文章编号:1000-5404(2009)07-0595-03

论著

肺癌 MMP-9 表达与血管生成的关系及其意义

秦 蓁[1],罗 彬[2],王旭东[3] (重庆市第九人民医院:[1]呼吸内科,[3]病理科,重庆 400700;[2]重庆医药高等专科学校临床医学系,重庆 400051)

摘 要:目的 探讨肺癌组织中基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)的表达与肺癌血管生成的关系及其意义。**方法** 采用免疫组织化学 S-P 法检测 84 例肺癌组织中 MMP-9 和 CD34 的表达。**结果** 肺癌组织 MMP-9 表达显著高于癌旁正常肺组织($P<0.01$)。小细胞肺癌和腺癌 MMP-9 表达高于鳞癌($P<0.01$)。肺癌 MMP-9 表达有淋巴结转移者高于无淋巴结转移者($P<0.01$),Ⅲ~Ⅳ期高于Ⅰ~Ⅱ期($P<0.05$)。肺癌 MMP-9 表达阳性者微血管密度高于肺癌 MMP-9 表达阴性者($P<0.01$)。**结论** MMP-9 促进肺癌血管生成,与肺癌侵袭转移密切相关。

关键词: 肺肿瘤;基质金属蛋白酶-9;微血管密度
中图法分类号: Q556.9; R730.2; R734.2 **文献标识码:** A

Relationship of matrix metalloproteinase-9 expression and angiogenesis in lung carcinoma and its significance

QIN Zhen[1], LUO Bin[2], WANG Xu-dong[3] ([1]Department of Respiratory Diseases, [3]Department of Pathology, Ninth People's Hospital of Chongqing City, Chongqing 400700; [2]Faculty of Clinical Medicine, Chongqing Medical and Pharmaceutical College, Chongqing 400051, China)

Abstract: Objective To investigate the relationship of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) expression and angiogenesis in lung carcinoma tissue and its significance. Methods Totally 84 patients were subjected, including 40 cases of lung squamous cell carcinoma, 34 of lung adenocarcinoma and 10 of small cell lung cancer. Twenty samples of normal adjacent tissues served as control. The expression of MMP-9 and CD34 was detected in these 104 lung tissue samples by immunohistochemical method. The expression of MMP-9 was analyzed with clinical pathological data and microvascular density (MVD). Results The expression of MMP-9 in lung carcinoma tissues was significantly higher than that in para-cancerous normal lung tissues ($P<0.01$). Small cell lung cancer and adenocarcinoma had higher MMP-9 expression than squamous cell carcinoma ($P<0.01$). The expression of MMP-9 was significantly higher in lung carcinomas with lymph node metastasis than in lung carcinomas without lymph node metastasis ($P<0.01$), higher in stage-Ⅲ and -Ⅳ tumors than in stage-Ⅰ and -Ⅱ ($P<0.05$). MVD was significantly higher in lung carcinomas with MMP-9 positive than in those negative ($P<0.01$). Conclusion MMP-9 can improve the neovascularization of lung carcinoma, and is closely correlated with invasion and metastasis of lung carcinoma.

Key words: lung neoplasms; matrix metalloproteinase-9; microvascular density

肺癌是发病率与死亡率增长最快,对人类健康和生命威胁最大的恶性肿瘤。肿瘤血管是肺癌生长、转移的物质基础和形态学基础,肿瘤血管不仅向肺癌提供充足的营养,同时肺癌细胞通过肿瘤血管不断向宿主输出,导致肺癌的恶性生长和转移。基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)是 MMPs 中相对分子质量最大的酶,以酶原形式分泌,需经活化后才能发挥作用,其主要功能就是降解Ⅳ型、Ⅴ型胶原和明胶,与肿瘤血管生成和侵袭转移能力有关[1]。肺癌 MMP-9 表达与局部肿瘤血管生成的关系,国内外少见报道。本研究采用免疫组化 S-P 法检测肺癌 MMP-9 的表达情况,并检测肺癌组织中微血管密度(microvascular density, MVD),旨在探讨 MMP-9 在肺癌生物学

基金项目: 重庆市卫生局科研基金(06-2-109)
Supported by Research Foundation of the Bureau of Public Health of Chongqing(06-2-109)
作者简介: 秦 蓁,女,江苏省武进县人,主任医师,主要从事肺癌方面的研究。电话:(023)68284900,E-mail: zhen_qin@163.com
通信作者: 罗 彬,E-mail: luobin20003@yahoo.cn
收稿日期: 2008-11-11;**修回日期:** 2008-12-01

转移及局部微血管生成中的作用。

1 材料与方法

1.1 材料

选取重庆市第九人民医院及重庆医科大学附属第二医院2003年1月至2006年12月术前未经抗肿瘤治疗的存档肺癌切除标本84例,包括肺鳞癌40例,肺腺癌34例,小细胞肺癌10例。其中鳞癌、腺癌包括中-高分化46例,低分化28例。根据1997年UICC的肺癌TNM分期标准分为Ⅰ期29例,Ⅱ期22例,Ⅲ期29例,Ⅳ期4例。伴有淋巴结转移者39例,无淋巴结转移者45例。本组病例男性50例,女性34例,年龄27~73岁,平均52.5岁。另取20例癌旁正常肺组织作为阴性对照,所取组织距病灶边缘5 cm以上。

1.2 试剂

即用型Ultra Sensitive™ S-P试剂盒、即用型Mouse Monoclonal Anti-MMP-9及CD34鼠抗人原始造血细胞单克隆抗体均购自北京中杉金桥生物技术公司。

1.3 方法

标本经10%福尔马林溶液固定,常规石蜡包埋,切取5 μm厚的石蜡切片。染色方法:常规二甲苯脱蜡、梯度乙醇水化。切片置0.01 mol/L柠檬酸缓冲溶液(pH 6.0)内,微波加热温度至92~98 ℃ 15 min以修复抗原,其余步骤均按S-P法进行免疫组织化学染色。阴性对照用PBS液代替一抗。

1.4 结果判断

镜下观察肿瘤细胞细胞质出现棕黄色颗粒为MMP-9阳性[1]。CD34抗原显示血管内皮细胞呈棕黄色,在200倍视野下选择3个不同视野计数,取3个视野的均值作为MVD[2]。

1.5 统计学方法

采用SAS6.12统计软件,计数资料行χ^2检验,计量资料行t检验。

2 结果

2.1 MMP-9在肺癌组织和癌旁正常肺组织中的表达

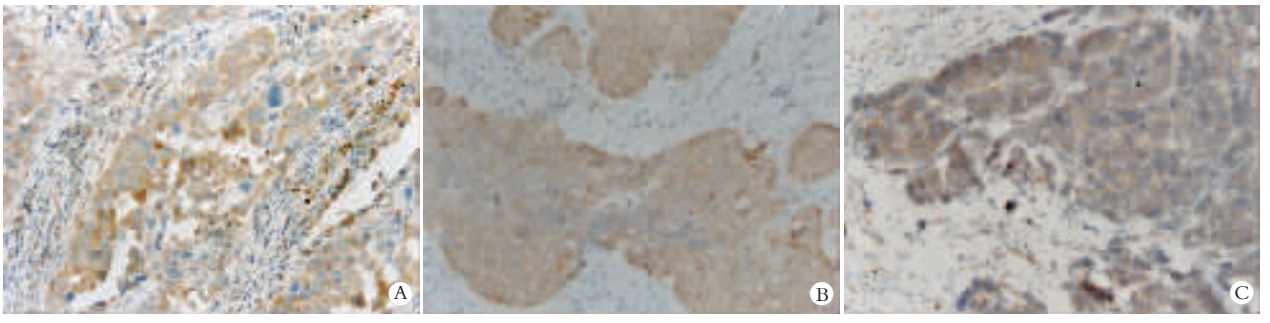
MMP-9阳性产物呈棕黄色颗粒,主要定位于肿瘤细胞细胞质(图1)。肺癌组织MMP-9表达阳性率为71.43%(60/84),癌旁正常肺组织MMP-9表达阳性率为20.00%(4/20),肺癌组织MMP-9表达高于癌旁正常肺组织,差异有统计学意义(χ^2 = 18.063,P<0.01)。

2.2 肺癌MMP-9表达与临床病理因素的关系

MMP-9表达与患者性别、年龄和分化程度无明显关系(P>0.05)。肺癌MMP-9表达腺癌和小细胞肺癌比较差异无统计学意义(P>0.05),腺癌和小细胞肺癌高于鳞癌(P<0.01),有淋巴结转移者高于无淋巴结转移者(P<0.01),Ⅲ~Ⅳ期高于Ⅰ~Ⅱ期(P<0.05)。见表1。

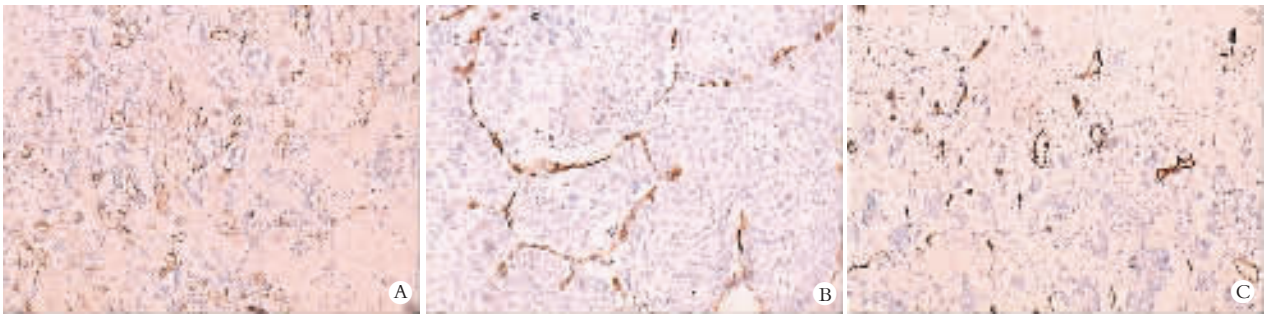
2.3 肺癌MMP-9表达与MVD的关系

CD34抗原显示血管内皮细胞呈棕黄色(图2)。大部分微血管较均匀分布在整个肺癌组织中,边缘区较中心区表达增强。肺癌MMP-9表达阳性者MVD值为(43.53±20.52),表达阴性者MVD值为(21.13±11.66),二者MVD值差异有统计学意义(t=5.024,P<0.01)。



A:肺腺癌;B:肺鳞癌;C:小细胞肺癌

图1 MMP-9在不同肺癌组织中的表达 (S-P×200)



A:肺腺癌;B:肺鳞癌;C:小细胞肺癌

图2 CD34在不同肺癌组织中的表达 (S-P×100)

表 1　肺癌 MMP-9 表达与临床病理因素的关系

因素		例数	MMP-9		χ^2值	P 值
			−	+		
性别	男	50	15	35	0.122	>0.05
	女	34	9	25		
年龄	<60 岁	37	11	26	0.044	>0.05
	≥60 岁	47	13	34		
组织学类型	肺腺癌	34	5	29	10.095	<0.01
	肺鳞癌	40	18	22		
	小细胞肺癌	10	1	9		
分化程度[a]	中－高分化	46	15	31	0.132	>0.05
	低分化	28	8	20		
临床分期	Ⅰ～Ⅱ期	51	19	32	4.799	<0.05
	Ⅲ～Ⅳ期	33	5	28		
淋巴结转移	无	45	20	25	11.956	<0.01
	有	39	4	35		

a:分化程度中不包括小细胞肺癌

3　讨论

恶性肿瘤最主要的特点是向周围组织侵袭并在远处形成转移灶。肿瘤转移包括 4 个过程,即侵袭、循环扩散、远处克隆和血管生成[3]。肿瘤组织内新生成的微血管基底膜不完善,通透性高,这使瘤细胞不须经过复杂的侵袭过程就能直接进入到血道中。新生血管长入不仅为肿瘤组织提供营养,也为瘤细胞转移提供了机会。新生血管形成包括毛细血管内皮层下基底膜降解、内皮细胞迁移和增殖、新生血管形成和新的基底膜形成等一系列过程。MMPs 是一大组金属离子依赖的蛋白酶,它的催化区含有 1 个保守的 Zn^{2+} 结合片段,目前已明确人类 MMPs 有 20 余种。MMPs 有相似的结构特点,其分子基本结构由氨基端的信号肽和前肽区、中间的催化区和羧基端的类血红素结合蛋白区构成。近年来的研究发现,MMP-9 在肿瘤侵袭转移中的作用,除了降解细胞外基质(ECM),还能促进肿瘤血管生成,而后者是肿瘤生长、转移过程中的关键因素。

本研究显示,肺癌 MMP-9 表达高于癌旁正常肺组织($P<0.01$),与 Jumper 等[4]的研究结论是一致的。同时,研究也显示肺癌 MMP-9 表达腺癌和小细胞肺癌相比较差异无统计学意义($P>0.05$),腺癌和小细胞肺癌高于鳞癌($P<0.01$),有淋巴结转移者高于无淋巴结转移者($P<0.01$),Ⅲ～Ⅳ期高于Ⅰ～Ⅱ期($P<0.05$)。梁君等[1]研究发现肺癌 MMP-9 表达腺癌和小细胞肺癌高于鳞癌($P<0.025$)。薛洋等[5]采用免疫组化法检测 108 例肺癌组织 MMP-9 的表达,结果 MMP-9 表达有淋巴结转移者高于无淋巴结转移者($P<0.05$),Ⅲ～Ⅳ期高于Ⅰ～Ⅱ期($P<0.05$)。结合本实验结果,提示 MMP-9 与肺癌侵袭转移关系密切,腺癌和小细胞肺癌的 MMP-9 阳性表达率明显高于鳞癌,这可能与腺癌和小细胞肺癌更易转移有关。

MMP-9 可降解 ECM 中的Ⅳ型、Ⅴ型胶原和明胶,促进肿瘤侵袭转移。在降解 ECM 的同时,MMPs 能为新的血管生长提供空间。Suzuki 等[6]认为在肿瘤侵袭转移中,MMPs 不仅可降解细胞外基质,还能促进新生血管的形成。MMPs 不仅仅是 VEGF 的促进因子,也是 bFGF、TGF 等其他生长因子的促进因子,同时 MMPs 还可以直接作为促血管形成因子参与肿瘤新生血管的形成。MMPs 能有助于新生血管的形成[7],MMPs 主要参与血管内皮细胞穿透基底膜形成毛细血管出芽过程。张尧等[8]研究发现 MMP-9 参与了肾细胞癌的血管生成和侵袭、转移。江忠清等[9]报道,MMP-9 参与了宫颈癌血管生成的正性调节并起重要作用。本研究结果显示肺癌 MMP-9 表达阳性者 MVD 值高于 MMP-9 表达阴性者($t=5.023\ 7$,$P<0.01$),证实 MMP-9 参与了肺癌新生血管的形成。MMP-9 通过降解 ECM、促进肺癌血管生成,从而促进肺癌侵袭转移。

参考文献:

[1] 梁　君,刘铭球,谢　梅,等. 肺癌组织中 MMP-9 及 TIMP-1 的表达与转移、预后相关性研究[J]. 中国肺癌杂志,2003,6(1):46－50.

[2] 高　霞,刁路明,李　恒,等. 非小细胞肺癌中肝细胞生长因子受体蛋白表达及其与肿瘤细胞增殖、血管生成的关系[J]. 武汉大学学报:医学版, 2005,26(3):273－275,283.

[3] 梅同华, 罗　彬, 马　英. 肺癌患者肺组织 MMP-2、MMP-7 和 TIMP-2 表达及意义[J]. 第三军医大学学报,2004,26(16):1491－1493.

[4] Jumper C, Cobos E, Lox C. Determination of the serum matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 (TIMP-1) in patients with either advanced small-cell lung cancer or non-small-cell lung cancer prior to treatment[J]. Respir Med, 2004,98(2):173－177.

[5] 薛　洋,周清华,张尚福,等. MMP-2、MMP-9 在肺癌中的表达及其与肺癌转移和预后关系的研究[J]. 华西医学,2008,23(2):225－227.

[6] Suzuki M, Iizasa T, Fujisawa T, *et al*. Expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitor of matrix metalloproteinases in non-small-cell lung cancer[J]. Invasion Metastasis, 1998－1999,18(3):134－141.

[7] Nuttall R K, Pennington C J, Taplin J, *et al*. Elevated membrane-type matrix metalloproteinases in gliomas revealed by profiling proteases and inhibitors in human cancer cells[J]. Mol Cancer Res, 2003,1(5):333－345.

[8] 张　尧,吴小候,孙先禹,等. 肾细胞癌 MMP-9、VEGF 的表达及其临床意义[J]. 重庆医学,2007,36(13):1298－1300.

[9] 江忠清,朱凤川,曲军英,等. 宫颈癌 MMP-9 表达与肿瘤血管生成、癌细胞增殖及侵袭转移的关系[J]. 癌症,2003,22(2):178－184.

(编辑　汪勤俭)