

肺癌组织中 MMP-2、MMP-9 的表达水平及与病理参数和转移的关系分析*

明帮春

(十堰市太和医院/湖北医药学院附属医院肿瘤科,湖北十堰 442000)

摘要:目的 分析肺癌组织中基质金属蛋白-2(MMP-2)、MMP-9 的表达水平及与病理参数和转移的关系。方法 选取 2016 年 7 月至 2017 年 7 月该院收治的 96 例肺癌患者癌组织、癌旁正常肺组织为研究样本,并将 40 例肺部良性病变者的肺部良性组织作为对照,比较 3 种组织 MMP-2、MMP-9 蛋白阳性率及 mRNA 表达水平,分析肺癌患者 MMP-2、MMP-9 蛋白阳性率与其病理参数、转移的关系。结果 癌组织 MMP-2、MMP-9 蛋白阳性率高于癌旁组织、良性组织,差异有统计学意义($P < 0.05$),癌旁组织、良性组织 MMP-2、MMP-9 蛋白阳性率比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);癌组织 MMP-2、MMP-9 mRNA 表达水平明显高于癌旁组织、良性组织,癌旁组织、良性组织 MMP-2、MMP-9 mRNA 表达水平比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);肺癌患者 MMP-2、MMP-9 蛋白阳性率与其肿瘤直径、TNM 分期、肿瘤位置、是否行化疗、分化程度、是否发生淋巴结转移或远处转移密切相关($P < 0.05$)。结论 肺癌组织中 MMP-2、MMP-9 表达水平高于癌旁组织及正常肺组织,其表达水平与肿瘤直径、TNM 分期、肿瘤位置、是否行化疗、分化程度、是否发生淋巴结转移或远处转移有关。

关键词:肺癌; 癌组织; 基质金属蛋白-2; 基质金属蛋白-9; 病理参数; 转移

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.22.014 **中图法分类号:**R734.2

文章编号:1673-4130(2018)22-2774-04 **文献标识码:**A

Expression levels of MMP-2 and MMP-9 in lung cancer tissues and their relationship with pathological parameters and metastasis*

MING Bangchun

(Department of Oncology, Shiyan Taihe Hospital/Affiliated Hospital of Hubei Medical College, Shiyan, Hubei 442000, China)

Abstract: Objective To analyze the expression levels of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and MMP-9 in lung cancer tissues and their relationship with pathological parameters and metastasis. **Methods** The cancer tissues and adjacent normal lung tissues of 96 cases of lung cancer patients from July 2016 to July 2017 in our hospital were the samples for the study, and the benign lung tissues of 40 patients with benign lung disease were as the control. The protein positive rates and mRNA expression levels of MMP-2 and MMP-9 were compared among the three tissues, and the relationship between the protein positive rates of MMP-2 and MMP-9 in lung cancer patients and their pathological parameters and metastasis were analyzed. **Results** The protein positive rates of MMP-2 and MMP-9 in the cancer tissues were higher than those in the adjacent tissues and benign tissues ($P < 0.05$), and there were significant differences in the above indexes between adjacent tissues and benign tissues ($P < 0.05$). The mRNA expression levels of MMP-2 and MMP-9 in the cancer tissues were significantly higher than those in the adjacent tissues and the benign tissues, and the difference was statistically significant in the above levels between the adjacent tissues and the benign tissues ($P < 0.05$). The protein positive rates of MMP-2 and MMP-9 in patients with lung cancer were closely related to tumor diameter, TNM stage, tumor location, whether chemotherapy was or not, differentiation degree, and whether lymph node metastasis or distant metastasis happened ($P < 0.05$). **Conclusion** The expression levels of MMP-2 and MMP-9 in lung cancer tissues are significantly higher than those in adjacent tissues and normal lung tissues. The ex-

* 基金项目:湖北省教育厅科学技术研究项目(B20122412)。

作者简介:明帮春,男,副主任医师,主要从事肿瘤方向研究。

本文引用格式:明帮春.肺癌组织中 MMP-2、MMP-9 的表达水平及与病理参数和转移的关系分析[J].国际检验医学杂志,2018,39

pression levels are correlated with tumor diameter, TNM stage, tumor location, whether chemotherapy is or not, differentiation degree, and whether lymph node metastasis or distant metastasis happens.

Key words: lung cancer; cancer tissues; matrix metalloproteinase-2; matrix metalloproteinase-9; pathological parameters; metastasis

肺癌是临床常见呼吸系统恶性肿瘤,随环境污染等问题严峻化,肺癌的发病率在世界范围内呈上升趋势;依据组织学类型常将肺癌大致分为小细胞肺癌、非小细胞肺癌(NSCLC),其中后者较发病率较高,约为所有类型肺癌的 85%,而高转移性为其高病死率的重要原因,分析其转移原因和相关因素意义重大^[1-2]。在肿瘤进展中,多种基因与蛋白表达失调,而基质金属蛋白酶(MMPs)为降解细胞外基质最为重要的蛋白水解酶,可通过诱导血管新生,并降解细胞外基质成分,继而促进肿瘤细胞扩散转移,其中 MMP-2、MMP-9 在肿瘤组织中高表达,而关于其在肺癌患者中表达水平及与病理参数、转移的关系研究较少^[3-4]。本文主要分析肺癌患者 MMP-2、MMP-9 蛋白及 mRNA 表达水平及其与病理参数、转移的关系,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2016 年 7 月至 2017 年 7 月本院收治的 96 例肺癌患者癌组织、癌旁正常肺组织为研究样本,均符合《2015 年肺癌诊疗指南:共识和争议》^[5]中相关诊断标准,其中男 46 例,女 50 例;年龄 44~63 岁,平均(52.40±5.63)岁;WHO 组织学分型:小细胞肺癌 43 例,NSCLC 53 例(鳞癌 28 例,腺癌 19 例,其他 6 例)。纳入标准:(1)经病理证实为肺癌,且拥有完整病理资料,术前均未行任何抗肿瘤治疗;(2)本研究经医院伦理委员会批准,且患者及其家属均知情同意并签署知情同意书。排除标准:(1)严重心脏病、高血压、糖尿病等器官系统性疾病者;(2)病理资料严重不足或不愿接受随访、已出现严重精神障碍者。并将 40 例肺部良性病变者的肺部良性组织作为对照,肺部良性病变者中男 19 例,女 21 例;年龄 41~65 岁,平均(52.34±5.65)岁,肺癌、肺部良性病变者在性别、年龄方面比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 仪器与试剂 仪器:Gel DOC 2000 凝胶电泳成像分析系统(美国 Bio Rad 公司)、9700 型 ABI PCR 仪(美国 ABI 公司)、NanoDrop2000 紫外分光光度计(美国 Thermo 公司)、DYY-6C 型电泳仪(北京市六一仪器厂)。试剂:MMP-2 多克隆抗体(美国 Immuno-way 公司, YT2798),MMP-9 单克隆抗体(美国 Immunoway 公司, YM0447)、抗体稀释液(中国中衫金桥公司)、兔抗人 SP3(美国 Santa cru 公司)、EDTA 修复液(迈新生物技术开发有限公司)、PBS 缓冲液(迈新生物技术开发有限公司)、普通 PCR 试剂盒(美

国 Thermo 公司, 2×Taq PCR Master Mix)、RNA 抽提试剂(美国 Thermo 公司, RNAiso Plus)、反转录试剂盒(美国 Thermo 公司)、荧光定量 PCR 试剂盒(美国 Thermo 公司)。

1.2.2 检测方法 (1)MMP-2、MMP-9 蛋白水平测定:将从手术室获得的新鲜肺癌组织标本、癌旁组织(远离肿瘤 5 cm 处)、良性组织,以手术刀切成 0.5 cm×0.5 cm 大小,应用 EDTA 和生理盐水反复冲洗后,加入新鲜配置的 10%福尔马林浸泡,后进行脱水、石蜡包埋、制片、HE 染色,采用免疫组织化学法检测 MMP-2、MMP-9 水平。结果判读:采用评分法,以光学显微镜下(×400)染色程度进行评分,阴性着色计 0 分,浅黄色(±)计 1 分,浅褐色(+)计 2 分,深褐色(++)计 3 分。(2)MMP-2、MMP-9 mRNA 水平测定:自-80℃冰箱中取出预先以 RNA 保存液处理好的组织,放入研磨器中,采用已灭菌的剪刀将组织快速剪碎,提取总 RNA,后进行逆转录、实时荧光定量 RT-PCR 反应,测定 MMP-2、MMP-9 mRNA 水平,所有引物均由上海生工生物工程有限公司合成。

1.3 观察指标 (1)比较 3 种组织 MMP-2、MMP-9 蛋白阳性率及 mRNA 表达水平;(2)分析肺癌患者 MMP-2、MMP-9 蛋白阳性率与其病理参数(性别、年龄、病理类型、肿瘤直径、TNM 分期、肿瘤位置、是否行化疗、分化程度)、转移(淋巴结转移或远处转移)的关系。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件处理数据,计数资料以率表示,采取 χ^2 检验,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用独立样本 t 检验,不同组织 MMP-2、MMP-9 mRNA 表达水平比较采用重复测量数据的方差分析(F 检验), $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 种组织 MMP-2、MMP-9 蛋白阳性率比较 癌组织 MMP-2、MMP-9 蛋白阳性率高于癌旁组织、良性组织,癌旁组织、良性组织 MMP-2、MMP-9 蛋白阳性率比较差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 3 种组织 MMP-2、MMP-9 蛋白阳性率比较[n(%)]

组织类型	n	MMP-2	MMP-9
癌组织	96	59(61.46)	57(59.37)
癌旁组织	96	25(26.04) ^a	27(28.12) ^a
良性组织	40	4(13.33) ^{ab}	2(6.67) ^{ab}

注:与癌组织比较,^a $P<0.05$;与癌旁组织比较,^b $P<0.05$

2.2 3 种组织 MMP-2、MMP-9 mRNA 表达水平比较 癌组织中 MMP-2、MMP-9 mRNA 表达水平较癌

旁组织、良性组织高,癌旁组织、良性组织中 MMP-2、MMP-9 mRNA 比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 肺癌患者 MMP-2、MMP-9 表达水平与其病理参数、转移的关系 肿瘤直径 ≥ 3 cm、TNM 分期为 III ~ IV 期、肿瘤位于右侧、未行化疗、分化程度低、淋巴结转移、远处转移的肺癌患者 MMP-2、MMP-9 蛋白阳性率高于肿瘤直径 < 3 cm、TNM 分期 I ~ II 期、肿瘤位于左侧、行化疗、分化程度中高、未发生淋巴结转移或远处转移者($P < 0.05$)。见表 3。

表 2 3 种组织 MMP-2、MMP-9 mRNA 表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

组织类型	n	MMP-2	MMP-9
癌组织	96	0.54 ± 0.06	0.46 ± 0.06
癌旁组织	96	0.24 ± 0.03 ^a	0.21 ± 0.04 ^a
良性组织	40	0.11 ± 0.02 ^{ab}	0.06 ± 0.01 ^{ab}
F		181.401	69.271
P		0.000	0.000

注:与癌组织比较,^a $P < 0.05$;与癌旁组织比较,^b $P < 0.05$

表 3 肺癌患者 MMP-2、MMP-9 表达水平与其病理参数、转移的关系[n(%)]

参数	类型	n	MMP-2			MMP-9		
			阳性率	χ^2	P	阳性率	χ^2	P
性别	男	46	27(58.70)	0.285	0.594	26(56.52)	0.298	0.585
	女	50	32(64.00)			31(62.00)		
年龄(岁)	≤ 55	60	34(56.67)	1.551	0.213	36(60.00)	0.026	0.872
	> 55	36	25(69.44)			21(58.33)		
病理类型	小细胞肺癌	43	24(55.81)	1.04	0.306	24(55.81)	0.410	0.522
	NSCLC	53	35(66.04)			33(62.26)		
肿瘤直径(cm)	< 3	56	26(46.43)	12.817	0.000	27(48.21)	6.940	0.008
	≥ 3	40	33(82.50)			30(75.00)		
TNM 分期	I ~ II	60	28(46.67)	14.779	0.000	30(50.00)	5.830	0.016
	III ~ IV	36	31(86.11)			27(75.00)		
肿瘤位置	左侧	52	26(50.00)	6.289	0.012	25(48.08)	6.004	0.014
	右侧	44	33(75.00)			32(72.73)		
是否行放疗	是	45	21(46.67)	7.824	0.005	20(44.44)	7.828	0.005
	否	51	38(74.51)			37(72.55)		
分化程度	中高	54	28(51.85)	4.809	0.028	22(40.74)	17.768	0.000
	低	42	31(73.81)			35(83.33)		
淋巴结转移	是	39	29(74.36)	4.615	0.032	28(71.79)	4.201	0.040
	否	57	30(52.63)			29(50.88)		
远处转移	是	25	21(84.00)	7.251	0.007	20(80.00)	5.961	0.015
	否	71	38(53.52)			37(52.11)		

3 讨 论

肺癌为发生于支气管黏膜上的一种恶性肿瘤,近年来我国肺癌发病率呈逐年上升趋势,其严重威胁人类健康及生命安全,而肿瘤侵袭与转移被认为是造成肺癌死亡的重要原因^[6-7]。MMP-2、MMP-9 均为 MMPs 家族成员,主要依赖锌离子以降解基底膜与细胞外基质,参与肿瘤侵袭、转移,其中 MMP-2 为非糖化明胶酶,可导致肿瘤细胞介导的细胞外基质降解,参与肿瘤新生血管形成、肿瘤细胞浸润与转移,而 MMP-9 为明胶酶 B,能降解明胶、弹性纤维、胶原(II、IV、V、VII、X),在多种恶性肿瘤中高表达,有报道显示,MMP-2、MMP-9 在结直肠癌中呈高表达,且

与其浸润深度、有无淋巴结转移、TNM 分期有关,可能在肿瘤发生、发展、浸润、转移中发挥重要作用^[8],但 MMP-2、MMP-9 在肺癌中的表达及相关研究较少。

本研究结果显示,肺癌癌组织 MMP-2、MMP-9 蛋白阳性率高于癌旁组织、良性组织,且癌组织 MMP-2、MMP-9 mRNA 表达水平也明显高于癌旁组织、良性组织,癌旁组织、良性组织 MMP-2、MMP-9 mRNA 表达水平比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),这与经庆玲^[9]的研究结果相近,可见在肺癌患者癌组织中 MMP-2、MMP-9 表达水平显著高于其癌旁组织及肺部良性病变者肺组织,这种差别提示

MMP-2、MMP-9 与肺癌发生、发展过程有关,原因在于肺癌细胞的生长及转移,需具备分解细胞基底膜及细胞外基质的能力,尤其是Ⅳ型胶原纤维,而 MMP-2、MMP-9 是降解Ⅳ型胶原的主要酶,可降解细胞外基质中各种蛋白成分及细胞基底膜,并调节肿瘤生长、促进肿瘤侵袭转移、促进新生血管形成及调节细胞黏附作用,因此在肺癌患者癌组织中可见 MMP-2、MMP-9 高表达^[10]。在与病理参数及转移关系方面,本次研究显示肿瘤直径 ≥ 3 cm、TNM 分期为Ⅲ~Ⅳ期、肿瘤位于右侧、未行化疗、分化程度低、淋巴结转移、远处转移的肺癌患者 MMP-2、MMP-9 蛋白阳性率高于肿瘤直径 < 3 cm、TNM 分期Ⅰ~Ⅱ期、肿瘤位于左侧、行化疗、分化程度中高、未发生淋巴结转移或远处转移者,史芳涛等^[11]也发现,MMP-2、MMP-9 在肿瘤直径 ≥ 3 cm、肿瘤转移、TNM 分期为Ⅲ~Ⅳ期、肿瘤位于右侧的肺癌患者中呈高表达,证实肺癌患者 MMP-2、MMP-9 表达水平与其肿瘤直径、病理分期、分化程度等病理特征及是否发生转移、接受化疗等有关,肿瘤直径越大、分期越高,其侵袭与转移的危险性越高,需要具备的分解细胞基底膜及细胞外基质能力越高,因此 MMP-2、MMP-9 表达水平升高,可将 MMP-2、MMP-9 作为常规检测,同时对于 MMP-2、MMP-9 表达较高者可加强随访、进行术后辅助化疗或使用 MMP-2、MMP-9 抑制剂,以缓解或降低肺癌侵袭与转移的可能性^[12-13]。此外也有学者发现,MMP-9 与肺癌患者预后存在一定关系,MMP-9 高表达者 5 年无复发生存率、总生存率分别为 16.4%、25.5%^[14],而本研究因样本量及随访条件有限,未对不同 MMP-2 和 MMP-9 表达水平患者预后情况进行分析,因此可据此进一步制定相关课题。SUBRAMANIYAN 等^[15]研究认为,MMP-2、MMP-9 的功能可能更趋多样性,如促进间质的血管生成、调节增殖进程等,因而关于 MMP-2、MMP-9 在肺癌患者中的表达可进一步扩大样本量研究。

4 结 论

肺癌癌组织中 MMP-2、MMP-9 表达水平高于癌旁组织及良性组织,且其表达水平与患者临床病理参数及转移存在密切关系,临床可将其作为治疗靶点开展治疗。

参考文献

[1] 魏文平,王芳,张丽华,等. 甲基转移酶 3 在非小细胞肺癌组织中的表达及其临床意义[J]. 中国临床研究,2017,30(6):748-751.

- [2] 于瑞莲,罗树春,陈琳,等. DNAX 热激蛋白家族 B8 基因对肺腺癌侵袭转移的作用及其可能的机制[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志,2017,24(8):845-850.
- [3] 杨光,赵佳佳,陈晏,等. Survivin、MMP-2 及 MMP-9 在甲状腺癌组织中表达及其意义[J]. 医学临床研究,2017,34(6):1072-1075.
- [4] 谭真. TMSG-1 与 MMP-2 在肺腺癌中的表达及其意义[D]. 青岛:青岛大学,2016.
- [5] 陆舜,虞永峰,纪文翔. 2015 年肺癌诊疗指南:共识和争议[J]. 解放军医学杂志,2016,41(1):1-6.
- [6] 解宝泉,王红阳,王袁,等. 老年肺癌患者血清低密度脂蛋白与 CYFRA21-1 水平及其相关性分析[J]. 中国临床研究,2017,30(1):23-26.
- [7] 韩琦,阮莎莎,伍钢. 血清中 MMP-9、TIMP-1 表达水平与肺癌病理特征的关系分析[J]. 实用癌症杂志,2016,31(1):35-38.
- [8] 陈翔,吴耀辉,陆宝华,等. MMP-2、MMP-9 在老年结直肠癌中的表达及与其临床病理特征的关系[J]. 实用癌症杂志,2015,30(12):1779-1781,1785.
- [9] 经庆玲. MMP-2、MMP-9、VEGF 在人非小细胞肺癌中的表达及其与临床病理特征的相关性分析[D]. 南宁:广西医科大学.
- [10] 黄丽萍. Livin 及 SDF-1、CXCR4、MMP-2、MMP-9 在肺癌组织中的表达及其与肺癌临床特征的关系探讨[D]. 福州:福建医科大学,2013.
- [11] 史芳涛,王庆锋. 凋亡抑制蛋白基因 Livin 及肿瘤转移相关基因在肺癌组织中的表达及其与肺癌临床特征的关系分析[J]. 癌症进展,2017,15(7):794-797.
- [12] AKTER H, PARK M, KWON O S, et al. Activation of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) by neurotensin promotes cell invasion and migration through ERK pathway in gastric cancer[J]. Tumor Biology, 2015, 36(8): 6053-6062.
- [13] 牛灵,董雅璐. 非小细胞肺癌中 IFT20、MMP-2 和 MMP-9 表达关系的研究[J]. 中华临床医师杂志:电子版,2015,9(10):187-189.
- [14] 彭海员,马杰,朱慧芳,等. MMP-9 与肺癌临床病理特征及预后的关系[J]. 临床和实验医学杂志,2016,15(4):322-325.
- [15] SUBRAMANIYAN J, KRISHNAN G, BALAN R A, et al. Carvacrol modulates instability of xenobiotic metabolizing enzymes and downregulates the expressions of PCNA, MMP-2, and MMP-9 during diethylnitrosamine-induced hepatocarcinogenesis in rats[J]. Mol Cell Biochem, 2014, 395(1/2): 65-76.

(收稿日期:2018-06-02 修回日期:2018-08-12)