

文章编号:1005-6947(2007)01-0081-04

· 简要论著 ·

# MMP-9, TIMP-1 和 IV 型胶原在甲状腺癌中的表达及其临床意义

张建军, 刘志明

(广西医科大学第一附属医院 胃肠腺体外科, 广西 南宁 530021)

**摘要:**笔者采用免疫组织化学 S-P 法测定 32 例甲状腺癌组织、23 例癌旁组织及 30 例良性甲状腺病变组织标本中 MMP-9, TIMP-1 和 IV 型胶原的表达。结果显示, MMP-9 及 TIMP-1 在甲状腺癌组织中呈高表达(75.0% 和 56.3%), 在癌旁组织及良性病变组织中呈低表达(30.3%, 21.7% 和 26.7%, 23.3%)( $P < 0.05$ )。MMP-9 及 TIMP-1 蛋白的表达与浸润程度、淋巴结转移、TNM 分期有关( $P < 0.05$ ), MMP-9 蛋白表达与 TIMP-1 呈负相关( $r = -0.509, P = 0.003$ )。IV 型胶原在甲状腺癌组织中呈低表达(34.4%), 在癌旁组织及良性病变组织中呈高表达(73.9% 和 83.3%,  $P < 0.05$ )。IV 型胶原的表达与 MMP-9 蛋白的表达呈负相关( $r = -0.494, P = 0.004$ )。提示检测甲状腺肿瘤患者病变组织中 MMP-9, TIMP-1 和 IV 型胶原的表达有助于鉴别诊断甲状腺良恶性肿瘤, 并可作为评估甲状腺癌预后的参考指标。

[中国普通外科杂志, 2007, 16(1): 81-84]

**关键词:** 甲状腺肿瘤/病理学; 基质金属蛋白酶类; 金属蛋白酶 1 组织抑制剂; IV 型胶原; 预后  
**中图分类号:** R736.1 **文献标识码:** B

甲状腺癌约占全身恶性肿瘤的 1%。虽然不同病理类型其生物学特性不尽相同, 预后也有差别, 但共同的生物学行为均浸润细胞外基质、基底膜及发生淋巴结转移。笔者采用免疫组织化学(免疫组化)方法研究 MMP-9, TIMP-1 和 IV 型胶原在 32 例甲状腺癌中的表达, 分析其与临床病理特征的关系及三者的相关性, 旨在探讨 MMP-9, TIMP-1 和 IV 型胶原在甲状腺癌浸润转移中所起的作用。

## 1 资料与方法

### 1.1 标本及一般资料

1.1.1 甲状腺癌组 32 例标本取自本科 2003 年 6 月~2004 年 6 月外科手术切除的标本。男 9 例, 女 23 例; 年龄 10~65(平均 39)岁。乳头状

腺癌 25 例, 滤泡型腺癌 3 例, 低分化腺癌 3 例, 髓样癌 1 例。按甲状腺癌 UICC 分期标准, I 期 15 例, II 期 11 例, III 期 6 例。

1.1.2 癌旁组织组 23 例标本取自距甲状腺癌肿瘤边缘外 1cm 处肉眼观正常的甲状腺组织。

1.1.3 良性甲状腺病变组 30 例良性甲状腺病变组织。结节性甲状腺肿 18 例, 甲状腺腺瘤 12 例。男 10 例, 女 20 例; 年龄 22~60(平均 41)岁。

全部病例均经 HE 染色复染证实诊断。

### 1.2 试剂和方法

MMP-9 鼠抗人单克隆抗体、TIMP-1 兔抗人多克隆抗体、IV 型胶原鼠抗人单克隆抗体、Trypsin 胰蛋白酶试剂盒、超敏 SP(鼠/兔)试剂盒等均购自福州迈新生物技术开发公司。操作按试剂盒说明书进行。

### 1.3 结果判断

1.3.1 MMP-9、TIMP-1 染色阳性信号均呈棕色或棕红色细颗粒状, 主要位于细胞质(图 1-2)。阳性判断标准参照 Takahashi 等<sup>[1-2]</sup>的方法, 选择 10 个高倍视野进行计数, 根据染色程度和着色细胞百分率进行半定量结果判定: 胞质基本不着色记 0 分, 阳性细胞染淡黄色记 1 分, 染棕

**基金项目:**广西壮族自治区自然科学基金资助(桂科自 0447065)。

**收稿日期:**2006-08-04; **修订日期:**2006-11-06。

**作者简介:**张建军, 男, 湖北宜都人, 广西医科大学第一附属医院硕士研究生, 主要从事胃肠、甲状腺、乳腺疾病的基础及临床方面的研究。

**通讯作者:**刘志明 E-mail: liuzhiming@21cn.com。

黄色记2分,染棕褐色记3分;着色细胞占计数细胞百分率 $\leq 5\%$ 记0分,5%~25%记1分,26%~50%记2分,>50%记3分,上述两项得

分乘积作为最后判断结果:0~1分为阴性(-),2~3分为(+),4~6分为(++),>6分为(+++)。

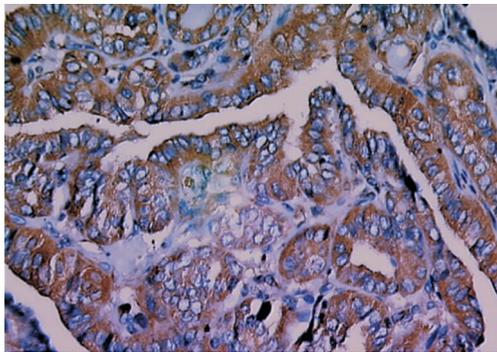


图1 甲状腺癌组织中 MMP-9 的阳性表达 (S-P 法, ×400)

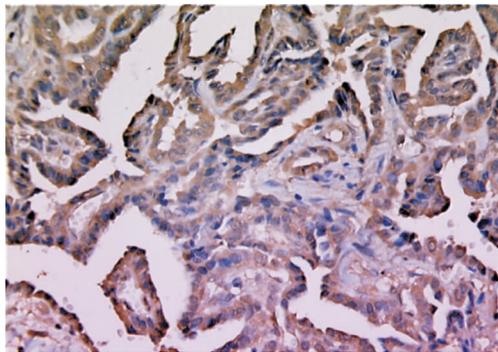


图2 甲状腺癌组织中 TIMP-1 的阳性表达 (S-P 法, ×400)

1.3.2 IV型胶原 表现为棕黄色线性结构位于细胞外,阳性判断标准参照吴正虎等<sup>[3]</sup>的方法,每例观察5个高倍视野(×100),每视野计算棕黄色线性结构(阳性染色)占肿瘤与间质交界长度的百分比,取平均值。分为4级:阳性染色<5%为(-),5%~25%为(+),26%~50%为(++),>50%为(+++)。统计时将(-)和(+)归入阴性组,(++)和(+++)归入阳性组。

#### 1.4 统计学处理

实验数据用 SPSS11.0 统计软件包进行统计学处理。计数资料的比较用 $\chi^2$ 检验或四格表确切概率法;相关分析采用配对计数资料的相关分

析法。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 MMP-9, TIMP-1 和 IV 型胶原的表达

甲状腺癌组中 MMP-9 的表达率及 TIMP-1 的表达率明显高于癌旁组和良性甲状腺病变组( $P < 0.05$ )。IV型胶原在甲状腺癌组中的表达率明显低于癌旁组和良性甲状腺病变组,差异有显著性( $P < 0.05$ ),癌旁组和良性甲状腺病变组中 IV 型胶原蛋白的表达差异无显著性( $P > 0.05$ ) (表1)(图3-4)。

表1 MMP-9, TIMP-1 和 IV 型胶原蛋白在甲状腺癌、癌旁及良性甲状腺病变组织中的表达

组织类型	n	MMP-9 蛋白表达		TIMP-1 蛋白表达		IV 型胶原表达	
		(+)	阳性率(%)	(+)	阳性率(%)	(+)	阳性率(%)
甲状腺癌	32	24	75.0	18	56.3	11	34.4
癌旁组织	23	7	30.3	5	21.7	17	73.9
良性病变	30	8	26.7	7	23.3	25	83.3

注:与甲状腺癌组比较, $P < 0.001$

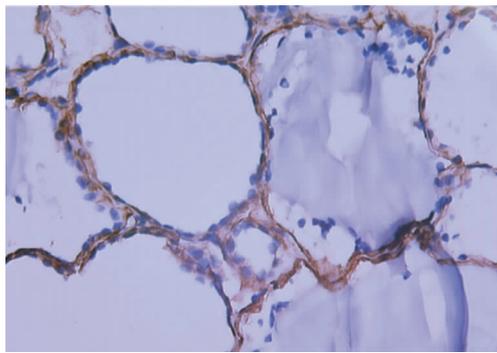


图3 IV型胶原在良性甲状腺病变组织中的表达呈连续线性(+++)(S-P法, ×400)

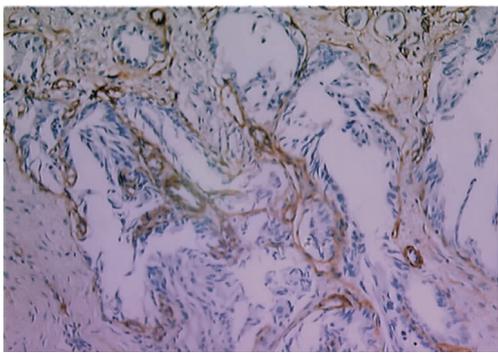


图4 IV型胶原在良性甲状腺病变组织中的表达为基底部分缺失(+++)(S-P法, ×200)

### 2.2 MMP-9, TIMP-1 和 IV 型胶原的表达与甲状腺癌临床病理特征的关系

MMP-9 和 TIMP-1 在甲状腺癌中的表达与患者性别、年龄、病理分级(分化程度)等指标的组间差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),而浸润程度、淋巴结转移、TNM 分期等特征的组间差异有显著性( $P < 0.05$ )。肿瘤直径  $> 1\text{cm}$ 、浸润包膜、有淋巴结转移、分期较晚者组织中 MMP-9 蛋白的阳性

表达率明显升高;未浸润包膜、无淋巴结转移、分期较早者组织中 TIMP-1 蛋白的阳性表达率明显高于包膜浸润、有淋巴结转移、分期较晚者。肿瘤直径大  $> 1\text{cm}$ 、包膜浸润、有淋巴结转移及 TNM 分期较晚者组织中 IV 型胶原的阳性表达率明显低于肿瘤直径  $< 1\text{cm}$ 、未浸润包膜、无淋巴结转移及 TNM 分期较早者(表 2)。

表 2 MMP-9,TIMP-1 蛋白的表达与甲状腺癌的临床病理特征的关系

临床病理参数	n	MMP-9 蛋白表达		P 值	TIMP-1 蛋白表达		P 值	IV 型胶原表达		P 值
		(+)	阳性率(%)		(+)	阳性率(%)		(+)	阳性率(%)	
性别										
男	9	8	88.9	$>0.05$	5	55.6	$>0.05$	3	33.3	$>0.05$
女	23	16	69.6		13	56.5		8	34.8	
年龄										
$<45$	21	14	66.7	$>0.05$	13	61.9	$>0.05$	6	28.6	$>0.05$
$\geq 45$	11	10	90.9		5	45.5		5	45.5	
肿瘤大小										
$<1\text{cm}$	6	2	33.3	$<0.05$	5	83.3	$>0.05$	5	83.3	$<0.05$
$\geq 1\text{cm}$	26	22	84.6		13	50.0		6	23.1	
分化程度										
高中分化	29	22	75.9	$<0.05$	17	56.8	$>0.05$	10	34.5	$>0.05$
低分化	3	2	66.7		1	33.3		1	33.3	
浸润程度										
未浸润包膜	7	2	28.6	$<0.01$	7	100.0	$<0.05$	6	85.7	$<0.01$
浸润包膜	2	22	88.0		11	44.0		5	20.0	
淋巴结转移										
无	13	5	38.5	$<0.01$	11	84.6	$<0.05$	8	61.5	$<0.05$
有	19	19	100.0		7	36.8		3	15.8	
TNM 分期										
I	15	7	46.7	$<0.01$	12	80.0	$<0.05$	9	60.0	$<0.01$
II,III	17	17	100.0		6	35.3		2	11.8	

### 2.3 甲状腺癌组织中 MMP-9 表达与 TIMP-1 和 IV 型胶原表达的相关性

经相关分析,32 例甲状腺癌中,MMP-9 阳性表达与 TIMP-1 阳性表达呈负相关(表 3)。IV 型胶原阳性表达与 MMP-9 蛋白阳性亦呈负相关(表 4)。

表 3 甲状腺癌组织中 MMP-9 与 TIMP-1 表达的相关性

MMP-9 蛋白表达	例数	TIMP-1 蛋白表达		r	P 值
		(+)	(-)		
阳性	24	10	14	-0.509	0.003
阴性	8	8	0		

表4 甲状腺癌组织中 MMP-9 与 TIMP-1 表达的相关性

MMP-9 蛋白表达	例数	IV 型胶原表达		<i>r</i>	<i>P</i> 值
		(+)	(-)		
阳性	24	5	19	-0.494	0.004
阴性	8	6	2		

### 3 讨论

MMP-9 是金属蛋白酶家族中分子质量最大的酶(92kD),活化后可降解 IV 型胶原、明胶蛋白、弹性蛋白等基底膜成分,直接破坏细胞外基质(Extracellular medium, ECM)屏障,促使肿瘤细胞发生侵袭和转移。大量资料证明, MMP-9 在乳腺癌、胃癌、肠癌、肺癌、子宫内膜癌及膀胱癌等多处器官恶性肿瘤中的表达均显著增高,并与肿瘤细胞转移和病理分级相关<sup>[4-6]</sup>。本组实验结果显示, MMP-9 在甲状腺癌组织中呈高表达,在癌旁组织和良性甲状腺病变组织中呈低表达。提示 MMP-9 可能主要由癌细胞合成分泌。本实验发现, MMP-9 蛋白的表达与肿瘤大小、浸润程度、淋巴结转移、临床分期关系密切。提示 MMP-9 自肿瘤细胞分泌、激活后,局部降解 ECM,促进肿瘤细胞沿着被降解破坏的 ECM 向周围组织侵袭和转移;肿块越大,癌细胞越多,合成分泌的 MMP-9 也越多,从而使肿瘤细胞周围的物理屏障遭到更大的破坏。故认为, MMP-9 可以反映甲状腺癌的生物行为,且与甲状腺癌的浸润和转移密切相关,并对判定预后有一定价值。

MMPs - TIMPs 平衡是维持细胞外基质内环境的稳定和完整,阻碍癌细胞侵袭和转移的决定因素;有研究<sup>[7]</sup>表明,浸润型乳腺癌中 MMPs - TIMPs 表达失衡。TIMP-1 是 MMP-9 的特异性抑制剂。Korem 等<sup>[8]</sup>发现,在人甲状腺乳头状癌、滤泡癌、未分化癌细胞株和甲状腺肿瘤的成纤维细胞中能检测到 TIMP - 1 mRNA,而在良性甲状腺细胞株则无或微弱表达。本实验发现, TIMP-1 蛋白在癌组织中的表达率明显高于癌旁组织和良性甲状腺病变组织。提示随着癌细胞合成、分泌 MMP-9 的增多,为了维持 MMPs - TIMPs 平衡, TIMP-1 的合成也相应增多,以抑制 MMP-9 的活化及对基质的降解。实验发现 MMP-9 低表达者, TIMP-1 表达较高,而 TIMP-1 能有效地抑制 MMP-9

的活性, IV 型胶原不被降解,基底膜完整,说明肿瘤局限,无浸润和淋巴结转移,预后较好。MMP-9 高表达者, TIMP-1 表达较低, MMPs - TIMPs 失衡, TIMP-1 不能有效地抑制 MMP-9 活性, MMP-9 降解 IV 型胶原等基底膜成分,往往预示肿瘤已发生侵袭和转移,提示预后不良。因此,临床上联合检测组织中 MMP-9, TIMP-1 和 IV 型胶原的表达情况,将有助于甲状腺良、恶性病变的鉴别诊断,正确评估甲状腺癌的浸润、转移。对有潜在转移倾向的患者密切随访,早期发现转移灶,早期再治疗,有助于改善预后。

### 参考文献:

- [1] Takahashi Y, Kitadai Y. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptor, KDR, correlated with vascularity, metastasis and proliferation of human colon cancer [J]. *Cancer Res*, 1995, 55(18):3964-3968.
- [2] Zhang S, Li L. Imbalance between expression of matrix metalloproteinase - 9 and tissue inhibitor of metalloproteinase - 1 in invasiveness and metastasis of human gastric carcinoma [J]. *World J Gastroenterol*, 2003, 9(5):899-904.
- [3] 吴正虎. IV 型胶原、IV 型胶原酶及 TIMP-1 在喉癌组织中的表达 [J]. *浙江医学*, 2004, 25(3):134-136.
- [4] Zeng ZS, Cohen AM, Guillem J G. Loss of basement membrane type IV collagen is associated with increased expression of metalloproteinases 2 and 9 (MMP - 2 and MMP-9) during human colorectal tumorigenesis [J]. *Carcinogenesis*, 1999, 20(5):749.
- [5] Zhang S, Li L, Lin JY. Imbalance between expression of matrix metalloproteinase - 9 and tissue inhibitor of metalloproteinase - 1 in invasiveness and metastasis of human gastric carcinoma [J]. *World J Gastroenterol*, 2003, 9(5):899-904.
- [6] Fan SQ, Wei QY, Li MR. Expression and clinical significance of MMP - 2, MMP-9, TIMP-1, and TIMP - 2 in breast carcinoma [J]. *Cancer*, 2003, 22(9):968-973.
- [7] 申培红,张云汉,李惠翔. MMP - 2 和 TIMP - 2 蛋白在乳腺癌组织中的表达及其与肿瘤转移的关系 [J]. *中国普通外科杂志*, 2004, 13(05):375-377.
- [8] Korem S, Resnick MB, Kraiem Z. Similar and divergent patterns in the regulation of matrix metalloproteinase - 1 (MMP - 1) and tissue inhibitor of MMP - 1 gene expression in benign and malignant human thyroid cells [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 1999, 84(9):3322-3327.