

MMP-11 在食管鳞状细胞癌组织中的表达水平及临床意义分析*

张晓伟¹, 唐启明², 刘春华¹, 肖 锋¹, 胡建功¹ (1. 泰山医学院, 山东泰安 271000;
2. 重庆市大足区人民医院 402360)

【摘要】 目的 探讨基质金属蛋白酶-11(MMP-11)表达水平,及其与食管鳞状细胞癌(ESCC)的关系。**方法** 采用免疫组织化学法检测 36 例 ESCC 癌组织及其癌旁组织标本,以及 9 例正常食管组织 MMP-11 表达水平。**结果** ESCC 癌组织、癌旁组织及正常食管组织 MMP-11 蛋白阳性表达率分别为 69.4%(25/36)、25.0%(9/36)、22.2%(2/9)。癌旁组织和正常食管组织 MMP-11 蛋白阳性表达率低于癌组织($P<0.05$),癌旁组织和正常食管组织 MMP-11 蛋白阳性表达率比较差异无统计学意义($P>0.05$)。就 MMP-11 阳性表达率而言,Ⅰ~Ⅱ期患者低于Ⅲ~Ⅳ期患者、T1~T2 期患者低于 T3~T4 期患者、无淋巴转移的患者低于有淋巴转移的患者($P<0.05$)。MMP-11 表达水平与患者年龄、性别和肿瘤位置、直径、病理类型无关($P>0.05$)。**结论** MMP-11 蛋白可能参与了 ESCC 的发生、发展,MMP-11 蛋白高表达可能是促进 ESCC 浸润转移的因素之一。

【关键词】 食管鳞状细胞癌; 基质金属蛋白酶-11; 免疫组织化学

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2014.17.005 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2014)17-2354-03

Expression and clinical significance of MMP-11 protein in esophageal squamous cell carcinoma* ZHANG Xiao-wei¹, TANG Qi-ming², LIU Chun-hua¹, XIAO Feng¹, HU Jian-gong¹ (1. Taishan Medical College, Taian, Shandong 271000, China; 2. People's Hospital of Dazu District, Chongqing 402360, China)

【Abstract】 Objective To explore the correlation between matrix metalloproteinases-11(MMP-11) and esophageal squamous cell carcinoma(ESCC). **Methods** Expression of MMP-11 protein was detected by immunohistochemistry in 36 cases of ESCC tissues and tumor-adjacent tissues, and 9 cases of normal esophageal tissues. **Results** Positive expression rate of MMP-11 in ESCC tissues was higher than tumor-adjacent tissues and normal tissues, which were 69.4%(25/36), 25.0%(9/36) and 22.2%(2/9) respectively($P<0.05$). Positive expression rates of MMP-11 protein in patients at T1-T2 stage, I-II stage and with nodal metastases were lower than patients at T3-T4 stage, III-IV stage and without nodal metastases respectively($P<0.05$). No correlations were found between MMP-11 protein expression levels and age, gender, tumor location, tumor diameter and degree of differentiation($P>0.05$). **Conclusion** Up-regulation of MMP-11 expression level might be involved in the development of ESCC, which might play a promoting role in the invasion and metastasis of ESCC.

【Key words】 esophageal squamous cell carcinoma; matrix metalloproteinases-11; immunohistochemistry

全球范围内,因食管癌死亡的患者例数在恶性肿瘤患者中占第 6 位,且其发病率迅速增加^[1]。国内最常见的食管癌类型是食管鳞状细胞癌(ESCC)。由于食管癌患者早期症状不典型,多数食管癌患者就诊时已进展至中晚期,极易因癌组织浸润和转移导致预后不良,甚至死亡。基质金属蛋白酶(MMPs)是一组参与细胞外基质降解和组织重构的内肽酶,也具有抑制细胞凋亡和刺激癌细胞浸润的作用^[2-3]。MMP-11 是 MMPs 家族成员之一,在基质降解、组织重构和肿瘤浸润等方面具有重要作用。本研究对 ESCC 癌组织、癌旁组织和正常食管组织进行了 MMP-11 蛋白检测,分析了 MMP-11 与 ESCC 的关系,旨在探讨 MMP-11 在 ESCC 发生、发展中的作用。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2012 年 11 月至 2013 年 11 月接受手术治疗的 ESCC 确诊患者 36 例,术前未接受放疗及其他免疫治疗,无其他部位肿瘤;年龄 40~76 岁,男 20 例、女 16 例。按照第 6 版 TNM 分期标准,分为Ⅰ~Ⅱ期 13 例、Ⅲ~Ⅳ期 23 例,T1~

T2 期 16 例、T3~T4 期 20 例,淋巴转移 21 例、无淋巴转移 15 例^[4]。同期胃镜下采集正常食管组织的患者 9 例纳入本研究。

1.2 主要试剂 鼠抗人 MMP-11 单克隆抗体(美国 Santa Cruz 公司)。即用型免疫组织化学(简称免疫组化)EliVision™super 试剂盒(福州迈新生物技术开发有限公司),包括试剂 A(放大剂)、试剂 B(多聚酶结合物)。

1.3 方法 采集 ESCC 确诊患者癌组织、癌旁组织(无肿瘤细胞浸润)及正常食管组织标本,经 10%甲醛溶液固定后石蜡包埋,以厚度 5 μm 制作组织切片,用于苏木精-伊红(HE)染色和免疫组化检测。操作步骤:切片脱蜡及水化,高压修复,依次加入 MMP-11 抗体(1:50 稀释)、试剂 A、试剂 B、新鲜配制的二氨基联苯胺(DAB),苏木精复染,盐酸酒精分化,自来水冲洗,碳酸锂返蓝,梯度酒精脱水干燥,二甲苯透明,中性树胶封固,由 2 名病理科专家在不知标本对应患者临床病理特征情况下,显微镜下观察并作出判断。以已知阳性的切片为阳性对照,磷酸盐缓冲液(PBS)代替 MMP-11 抗体作为空白对照。参照

* 基金项目:山东省卫生厅资助项目(2013WS0323)。

作者简介:张晓伟,男,讲师、主治医师,硕士,主要从事消化道肿瘤研究。

Yoshikawa 等^[6]方法,将胞核和(或)胞浆出现黄或棕黄色颗粒的细胞视为阳性细胞。阳性细胞所占比例小于 5%判为阴性表达,阳性细胞所占比例大于或等于 5%判为阳性表达。

1.4 统计学处理 采用 SPSS18.0 软件进行数据处理和统计学分析。计数资料以百分率表示,组间比较采用卡方检验。 $P<0.05$ 为比较差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 MMP-11 蛋白在不同组织中的表达情况 MMP-11 蛋白主要在胞浆中表达(见图 1)。ESCC 癌组织染色结果见图 1,其 MMP-11 蛋白阳性表达率为 69.4%(25/36);ESCC 癌旁组织染色结果见图 2,其 MMP-11 蛋白阳性表达率为 25.0%(9/36);正常食管组织染色结果见图 3,其 MMP-11 蛋白阳性表达率为 22.2%(2/9)。癌旁组织和正常食管组织 MMP-11 蛋白阳性表达率低于癌组织($P<0.05$),癌旁组织与正常食管组织 MMP-11 蛋白阳性表达率比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

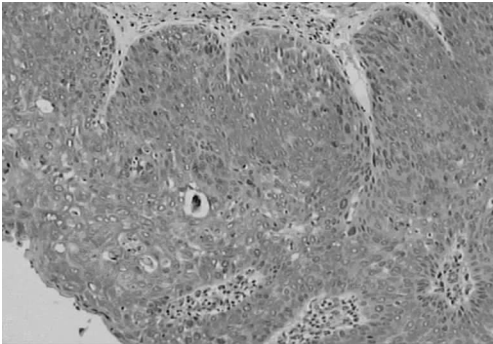


图 1 ESCC 癌组织 MMP-11 蛋白表达检测 (免疫组化染色,×100)

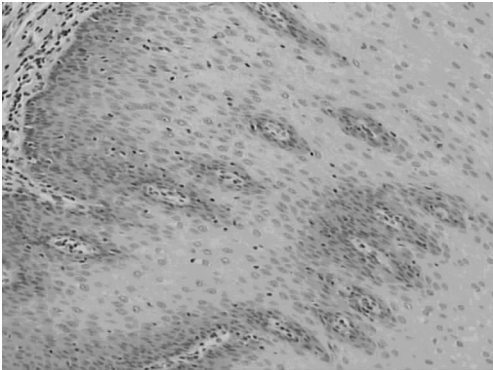


图 2 ESCC 癌旁组织 MMP-11 蛋白表达检测 (免疫组化染色,×100)



图 3 正常食管组织 MMP-11 蛋白表达检测 (免疫组化染色,×100)

2.2 MMP-11 蛋白与 ESCC 的相关性 MMP-11 蛋白阳性表达率与 ESCC 患者年龄、性别、分化程度、肿瘤直径和位置无关($P>0.05$),但 I~II 期患者阳性表达率低于 III~IV 期患者、T1~T2 期患者低于 T3~T4 期患者、无淋巴转移患者低于淋巴转移患者($P<0.05$),见表 1。

表 1 MMP-11 蛋白表达与 ESCC 的相关性

项目	<i>n</i>	阳性表达[%(<i>n</i>)]	<i>P</i>
年龄(岁)			
≥55	26	73.1(19)	>0.05
<55	10	60.0(6)	
性别			
男	20	75.0(15)	>0.05
女	16	62.5(10)	
肿瘤直径(cm)			
>3	15	73.3(11)	>0.05
≤3	21	66.7(14)	
分化程度			
中高分化	29	72.4(21)	>0.05
低分化	7	57.1(4)	
肿瘤位置			
食管中下段	30	73.3(22)	>0.05
食管上段	6	50.0(3)	
临床分期			
I~II 期	13	38.5(5)	<0.05
III~IV 期	23	87.0(20)	
T 分期			
T1~T2 期	16	50.0(8)	<0.05
T3~T4 期	20	85.0(17)	
淋巴转移			
无	15	46.7(7)	<0.05
有	21	85.7(18)	

3 讨 论

肿瘤的侵袭、转移涉及肿瘤细胞黏附分子减少、肿瘤细胞与基底膜黏附力增加、细胞外基质降解等因素,其中基底膜黏附力增加和细胞外基质降解是关键因素。肿瘤侵袭、转移是导致肿瘤患者预后不良的重要因素,而 MMPS 是引起基底膜黏附力增加和细胞外基质降解的主要物质之一,因此与肿瘤发生、发展密切相关。

Sharma 等^[6]的研究结果显示,ESCC 癌组织 MMP-11 蛋白阳性表达率为 78%,高于不典型增生组织及正常食管组织,且表达水平与淋巴转移相关。也有研究证实 MMP-11 蛋白高表达与食管癌患者预后不良密切相关^[7]。Zhao 等^[8]的研究结果显示,胃癌组织 MMP-11 mRNA 表达水平高于癌旁组织,且超过 50%的进展期胃癌患者高表达 MMP-11。Jones 等^[9]对胰腺导管腺癌和正常胰腺组织的研究结果显示,二者 MMP-11 蛋白阳性表达率分别为 69%和 20%,且其表达水平与淋巴转移相关,阳性表达患者总体生存时间明显短于阴性表达患者。Skoglund 等^[10]对原发性结、直肠腺癌的研究结果显示,其

MMP-11 蛋白阳性表达率为 72%,且 MMP-11 蛋白表达水平与肿瘤生长方式、患者性别有关,但与患者年龄、Dukes 分期和分化程度无关。由此可见,消化系统肿瘤中普遍存在 MMP-11 蛋白异常表达,说明 MMP-11 蛋白在肿瘤发生、发展过程中起着较为重要的作用,与癌组织的浸润、转移及患者的预后密切相关。

本研究结果显示,ESCC 癌旁组织和正常食管 MMP-11 蛋白表达水平低于 ESCC 癌组织,且其表达水平与 ESCC 临床分期、TNM 分期、淋巴转移有关,随着分期的增高,表达水平升高,有淋巴转移的患者表达水平高于无淋巴转移的患者,提示 MMP-11 蛋白表达水平越高,肿瘤组织侵袭能力越强,患者预后越差。因此,可以通过检测 ESCC 癌组织 MMP-11 蛋白水平判断患者的预后。

综上所述,MMP-11 蛋白参与了 ESCC 的发生、发展,与肿瘤浸润转移有关;检测其在 ESCC 癌组织中的表达水平有助于判断疾病恶性程度,也可临床诊治提供一定的理论依据。至于 MMP-11 蛋白参与肿瘤浸润转移的机制尚有待进一步研究。

参考文献

- [1] Pennathur A, Gibson MK, Jobe BA, et al. Oesophageal carcinoma[J]. Lancet, 2013, 381(9864): 400-412.
- [2] Matziari M, Dive V, Yiotakis A. Matrix metalloproteinase 11(MMP-11;stromelysin-3) and synthetic inhibitors[J]. Med Res Rev, 2007, 27(4): 528-552.
- [3] Sternlicht MD, Werb Z. How matrix metalloproteinases regulate cell behavior[J]. Ann Rev Cell Develop Biol, 2001, 17(3): 463-467.

- [4] Sobin LH, Wittekind C. TNM classification of malignant tumors[M]. 6th ed. New York, USA: Wiley, 2002.
- [5] Yoshikawa R, Nakano Y, Tao L, et al. Hedgehog signal activation in esophageal cancer patients undergoing neo-adjuvant chemoradiotherapy[J]. Brit J Cancer, 2008, 98(10): 1670-1674.
- [6] Sharma R, Chattopadhyay TK, Mathur M, et al. Prognostic significance of stromelysin-3 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-2 in esophageal cancer[J]. Oncology, 2004, 67(3/4): 300-309.
- [7] Yamashita K, Tanaka Y, Mimori K, et al. Differential expression of MMP and uPA systems and prognostic relevance of their expression in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Inter J Cancer, 2004, 110(2): 201-207.
- [8] Zhao ZS, Chu YQ, Ye ZY, et al. Overexpression of matrix metalloproteinase 11 in human gastric carcinoma and its clinicopathologic significance[J]. Hum Pathol, 2010, 41(5): 686-696.
- [9] Jones LE, Humphreys MJ, Campbell F, et al. Comprehensive analysis of matrix metalloproteinase and tissue inhibitor expression in pancreatic cancer increased expression of matrix metalloproteinase-7 predicts poor survival[J]. Clin Cancer Res, 2004, 10(8): 2832-2845.
- [10] Skoglund J, Emterling A, Arbmán G, et al. Clinicopathological significance of stromelysin-3 expression in colorectal cancer[J]. Oncology, 2004, 67(1): 67-72.

(收稿日期: 2014-02-02 修回日期: 2014-04-20)

(上接第 2353 页)

0.05)。有文献报道,粪便标本与咽拭子标本阳性检出率比较差异有统计学意义^[13]。因此,在条件允许时,应尽可能采集粪便或肛拭子标本,以提高阳性检出率,尽早明确 HFMD 病原体类型,为制订针对性的防控措施提供依据。

参考文献

- [1] 金奇. 医学分子病毒学[M]. 北京: 科学出版社, 2000: 606-613.
- [2] 中华人民共和国卫生部. 手足口病预防控制指南(2009 年版)[M]. 北京: 中华人民共和国卫生部, 2009.
- [3] Inge T, Elie M, Philippe L, et al. Analysis of the serotype and genotype correlation of VP1 and the 5'-noncoding region in an epidemiological survey of the human enterovirus B species [J]. J Clin Microbiol, 2004, 42(3): 963-971.
- [4] Elisabet W, Gustavo P, Ondrej C, et al. High prevalence of human enterovirus A infections in natural circulation of human enteroviruses[J]. J Clin Microbiol, 2006, 44(11): 4095-4100.
- [5] Steven OB, Kaija M, David R, et al. Typing of human enteroviruses by partial sequencing of VP1[J]. J Clin Microbiol, 1999, 37(5): 1288-1293.
- [6] Wang C, Li L, Wu M, et al. Fatal coxsackievirus A16 in-

fection[J]. Pediatr Infect Dis J, 2004, 23(2): 275-276.

- [7] 周帅锋, 张帆, 黄威, 等. 2009 年湖南省哨点医院手足口病病原学检测与分析[J]. 南华大学学报: 医学版, 2010, 38(4): 479-483.
- [8] 张军胜. 2009-2011 年咸阳市手足口病流行特征分析[J]. 包头医学院学报, 2012, 28(5): 34-36.
- [9] 操德智, 付丹, 何颜霞, 等. 2008 年深圳市 80 例手足口病重症病例的临床特征分析[J]. 中国小儿急救医学, 2009, 16(2): 145-148.
- [10] 韩剑锋, 安康, 刘洪, 等. 河南新乡 2008 年手足口病病原分离鉴定及病毒基因组特征[J]. 军事医学科学院院刊, 2008, 32(6): 523-526.
- [11] 秦玉君, 牟广臻, 刘靖宇, 等. 2007-2008 年山东省烟台市手足口病流行病学特征分析及主要病原鉴定[J]. 疾病监测, 2010, 25(1): 12-14.
- [12] 周帅锋, 张帆, 黄威, 等. 2009 年湖南省哨点医院手足口病病原学检测与分析[J]. 南华大学学报: 医学版, 2010, 38(4): 479-483.
- [13] 于秋丽, 申悦霞, 韩彩芝, 等. 河北省 2009 年手足口病病原学研究[J]. 现代预防医学, 2012, 39(8): 2026-2031.

(收稿日期: 2014-01-02 修回日期: 2014-04-08)