[2] 胡元会，吴华芹，张百舜，等. 心复康口服液对心梗后心衰大鼠心肌组织 ATP ADP AMP 影响的研究[J]. 辽宁中医杂志，2008，36(8)：1141－1143.
[3] 胡元会，吴华芹，王阶，等. 心复康口服液对心肌梗死后心衰大鼠心功能及心肌葡萄糖转运因子1表达的影响[J]. 上海中医药杂志，2008，42(6)：75－77.
[4] 吴华芹，胡元会，马铁民，等. 心复康口服液对心力衰竭大鼠心功能及心肌中链酰基辅酶A脱氢酶基因表达的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志，2007，5(12)：1205－1207.
[5] Bourges I，Ramus C，Mousson-de-Camaret B，*et al*. Structural organization of mitochondrial human complex I：role of the ND4 and ND5 mitochondria-encoded subunits and interaction with prohibitin[J]. Biochem J，2004，383(Pt 3)：491－499.
[6] Bornstein B，Huertas R，Ochoa P，*et al*. Mitochondrial gene expression and respiratory enzyme activities in cardiac diseases[J]. Biochim Biophys Acta，1998，1406(1)：85－90.
[7] 王艳飞，曹雪滨，徐淑乐，等. 心复康口服液对慢性压力超负荷大鼠心肌能量代谢的影响[J]. 第三军医大学学报，2009，31(18)：1720－1723.
[8] 曹雪滨，李培建，黄河玲，等. 心复康口服液对大鼠实验性心肌缺血的保护作用[J]. 中国药科大学学报，1998，29(增刊)：196－198.
[9] 胡元会，车维新，李新毅，等. 心复康口服液对亚急性阿霉素心肌损伤大鼠心功能及自由基代谢的影响[J]. 中医药研究，1999，15(5)：38－39.
[10] 胡元会，车维新，曹雪滨，等. 心复康口服液对大鼠实验心衰模型心肌细胞 Ca^{2+}-ATPase 及琥珀酸脱氢酶活性的影响[J]. 中国医药学报，2000，15(2)：31－33，48.
[11] 王红英，曹雪滨，徐淑乐，等. 心复康口服液对心衰大鼠线粒体跨膜电位及心肌能量代谢的影响[J]. 第四军医大学学报，2009，30(19)：1875－1878.

（收稿：2010-12-05 修回：2011-02-23）
（编辑　汪勤俭）

短篇论著

文章编号：1000-5404(2011)09-0972-03

AR、MMP-10 和 Bcl-2 在非小细胞肺癌中的表达

刘　源[1]，王淑玲[2]，古兆森[1]　（450052 郑州，郑州大学：第一附属医院中西医结合科[1]，基础医学院病理生理学教研室[2]）

【摘要】 **目的**　探讨 AR、MMP-10 和 Bcl-2 在非小细胞肺癌(NSCLC)中的表达及临床意义。**方法**　用免疫组织化学 S-P 法检测 AR、MMP-10 和 Bcl-2 在 65 例非小细胞肺癌及癌旁正常组织中的表达，并分析与临床病理特征的关系。**结果**　AR、MMP-10 和 Bcl-2 在肺癌中的阳性表达率分别是 29.2%、70.8%、55.4%，显著高于癌旁正常肺组织($P<0.05$)。AR 的表达与临床分期和淋巴结转移有统计学意义($P<0.05$)，MMP-10 的表达与分化程度、临床分期、淋巴结转移有关($P<0.05$)，Bcl-2 在鳞癌中的表达显著高于腺癌($P<0.05$)。**结论**　AR 的阳性表达可能与淋巴结转移和进展相关，与 MMP-10 联合检测更能提示患者的预后。

【关键词】 非小细胞肺癌；AR；MMP-10；Bcl-2
【中图法分类号】 R734.2；R730.2　　**【文献标志码】** A

肺癌是发病率和死亡率增长速度最快的恶性肿瘤，其中近 80% 为非小细胞肺癌。研究证明体内性激素紊乱及其受体的异常表达可能为肺癌的发病机制之一。已经证实雄激素受体(androgen receptor，AR)在肺癌中的表达且其预后可能更差[1]。但是 AR 在肺癌中的生物学行为如何，是否与其他癌基因存在相互作用，目前尚不清楚。本研究采用免疫组化 S-P 法检测 AR、基质金属蛋白酶-10(matrix metalloproteinase-10，MMP-10)和 Bcl-2(b-cell leukemia/lymphoma-2)在肺鳞癌和腺癌的表达，并分析其与临床病理特征的关系，以期为临床治疗及预后提出指导意义。

1　资料与方法

1.1　材料

选用 2007－2009 年郑州大学第一附属医院中西医结合科住院经病理诊断为非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer，NSCLC)的存档标本 65 例，男性 42 例、女性 23 例；年龄 32～76 岁，平均 56.3 岁；组织学类型：鳞癌 40 例，腺癌 25 例；分化程度：低分化 20 例，中分化 27 例，高分化 18 例；临床 TNM 分期按照 2002 年国际抗癌联盟(UICC)标准：Ⅰ期 8 例、Ⅱ期 20 例、Ⅲ期 27 例、Ⅳ期 10 例；无淋巴结转移 20 例，有淋巴结转移 45 例；所有病例为初治病例，未经放疗及化疗。正常组织取自肿瘤远端 5 cm 以外并经病理诊断未发现癌细胞者。

1.2　方法

所有标本经 10% 甲醛溶液固定，常规石蜡包埋，4 μm 连续切片。鼠抗人 MMP-10 单克隆抗体、鼠抗人 Bcl-2 单克隆抗体购自福州迈新生物技术公司，AR(克隆系：AR27)检测试剂盒及 SP 试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司。用已知阳性切片做阳性对照，用 PBS 代替一抗做阴性对照。操作步骤严格按照说明书进行。

1.3　结果判定

AR、MMP-10 及 Bcl-2 以细胞核或细胞质出现黄色颗粒为阳性，每例标本随机选取 10 个高倍镜视野，计数 300 个细胞，

【基金项目】 河南省杰出青年科学基金(04120001000)
【通信作者】 王淑玲，E-mail：wsl651127@163.com

根据着色强度及阳性细胞百分比进行定性分析：首先对阳性细胞着色强度记分：0 分：无色；1 分：淡黄色；2 分：棕黄色；3 分：棕褐色。然后对阳性细胞所占的百分比进行评分：0 分：无阳性细胞；1 分：阳性细胞 <25%；2 分：阳性细胞占 25% ~ 49%；3 分：阳性细胞占 50% ~75%；4 分：阳性细胞 >75%。结果取两者评分之和，染色强度与阳性细胞数百分比之和 >2 分为阳性，0 ~2 分为阴性。

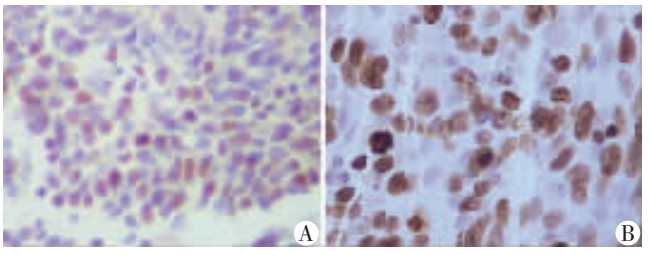
1.4　统计学方法

采用 SPSS 13.0 统计软件，阳性率之间的比较采用 χ^2 检验。

2　结果

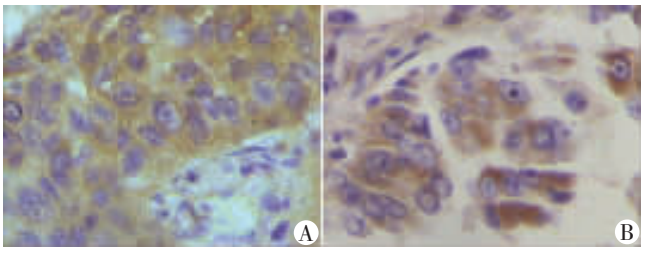
2.1　AR、MMP-10 及 Bcl-2 在肺癌及正常组织中的表达

AR、MMP-10 及 Bcl-2 阳性主要定位于肿瘤细胞核或细胞质，见图 1 ~3。AR、MMP-10 及 Bcl-2 在肺癌组织中的表达阳性率均高于癌旁正常组织（$P<0.05$，$P<0.01$）。见表 1。



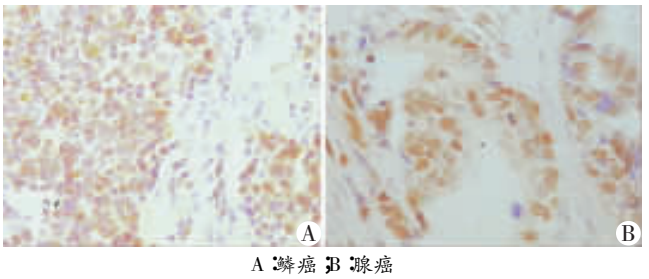
A：鳞癌 B：腺癌

图 1　AR 在肺癌组织中的阳性表达　（S-P ×400）



A：鳞癌 B：腺癌

图 2　MMP-10 在肺癌组织中的阳性表达　（S-P ×400）



A：鳞癌 B：腺癌

图 3　Bcl-2 在肺癌组织中的阳性表达　（S-P ×400）

表 1　AR、MMP-10 及 Bcl-2 在肺癌组织及正常组织的表达[例（%）]

组织	n	AR 阳性	MMP-10 阳性	Bcl-2 阳性
正常组织	65	8（12.3）	18（27.7）	11（16.9）
肺癌组织	65	19（29.2）[a]	46（70.8）[b]	36（55.4）[b]

a：$P<0.05$，b：$P<0.01$，与正常组织比较

2.2　AR、MMP-10 及 Bcl-2 与临床病理特征的关系

结果见表 2，AR、MMP-10 及 Bcl-2 的阳性表达与年龄、性别、吸烟史无统计学差异（$P>0.05$）。AR 的阳性表达与临床分期及淋巴结转移有统计学差异，即临床分期晚的患者 AR 阳性率显著高于临床分期早的患者（$P<0.05$），有淋巴结转移的阳性表达率显著高于无淋巴结转移者（$P<0.05$）。MMP-10 的阳性表达与组织分化程度、临床分期及淋巴结转移有统计学意义（$P<0.01$），与组织类型无统计学意义（$P>0.05$）。Bcl-2 的阳性表达只与组织类型差异有统计学意义（$P<0.01$）。

表 2　AR、MMP-10 及 Bcl-2 与临床病理特征的关系[例（%）]

临床病理特征	n	AR 阳性	P	MMP-10 阳性	P	Bcl-2 阳性	P
性别			0.174		0.403		0.140
男	36	13（36.1）		27（75.0）		17（47.2）	
女	29	6（20.7）		19（65.5）		19（65.6）	
年龄			0.501		0.130		0.847
<60 岁	35	9（25.7）		22（62.9）		19（54.3）	
≥60 岁	30	10（33.3）		24（80.0）		17（56.7）	
吸烟史			0.109		0.540		0.323
无	27	5（18.6）		18（66.7）		13（48.1）	
有	38	14（36.8）		28（73.7）		23（60.5）	
组织类型			0.863		0.131		0.003
鳞癌	40	12（30.0）		31（77.6）		28（70.0）	
腺癌	25	7（28.0）		15（60.0）		8（32.0）	
分化程度			0.617		0.023		0.298
高中分化	45	14（31.1）		28（62.2）		23（51.1）	
低分化	20	5（25.0）		18（90.0）		13（65.0）	
临床分期			0.014		0.036		0.452
Ⅰ + Ⅱ	28	4（14.3）		16（57.1）		17（60.7）	
Ⅲ + Ⅳ	37	13（35.1）		30（81.1）		19（51.4）	
淋巴结转移			0.048		0.008		0.138
无	22	3（13.6）		11（50.0）		15（68.2）	
有	43	16（37.2）		35（81.4）		21（48.8）	

2.3　AR 阳性表达与 MMP-10 及 Bcl-2 表达的关系

结果见表 3。MMP-10 表达阳性、阴性组中 AR 的阳性率分别是 37.0%（17/46）、10.5%（2/19），差异有显著性（$P<0.05$）。Bcl-2 的表达与 AR 的无关（$P>0.05$）。

表 3　AR 阳性表达与 MMP-10 及 Bcl-2 表达的关系

AR	MMP-10		Bcl-2	
	+	−	+	−
+	17	2	12	7
−	29	17	24	22
P	0.033		0.418	

3　讨论

自 1982 年美国病理学家 Chaudhuri 等[2] 发现雌激素受体、孕激素受体在肺组织表达之后，越来越多的证据表明性激素水平及受体表达的紊乱在非小细胞肺癌的发生、进展中发挥一定的作用[3-5]。然而，关于 AR 与肺癌的研究起步较晚。AR 是一种配体依赖性的反式转录调节蛋白，也是一种转录因子，一旦与雄激

素结合便形成复合物,与靶基因上游的雄激素反应元件(androgen response element,ARE)结合,从而调控该基因的表达,最终使细胞的功能发生改变。AR 在肺癌中的表达已经得到了国内外学者的证实[1,6],本研究也证实 AR 在肺癌组织的表达,表达率为 29.2%。雄激素及其受体在肺癌细胞恶变中所发挥的作用及相关机制还不明了。Mikkonen 等[7]在小鼠体内发现,AR 存在于Ⅱ型肺泡壁细胞和支气管上皮细胞,雄激素干预可增加 AR 蛋白的水平、上调与氧气运输、抑制凋亡、血管生成有关基因的表达,同时降低与 DNA 修复、DNA 重组、双链断裂修复基因的表达;AR 在不同类型的肺癌组织中均表达阳性,主要定位于细胞核,细胞浆散在表达。Pershko 等[8]研究表明,肺癌患者的存活时间、组织分化程度与雄激素的代谢率成正相关,即存活时间长、分化程度高的肺癌患者每日雄激素代谢物排出量与健康人相仿,而存活时间短、中低分化者雄激素代谢物显著低于正常人。这也就意味着体内高雄激素水平促使细胞发生恶性转化,且预后较差。这与乳腺癌、前列腺癌等性激素靶器官肿瘤的激素依赖性一致。但周向东等[9]发现男性肺癌患者睾酮水平下降,雌二醇增高,E_2/T 比值升高。这可能预示着雌激素在肺癌的恶性转化及进展中发挥更大作用。本研究表明 AR 与临床分期及淋巴结转移有统计学意义,提示 AR 可能在肺癌的进展中发挥一定作用,可以作为判断预后的指标。

基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases,MMPs)是降解细胞外基质最主要的蛋白酶。MMP-10 是其中重要一员,其表达于人的胶质细胞瘤、口腔癌、食管癌、胃癌、结肠癌、直肠癌等恶性细胞中。MMP-10 和其他激活的 MMPs 共同破坏基底膜完整性,使组织自然屏障消失,为肿瘤细胞通过血液途径进行侵袭和转移提供了必要的条件[10]。本研究表明肺癌组织 MMP-10 的表达显著高于正常组织,与分化程度、临床分期,淋巴结转移有关。与 Kren 等[11]报道结果一致,因此可作为侵袭转移及判断预后的指标。Bcl-2 基因主要存在于细胞中的线粒体、内质网膜、核膜上。它是一种凋亡抑制因子,抑制许多因素引起的细胞凋亡,异常延长细胞的生存时间,促进有转化作用的基因突变的积累,并协助细胞抵抗免疫系统的监视作用,从而参与肿瘤的发生、发展[12-13]。目前,Bcl-2 蛋白与临床病理特征及预后的关系存在较大分歧,多数研究认为 Bcl-2 的过表达与较好的临床病理特征和较好的预后有关[14]。本研究显示其与预后无关,在鳞癌中的表达显著高于腺癌($P<0.05$)。

在 MMP-10 表达阳性、阴性组中 AR 的阳性率分别是 37.0%(17/46)、10.5%(2/19),差异有显著性($P<0.05$),两者都与临床分期及淋巴结转移有关($P<0.05$)。AR 与 MMP-10 通过何种方式相互影响,是否有共同的信号传导通路,有待进一步的研究。但目前至少可以看到,两者都与肺癌的进展、转移有关,两者联合检测更能提示患者的预后。

参考文献:

[1] 刘先本,王淑玲,闫明,等. 雄激素和雌激素受体在肺腺癌和肺鳞癌中的表达[J]. 江苏医药,2010,36(9):1000-1002.

[2] Chaudhuri P K, Thomas P A, Walker M J, *et al*. Steroid receptors in human lung cancer cytosols[J]. Cancer Lett, 1982, 16(3):327-332.

[3] Siegfried J M, Hershberger P A, Stabile L P. Estrogen receptor signaling in lung cancer[J]. Semin Oncol, 2009, 36(6):524-531.

[4] Chen M W, Zhang Y J, Li Z M. Study of serum level of sex hormones and expression of their receptors in patients with Bronchogenic carcinoma[J]. J Med Coll PLA, 2004, 19(2):131-134.

[5] Koutras A, Giannopoulou E, Kritikou I, *et al*. Antiproliferative effect of exemestane in lung cancer cells[J]. Mol Cancer, 2009, 8:109.

[6] Kaiser U, Hofmann J, Schilli M, *et al*. Steroid-hormone receptors in cell lines and tumor biopsies of human lung cancer[J]. Int J Cancer, 1996, 67(3):357-364.

[7] Mikkonen L, Pihlajamaa P, Sahu B, *et al*. Androgen receptor and androgen-dependent gene expression in lung[J]. Mol Cell Endocrinol, 2010, 317(1/2):14-24.

[8] Pershko NIu, Ponomareva O V, Sidorik E P. Prognostic value of the androgenic function state of patients with lung cancer[J]. Lik Sprava, 2010, (1/2):118-121.

[9] 周向东,蔡文琴,曹红卫. 男性肺癌患者外周血性激素水平及其与肺癌组织中芳香化酶表达的相关性研究[J]. 癌症,2002,21(3):259-262.

[10] Gill J H, Kirwan I G, Seargent J M, *et al*. MMP-10 is overexpressed, proteolytically active, and a potential target for therapeutic intervention in human lung carcinomas[J]. Neoplasia, 2004, 6(6):777-785.

[11] Kren L, Goncharuk V N, Krenova Z, *et al*. Expression of matrix metalloproteinases 3, 10 and 11 (stromelysins 1, 2 and 3) and matrix metalloproteinase 7 (matrilysin) by cancer cells in non-small cell lung neoplasms. Clinicopathologic studies[J]. Cesk Patol, 2006, 42(1):16-19.

[12] 郑春晨,陈愉生,陈小岩,等. Livin、Caspase-3 和 Bcl-2 在非小细胞肺癌的表达及生存分析[J]. 中国呼吸与危重监护杂志,2009,8(3):224-228.

[13] 夏宗江,赵松,崔广晖. 非小细胞肺癌组织中 Survivin、Bcl-2 及 PCNA 蛋白的表达[J]. 郑州大学学报:医学版,2010,45(2):322-323.

[14] Anagnostou V K, Lowery F J, Zolota V, *et al*. High expression of BCL-2 predicts favorable outcome in non-small cell lung cancer patients with non squamous histology[J]. BMC Cancer, 2010, 10:186.

(收稿:2010-11-06 修回:2010-12-20)

(编辑 汪勤俭)