

论著 · 临床研究

Ki67、MMP-1、MMP-2 在鼻咽癌中的表达及意义*

谢凤梅, 欧阳绍基

(南方医科大学第五附属医院耳鼻咽喉科, 广东广州 510900)

摘要:目的 研究 Ki67、基质金属蛋白酶(MMP)-1、MMP-2 在鼻咽癌中的表达及意义。方法 收集 2016 年 6 月至 2017 年 6 月在该院确诊为鼻咽癌的活检组织标本 79 例作为鼻咽癌组, 同期选择 40 例鼻咽慢性炎组织标本为鼻咽慢性炎组, 采用免疫组织化学法检测两组切片组织中 Ki67、MMP-1、MMP-2 表达。结果 鼻咽癌组织中 Ki67、MMP-1 及 MMP-2 阳性表达率均明显高于鼻咽慢性炎组($P<0.05$), 且鼻咽癌颈部淋巴转移组阳性表达率均明显高于非转移组($P<0.05$)。经 Spearman 相关分析, Ki67 表达与 MMP-1、MMP-2 表达均为正相关($r_1=0.205, P<0.05; r_2=0.140, P<0.05$), MMP-1 表达与 MMP-2 呈正相关($r=0.129, P<0.05$)。结论 在鼻咽癌组织中 Ki67、MMP-1、MMP-2 均为高表达, 且三者表达均呈正相关, 在鼻咽癌的发生发展以及淋巴结转移中起协同作用, 可对鼻咽癌早期诊断及预后提供有利的参考价值。

关键词:鼻咽癌; Ki67; 基质金属蛋白酶

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.15.018 **中图法分类号:**R446.6

文章编号:1673-4130(2018)15-1857-04 **文献标识码:**A

Expression of Ki67, MMP-1, MMP-2 in nasopharyngeal carcinoma and its significance*

XIE Fengmei, OUYANG Shaoji

(Department of Otorhinolaryngology, the Fifth Affiliated Hospital of Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong 510900, China)

Abstract: **Objective** To study the expression of Ki67, matrix metalloproteinases(MMP)-1, MMP-2 in nasopharyngeal carcinoma and its significance. **Methods** 79 patients of specimen of biopsy tissue of nasopharyngeal carcinoma who received therapy from June 2016 to June 2017 in our hospital were selected as research objects as nasopharyngeal carcinoma group, at the same time choose 40 cases with nasopharyngeal chronic inflammatory tissue samples for nasopharyngeal chronic inflammation group, the two groups of biopsy tissue immune histochemical method testing of Ki67, MMP-1, expression of MMP-2. **Results** Nasopharyngeal carcinoma tissues Ki67, MMP 1 and MMP-2 positive expression rate of chronic infection group were significantly higher than that of nasopharyngeal($P<0.05$), the positive expression rate of nasopharyngeal carcinoma and cervical lymph node metastases group were significantly higher than the shift group($P<0.05$). According to Spearman correlation analysis, expression of Ki67 was positively correlated with mmp-1 and mmp-2 expression ($r_1=0.205, P<0.05; r_2=0.140, P<0.140$), the expression of MMP-1 was positively related with MMP-2 ($r=0.129, P<0.05$). **Conclusion** Ki67 in nasopharyngeal carcinoma tissue, MMP-1, MMP-2 are high expression, expression are positively correlated, and three in the development and lymph node metastasis of nasopharyngeal carcinoma synergy, can provide beneficial reference for early diagnosis and prognosis of nasopharyngeal carcinoma value.

Key words: nasopharyngeal carcinoma; Ki67; matrix metalloproteinases

鼻咽癌是我国高转移性的恶性肿瘤之一, 在疾病的早期则已发生了侵袭和转移, 其中最为常见的转移部分则为颈部淋巴结, 患者的预后则与癌细胞的增殖以及转移潜能具有密切的关系^[1]。临床显示, 基底膜的突破则为肿瘤细胞转移、侵袭最初也是最关键的阶

段。Ki67 为一种核内大分子蛋白质, 主要反映细胞的增殖状态, 且只在增殖细胞中有所表达^[2]; 基质金属蛋白酶(MMP)-1 与 MMP-2 均为 MMPs 家族中成员, 是一种锌依赖性蛋白水解酶, 可降解多种细胞外基质与基底膜分子^[3]。据有关研究显示, MMPs 在众

* 基金项目: 广东省卫计委基金项目(A2014397)。
作者简介: 谢凤梅, 女, 主治医师, 主要从事耳鼻咽喉科相关的研究。
本文引用格式: 谢凤梅, 欧阳绍基. Ki67、MMP-1、MMP-2 在鼻咽癌中的表达及意义[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(15): 1857-1859.

多肿瘤组织中呈高表达,在肿瘤的发展已经侵袭阶段起到了重要的作用^[4]。众多学者认为肿瘤的侵袭、转移与 Ki67、MMP-1 及 MMP-2 异常表达有一定关系,目前关于鼻咽癌侵袭、转移与 Ki67、MMP-1 及 MMP-2 三者之间的关系研究较为少见。本研究则使用免疫组织化学法对 79 例鼻咽癌组织 Ki67、MMP-1 及 MMP-2 的表达进行观察,并分析其之间存在的相关性,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2016 年 6 月至 2017 年 6 月在本院确诊为鼻咽癌的活检组织标本 79 例作为鼻咽癌组(均诊断为鼻咽非角化性癌),纳入标准:(1)术前均未接受放化疗等抗癌治疗;(2)临床与病理资料完整。其中男 45 例,女 34 例,年龄 21~67 岁,平均(43.32±5.53)岁;其中 48 例伴有颈部淋巴结转移,31 例无淋巴结转移。同期选择 40 例鼻咽慢性炎组织标本为鼻咽慢性炎组,其中男 21 例,女 19 例,年龄 22~65 岁,平均(40.21±4.21)岁。两组患者在性别、年龄方面比较存在可比性。

1.2 方法 两组标本均经 10%中性甲醛液固定,进行石蜡包埋,连续切片。采用免疫组织化学法检测两组切片组织中 Ki67、MMP-1、MMP-2 表达。鼠抗人 Ki67、MMP-2,兔抗人 MMP-1 单克隆抗体及免疫组化试剂盒等均购于上海宾智生物科技有限公司。全称严格照试剂盒说明进行操作,PBS 代替一抗作为阴性对照组。石蜡切片脱蜡、梯度水化,进行高压抗原修复后于室温冷却,使用 3%过氧化氢孵育 20 min 后,滴加正常羊血清于其中再次孵育 20 min。之后滴加 1:100 工作浓度的 Ki67、MMP-1、MMP-2 抗体,

放置温度为 4℃环境中过夜,于次日滴加 1:100 的生物素标记二抗,室温孵育 15 min,滴加 1:100 辣根过氧化物没标记的卵白素后,再次孵育 15 min 后,进行染色处理,使用中性树脂封片。

1.3 结果判断 3 个指标均以细胞膜或(和)细胞浆出现棕黄色颗粒为阳性细胞限号,由统一的两位医师在高倍显微镜下随机选取 5 个不同区域计数,根据棕黄色阳性信号的强弱与面积进行判断。阴性(-):染色阴性或阳性细胞比例等于 10%或以下;弱阳性(+):阳性细胞比例为 10%~25%,染色淡黄;中度阳性(++):阳性细胞比例为 25%~50%,染色黄色;强阳性(+++):阳性细胞比例大于 50%,染色黄至棕色。阳性率=(弱阳性+中度阳性+强阳性)×例数/总例数×100%。

1.4 统计学处理 本研究数据选择 SPSS18.0 进行统计,计数资料采用 χ^2 检验,并对 Ki67、MMP-1、MMP-2 之间采用 Spearman 等级相关分析,当 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Ki67、MMP-1 及 MMP-2 表达情况分析 鼻咽癌组织中 Ki67、MMP-1 及 MMP-2 阳性表达率分别为 70.89%、78.48%、64.56%,均明显高于鼻咽慢性炎组织中的阳性表达率,比较差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

2.2 鼻咽癌颈部淋巴结转移与非转移 Ki67、MMP-1 及 MMP-2 表达情况分析 鼻咽癌颈部淋巴转移组 Ki67、MMP-1 及 MMP-2 阳性表达率分别为 83.33%、89.58%、79.17%,均明显高于非转移组阳性表达率,比较差异有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

表 1 鼻咽部不同病变组织 Ki67、MMP-1 及 MMP-2 表达情况

组别	n	Ki67					MMP-1					MMP-2				
		-	+	++	+++	阳性[n(%)]	-	+	++	+++	阳性[n(%)]	-	+	++	+++	阳性[n(%)]
鼻咽慢性炎组	40	35	3	2	0	5(12.50)	26	10	4	0	14(35.00)	30	7	3	0	10(25.00)
鼻咽癌组	79	23	9	20	27	56(70.89)	17	13	32	17	62(78.48)	28	13	20	18	51(64.56)
χ^2						36.232					21.755					16.631
P						0.000					0.000					0.000

表 2 鼻咽癌颈部淋巴结转移与非转移 Ki67、MMP-1 及 MMP-2 表达情况

组别	n	Ki67					MMP-1					MMP-2				
		-	+	++	+++	阳性[n(%)]	-	+	++	+++	阳性[n(%)]	-	+	++	+++	阳性[n(%)]
转移组	48	8	4	12	24	40(83.33)	5	7	10	26	43(89.58)	10	9	12	17	38(79.17)
非转移组	31	15	5	8	3	16(51.61)	12	10	7	2	19(61.29)	18	6	4	3	13(41.94)
χ^2						9.183					8.928					11.411
P						0.002					0.003					0.001

2.3 鼻咽癌中 Ki67、MMP-1 及 MMP-2 三者表达关系 经 Spearman 相关分析,Ki67 表达与 MMP-1、

MMP-2 表达均为正相关($r_1=0.205,P<0.05;r_2=0.140,P<0.05$),且 MMP-1 表达与 MMP-2 同样存

在正相关($r=0.129, P<0.05$),详见表 3~5。

表 3 鼻咽癌中 Ki67 与 MMP-1 表达关系(n)

MMP-1	Ki67				r	P
	—	+	++	+++		
—	14	1	2	0	0.205	0.000
+	4	5	4	1		
++	3	3	11	5		
+++	3	0	3	20		

表 4 鼻咽癌中 Ki67 与 MMP-2 表达关系(n)

MMP-2	Ki67				r	P
	—	+	++	+++		
阴性	8	2	3	1	0.140	0.000
+	4	3	2	4		
++	7	2	4	9		
+++	7	5	3	8		

表 5 鼻咽癌中 MMP-1 与 MMP-2 表达关系(n)

MMP-1	MMP-2				r	P
	—	+	++	+++		
阴性	6	5	6	0	0.129	0.000
+	3	3	6	3		
++	2	2	4	15		
+++	1	1	2	13		

3 讨 论

鼻咽癌多发于我国南方部分省份,其发病率在 0.001%以上,目前临床对其发病机制尚未明确,但普遍认为与环境、遗传、病毒因素有一定关系^[5]。因鼻咽部的解剖位置较为特殊,在早期并没有典型症状,易被患者忽视,多数患者在确诊时已存在淋巴结转移,其治疗效果较差。据临床统计,鼻咽癌 5 年生存约为 78%,绝大多数患者死亡原因为肿瘤的远处转移以及局部复发^[6]。而恶性肿瘤的转移与侵袭与肿瘤细胞的生长繁殖具有密切的关系。因此,对肿瘤细胞的增殖状态进行评价,对其危害性进行准确的判断具有重要的临床意义。

Ki67 是一种与细胞增殖相关的抗原,是目前临床较为肯定的核增殖标志基因,且与细胞周期具有密切的关系,在细胞周期 G1 期开始表达,在 S 期已经 G2 期表达增加,表达高峰为 M 期,而在 G0 其几乎不表达。据相关研究显示, Ki67 的半衰期较短,且脱离细胞周期后可迅速降解,因此可准备反映出肿瘤细胞的增殖速率,从而将 Ki67 的高表达作为细胞增殖活跃的重要标记,在肿瘤的转移以及预后均有重要影响^[7]。有学者经研究发现,在喉癌有淋巴结转移患者的 Ki67 阳性表达率要明显高于非淋巴结转移患者^[8]。而本研究结果也显示,在鼻咽慢性炎组别中 Ki67 阳性表达率要明显低于鼻咽癌组织,提示 Ki67

参与了鼻咽上皮的增殖与恶性转化,可作为鉴别鼻咽肿瘤物的参考指标之一。同时本研究对非淋巴结转移和转移组织中的 Ki67 表达进行分析,发现前者表达明显低于后者,说明 Ki67 可促进鼻咽癌的淋巴结转移,从而对患者预后造成影响。

有关文献显示,恶性肿瘤可自身分泌多种丝氨酸蛋白酶,如 MMPs 可通过降解众多的基质物质,从而对细胞外基质以及基底膜造成破坏,促进了肿瘤细胞的转移与侵袭^[9]。MMP-1 为间质胶原酶,主要降解 I、II 及 III 型胶原,从而加速肿瘤的转移。国内外均有研究报道,在多种恶性肿瘤中 MMP-1 呈高表达,与肿瘤的侵袭转移密切相关^[10-12]。MMP-2 属于 IV 型胶原酶,可通过降解 IV、V 型胶原,从而参与肿瘤新生血管的形成,还可调节细胞黏附。另有学者通过研究比较了头颈癌组织中部分 MMPs 家族成员的表法变化,结果发现在鼻咽癌组织中, MMP-1 与 MMP-2 表达明显增强^[13]。从本研究结果可见,鼻咽癌组织中 MMP-1、MMP-2 的阳性表达率明显高于鼻咽慢性炎组织,且鼻咽癌淋巴结转移患者 MMP-1、MMP-2 表达要强于非转移患者,提示 MMP-1、MMP-2 的表达与淋巴结转移相关。

目前众多临床研究表明,恶性肿瘤的发生发展是在多基因的共同作用所形成的结果^[14-16]。本研究发现, Ki67 与 MMP-1、MMP-2 表达均呈正相关, MMP-1 与 MMP-2 表达同样存在正相关,与相关文献结论一致,说明 Ki67、MMP-1、MMP-2 三者协同增强了癌细胞与细胞外基质的黏附能力,同时加强了其向周围组织浸润的能力,促进了鼻咽癌颈部颈部淋巴结的转移。

4 讨 论

在鼻咽癌组织中 Ki67、MMP-1、MMP-2 均为高表达,且三者表达均呈正相关,在鼻咽癌的发生发展以及淋巴结转移中起协同作用,可对鼻咽癌早期诊断及预后提供有利的参考价值。

参考文献

[1] 管振祺,何凤屏,邱世洁,等. EB 病毒 DNA 定量检测在鼻咽癌临床分期中的诊断价值[J]. 国际检验医学杂志, 2016,37(21):2961-2963.

[2] LI L,JIANG G,CHEN Q,et al. Ki67 is a promising molecular target in the diagnosis of cancer[J]. Mol Med Rep,2015,11(3):1566-1572.

[3] ZHU D, YE M, ZHANG W. E6/E7 oncoproteins of high risk HPV-16 upregulate MT1-MMP, MMP-2 and MMP-9 and promote the migration of cervical cancer cells[J]. Int J Clin Exp Pathol,2015,8(5):4981-4989.

[4] SMANE-FILIPOVA L, PILMANE M, AKOTA I. MMPs and TIMPs expression in facial tissue of children with cleft lip and palate[J]. Bio med Pap Olom,2016,160(4): 538-542.

(下转第 1863 页)

沟通,及时复查,杜绝漏报和错报,信息科完善 LIS 系统,提升了临床对危急值的辨识度。检验科不断分析总结,有效调整危急值管理制度,即使检验报告未完全出结果,一旦发现危急值项目能第一时间报告给临床,使患者获得最佳救治时机,医院质量管理部门也定期对危急值进行抽查有无漏报、错报、漏登现象,重点监督管理临床、医技科室,检查其危急值管理制度的执行情况,使危急值管理制度真正适合医院实际情况,保证危急值报告和处置行为及时准确^[17]。通过各种努力,患者满意度上升。

4 结 论

检验与临床是一家,公不离婆,秤不离砣,只有建立有效的沟通,加大危急值管理,才能保障患者的生命安全,不断提高医疗质量水平。

参考文献

[1] 李莉. 浅谈检验科室与临床科室的相互协助对诊断与治疗的重要性[J]. 中国医药指南, 2014, 9(24): 385.

[2] LUNDBERG C D. When to panic over abnormal value [J]. MLO Med Lab Obs, 1972, 4(1): 47-54.

[3] 温婷晔. 2011-2015 年住院前十位恶性肿瘤疾病构成分析[J]. 中外医学研究, 2016, 14(34): 138-140.

[4] 潘建华, 罗丹. 检验危急值的回顾分析与评估[J]. 中国医药科学, 2016, 6(1): 158-161.

[5] 李嫚, 甘宁, 张翔. 2014 年湖北省恶性肿瘤发病与死亡分析[J]. 中国老年学杂志, 2016, 36(18): 4577-4579.

[6] 李顺君, 黄文芳. 规范临床检验危急值在检验科质量体系中的重要性[J]. 实用医技杂志, 2012, 19(5): 496-498.

[7] 张鸿伟, 李海勤, 熊林怡. 个性化检验危急值实施后漏报情况的调查研究[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(18): 2722-2724.

[8] 苏良香, 张建平, 陈志祥, 等. 检验科危急值的临床应用[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(17): 2169-2170.

[9] 李莲, 管学平, 朱辉. 检验危急值报告现状与分析[J]. 检验医学与临床, 2013, 10(14): 1878-1880.

[10] 艾秀华. 急诊化验危急值报告应用效果[J]. 中华现代护理杂志, 2011, 17(5): 590-591.

[11] ANJ T, BARTH J H. A survey of laboratory "critical (alert) limits" in the UK [J]. Ann Clin Biochem, 2003, 40 (Pt2): 181-184.

[12] PIVA E, SCIACOVELLI L, ZANINOTTO M, et al. Evaluation of effectiveness of a computerized notification system for reporting critical values [J]. Am J Clin Pathol, 2009, 131(3): 432-441.

[13] 陈杏媛, 许红军. 浅谈本院危急值报告制度的建立与意义[J]. 实验与检验医学, 2016, 34(2): 194-195.

[14] 张玲, 肖金生, 杨大金. 急诊科对检验危急值反馈系统的改进及效果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(17): 2170.

[15] 尹莉莉. 检验科危急值报告制度的建立和临床应用[J]. 实用医技杂志, 2014, 21(9): 1014-1015.

[16] 甘俊丽, 谭艺真, 刘玲, 等. 提高住院患者急诊标本运送质量[J]. 中国卫生质量管理, 2016, 23(4): 43-45.

[17] 文兴东. 危急值在临床检验质量体系中的重要性探究[J]. 吉林医学, 2013, 34(2): 399.

(收稿日期: 2018-01-15 修回日期: 2018-03-29)

(上接第 1859 页)

[5] 黄祥, 曲超, 姜新, 等. 鼻咽癌的治疗进展[J]. 中国老年学杂志, 2015, 35(11): 3159-3161.

[6] 刘凯, 韩艳艳, 马斌林. 鼻咽癌调强适形放疗 137 例远期疗效及预后因素分析[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2013, 27(21): 1177-1183.

[7] LIU J J, ZHANG M, ROSE B, et al. Ki67 expression has prognostic significance in relation to human papillomavirus status in oropharyngeal squamous cell carcinoma [J]. Asia Pac J Clin Oncol, 2014, 10(8): 180-181.

[8] 王菊香, 杨宝良, 裴士庚, 等. Survivin 与 p53 及 Ki67 蛋白在喉癌组织中的表达及相关性[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2015, 29(17): 1545-1548.

[9] 胡亚威. RECK 和基质金属蛋白酶与恶性肿瘤预后的研究进展[J]. 医学研究生学报, 2013, 26(3): 330-333.

[10] POPLINEAU M, SCHNEKENBURGER M, DUFER J A, et al. The DNA hypomethylating agent, 5-aza-2-Deoxycytidine, enhances tumor cell invasion through a transcription-dependent modulation of MMP-1 expression in human fibrosarcoma cells [J]. Mol Carcinog, 2015, 54(1): 24-34.

[11] 余红, 叶贤伟, 万自芬, 等. Snail1 和 MMP-1 在非小细胞肺癌表达的临床意义[J]. 重庆医学, 2012, 41(28): 2919-2921.

[12] 朱秀丽, 郭青玉, 温德升, 等. 基质金属蛋白酶-1 在人涎腺腺样囊性癌细胞中的表达[J]. 实用口腔医学杂志, 2012, 28(3): 324-327.

[13] LI X, LIN Y, HUANG W, et al. Zoledronic acid inhibits proliferation and impairs migration and invasion through downregulating VEGF and MMPs expression in human nasopharyngeal carcinoma cells [J]. Med Oncol, 2012, 29 (2): 714-720.

[14] YANG J, LI L, YIN X, et al. The association between gene polymorphisms and risk of nasopharyngeal carcinoma [J]. Med Oncol, 2015, 32(1): 398.

[15] 李晓青, 冯玉梅. 基于多基因表达水平的乳腺癌预后预测研究进展[J]. 中国肿瘤临床, 2013, 40(13): 807-810.

[16] 项芳芳, 毛高平. 大肠癌与抑癌基因相关性的研究现状[J]. 世界华人消化杂志, 2012, 20(5): 40-44.

(收稿日期: 2018-01-15 修回日期: 2018-04-21)