

• 短篇论著 •

三阴性乳腺癌组织 MMP-9、PD-L1 及 OPN 的表达情况及相关性分析

冯得财¹, 钟惠婷¹, 刘少杰¹, 邹伟², 黄宇康^{1△}

广东省惠州市中心人民医院:1. 乳腺外科;2. 病理科, 广东惠州 516000

摘要:目的 探讨三阴性乳腺癌组织基质金属蛋白酶-9(MMP-9)、程序性死亡配体-1(PD-L1)及骨桥蛋白(OPN)的表达情况。方法 选取 2016 年 3 月至 2019 年 6 月该院收治的三阴性乳腺癌患者 74 例作为研究组,另选择同期收治的 41 例单纯乳腺增生患者作为对照组。两组均取病灶标本后,采用免疫组织化学染色法检测两组病理标本 MMP-9、PD-L1 及 OPN 阳性表达率,分析研究组中不同病理特征患者 MMP-9、PD-L1、OPN 表达情况,采用 Spearman 相关分析研究组患者 MMP-9、PD-L1、OPN 之间的相关性。结果 研究组 MMP-9、PD-L1 及 OPN 阳性表达率明显高于对照组($P < 0.05$);不同肿瘤最大径、TNM 分期、病理组织分级患者的 MMP-9 和 PD-L1 阳性表达率比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);不同淋巴结转移情况患者的 OPN、MMP-9、PD-L1 阳性表达率比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);不同肿瘤侵犯血管/神经情况患者的 MMP-9 阳性表达率比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);不同年龄、绝经情况、家族史患者的 OPN、MMP-9、PD-L1 阳性表达率比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。相关性分析显示,研究组患者 MMP-9、PD-L1、OPN 之间呈正相关($P < 0.05$)。结论 三阴性乳腺癌组织中 MMP-9、PD-L1 及 OPN 处于高表达状态,且三者高表达情况可能与肿瘤最大径、TNM 分期、病理组织分级、肿瘤转移、侵袭状态有关,检测三者表达情况有利于对患者肿瘤增殖、转移等情况进行辅助诊断,从而为临床治疗提供参考。

关键词:三阴性乳腺癌; 基质金属蛋白酶-9; 程序性死亡配体-1; 骨桥蛋白

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.15.025

中图法分类号:R737.9

文章编号:1673-4130(2021)15-1906-04

文献标志码:A

三阴性乳腺癌是指乳腺癌病理组织检查结果显示雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR)、人表皮生长因子受体-2(HER-2)均为阴性的乳腺癌^[1]。研究表明,三阴性乳腺癌患者发生肿瘤侵袭、远处转移的风险明显高于其他类型乳腺癌患者,预后较差^[2]。因此,为提高三阴性乳腺癌患者治疗有效率、更准确地预测患者预后,近年来三阴性乳腺癌敏感的生物标志物已成为临床研究热点。程序性死亡配体-1(PD-L1)是一种在多种肿瘤细胞表面均可表达的负性共刺激蛋白,它是程序性死亡分子 1(PD1)的配体,具有抑制 T 淋巴细胞活性的作用^[3]。但目前对于其在三阴性乳腺癌中的临床研究仍较少。另外,基质金属蛋白酶-9(MMP-9)也是一种与多种肿瘤发生侵袭、转移密切相关的分子,目前抑制 MMP-9 活性的药物研究得比较多^[4]。骨桥蛋白(OPN)是一种在人体中广泛分布的糖蛋白,与肿瘤发展进程有关。由此推测 OPN 与 MMP-9 可能与三阴性乳腺癌发生、发展有关。本研究对三阴性乳腺癌患者乳腺肿瘤组织 OPN、MMP-9、PD-L1 表达情况进行检测,探讨三者之间的相关性,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2016 年 3 月至 2019 年 6 月本院收治的 74 例三阴性乳腺癌患者作为研究组。纳入标准:(1)经病理组织学检查,符合原发性乳腺癌诊断标准^[5];(2)入组前未接受过任何放化疗及其他抗肿瘤治疗;(3)病理组织学检查 ER、PR、HER-2 阴性;(4)临床资料完整。排除标准:(1)合并其他部位肿瘤;(2)严重心、肝、肾功能障碍。另选择同期收治的 41 例单纯乳腺增生患者作为对照组。对照组患者年龄 27~65 岁,平均(51.25±4.38)岁;绝经情况:绝经 28 例,未绝经 13 例。研究组患者年龄 29~63 岁,平均(51.40±4.45)岁;绝经情况:绝经 50 例,未绝经 24 例。两组患者年龄、绝经情况比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。本研究获本院伦理委员会批准,所有患者及家属自愿签署知情同意书。

1.2 方法 两组均通过病理组织学检查留取乳腺肿瘤组织标本或乳腺增生标本,常规石蜡包埋后切片。采用免疫组织化学染色法检测标本中 OPN、MMP-9、PD-L1 表达情况,步骤严格按照试剂盒说明书进行。一抗均购自博士德生物工程有限公司。采用双盲法,

△ 通信作者, E-mail:hykhyk@163.com。

由两名不知道患者病理结果的病理医师进行评估。PD-L1 阳性表达于细胞膜或细胞质, MMP-9 与 OPN 阳性表达于细胞质。根据细胞着色程度及阳性细胞数积分之和进行评定: 镜下观察到细胞膜或细胞质着棕黄色或黄褐色为阳性细胞。无任何着色积 0 分, 着淡黄色积 1 分, 着棕黄色积 2 分、着深棕黄色积 3 分。高倍镜下 10 个视野中阳性细胞数 < 5% 积 0 分、5% ~ 25% 积 1 分、> 25% ~ 50% 积 2 分、> 50% 积 3 分。积分之和 ≤ 1 为阴性、> 1 为阳性。

1.3 观察指标 (1) 两组 OPN、MMP-9、PD-L1 阳性表达率; (2) 研究组中不同病理特征患者 OPN、MMP-9、PD-L1 阳性表达率; (3) 研究组患者 OPN、MMP-9、PD-L1 之间的相关性。

1.4 统计学处理 采用 SPSS22.0 统计软件分析数据, 计数资料以例数或率表示, 组间比较采用 χ^2 检验, 相关性分析采用 Spearman 相关, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组 OPN、MMP-9、PD-L1 阳性表达率比较 研究组 OPN、MMP-9、PD-L1 阳性表达率明显高于对照组, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 两组 OPN、MMP-9、PD-L1 阳性表达率比较[n(%)]				
组别	n	OPN	MMP-9	PD-L1
研究组	74	26(35.14)	54(72.97)	31(41.89)
对照组	41	1(2.44)	3(7.32)	6(14.63)
χ^2		14.835	38.417	7.919
P		<0.001	<0.001	0.005

2.2 研究组中不同病理特征患者 OPN、MMP-9、PD-L1 阳性表达率比较 不同肿瘤最大径、TNM 分期、病理组织分级患者的 MMP-9 和 PD-L1 阳性表达率比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 不同淋巴结转移情况患者的 OPN、MMP-9、PD-L1 阳性表达率比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 不同肿瘤侵犯血管/神经情况患者的 MMP-9 阳性表达率比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 不同年龄、绝经情况、家族史患者的 OPN、MMP-9、PD-L1 阳性表达率比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 研究组中不同病理特征患者 OPN、MMP-9、PD-L1 阳性表达率比较[n(%)]				
特征	n	OPN (n=26)	MMP-9 (n=54)	PD-L1 (n=31)
年龄				
≥35 岁	53	20(37.74)	41(77.36)	23(43.40)
<35 岁	21	6(28.57)	13(61.90)	8(38.10)
χ^2		0.007	0.590	0.106

续表 2 研究组中不同病理特征患者 OPN、MMP-9、PD-L1 阳性表达率比较[n(%)]

特征	n	OPN (n=26)	MMP-9 (n=54)	PD-L1 (n=31)
P		0.933	0.442	0.744
肿瘤最大径				
≤20 mm	25	7(28.00)	12(48.00)	5(20.00)
>20 mm	49	19(38.78)	42(85.71)	26(53.06)
χ^2		0.775	11.938	4.554
P		0.378	<0.001	0.032
绝经情况				
已绝经	50	18(36.00)	38(76.00)	21(42.00)
未绝经	24	8(33.33)	16(66.67)	10(41.67)
χ^2		0.051	0.010	0.001
P		0.822	0.920	0.978
TNM 分期				
I 期	16	4(25.00)	3(18.75)	3(18.75)
II 期	34	14(41.18)	29(85.29)*	13(38.24)
III 期	24	8(33.33)	22(91.67)*	15(62.50)*
χ^2		1.300	16.873	7.894
P		0.522	<0.001	0.019
病理组织分级				
I 级	13	5(38.46)	3(23.08)	2(15.38)
II 级	31	10(32.26)	24(77.42)#	11(36.67)
III 级	30	11(36.67)	27(90.00)#	18(60.00)#
χ^2		0.527	12.090	9.755
P		0.768	0.002	0.041
淋巴结转移				
是	52	24(46.15)	44(84.61)	28(53.85)
否	22	2(9.09)	10(45.45)	3(13.64)
χ^2		9.318	12.021	10.286
P		0.002	0.001	0.001
肿瘤侵犯血管/神经				
是	57	21(36.84)	48(84.21)	25(43.86)
否	17	5(29.41)	6(35.29)	6(35.29)
χ^2		0.317	15.887	0.395
P		0.573	<0.001	0.530
家族史				
有	42	16(38.10)	32(76.19)	17(40.48)
无	32	10(31.25)	22(68.75)	14(43.75)
χ^2		0.226	0.405	0.001
P		0.634	0.524	0.989

注: 与 TNM 分期 I 期比较, * $P < 0.05$; 与病理组织分级 I 级比较, # $P < 0.05$ 。

2.3 研究组患者 OPN、MMP-9、PD-L1 之间的相关

性 相关性分析显示, OPN、MMP-9 及 PD-L1 之间均呈正相关($P<0.05$)。见表 3。

指标	MMP-9		PD-L1	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
OPN	0.337	0.024	0.681	<0.001
MMP-9	—	—	0.312	0.037

注:—表示无数据。

3 讨 论

三阴性乳腺癌患者因缺乏 ER、PR、HER-2, 体内的激素受体及 HER-2 治疗的靶点也相应缺乏, 患者对常规内分泌治疗药物不敏感, 治疗后复发率也较高。肿瘤治疗的目的是提高免疫系统杀伤靶细胞的能力, 从而抑制癌细胞无限增殖。免疫系统中免疫细胞的激活需抗原与共刺激分子共同作用^[6], 三阴性乳腺癌患者免疫力低下, 推测是由于能激活免疫细胞的共刺激分子的作用被抑制, 导致 T 淋巴细胞无法正常活化、杀伤肿瘤细胞^[7]。

近年来抗 PD-L1 药物已在多种肿瘤治疗中得到应用:付鹏等^[8]报道, PD-L1/PD1 抗体在治疗非小细胞肺癌时的有效性较化疗方案更有优势。林莉等^[9]研究表示, PD-L1/PD1 抗体在治疗 B 细胞淋巴瘤中具有较好疗效。PD-L1 可与 T 淋巴细胞表面的 PD1 结合, 产生一种负调节信号, 直接抑制 T 淋巴细胞的活化, 使机体免疫功能降低, 肿瘤细胞发生免疫逃逸^[10]。基于这一理论, 本研究检测了三阴性乳腺癌组织中 PD-L1 的表达情况, 探讨 PD-L1 在三阴性乳腺癌发生、发展中的作用。MMP-9 属于基质金属蛋白酶(MMP)家族, 能水解细胞外基质, 促进肿瘤细胞发生侵袭、转移, MMP-9 抑制药物已在多种肿瘤的治疗中被证实有较好的应用价值^[11]。当乳腺癌继续进展, 肿瘤组织会逐渐向远处器官转移, 如常见的骨转移^[12]。OPN 作为一种骨基质糖蛋白, 其可促进破骨细胞对骨质的吸收, 进而造成异常骨基质吸收, 在乳腺肿瘤细胞发生远处转移过程中起潜在的促进作用^[13]。OPN 在早晚期肿瘤、肉芽肿炎症等病变组织中均可发挥重要作用。从 OPN 结构分析, 其具有 3 个 MMP 酶切位点^[14], 这意味着 MMP 可能与 OPN 之间存在某种相互作用机制。冯婉雯等^[15]研究发现, OPN、MMP-9 表达水平与宫颈癌预后密切相关。

本研究对单纯乳腺增生及三阴性乳腺癌患者病理组织标本中 PD-L1、MMP-9、OPN 阳性表达率的检测结果显示, 研究组患者 OPN、MMP-9、PD-L1 阳性表达率明显较高, 这一结果与 OPN、MMP-9、PD-L1 与多种肿瘤发生、发展有关的理论相符。本研究继续对不同临床病理特征三阴性乳腺癌患者的 OPN、MMP-9、PD-L1 阳性表达率进行分析后, 发现不同年

龄、绝经情况及家族史患者的 OPN、MMP-9、PD-L1 阳性表达率差异无统计学意义($P>0.05$)。MMP-9 在肿瘤最大径 >20 mm、TNM 分期 II~III 期、病理组织分级 II~III 级、发生淋巴结转移、肿瘤侵犯血管/神经患者中的阳性表达率均明显高于同组其他患者($P<0.05$)。这表示 MMP-9 不仅在多数三阴性乳腺癌患者中高表达, 并且其高表达情况与患者本身肿瘤进展程度有关。肿瘤最大径 >20 mm 表示患者肿瘤增殖快, TNM 分期 II~III 期及病理组织分级 II~III 级表示患者肿瘤已逐渐发展至中晚期, 发生淋巴结转移或肿瘤侵犯血管/神经表示患者肿瘤发生远处器官转移的风险越高。以上结果表明 MMP-9 与三阴性乳腺癌患者肿瘤细胞增殖、转移、侵袭密切相关。PD-L1 在肿瘤最大径 >20 mm、TNM 分期 III 期、病理组织分级 III 级、发生淋巴结转移患者中的阳性表达率均明显高于同组其他患者($P<0.05$)。其不同病理特征患者中的高表达情况与 MMP-9 类似, 推测二者可能具有相互促进作用。本研究中 OPN 仅在发生淋巴结转移的患者中阳性表达率较高。分析原因:可能是由于本研究中 OPN 表达情况受样本量限制, 导致其不同病理特征患者之间无法体现出统计学意义。本研究中相关性分析发现, PD-L1 表达水平与 MMP-9、OPN 呈正相关, OPN 表达水平与 MMP-9 也呈正相关, 表明三阴性乳腺癌患者 PD-L1 表达水平升高能使 MMP-9 及 OPN 也升高。但三者之间作用机制尚不完全明确。

综上所述, OPN、MMP-9、PD-L1 在三阴性乳腺癌组织中高表达, 且其阳性表达率可能与肿瘤最大径、发生淋巴结转移及侵袭状态等有关。通过检测 3 种分子的表达情况, 可对三阴性乳腺癌患者发生远处转移、侵袭的风险进行评估, 从而为患者后续治疗提供参考。

参考文献

[1] LEE A, DJAMGOZ M. Triple negative breast cancer: emerging therapeutic modalities and novel combination therapies[J]. Cancer Treat Rev, 2018, 62(1):110-122.

[2] 饶彬, 吴耀忠. 乳腺癌肝转移患者的临床病理特征及预后因素分析[J]. 广西医学, 2019, 41(9):1119-1123.

[3] 李杰宝, 喻晓程, 田野. 乳腺癌分子分型与临床病理参数的关系及预后[J]. 中华实验外科杂志, 2018, 35(6):1027-1029.

[4] 刘蕾, 张瑾. 三阴性乳腺癌靶向治疗研究进展[J]. 天津医药, 2018, 46(12):1363-1368.

[5] GUAN J, LIM K S, MEKHAIL T, et al. Programmed death ligand-1 (PD-L1) expression in the programmed death receptor-1 (PD-1)/PD-L1 blockade: a key player against various cancers[J]. Arch Pathol Lab Med, 2017, 141(6):851-861.

- [6] 王傲立,宋关斌,罗庆. 骨桥蛋白对肿瘤细胞恶性行为影响的研究进展[J]. 华西医学,2017,32(12):1963-1966.
- [7] SUNG H,CHOI J Y,LEE S A,et al The association between the preoperative serum levels of lipocalin-2 and matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and prognosis of breast cancer[J]. BMC Cancer,2012,12(1):193-201.
- [8] 付鹏,王超,李翔,等. PD-1/PD-L1 抗体与多西紫杉醇治疗晚期非小细胞肺癌的总体疗效及安全性 Meta 分析[J]. 肿瘤药学,2019,9(1):155-159.
- [9] 林莉,李玲,张旭东,等. 程序性死亡分子 1 免疫治疗在 B 细胞淋巴瘤中的研究进展[J]. 白血病·淋巴瘤,2016,25(1):45-48.
- [10] 王钰聪,徐英辉,李宏伟,等. PD1/PD-L1 免疫检查点抑制剂治疗非小细胞肺癌的研究进展[J]. 吉林大学学报(医学版),2019,45(4):965-970.
- [11] 中国抗癌协会乳腺癌专业委员会. 中国抗癌协会乳腺癌诊治指南与规范(2015 版)[J]. 中国癌症杂志,2015,191• 短篇论著 •
- (9):62-124.
- [12] 吴凌,田晨,许雯,等. 嵌合抗原受体 T 淋巴细胞免疫疗法在血液肿瘤治疗中的研究进展[J]. 国际输血及血液学杂志,2016,39(5):405-409.
- [13] 张冰,马金国,吴刚,等. 普罗布考对心衰大鼠心肌 MMP-3、TIMP-3 及 OPN 表达的影响[J]. 哈尔滨医科大学学报,2015,21(2):115-120.
- [14] SHIRIAN J,ARKADASH V,COHEN I,et al. Converting a broad matrix metalloproteinase family inhibitor into a specific inhibitor of MMP-9 and MMP-14[J]. FEBS Lett,2018,592(7):1122-1134.
- [15] 冯婉雯,杜雪莲,王聪,等. 骨桥蛋白和基质金属蛋白酶-9 水平与中晚期宫颈癌放疗敏感性关联分析[J]. 中华肿瘤防治杂志,2018,25(10):717-724.

(收稿日期:2020-11-12 修回日期:2021-04-25)

载脂蛋白 E 基因多态性对慢性肾脏病的诊断价值^{*}

李 全,沈建江,杨 琳,李鹏飞[△]

南京中医药大学附属医院/江苏省中医院检验科,江苏南京 210029

摘要:目的 探讨载脂蛋白 E(ApoE)基因多态性在慢性肾脏病(CKD)辅助诊断及临床分期中的应用价值。方法 选取 2019 年 1—6 月于该院肾内科住院的 CKD 患者 122 例(CKD 组),根据改善全球肾脏病预后组织(KDIGO)对 CKD 的分期标准分为 CKD3 期 43 例,CKD4 期 41 例,CKD5 期 38 例,同时纳入 36 例健康体检者为健康对照组。检测所有研究对象血清 ApoE 水平,并通过 PCR 芯片杂交法对所有标本的 ApoE 基因进行分型,肾小球滤过率(eGFR)通过肌酐值计算得出。结果 E3 基因型在 CKD 组中所占比例明显高于健康对照组($P<0.05$),同时在 E3 基因型患者血清 ApoE 水平随着 CKD 病情进展呈逐渐升高趋势($P<0.05$),并与 eGFR 呈负相关($r=-0.35$, $P<0.05$)。结论 ApoE 的 E3 基因型在 CKD 的辅助诊断中具有一定的应用价值;同时,E3 基因型患者血清 ApoE 水平对判断 CKD 病情严重程度具有一定的临床意义。

关键词:慢性肾脏病; 肾小球滤过率; 载脂蛋白 E; 基因型

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.15.026

中图法分类号:R446.69

文章编号:1673-4130(2021)15-1909-03

文献标志码:A

慢性肾脏病(CKD)在全球已成为一个严重威胁人类健康的问题,在我国 CKD 患病率高达 10.8%^[1]。CKD 发病率与肾衰竭早期观察到的肾小球滤过率(eGFR)下降程度有关^[2]。有研究表明,CKD 患者的载脂蛋白 E(ApoE)基因型对脂蛋白水平和分布的调控受到多种因素的干扰^[3]。ApoE 常见 3 种等位基因($\epsilon 2$ 、 $\epsilon 3$ 、 $\epsilon 4$)共有 6 种组合形式($\epsilon 2/\epsilon 2$ 、 $\epsilon 2/\epsilon 3$ 、 $\epsilon 2/\epsilon 4$ 、 $\epsilon 3/\epsilon 3$ 、 $\epsilon 3/\epsilon 4$ 和 $\epsilon 4/\epsilon 4$)^[4],根据文献[5]将其分为 3 种

基因型,包括 E2、E3 和 E4 型。

现有研究结果显示,由于 ApoE 异构体结构的差异,它们对脂蛋白具有不同的结合能力及结合偏好,因此会对脂蛋白代谢产生各种影响^[6]。ApoE 的基因多态性会对脂蛋白水平产生影响并对 CKD 的辅助诊断和临床分期具有临床意义^[7]。本研究以本院收治的 CKD 患者作为研究对象,采用 PCR 芯片杂交法对 ApoE 基因进行分型,评估 ApoE 基因多态性及 ApoE

^{*} 基金项目:江苏省中医院高峰学术人才培养项目(k2018yrc38)。

[△] 通信作者,E-mail:lipengfei@163.com。

本文引用格式:李全,沈建江,杨琳,等. 载脂蛋白 E 基因多态性对慢性肾脏病的诊断价值[J]. 国际检验医学杂志,2021,42(15):1909-1911.