

文章编号:1005-6947(2005)10-0753-04

· 实验研究 ·

# 直肠癌组织中基质调控蛋白的表达及意义

余丹, 杨竹林

(中南大学湘雅二医院 普通外科, 湖南 长沙 410011)

**摘要:**目的 研究直肠癌组织中 EMMPRIN, MMP1, MMP9, TIMP1 的表达及其临床病理意义。方法 41 例直肠癌手术切除标本和 15 例非癌组织(距肿块  $\geq 5$  cm)石蜡切片行 ABC 免疫组化法检测 EMMPRIN, MMP1, MMP9, TIMP1 的表达水平, 对其进行分析比较。结果 EMMPRIN, MMP1, MMP9, TIMP1 在直肠癌组织的表达阳性率分别为 58.5% (24/41), 53.6% (22/41), 51.2% (21/42), 46.3% (19/41); 15 例非癌组织阳性率分别为 13.3% (2/15), 13.3% (2/15), 6.7% (1/15), 86.7% (13/15), 两者存在显著或高度显著差异 ( $P < 0.05 \sim P < 0.01$ )。高中分化、癌细胞仅浸润肌层和肿块最大径  $\leq 5$  cm 者的 EMMPRIN, MMP1, MMP9 表达阳性率明显低于低分化、癌细胞浸润浆膜层和肿块最大径  $> 5$  cm 者, 其中 EMMPRIN 表达在直肠癌的浸润深度, MMP1 表达在肿块大小, MMP9 表达在分化程度上均有显著差异 ( $P < 0.05$ ), 但 TIMP1 则相反, 且肿块大小上有显著差异 ( $P < 0.05$ ), 无淋巴结转移者 EMMPRIN, MMP1, MMP9 表达阳性率明显低于有转移者(均  $P < 0.05$ ), 但 TIMP1 则相反 ( $P < 0.05$ )。结论 EMMPRIN, MMP1, MMP9, TIMP1 表达可能是反映直肠癌临床病理特征、生物学行为及预后的重要标记物。

**关键词:** 直肠肿瘤/病理学; 基质调控蛋白

**中图分类号:** R735.34 **文献标识码:** A

## Study on the expressions of matrix regulated proteins in rectal cancer tissues

YU Dan, YANG Zhu-lin

(Department of General Surgery, the Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410011, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate the expressions of EMMPRIN, MMP1, MMP9 and TIMP1 in rectal cancer tissues and their clinicopathologic significances. **Methods** Immunohistochemical method of avidin-biotin complex was used for four targets on the routinely paraffin-embedded sections of 41 cases of surgical resected specimens of rectal carcinoma and 15 non-cancerous rectal tissues in the 41 cases. **Results** The expression positive rate of EMMPRIN, MMP1, MMP9 and TIMP1 was 58.5%, 53.6%, 51.2% and 46.3%, respectively. The positive rate of EMMPRIN, MMP1, MMP9 and TIMP1 was 13.3%, 13.3%, 6.7% and 86.7%, respectively, and the positive rates of rectal cancer showed significant differentiation compared with those of non-cancerous rectal tissues. The positive rates of EMMPRIN, MMP1 and MMP9 were significantly higher in cancer tissue of poor-differentiation, infiltration of serous layer by cancer cells, maximal diameter of mass  $> 5$  cm and with metastasis of lymph nodes than that in the ones of well- or mild-differentiation, filtration of only muscular layer by cancer cells, maximal diameter of mass  $< 5$  cm and without-metastasis of lymph nodes, but those of TIMP1 were the opposite. **Conclusions** The expression of EMMPRIN, MMP1, MMP9 and TIMP1 might be important biological markers for reflecting clinicopathologic features, biological behaviors and prognosis of rectal cancer.

**Key words:** Rectal Neoplasms/pathol; Matrix Regulated Protein

**CLC number:** R735.34

**Document code:** A

收稿日期:2005-01-10; 修订日期:2005-04-28。

作者简介:余丹(1967-),男,湖南长沙人,中南大学湘雅二医院主治医师,主要从事胃肠外科方面的研究。

通讯作者:余丹 电话:13007318986(手机)。

基质金属蛋白酶类 (matrix metalloproteinases, MMPs) 通过降解基质蛋白的作用影响恶性肿瘤的侵袭和转移潜能<sup>[1~2]</sup>。金属蛋白酶组织抑制因子类 (tissue inhibitors of metalloproteinases, TIMPs), 具有抑制相应的 MMP 的功能<sup>[1]</sup>。而细胞外基质金属蛋白酶诱导因子 (extracellular matrix metalloproteinase inducer, EMMPRIN) 具有诱导 MMPs 产生的作用<sup>[3~5]</sup>。以上基质调节蛋白组成复杂的调控网络影响恶性肿瘤生物学行为、侵袭和转移潜能及预后。作者应用免疫组化方法研究直肠癌组织和非癌直肠组织中 EMMPRIN, MMP1, MMP9, TIMP1 表达水平, 并探讨其临床病理意义及其相互关系。

## 1 材料与方法

### 1.1 标本及临床病理资料

收集我院 2001 年 1 月 ~ 2003 年 6 月的直肠癌手术切除标本 41 例。男 22 例, 女 19 例; 年龄 34 ~ 80 岁, 平均年龄 (56.9 ± 11.9) 岁。病理类型包括腺癌 36 例, 印戒细胞癌 3 例和黏液腺癌 2 例; 分化程度包括高分化 6 例, 中分化 28 例和低分化 7

例; 癌细胞浸润至肌层 6 例和浆膜层 35 例; 肿块最大径 < 5 cm 者 28 例和 > 5 cm 者 13 例; 有 26 例发生区域淋巴结转移。另收集此 41 例直肠癌中的 15 例非癌直肠组织 (距癌组织距离 ≥ 5 cm)。

上述标本经 10% 福尔马林固定后常规制作石蜡包埋切片, 切片厚 4 μm, 1 张切片行 HE 染色后复述病理组织学特征, 其余切片行免疫组化染色。

### 1.2 主要试剂

兔抗人 EMMPRIN, MMP1, MMP9, TIMP1 多克隆抗体, 生物素标记羊抗兔 IgG, ABC 试剂, DAB-HCL 显色试剂盒, 以上试剂均购自武汉博士德公司。

### 1.3 方法

4 项指标染色方法均为常规 ABC 免疫组化法, 胞浆和 (或) 胞膜含棕黄色颗粒者为阳性细胞, 切片中阳性细胞率 ≥ 20% 为阳性病例, < 20% 为阴性病例<sup>[3]</sup> (图 1 ~ 4), 以博士德公司, 提供的阳性切片作为 EMMPRIN, MMP1, MMP9, TIMP1 染色的阳性对照, 以 0.01 M PBS 液替代一抗作为每项指标染色的阴性或替代对照。

图 1 直肠低分化腺癌 EMMPRIN 阳性表达 (ABC × 200)

图 2 直肠低分化腺癌 MMP1 阳性表达 (ABC × 200)

图 3 直肠中分化腺癌 MMP9 阳性表达 (ABC × 200)

图 4 直肠高分化腺癌 TIMP1 阳性表达 (ABC × 200)

### 1.4 统计学处理

采用  $\chi^2$  检验或 Fischer 直接概率法, 检验水准  $\alpha = 0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 4项指标的表达

41例直肠癌 EMMPRIN, MMP1, MMP9, TIMP1 阳性者分别为 24例(58.5%), 22例(53.6%), 21例(51.2%), 19例(46.3%)。15例非癌直肠组织阳性病例分别为 2例(13.3%), 2例(13.3%),

1例(6.7%), 13例(86.7%), 直肠癌与非癌组织之间 4项指标的阳性率均存在显著或高度显著差异 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。腺癌、高中分化、癌细胞至肌层、肿块最大径  $\leq 5$  cm 及区域淋巴结未转移者的 EMMPRIN, MMP1, MMP9 表达阳性率较明显低于黏液腺癌 + 印戒细胞癌、低分化、癌细胞浸润至浆膜层, 肿块最大径  $> 5$  cm 和区域淋巴结有转移者。而 TIMP1 的表达在肿块  $\leq 5$  cm, 无淋巴结转移者中显著高于肿块  $> 5$  cm 和有淋巴结转移者(附表)。

附表 4项指标表达与直肠癌临床病理特征的关系

特征	例数	阳性率(%)			
		EMMPRIN	MMP1	MMP9	TIMP1
病理类型					
腺癌	36	55.0	50.0	50.0	50.0
粘液腺癌 + 印戒细胞癌	5	80.0	80.0	60.0	20.0
分化程度					
高 + 中分化	34	52.9	47.1	44.1	52.9
低分化	7	85.7	85.7	85.7 <sup>1)</sup>	14.3
浸润程度					
肌层	6	16.7	32.4	16.7	66.7
浆膜层	35	65.7 <sup>2)</sup>	57.1	57.1	42.8
肿块大小					
$\leq 5$ cm	28	50.0	42.8	42.8	57.1
$> 5$ cm	13	76.9	76.9 <sup>3)</sup>	69.3	23.1 <sup>3)</sup>
转移					
无	15	33.3	33.3	26.7	73.3
有	26	73.1 <sup>4)</sup>	61.5 <sup>4)</sup>	61.5 <sup>4)</sup>	30.7 <sup>4)</sup>

注:1)与高中分化比,  $P < 0.05$ ; 2)与侵至肌层比较,  $P < 0.05$ ; 3)与 $\leq 5$ cm比较,  $P < 0.05$ ; 4)与无淋巴结转移比较,  $P < 0.05$

### 2.2 4项指标表达的相互关系

24例 EMMPRIN 阳性病例中 MMP1 阳性 17例, MMP9 阳性 16例, TIMP1 阳性 7例; 17例 EMMPRIN 阴性病例中 MMP1 阴性 12例, MMP9 阴性 12例, TIMP1 阴性 5例。EMMPRIN 表达阳性率与 MMP1 和 MMP9 表达阳性率存在高度一致性 ( $P < 0.01$ ), 但与 TIMP1 表达阳性率存在高度不一致性 ( $P < 0.01$ ); 同样, 22例 MMP1 阳性病例中 MMP9 阳性 15例, TIMP1 阳性 7例, 19例 MMP1 阴性病例中 MMP9 阴性 13例和 TIMP1 阴性 7例, MMP1 表达阳性率与 MMP9 表达呈一致性 ( $P < 0.05$ ), 但与 TIMP1 表达呈不一致性 ( $P < 0.01$ ); 21例 MMP 阳

性病例中 TIMP1 阳性 6例, 20例 MMP9 阴性病例中 TIMP1 阴性 7例, 两者表达存在高度不一致性 ( $P < 0.01$ )。

## 3 讨论

基质蛋白及其酶是恶性肿瘤侵袭潜能和转移发生的关键之一, 倍受人们关注<sup>[1~3]</sup>。EMMPRIN 为 248 个氨基酸组成的蛋白质具有诱导恶性肿瘤细胞 MMP1 和 MMP2 的生物合成, 但是否诱导 MMP9 生物合成目前尚不清楚<sup>[3~5]</sup>。MMPs 是一组具有许多共同生化性质的可降解细胞外基质的酶类, 至少已发现 14 种, 其中 MMP1 和 MMP9 为重要

代表之一<sup>[1-2]</sup>。研究发现,MMPS与肿瘤侵袭能力和转移发生密切相关,恶性肿瘤细胞阳性表达者其侵袭周围组织能力明显增强,且更易发生淋巴结和血道转移,预后明显较差。MMPS活性可被特异的TIMPS抑制,目前至少发现4种以上TIMP,对其性质了解较明确的有TIMP1和TIMP2。TIMP1能特异地抑制MMP1活性,TIMP1是否抑制MMP9活性及EMMPRIN是否抑制TIMP1表达目前尚不清楚<sup>[2]</sup>。近年研究发现,TIMP1阳性表达的恶性肿瘤侵袭能力及转移发生率明显低于阴性表达者,且预后明显较好。本组资料显示直肠癌组织EMMPRIN,MMP1,MMP9阳性率明显高于非癌直肠组织,但TIMP1则相反。腺癌、高中分化、癌细胞浸润至肌层,肿块最大径 $\leq 5$ cm和区域淋巴结未转移者EMMPRIN,MMP1,MMP9表达阳性率较明显低于黏液腺癌+印戒细胞癌、癌细胞浸润至浆膜层、肿块最大径 $> 5$ cm和区域淋巴结有转移病例,但TIMP1则相反。尽管本组一些指标比较无统计学差异,可能与病例数过少或评判方法有一定关系,有待增加病例数行更深入研究。上述结果提示,EMMPRIN,MMP1,MMP9,TIMP1表达可能是反映直肠癌临床病理特征、生物学行为和预后的重要生物学标记物。

本组资料发现,EMMPRIN与MMP1和MMP9表达呈高度一致性,但与TIMP1表达呈高度不一致

性,提示EMMPRIN诱导恶性肿瘤细胞MMP1生物合成外,也可能诱导MMP9生物合成及抑制TIMP1生物合成。同时发现TIMP1表达与MMP1和MMP9表达均呈高度不一致性,说明TIMP1除抑制MMP1生物活性外,也可抑制MMP9生物活性。提示直肠癌等恶性肿瘤中基质蛋白作用的调控存在一个或多个复杂的调控网络,其确切的调控作用有待更深入研究。

#### 参考文献:

- [1] Parsons SL, Watson SA, Brown PD. Matrix metalloproteinase [J]. *Br J Surg*, 1997, 84(2):160-166.
- [2] birkedel-Hansen B, Pavelic IP, Gluckman JL, *et al.* MMP and TIMP gene expression in head and neck squamous cell carcinomas and adjacent tissue [J]. *Oral Dis*, 2000, 6(4):376-382.
- [3] Bavidson B. EMMPRIN (extracellular matrix metalloproteinase inducer) is a novel marker of poor outcome in serous ovarian carcinoma [J]. *Clin XP Metastasis*, 2003, 20(2):161-169.
- [4] Toole BP. EMMPRIN (CD147) a cell surface regulator of matrix metalloproteinase production and function [J]. *Curr Top Dev Biol*, 2003, 54(3):371-389.
- [5] Zucker S, Hymowitz M, Rollo EE, *et al.* Tumorigenic potential of extracellular metalloproteinase inducer [J]. *Am J Pathol*, 2001, 158(9):1921-1928.

## 欢迎订阅《中国感染控制杂志》

《中国感染控制杂志》是由中华人民共和国教育部主管,中南大学(湘雅医院)主办,全国医院感染监控管理培训基地徐秀华教授主编的国家级感染性疾病专业学术期刊。本刊向国内外公开发刊,季刊,逢每季初月15号出版。国际标准刊号:ISSN 1671-9638,中国标准刊号:CN 43-1390/R,邮发代号:42-203。编辑部设于中南大学湘雅医院感染控制中心、全国医院感染监控管理培训基地。

本刊是以感染疾病学理论、实践、科研、教学和管理为内容的实用性期刊,以普及与实用为原则,指导临床和疾病控制医师实践,为医师综合知识水平及技能水平的提高服务。读者对象为临床各科医师、护士、检验人员、医院感染监控专职人员,从事流行病、消毒灭菌等预防医学专业人员,微生物学与抗微生物治疗专业人员,以及医院管理人员。本刊已被《美国化学文摘(CA)》、《中国期刊全文数据库》、《中文科技期刊数据库》等收录,并被评为《中国学术期刊(光盘版)检索与评价数据规范》执行优秀期刊。欢迎全国各高等医学院校,各省、市、自治区、县医院和基层医疗单位,各级图书馆(室)、科技情报研究所及广大医务人员和医学科技人员订阅。

每期定价10元,全年定价40元。可通过邮局征订或汇款至编辑部征订,汇款时请注明详细地址、汇款用途及征订份数。

联系地址:湖南省长沙市湘雅路87号(湘雅医院)中国感染控制杂志编辑部 联系人:任旭芝,任南,吴安华  
 邮政编码:410008 电话:0731-4327658 传真:0731-4327237 E-mail: xyncni@sina.com