

• 短篇论著 •

## 结直肠癌组织中 MMP-7 及 TS 表达与癌细胞侵袭生长的相关性\*

代祥军<sup>1</sup>, 吴国华<sup>2△</sup>

重庆大学附属三峡医院: 1. 肿瘤放疗消化病区; 2. 肿瘤放疗综合病区, 重庆 404000

**摘要:**目的 探讨结直肠癌患者组织中基质金属蛋白酶 7(MMP-7)及胸苷酸合成酶(TS)的表达与癌细胞侵袭性生长的关系。方法 选择 81 例结直肠癌组织标本(结直肠癌组)和 72 例结肠息肉、结肠炎组织标本(对照组)为研究对象。采用 qRT-PCR 法检测 MMP-7、TS 及癌细胞增殖蛋白[叉头盒蛋白 A1(FOXA1)、程序性细胞死亡基因 4(PDCD4)、Xklp2 靶蛋白(TPX2)]、侵袭相关蛋白[N-钙黏附素(N-CD)、上皮钙黏附素(E-CD)、Twist 相关蛋白(TWIST1)、Yes 相关蛋白(YAP)]水平。分析结直肠癌患者组织中 MMP-7、TS 水平与癌细胞增殖蛋白、侵袭相关蛋白的相关性。结果 结直肠癌组 MMP-7、TS、FOXA1、PDCD4、TPX2、N-CD、TWIST1、YAP 水平高于对照组( $P < 0.05$ ), E-CD 水平低于对照组( $P < 0.05$ )。Pearson 相关分析结果显示结直肠癌患者 MMP-7、TS 水平与 FOXA1、PDCD4、TPX2、N-CD、TWIST1、YAP 水平均呈正相关( $P < 0.05$ ), 与 E-CD 水平呈负相关( $P < 0.05$ )。结论 结直肠癌组织 MMP-7、TS 水平明显升高, 高表达 MMP-7、TS 与癌细胞侵袭性行为相关。

**关键词:**结直肠癌; 基质金属蛋白酶 7; 胸苷酸合成酶; 侵袭性

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2021.08.026

**中图分类号:**R735.3

**文章编号:**1673-4130(2021)08-1003-04

**文献标志码:**A

结直肠癌是全球高发的消化道恶性肿瘤之一, 全球每年新发直肠癌病例超过 120 万, 超过 50% 患者死亡, 病死率居恶性肿瘤第 3 位<sup>[1]</sup>。结直肠癌恶性程度较高, 易发生侵袭转移, 严重影响患者预后<sup>[2]</sup>。探讨结直肠癌细胞侵袭行为相关机制, 有助于为临床治疗和预后提供理论依据和指导。基质金属蛋白酶 7(MMP-7)是 MMPs 家族中参与降解细胞外基质的重要酶之一, 在恶性肿瘤中通过促使细胞突破基底膜和细胞外基质限制, 引发肿瘤细胞侵袭性行为的发生<sup>[3]</sup>。胸苷酸合成酶(TS)是合成胸苷酸的关键酶, 参与肿瘤细胞 DNA 合成, 与肿瘤浸润、侵袭转移、复发关系密切<sup>[4]</sup>。MMP-7、TS 在结直肠癌中的报道较多, 但与癌细胞侵袭生长相关的报道并不多见, 本研究拟通过检测 81 例结直肠癌患者组织中 MMP-7、TS 及癌细胞增殖蛋白、侵袭相关蛋白表达, 探讨 MMP-7、TS 与结直肠癌侵袭生长的关系, 以进一步明确 MMP-7、TS 在结直肠癌中的生物学行为特征, 为临床诊治提供参考。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 收集 2017 年 6 月至 2019 年 3 月重庆大学附属三峡医院(以下简称“本院”)肿瘤科收治

的 81 例经手术切除的结直肠癌组织标本(结直肠癌组)。纳入标准:(1)行结直肠癌根治手术, 术后病理学证实为结直肠癌;(2)临床资料完整;(3)年龄 18 岁以上。排除标准:(1)检查前已经接受手术、放疗或化疗等形式治疗;(2)合并其他部位肿瘤或结直肠转移瘤;(3)妊娠或哺乳期患者。结直肠癌组中男 49 例, 女 32 例; 年龄 53~69 岁, 平均(60.32±4.19)岁。另选择同期于本院门诊行肠镜检查的 72 例结肠息肉、结肠炎组织标本为对照组, 均于肠镜下取组织活检, 经 HE 染色排除癌变。其中男 41 例, 女 31 例; 年龄 50~67 岁, 平均(61.78±4.06)岁。两组年龄、性别构成比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。本研究获得本院伦理会批准, 患者及其家属均知情同意签署同意书。

**1.2 方法** 取制备好的石蜡组织标本, 加入二甲苯脱蜡后再用无水乙醇脱二甲苯, 而后切取 100 mg 组织标本匀浆研磨, 离心弃上清液。TRIzol(美国 Sigma 公司)法提取总 RNA, 检测纯度和完整性, 取 20  $\mu$ g RNA 标本, 莫洛尼鼠白血病病毒(M-MLV)逆转录酶(Epicentre 公司)将 RNA 逆转录为 cDNA。CFX96 实时荧光 PCR 仪(美国 Bio-Rad)检测 MMP-7、TS 以

\* 基金项目:重庆市自然科学基金面上项目(cstc2017jcyj-mxmX0868)。

△ 通信作者, E-mail:571742682@qq.com。

本文引用格式:代祥军, 吴国华. 结直肠癌组织中 MMP-7 及 TS 表达与癌细胞侵袭生长的相关性[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(8):

及癌细胞增殖蛋白[叉头盒蛋白 A1(FOXA1)、程序性细胞死亡基因 4(PDCD4)、Xklp2 靶蛋白(TPX2)]、侵袭相关蛋白[N-钙黏附素(N-CD)、上皮钙黏附素(E-CD)、Twist 相关蛋白 1(TWIST1)、Yes 相关蛋白(YAP)]表达。以 U6 为内参,相对定量法计算 MMP-7、TS,癌细胞增殖蛋白、侵袭相关蛋白在各组相对表达量,  $\Delta\Delta C_{t_{\text{目标相对表达量}}} = \Delta C_{t_{\text{目标表达}}} - \Delta C_{t_{U6}}$ 。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS25.0 录入数据并进行分析。正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用 Student-*t* 检验。计数资料采用百分数表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验。采用 Pearson 相关分析 MMP-7、TS 与癌细胞侵袭相关蛋白之间相关性。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结 果**

**2.1 结直肠癌组和对照组 MMP-7、TS 水平比较**

结直肠癌组 MMP-7、TS 水平高于对照组( $P < 0.05$ ),见表 1。

表 1 结直肠癌组和对照组 MMP-7、TS 水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	MMP-7	TS
结直肠癌组	81	8.35 ± 2.92	6.12 ± 1.21
对照组	72	2.01 ± 0.66	1.35 ± 0.57
<i>t</i>		18.013	30.563
<i>P</i>		<0.001	<0.001

**2.2 结直肠癌组和对照组癌细胞增殖蛋白、侵袭相关蛋白水平比较** 结直肠癌组 FOXA1、PDCD4、TPX2、N-CD、TWIST1、YAP 水平均高于对照组( $P < 0.05$ ),E-CD 低于对照组( $P < 0.05$ ),见表 2。

表 2 结直肠癌组和对照组癌细胞增殖蛋白、侵袭相关蛋白水平的比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	FOXA1	PDCD4	TPX2	N-CD	E-CD	TWIST1	YAP
结直肠癌组	81	5.16 ± 1.24	4.13 ± 0.76	4.91 ± 0.95	3.26 ± 0.69	0.54 ± 0.24	3.95 ± 0.75	4.01 ± 0.63
对照组	72	1.12 ± 0.54	0.97 ± 0.31	1.05 ± 0.21	1.15 ± 0.27	1.61 ± 0.42	0.92 ± 0.21	1.02 ± 0.29
<i>t</i>		25.567	32.921	33.741	24.337	19.612	33.135	36.933
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

**2.3 结直肠癌患者 MMP-7、TS 表达与癌细胞增殖蛋白、侵袭相关蛋白相关性** 相关分析显示,结直肠癌患者 MMP-7、TS 水平与 FOXA1、PDCD4、TPX2、N-CD、TWIST1、YAP 水平均呈正相关( $P < 0.05$ ),与 E-CD 水平呈负相关( $P < 0.05$ ),见表 3。MMP-7、TS 水平之间呈正相关( $r = 0.642, P < 0.001$ )。MMP-7 与 TWIST1、YAP 水平的相关系数高于 TS ( $Z = 11.340, 10.937, P < 0.001$ )。

表 3 结直肠癌患者 MMP-7、TS 水平与癌细胞增殖蛋白、侵袭相关蛋白的相关性分析

指标	MMP-7		TS	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
FOXA1	0.521	0.002	0.568	<0.001
PDCD4	0.595	<0.001	0.551	<0.001
TPX2	0.552	<0.001	0.595	<0.001
N-CD	0.593	<0.001	0.501	0.010
E-CD	-0.505	0.008	-0.567	<0.001
TWIST1	0.597	<0.001	0.512	0.006
YAP	0.557	0.005	0.513	<0.001

**3 讨 论**

结直肠癌早期无典型症状,确诊时多数患者处于

中晚期,失去根治手术机会,预后差<sup>[5]</sup>。侵袭性是癌细胞重要生物学特性,与肿瘤转移抑制基因、细胞外基质降解、上皮间质转化、微环境改变、新生血管形成、细胞黏附等因素有关<sup>[6]</sup>,了解与结直肠癌肿瘤侵袭机制相关的分子机制可遏制肿瘤进展,改善患者预后。

MMP-7 是具有基质降解活性和底物特异性的 MMPs,发挥调控细胞生长、分化和凋亡等作用<sup>[7]</sup>。TS 是在核酸代谢通路中起关键调节作用的限速酶,TS 过度表达可促使肿瘤细胞增殖,其水平反映肿瘤细胞增殖状态<sup>[8]</sup>。本研究结果显示,结直肠癌患者癌组织中 MMP-7、TS 水平增高,提示 MMP-7、TS 与结直肠癌的发病机制有关。MMP-7 具有广泛的蛋白水解活性,MMP-7 过表达可促使癌变,加速癌细胞增殖、浸润和转移<sup>[9]</sup>。TS 可能通过调节 p53 表达影响细胞周期,促使细胞恶变,加速细胞生长增殖<sup>[10]</sup>。

在癌细胞侵袭性生长过程中,多种增殖蛋白和侵袭相关蛋白均参与其中。FOXA1 通过调控 G1/S 细胞周期加速细胞增殖<sup>[11-12]</sup>。PDCD4 可抑制 G1 期增殖,参与癌细胞凋亡<sup>[13]</sup>。TPX2 作为一种微管相关蛋白,其异常表达可诱导细胞中心体异常扩增和恶性转化,并促进细胞增殖,影响细胞周期和凋亡<sup>[14]</sup>。上皮

间质转化是癌细胞增殖后获取向临近和远处组织转移能力的基础, E-CD、N-CD 作为上皮间质转化分子标志物, 在恶性肿瘤中 E-CD 表达减少, N-CD 表达增多, 导致细胞间极性降低, 癌细胞向邻近组织侵袭以及向淋巴结和远处转移<sup>[15]</sup>。TWIST1 是上皮间质转化信号通路的关键转录因子, 其高表达可促使恶性肿瘤的上皮间质转化和远处转移<sup>[16]</sup>。YAP 通过转录激活凝血酶敏感素 1/黏着斑激酶信号促进病灶粘连和肿瘤侵袭<sup>[17]</sup>。本研究结果显示, 结直肠癌组 FOXA1、PDCD4、TPX2、N-CD、TWIST1、YAP 水平均高于对照组, E-CD 水平低于对照组, 说明癌细胞增殖蛋白、侵袭相关蛋白改变与结直肠癌发生有关, 并验证了结直肠癌恶性增殖和侵袭的生物学特性。

相关分析结果显示, 结直肠癌患者 MMP-7、TS 水平与 FOXA1、PDCD4、TPX2、N-CD、TWIST1、YAP 水平均呈正相关( $P < 0.05$ ), 与 E-CD 水平呈负相关( $P < 0.05$ ), 说明 MMP-7、TS 与结直肠癌细胞侵袭行为有关。细胞外基质降解与肿瘤侵袭行为关系密切, 癌细胞通过穿透宿主细胞组织, 向邻近或远处组织侵袭涉及细胞外基质的破坏, MMP-7 作为基质降解活性较强的 MMPs 参与癌细胞增殖、侵袭过程<sup>[18]</sup>。GUO 等<sup>[18]</sup>报道显示 MMP-7 与宫颈癌盆腔淋巴结及腹主动脉旁淋巴结转移有关。结直肠癌局部复发、腹腔盆腔内播散病灶中 TS 基因表达增强, 肿瘤细胞 DNA 合成增加, 导致癌细胞加速生长、增殖, 引起肿瘤侵袭、播散<sup>[19]</sup>。TS 过度表达上调可能导致对 5 氟嘧啶耐药, 从而导致肿瘤复发和盆腔内转移<sup>[20]</sup>。进一步分析 MMP-7、TS 与癌细胞增殖蛋白、侵袭相关蛋白关联程度大小, 发现 MMP-7 与 TWIST1、YAP 蛋白表达相关系数高于 TS, TWIST1、YAP 蛋白均与癌细胞侵袭转移有关, 提示 MMP-7 可能在直肠癌细胞侵袭性生长过程中发挥更关键作用。本研究结果显示 MMP-7、TS 水平也呈正相关, 提示 MMP-7、TS 在结直肠癌侵袭行为中可能发挥协同作用。

综上所述, 结直肠癌患者癌组织中 MMP-7、TS 表达升高, 高表达 MMP-7、TS 可能参与癌细胞侵袭过程。MMP-7、TS 水平的检测可为结直肠癌病情评估提供参考。

## 参考文献

[1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2016[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(1): 7-30.  
[2] ALYSON L M, CAROLYN C, HALABI S, et al. Personalizing prognosis in colorectal cancer: A systematic review of the quality and Nature of clinical prognostic tools for

survival outcomes[J]. J Surg Oncol, 2017, 116(8): 969-982.

- [3] MICHAL V, LANGER D, VLADIMIR F, et al. Serum levels of TIMP-1 and MMP-7 as potential biomarkers in patients with metastatic colorectal cancer[J]. Int J Biol Markers, 2019, 34(3): 292-301.  
[4] MORI R, YOSHIDA K, MANABU F, et al. The inhibition of thymidine phosphorylase can reverse acquired 5FU-resistance in gastric cancer cells[J]. Gastric Cancer, 2019, 22(3): 497-505.  
[5] 徐伟, 宋志刚, 丁红, 等. 结直肠癌患者临床病理特征及预后的影响因素研究[J]. 现代生物医学进展, 2017, 17(34): 6692-6696.  
[6] 伊日贵. 肿瘤侵袭转移机制研究进展[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2014, 28(10): 937-939.  
[7] CHEN G L, SHEN T C, WEN-SHIN C, et al. The contribution of MMP-7 promoter polymorphisms to Taiwan lung cancer susceptibility[J]. Anticancer Res, 2018, 38(10): 5671-5677.  
[8] 武国焯, 冼磊, 莫俊贤, 等. 非小细胞肺癌组织 Twist、N-cadherin 表达及临床意义[J]. 山东医药, 2018, 58(12): 51-53.  
[9] PRYCYNICZ A, GRYKO M, NIEWIAROWSKA K, et al. Immunohistochemical expression of MMP-7 protein and its serum level in colorectal cancer[J]. Folia Histochem Cytobiol, 2013, 51(3): 206-212.  
[10] KAWAKAMI K. Prognostic role of thymidylate synthase polymorphisms in gastric cancer patients treated with surgery and adjuvant chemotherapy[J]. Clin Cancer Res, 2005, 11(10): 3778-3783.  
[11] XU Y, QIN L, SUN T, et al. Twist1 promotes breast cancer invasion and metastasis by silencing Foxa1 expression[J]. Oncogene, 2017, 36(8): 1157-1166.  
[12] 殷月玲, 于晓东. 甲状腺癌细针穿刺组织中 S100A13、FOXA1 表达量与细胞周期、细胞侵袭的相关性[J]. 海南医学院学报, 2018, 24(1): 71-74.  
[13] 谢茂云, 黄耀, 杨莉涛, 等. PDCD4 对甲状腺癌 SW579 细胞凋亡及成瘤能力的影响[J]. 海南医学, 2016, 27(23): 3790-3793.  
[14] LIANG Y, QI L, JUAN Y, et al. TPX2-p53-GLIPR1 regulatory circuitry in cell proliferation, invasion, and tumor growth of bladder cancer[J]. J Cell Biochem, 2018, 119(2): 1791-1803.  
[15] 肖磊, 黄昌浩, 袁伟杰, 等. 胃癌组织 YAP1、E-cadherin、N-cadherin 表达及临床意义[J]. 中国普通外科杂志, 2018, 27(4): 442-448.  
[16] MENG J, CHEN S, HAN J X, et al. Twist1 regulates vimentin through Cul2 circular RNA to promote EMT in hepatocellular carcinoma[J]. Cancer Res, 2018, 78(15): 4150-4162.

- [17] SHEN J, CAO B, WANG Y T, et al. Hippo component YAP promotes focal adhesion and tumour aggressiveness via transcriptionally activating THBS1/FAK signalling in breast cancer[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2018, 37(1): 175.
- [18] GUO H, DAI Y F, WANG A, et al. Association between expression of MMP-7 and MMP-9 and pelvic lymph node and para-aortic lymph node metastasis in early cervical cancer[J]. J Obste Gynaecol Res, 2018, 44(7): 1274-1283.
- [19] 李世拥, 于波, 安萍, 等. 胸苷酸合成酶基因表达与结肠直
- 短篇论著 •

肠癌复发的关系及其临床意义[J]. 中华外科杂志, 2000, 38(10): 781-783.

- [20] BAI W, WU Y, ZHANG P, et al. Correlations between expression levels of thymidylate synthase, thymidine phosphorylase and dihydropyrimidine dehydrogenase, and efficacy of 5-fluorouracil-based chemotherapy for advanced colorectal cancer[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(10): 12333-12345.

(收稿日期: 2020-09-19 修回日期: 2020-12-30)

## 2 型糖尿病合并 OSAHS 患者 miR-34a、SIRT1 水平的检测及意义\*

何金花, 刘丹枫, 高丽娟, 马红敏

石家庄市第二医院内分泌科, 河北石家庄 050000

**摘要:**目的 探讨 2 型糖尿病合并阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征(OSAHS)患者微小 RNA-34a(miR-34a)、沉默信息调节因子 1(SIRT1)的水平及意义。方法 选取 2018 年 4 月至 2020 年 3 月石家庄市第二医院收治的单纯 2 型糖尿病患者 70 例(单纯 2 型糖尿病组), 2 型糖尿病合并 OSAHS 患者 60 例(2 型糖尿病合并 OSAHS 组)为研究对象。采用实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)法检测所有研究对象血清 miR-34a 表达水平;采用酶联免疫吸附试验(ELISA)法检测血清中 SIRT1 水平;采用 Pearson 相关分析 miR-34a 与 SIRT1 的相关性;采用 ROC 曲线分析血清 miR-34a、SIRT1 单独及二者联合检测对 2 型糖尿病合并 OSAHS 的预测价值。结果 与单纯 2 型糖尿病组相比, 2 型糖尿病合并 OSAHS 组患者糖尿病病程较长( $P < 0.05$ ), 血清 miR-34a 表达水平、空腹血糖(FBG)水平及睡眠呼吸暂停低通气指数(AHI)较高( $P < 0.05$ ), SIRT1 水平较低( $P < 0.05$ )。miRtarBase 网站预测, miR-34a 与 SIRT1 存在结合位点;相关性分析显示, 血清 miR-34a 水平与 SIRT1 水平呈负相关( $P < 0.05$ )。ROC 曲线分析结果显示, miR-34a、SIRT1 水平单独检测诊断 2 型糖尿病合并 OSAHS 的曲线下面积(AUC)分别为 0.846、0.835, 二者联合检测对 2 型糖尿病合并 OSAHS 诊断的 AUC 为 0.935, 灵敏度为 87.10%, 特异度为 85.00%。结论 2 型糖尿病合并 OSAHS 患者血清 miR-34a 呈高表达, SIRT1 呈低表达, miR-34a 与 SIRT1 水平在临床上诊断 2 型糖尿病合并 OSAHS 具有一定的参考价值。

**关键词:** 2 型糖尿病; 阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征; miR-34a; 沉默信息调节因子 1

**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2021.08.027

**中图法分类号:** R766.7; R587.1

**文章编号:** 1673-4130(2021)08-1006-04

**文献标志码:** A

阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征(OSAHS)是常见的呼吸系统疾病,也是糖尿病常见的并发症<sup>[1-2]</sup>。2 型糖尿病患者长期处于高糖状态,可能会发生高糖毒性和脑细胞缺氧状态,从而损伤呼吸中枢神经系统,导致 OSAHS 发生<sup>[3]</sup>。有研究显示,敲除微小 RNA-34a(miR-34a)基因可激活 Notch1/低氧诱导因子-1 $\alpha$ (HIF-1 $\alpha$ )信号通路,减轻脑缺血再灌注对大鼠脑组织损伤和神经元凋亡的影响<sup>[4]</sup>。miR-34a 可通过靶向调节沉默信息调节因子 1(SIRT1)加重高糖状态

下骨髓间充质干细胞的衰老,从而促进糖尿病患者并发症发生<sup>[5]</sup>。由此推测 miR-34a 及 SIRT1 可能与 OSAHS 发生相关。本研究拟探讨 miR-34a、SIRT1 在 2 型糖尿病合并 OSAHS 患者血清中水平,以及二者单独及联合检测对 2 型糖尿病合并 OSAHS 的诊断价值,旨在为 2 型糖尿病合并 OSAHS 的治疗提供新靶点。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 2018 年 4 月至 2020 年 3 月石

\* 基金项目:河北省医学科学研究课题计划(20200141);河北省石家庄市科学技术研究与发展指导计划项目(191461053)。