

胃癌患者与健康者血清基质金属蛋白酶-9 的差异分析

来艳君¹, 梁波²

(1. 西安市第九医院检验科, 陕西西安 710054; 2. 华南师范大学医院内科, 广东广州 510631)

摘要:目的 对比分析胃癌患者与健康者、胃癌转移患者与无明显转移患者血清基质金属蛋白酶-9(MMP-9)的含量,初步探讨 MMP-9 在癌症转移中的作用。方法 应用酶联免疫吸附(ELISA)法检测原发性胃癌明显转移患者、无明显转移患者及健康者血清中的 MMP-9 蛋白水平,分别比较健康者与胃癌患者、胃癌明显转移患者与无明显转移患者 MMP-9 含量的差别。结果 胃癌组的 MMP-9 含量显著高于对照组($P < 0.01$);胃癌无明显转移组的 MMP-9 含量低于明显转移组的含量($P < 0.05$)。结论 MMP-9 与胃癌的发生、浸润、组织器官转移密切相关,促进细胞外基质(ECM)的降解是其参与癌症生长、转移的主要分子机制;初步说明血清 MMP-9 水平测定可作为胃癌是否转移的指标。

关键词: 胃肿瘤; 肿瘤转移; 基质金属蛋白酶-9

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.20.050

文献标识码: B

文章编号: 1673-4130(2012)20-2546-02

肿瘤转移是癌症患者死亡的主要原因。癌症转移被认为是恶性肿瘤细胞从肿瘤中分离,然后通过对基底膜或细胞外基质(ECM)的插入,进入淋巴结或血管从而向目标器官转移生长的过程^[1-2]。其中,恶性肿瘤细胞从原位癌中的分离,细胞外基质的水解或破坏从而导致细胞在其中迁移是癌症转移的早期病理反应。最新的研究表明肿瘤周围的基质环境的改变在癌症转移中扮演着重要的角色^[3]。基质金属蛋白酶(MMPs)是一族锌离子依赖性内肽酶,对细胞外基质的降解和组织修复起重要作用,是人体内降解细胞外基质的关键蛋白^[4]。本研究旨在对比分析胃癌明显转移患者与无明显转移患者 MMP-9 含量的差异,初步探讨 MMP-9 在癌症转移中的作用。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本院 2010 年 1 月至 2011 年 6 月的原发性胃癌患者 46 例作为胃癌组,其中男 29 例,女 17 例,年龄 38~68 岁,平均(58.4±12.7)岁。所有病例均经内镜检查及病理分析确诊,未接受手术及放疗,经影像学或体检确定是否发生转移。将胃癌患者按是否转移至周围器官及远端组织器官分为无明显转移组($n=19$)和明显转移组($n=27$);按肿瘤发生部位分类,胃上部者 22 例,胃中部 18 例,胃下部 6 例;按病理等级分类,高中分化胃癌 27 例,低未分化胃癌 18 例;淋巴结转移者 18 例,远处转移 3 例,临近组织器官转移 6 例。对照组 30 例,均为来本院健康体检者,男女各 15 例,年龄 45~65 岁,平均(54.1±7.2)岁。

1.2 仪器与试剂 MMP-9 的 ELISA 试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司,自动酶标仪(SJ-1 酶标分析仪),全自动酶标洗板机(SJ-1 全自动酶标洗板机),微孔板。

1.3 方法 受试者晨起空腹静脉血 5 mL,置于抗凝管中,摇匀后离心 3 000 r/min,15 min,收集上层血清,分装至 EP 管后冻存于-20℃冰箱内,待检测。血清基质金属蛋白酶检测采用 ELISA 法,严格按试剂盒说明书操作。在酶标仪上读取各孔的 OD 值,计算 MMP-9 含量,每个样品重复测定 3 次,取 3 次平均值作为最终结果。

1.4 统计学处理 分别比较对照组与胃癌组、胃癌明显转移组与无明显转移组的 MMP-9 含量。计量资料采用表示,采用 SPSS17.0 统计软件进行统计学分析,两组之间均数的比较采用单因素方差分析,统计分析显著性水准为 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

原发性胃癌组的血清 MMP-9 含量显著高于对照组($P <$

0.01),见表 1。原发性胃癌无明显组织器官转移的血清 MMP-9 含量低于有明显组织器官转移的含量($P < 0.05$),见表 2。

表 1 胃癌患者与健康者血清 MMP-9 含量的比较($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | <i>n</i> | MMP-9(ng/mL) | <i>F</i> 值 | <i>P</i> 值 |
|-----|----------|--------------|------------|------------|
| 对照组 | 30 | 168.35±39.21 | 15.22 | 0.00 |
| 胃癌组 | 46 | 254.18±77.12 | | |

表 2 两组胃癌患者血清 MMP-9 含量的比较($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | <i>n</i> | MMP-9(ng/mL) | <i>F</i> 值 | <i>P</i> 值 |
|--------|----------|--------------|------------|------------|
| 无明显转移组 | 19 | 221.64±63.20 | 5.89 | 0.02 |
| 明显转移组 | 27 | 286.72±77.96 | | |

3 讨论

肿瘤细胞的转移依赖于肿瘤细胞、基质细胞与细胞外基质的相互作用形成的肿瘤生化微环境(由细胞黏附分子,基质金属蛋白酶等系列生化分子组成)对细胞过程诸如黏附,生存,分化以及细胞外基质的组织,水解和重塑等一系列调控^[5-6]。基底膜是肿瘤细胞转移扩散过程中一道天然屏障。MMP-9 可由成纤维细胞、内皮细胞、巨噬细胞、中性粒细胞、肿瘤细胞等多种细胞合成与分泌。MMP-9 作用底物多种多样,包括明胶蛋白、弹性蛋白、IV 型胶原、V 型胶原、VII 型胶原、X 型胶原和黏结蛋白等^[7]。MMP-9 可参与炎症反应、组织构型、创伤修复、基质结合的生长因子的动员及细胞因子的表达,其可特异性地作用于血管基底膜,降解局部的胶原组织,参与单核细胞浸润、血管平滑肌细胞的迁移,加速炎症细胞跨膜转移,可参与动脉内膜异常改变、肿瘤血管形成等功能。

研究表明, MMPs 与肿瘤发生、侵袭和转移密切相关,还与肿瘤临床病情进展及预后显著相关^[7],而异常活化的 MMP-9 除通过降解基质、诱导作用及促进毛细血管增生参与癌变机制外,在调节肿瘤细胞生长方面也起一定作用^[8-9]。本研究结果表明,胃癌组的 MMP-9 含量显著高于对照组($P < 0.01$),说明 MMP-9 可能通过对细胞外基质的降解促进癌细胞的生长而参与了癌症的发生。研究还表明, MMP-9 蛋白酶过表达与肿瘤浸润深度、淋巴结转移、TNM 分期相关,提示 MMP-9 可以作为肿瘤浸润和转移的分子生物学标志^[10]。尽管目前用于

检测的肿瘤标记物如 CEA 和 CA19-9 可作为消化道恶性肿瘤的标记物,但在在敏感性和特异性上尚有一定局限性。本研究结果表明,原发性胃癌无明显转移组的血清 MMP-9 含量低于有明显转移组的含量 ($P < 0.05$),初步说明血清 MMP-9 水平检测可作为胃癌是否转移的指标。

参考文献

[1] Geho DH, Bandle RW, Clair T, et al. Physiological mechanisms of tumor-cell invasion and migration [J]. *Physiology (Bethesda)*, 2005, 20: 194-200.
 [2] Lu P, Weaver VM, Werb Z. The extracellular matrix: a dynamic niche in cancer progression [J]. *J Cell Biol*, 2012, 196(4): 395-406.
 [3] Bhowmick NA, Neilson EG, Moses HL. Stromal fibroblasts in cancer initiation and progression [J]. *Nature*, 2004, 432(7015): 332-337.
 [4] 施鑫鹤,王应芳,高才风,等. 基质金属蛋白酶-7 和组织型金属蛋白酶抑制因子-1 在胃癌中的表达及意义 [J]. *国际检验医学杂志*, 2009, 30(5): 495-496.
 [5] Dawson LA, Maitland NJ, Turner AJ, et al. Stromal-epithelial in-

teractions influence prostate cancer cell invasion by altering the balance of metalloproteinase expression [J]. *Br J Cancer*, 2004, 90(8): 1577-1582.
 [6] Liotta LA, Kohn EC. The microenvironment of the tumour-host interface [J]. *Nature*, 2001, 411(6835): 375-379.
 [7] 高春芳,陆伦根. 纤维化疾病的基础和临床 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2004: 60.
 [8] Parsons SL, Watson SA, Collins HM, et al. Gelatinase (MMP-2 and -9) expression in gastrointestinal malignancy [J]. *Br J Cancer*, 1998, 78(11): 1495-1502.
 [9] Murray GI, Duncan ME, O'Neil P, et al. Matrix metalloproteinase-1 is associated with poor prognosis in colorectal cancer [J]. *Nat Med*, 1996, 2(4): 461-462.
 [10] Dünne AA, Gröbe A, Sesterhenn AM, et al. Influence of matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) on the metastatic behavior of oropharyngeal cancer [J]. *Anticancer Res*, 2005, 25(6B): 4129-4134.

(收稿日期: 2012-05-23)

• 经验交流 •

淋巴结核患者外周血中 T 淋巴细胞亚群的检测及其意义

丁爱华, 王尚武

(湖南省益阳市桃江县人民医院检验科, 湖南益阳 413400)

摘要:目的 观察淋巴结核患者外周血 CD3⁺T 细胞、CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞、CD4⁺/CD8⁺ 比值变化,探讨其在结核病发生发展中的临床意义。方法 采用流式细胞仪检测 48 例淋巴结核患者和 60 例健康体检者的 T 淋巴细胞亚群的水平,并进行对比分析。结果 淋巴结核患者与对照组 T 淋巴细胞亚群比较,除 CD8⁺T 细胞增高外,CD3⁺T 细胞、CD4⁺T 细胞、CD4⁺/CD8⁺ 比值均低于对照组 ($P < 0.05$)。不同年龄、性别淋巴结核患者 CD3⁺T 细胞、CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞、CD4⁺/CD8⁺ 比值差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。结论 结核病的发病与外周血中 T 淋巴细胞亚群分布失衡相关,CD3⁺T 细胞、CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞在免疫应答中起重要作用。

关键词: 结核; T 淋巴细胞亚群; 流式细胞术

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.20.051

文献标识码: B

文章编号: 1673-4130(2012)20-2547-03

结核病发病过程伴随着依赖于细胞介导的免疫反应,有多种免疫细胞参与^[1-2]。此外,多种细胞因子也起着重要作用^[3]。然而,迄今结核病确切的发病机制还未完全阐明,同时结核感染可表现出不同部位发病,淋巴结核是肺外结核最常见的部位之一。淋巴细胞是机体最主要的免疫细胞群,外周血淋巴细胞亚群测定是反映机体免疫功能状态的重要指标,有助于感染类型的判断及了解体内免疫功能状态^[4]。为此,我们对 48 例淋巴结核患者外周血中 CD3⁺T 细胞、CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞、CD4⁺/CD8⁺ 等 T 淋巴细胞亚群的水平进行了检测,并与 60 例健康体检者进行比较,旨在进一步探讨结核病尤其是淋巴结核的免疫发病机制,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择本院传染科 2005 年 12 月至 2011 年 12 月期间的淋巴结核住院患者共 48 例为患者组。入选标准为:淋巴结核穿刺涂片结核分枝杆菌阳性、抗酸染色阳性或淋巴结核活病理学确诊满足至少 1 项,所有病例均无免疫系统疾病史或近 1 个月内未使用过糖皮质激素等免疫抑制剂。其中男 29 例、女 19 例,年龄 15~59 岁,平均(40.6±8.7)岁。48 例患者中诊断为单纯性淋巴结核 30 例,合并浸润型肺结核 13 例,合并结核性胸膜炎 3 例,同时合并浸润型肺结核、结核性胸膜炎

2 例。对照组为在本院体检中心结核菌素纯蛋白衍生物 (PPD)皮试结果阴性的 60 名健康体检者,且近期无结核病接触史。其中男 36 名,女 24 名,年龄 21~58 岁,平均(38.3±8.5)岁。两组间年龄、性别等差异无统计学意义 ($P > 0.05$),具有可比性。

1.2 仪器与试剂 使用 Coulter Epics XL 流式细胞仪(美国 Beckman Coulter 公司)。试剂采用法国 Immunotech 公司的三色荧光标记的 CD3、CD4、CD8 的单克隆抗体,OptiLyse C 溶血素原液,以及自备的 PBS 液体。

1.3 方法 所有入选者抽取外周血 2 mL,使用 EDTA 抗凝。采用流式细胞仪检测 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ 等 T 细胞亚群水平。在分离管中加入 20 μL 荧光标记的单克隆抗体,再加入 100 μL 全血,混匀,室温避光孵育 15~30 min,加入 2 mL 溶血素,振荡混匀,避光室温孵育 10 min,1 000 r/min 离心 5 min,弃上清液,混匀,加入 2 mL 磷酸盐缓冲液 (PBS),1 000 r/min 离心 5 min,弃上清液,再加入 0.5~1 mL 磷酸盐缓冲液重悬细胞,即可上机检测。

1.4 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计软件包进行分析,计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间采用 *t* 检验,计数资料组间比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。