著强于 60 及 60 岁以上者。结论 MMP-7 参与了大肠癌发生、发展的全过程, 并具有高度的特异性, 可作为大肠癌的预测及预后评估因子。阻断 MMP-7 的表达和活性有可能成为抗肿瘤转移治疗的一个新途径。

关键词: 大肠癌; 基质金属蛋白酶-7; 免疫组化

中图分类号: R735.3⁺4; R730.231 文献标识码: A 文章编号: 1000-8578(2005)10-0627-03

0 引言

细胞外基质降解和新生血管形成是肿瘤生长、浸润和转移的必要条件。基质金属蛋白酶(Matrix metalloproteinases, MMPs)能降解细胞外基质及血管基底膜, 从而能促进肿瘤细胞的浸润和肿瘤血管的形成^[1]。本实验以大肠的正常黏膜、腺瘤及大肠癌标本作为研究对象, 用免疫组化 SP 法检测 MMP-7 的表达, 探讨其在大肠癌发生中的作用及其与大肠癌病理指标间的关系。

1 资料与方法

1.1 研究对象

收集承德医学院附属医院肿瘤外科 2001 年 9 月~2002 年 10 月间手术切除的大肠癌(Colorectal Carcinoma, CC)标本 81 例, 同时选取大肠癌远端病理证实为正常的黏膜(Normal mucosa, NM)15 例, 内窥镜活检的大肠腺瘤(Adenoma, Ad)27 例。鼠抗人 MMP-7 单克隆抗体、SP(Kit-9720)试剂盒均购自福州迈新公司。

1.2 SP 免疫组化染色

常规染色, 染色时均设立阴性对照(以 PBS 液代替 抗)和已知胃癌阳性切片为阳性对照。

1.3 结果判定标准

以正常黏膜上皮细胞或肿瘤细胞胞浆出现棕黄色颗粒为阳性, 阳性表达的判断按照 Volm 等^[2]的

收稿日期: 2004-11-18; 修回日期: 2005-03-07

基金项目: 承德市科技局资助项目(20031018); 河北省科技厅指导性课题(032761138)

作者单位: 1. 067000 河北省承德医学院附属医院病理科; 2. 承德医学院药理教研室; 3. 滦平县医院病理科

判断标准:(1)选染色均匀的肿瘤区,在 400 倍视野下计数着色细胞占视野细胞总数的百分数,共计数 5 个视野,取平均值,以着色细胞占视野细胞总数的多少分 0~3 级,0 级:0;1 级:<25%;2 级:26%~50%;3 级:>50%。(2)按细胞着色强弱分级:0 级:不着色;1 级:着色弱;2 级:中等着色;3 级:着色强。按(1)、(2)值之和判断结果:阴性(-):0;弱阳性(+):1~2;中度阳性(++):3~4;强阳性(+++):5~6。

1.4 统计方法

数据库的建立和数据分析采用 SPSS 11.0 软件。MMP-7 采用等级资料秩和检验。

2 结果

2.1 大肠正常黏膜、腺瘤及大肠癌中 MMP-7 的表达
MMP-7 表达阳性多表现为黏膜上皮、腺瘤和癌细胞的胞浆中出现棕黄色颗粒,呈灶性或弥漫分布,大小不一,着色轻重不同,有 5 例大肠癌癌细胞胞浆和胞核均有着色。在 15 例正常黏膜中仅 1 例呈弱阳性;27 例腺瘤中 23 例(85.2%)阳性表达,其中强阳性率较低(7.4%);81 例大肠癌中 2 例(2.5%)阴性,31 例(38.3%)强阳性,大肠癌的强阳性率在三组中最高。三组间 MMP-7 的表达有明显差异($H=50.289, P<0.01$),组间 MMP-7 的表达均有显著性差别(P 均<0.01),见表 1。

表 1 大肠正常黏膜、腺瘤及大肠癌中 MMP-7 的表达[例(%)]

组别	例数	阴性 例数	阳性			阳性 例数
			+	++	+++	
正常黏膜	15	14(93.3)	1(6.7)	0(0)	0(0)	1(6.7)
腺瘤 [*]	27	4(14.8)	8(29.6)	13(48.2)	2(7.4)	23(85.2)
大肠癌 [*]	81	2(2.5)	8(9.9)	40(49.4)	31(38.2)	79(97.5)

^{*}与正常黏膜组比较 $P<0.01$, 与腺瘤组比较 $P<0.01$

2.2 MMP-7 与大肠癌临床病理特征的关系

在 81 例大肠癌组织中随着分化程度的降低, MMP-7 表达增高,四组间 MMP-7 表达有显著差别($H=8.394, P<0.05$),两两比较虽然高、中、低分化腺癌组间差别不明显,但三组中随分化程度降低强阳性率逐渐升高。10 例黏液腺癌中 7 例(70%)强阳性,与高分化腺癌有显著差别($P<0.01$);淋巴结转移组 38 例,无阴性表达,18 例(47.4%)强阳性表达,无转移组 2 例阴性,13 例(30.7%)强阳性,两组比较有明显差别($U=2.182, P<0.05$);远处转移组 12 例均为阳性表达,其中 10 例(83.3%)为强阳性,无远处转移组 69 例中 2 例阴性,20 例(29%)强

阳性表达, MMP-7 在两组间的表达有极显著差别($U=3.362, P<0.01$)。大肠癌 Duke's 分期 A~D 期 MMP-7 的表达呈增高趋势, C、D 期的阳性率均为 100%, D 期的强阳性率为 83.3%, 4 组存在显著差别($H=11.175, P<0.01$), A、B、C 期明显低于 D 期($P<0.01, P<0.01, P<0.05$);本实验还发现 MMP-7 的表达与患者年龄有关, 小于 60 岁者 MMP-7 表达明显高于 60 岁及以上者($U=2.401, P<0.05$, 见表 2)。MMP-7 与患者的性别、肿瘤的发生部位、大体类型、浸润深度无统计学意义。

表 2 MMP-7 与大肠癌临床病理特征的关系[例(%)]

组别	例数	阴性 例数	阳性			阳性 例数
			+	++	+++	
年龄						
< 60 *	41	1(2.4)	3(7.3)	16(39.0)	21(51.2)	40(97.6)
60 *	40	1(2.5)	5(12.5)	24(60.0)	10(25.0)	39(97.5)
分化程度						
高 [△]	22	1(4.5)	3(13.6)	16(72.7)	3(13.6)	21(95.5)
中	38	1(2.6)	4(10.5)	17(44.7)	16(42.1)	37(97.4)
低	11	0(0)	1(9.1)	5(45.5)	5(45.5)	11(100)
黏液癌 [△]	10	0(0)	0(0)	3(30.0)	7(70.0)	10(100)
淋巴结转移						
无 *	43	2(4.7)	5(11.6)	23(53.5)	13(30.2)	41(95.3)
有	38	0(0)	2(5.3)	18(47.4)	18(47.4)	38(100)
远处转移						
无 **	69	2(2.9)	8(11.6)	39(56.5)	20(29.0)	67(97.1)
有	12	0(0)	0(0)	2(16.7)	10(83.3)	12(100)
Duke 's 分期						
A	18	1(5.6)	2(11.1)	11(61.1)	4(22.2)	17(94.4)
B	25	1(4.0)	4(16.0)	12(48.0)	8(32.0)	24(96.0)
C	26	0(0)	2(7.7)	16(61.5)	8(30.8)	26(100)
D	12	0(0)	0(0)	2(16.7)	10(83.3)	12(100)

括号内为率。与高分化比较^{*} $P<0.05$, ^{**} $P<0.01$;
[△] $P<0.01$; 与 D 期比较 $P<0.05$, $P<0.01$

3 讨论

细胞外基质的降解主要由肿瘤细胞分泌的基质金属蛋白酶(MMPs)完成, MMP-7 是 MMPs 家族的重要成员, 是 MMPs 中唯一由上皮性肿瘤细胞特异性表达的酶, 它能降解基底膜的主要成分—型胶原及层黏连蛋白^[3], 在胃癌及大肠癌的研究中发现 MMP-7 的表达明显增强^[4,5]。本实验显示 MMP-7 在正常黏膜几乎不表达, 大肠癌中表达阳性率高于腺瘤, 三组之间均有显著差别, 说明 MMP-7 的异常表达在大肠肿瘤的早期阶段就开始升高, 并可能在大肠组织正常黏膜演变成腺瘤、癌的过程中具有重要作用。镜下观察还发现多数大肠腺瘤中 MMP-7 的表达见于局灶性分布的腺瘤细胞, 而大肠癌中 MMP-7 则在广泛的癌细胞中分布, 腺瘤中局灶性表

达的区域有可能通过 MMP-7 的作用最终发展成为大肠癌。MMP-7 在大肠癌中的表达与肿瘤的淋巴结转移、远处转移及 Dukes 分期呈正相关, MMP-7 在远处转移组及 Dukes D 期表达最强,表明大肠癌细胞可能通过分泌 MMP-7 直接破坏基底膜和肿瘤基质,浸润周围组织进而发生远处转移。Curran 等^[6]报道胃癌中 MMP-7 水平的增高与该肿瘤的血道、淋巴道转移有显著的相关性。黏液腺癌中 MMP-7 的高表达说明该肿瘤细胞可能具有更强的分泌 MMP-7 的能力,具有更大的破坏力。国内对于大肠癌中 MMP-7 的表达研究较少,以上结果与万远廉等^[7]检测大肠癌中 MMP-7 mRNA 的结果基本一致。本实验还发现低年龄组大肠癌患者 MMP-7 表达明显高于高年龄组,这在有关文献中未见报道,表明 MMP-7 在年轻大肠癌患者的快速进展中扮演更重要的角色。MMP-7 在癌细胞胞核着色仅见郭颖^[8]报道在卵巢交界性及恶性浆液性肿瘤中出现,我们的实验也发现 5 例大肠癌癌细胞胞浆和胞核均有着色。Zhao 等^[9]推测细胞核中有 MMP, MMP-7 在肿瘤细胞核中定位的生物学意义尚不清楚。

MMP-7 在大肠正常黏膜、腺瘤及大肠癌的表达表明其参与了正常黏膜演变为腺瘤及癌的进程,并具有高度特异性。同样, MMP-7 表达与大肠癌病理特征的关系也表明 MMP-7 参与了大肠癌早期发展至晚期的全过程。因此 MMP-7 可作为大肠癌的预测因子和反映大肠癌的恶性进程和进行预后评估的

较好的生物学指标。阻断 MMP-7 的表达和活性有可能成为抗肿瘤转移治疗的一个新途径。

参考文献:

- [1] Kleiner DE Jr, Tuuttila A, Tryggvason K, et al. Stability analysis of latent and active 72-Kda type collagenase: the role of tissue inhibitor of metalloproteinase-2 (TIMP-2) [J]. Biochemistry, 1993, 32(6): 1583-1592.
- [2] Volm M, Koomagi R, Mattern J. Prognostic value of vascular endothelial growth factor and its receptor Flt-1 in squamous cell lung cancer[J]. Int J Cancer, 1997, 74(2): 64-68.
- [3] 李莉, 刘少扬, 江大琼. 基质金属蛋白酶及其抑制剂在肿瘤发展和治疗中的作用[J]. 肿瘤防治研究, 2004, 31(2): 123-125.
- [4] McDonnell S, Navre M, Coffey RJ, et al. Expression and localization of the matrix metalloproteinase pump-1 (MMP-7) in human gastric and colon carcinomas[J]. Mol Carcinog, 1991, 4(6): 527-533.
- [5] Yoshimoto M, Itoh F, Yamamoto H, et al. Expression of MMP-7 mRNA in human colorectal cancers[J]. Int J Cancer, 1993, 54(4): 614-618.
- [6] Curran S, Murray GI. Matrix metalloproteinases in tumor invasion and metastasis[J]. J Pathol, 1999, 189(3): 300-308.
- [7] 万远廉, 潘义生, 郭源, 等. 人大肠癌中基质金属蛋白酶-7 mRNA 的表达[J]. 北京大学学报(医学版), 2001, 33(1): 13-16.
- [8] 郭颖, 刘军, 吴静, 等. 基质金属蛋白酶-7 在卵巢浆液性肿瘤中的表达[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2002, 18(5): 471-473.
- [9] Zhao WQ, Li H, Yamashita K, et al. Cell cycle-associated accumulation of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) in the nuclei of human gingival fibroblasts[J]. J Cell Sci, 1998, 111(9): 1147-1153.

[编辑: 贺文]