基础研究 文章编号：0253-3626（2011）09-1040-04

舌鳞状细胞癌中 PCDGF 和 MMP-9 蛋白的表达及临床意义

黄 闯[1]，李 进[2]，李真华[1]，周文文[2]，周晓红[1]
（重庆市肿瘤研究所 1. 头颈科；2. 病理科，重庆 400030）

【摘 要】目的：探讨畸胎瘤细胞源性生长因子（PC cell-derived growth factor，PCDGF）和基质金属蛋白酶-9（Matrix metalloproteinase-9，MMP-9）在舌鳞状细胞癌中的表达及其与临床病理参数之间的关系。方法：采用免疫组织化学方法检测 45 例舌鳞状细胞癌和 12 例正常舌组织中 PCDGF 和 MMP-9 蛋白的表达情况。结果：与正常舌组织相比，PCDGF 和 MMP-9 蛋白在舌鳞状细胞癌中的表达明显升高（$P<0.05$）。PCDGF 和 MMP-9 蛋白的表达随舌鳞状细胞癌的浸润深度增加而增加（$P<0.05$），在淋巴结转移组高于无淋巴结转移组（$P<0.05$），在临床Ⅲ~Ⅳ期的表达高于临床Ⅰ~Ⅱ的表达（$P<0.05$）。PCDGF 和 MMP-9 蛋白的表达与患者年龄、性别及组织学分级无相关性（$P>0.05$）。PCDGF 和 MMP-9 蛋白在舌鳞状细胞癌中的表达呈正相关（$r_s=0.543$，$P<0.01$）。结论：PCDGF 和 MMP-9 蛋白在舌鳞状细胞癌的发展、浸润和转移中可能起重要作用，且二者之间可能存在协同作用。

【关键词】舌鳞状细胞癌；畸胎瘤细胞源性生长因子；基质金属蛋白酶-9；免疫组织化学
【中国图书分类法分类号】R739.86 【文献标志码】A 【收稿日期】2011-03-12

Expression and clinicopathological significance of PCDGF and MMP-9 in squamous cell carcinoma of tongue

HUANG Chuang[1], LI Jin[2], LI Zhen-hua[1], ZHOU Wen-wen[2], ZHOU Xiao-hong[1]
(1.Department of Head and Neck; 2.Department of Pathology, Chongqing Cancer Research Institute)

【Abstract】*Objective*: To investigate the expressions of PC cell-derived growth factor(PCDGF) and matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) in squamous cell carcinoma of tongue(SCCT) and their relationship with clinical pathological parameters of SCCT. *Methods*: Immunohistochemical staining was used to examine the expressions of PCDGF and MMP-9 in 45 cases of SCCT and 12 specimens of normal tongue tissue. *Results*: PCDGF and MMP-9 proteins were abnormally increased in SCCT as compared with normal tongue tissue ($P<0.05$). PCDGF and MMP-9 protein expressions were increased with the increase in the invasive depth of SCCT ($P<0.05$). PCDGF and MMP-9 protein expressions were significantly higher in SCCT with nodal metastasis and at Ⅲ~Ⅳ clinical stage than those without nodal metastasis and at Ⅰ~Ⅱ clinical stage($P<0.05$). The positive expressions of PCDGF and MMP-9 proteins were not related to the age, gender, and differentiation of SCCT patients ($P>0.05$). The Spearman analysis indicated that the expression level of PCDGF was positively correlated with that of MMP-9 significantly in SCCT ($r_s=0.543$, $P<0.01$). *Conclusion*: PCDGF and MMP-9 may cooperate with each other and play an important role in the development, invasion and metastasis of SCCT.

【Key words】squamous cell carcinoma of tongue; PC cell-derived growth factor (PCDGF); matrix metalloproteinase-9 (MMP-9); immunohistochemistry

舌鳞状细胞癌是口腔癌中最常见的恶性肿瘤，恶性程度高，生长快，浸润性强，严重威胁人类的健康，目前对舌鳞状细胞癌的发生、发展、转移的机制尚不清楚。畸胎瘤细胞源性生长因子（PC cell-derived growth factor，PCDGF），是一种畸胎瘤细胞自分泌的分子量为 88 kD 的富含半胱氨酸的生长因子，具有促进细胞增殖、发育，促进伤口修复、介导炎症等多种生理功能[1]。近来的研究显示，PCDGF 与多种肿瘤，如食管鳞状细胞癌[2]、喉鳞状细胞癌[3]、乳腺癌[4]、卵巢癌[5]、肝癌[6]、前列腺癌[7]等的发生发展过程密切相关。但到目前为止，PCDGF在舌鳞状细胞癌中的表达情况尚未见报道。基质金属蛋白酶-9（Matrix metalloproteinase-9，MMP-9）是基质金属蛋白酶家族中的成员，属于蛋白水解酶，具有降解细胞外基质和破坏基底膜的功能，在恶性肿瘤的浸润和转移中发挥作用。本研究采用免疫组织化学方法检测 PCDGF 和 MMP-9 在舌鳞状细胞癌中的表达情况，并探讨其表达与舌鳞状细胞癌各项临床病理参数之间的关系。

作者介绍：黄 闯（1980-），男，住院医师，硕士，
研究方向：头颈肿瘤基础与临床。
通信作者：周晓红，女，主任医师，Email：wuhihi9@Gmail.com。

表 1 PCDGF 和 MMP-9 在舌鳞状细胞癌组织中的表达及与临床病理特征的关系

临床病理参数	例数	PCDGF		χ^2	P值	MMP-9		χ^2	P值
		阴	阳			阴	阳		
组织类型									
舌鳞癌	45	11	34	10.631	0.001	13	32	5.811	0.016
正常舌组织	12	9	3			8	4		
年龄									
≥60	18	4	14	0.080	0.777	3	15	2.181	0.140
<60	27	7	20			10	17		
性别									
男	32	6	26	1.945	0.163	9	23	0.031	0.859
女	13	5	8			4	9		
分化程度									
高	22	4	18	1.755	0.416	6	16	3.549	0.170
中	16	4	12			3	13		
低	7	3	4			4	3		
T 分期									
T1+T2	24	9	15	4.746	0.025	10	14	4.087	0.043
T3+T4	21	2	19			3	18		
淋巴结转移									
无	22	9	13	6.318	0.012	10	12	5.750	0.016
有	23	2	21			3	20		
临床分期									
Ⅰ + Ⅱ	19	8	11	5.554	0.018	9	10	5.466	0.019
Ⅲ + Ⅳ	26	3	23			4	22		

床Ⅰ~Ⅱ期的表达明显低于临床Ⅲ~Ⅳ的表达（$P<0.05$）。PCDGF 和 MMP-9 蛋白在不同年龄、不同性别及不同组织学分级的舌鳞状细胞癌组织中表达差异无统计学意义（$P>0.05$，表 1）。

2.3 舌鳞状细胞癌中PCDGF与MMP-9蛋白表达的相关关系

应用 Spearman 相关分析表明：舌鳞状细胞癌中 PCDGF 与 MMP-9 蛋白表达呈正相关性，$r_s=0.543$，$P=0.000$（见表 2）。

表 2 PCDGF 和 MMP-9 蛋白在舌鳞状细胞癌中表达的相关性

PCDGF	MMP-9				合计
	-	+	++	+++	
-	7	2	2	0	11
+	4	1	2	3	10
++	2	2	3	5	12
+++	0	2	4	6	12
合计	13	7	11	14	45

$r_s=0.543$，$P=0.000$

3 讨 论

PCDGF 也称为上皮素-颗粒素前体，是最早从鼠畸胎瘤 PC 细胞系条件培养基中克隆并鉴定的一种 88 kD 的糖蛋白。研究显示，PCDGF 能通过刺激丝裂原活化蛋白激酶（Mitogen-activated protein kinases，MAPK）信号通路、磷脂酰肌醇-3-激酶（Phosphatidylinositol 3'-kinase，PI3K）信号通路和局部粘附激酶（Focal adhesion kinase，FAK）信号通路，从而促进上皮和间质来源的多种细胞增殖和存活[10,11]。PCDGF 具有高度的致瘤活性，现已发现 PCDGF 在多种肿瘤组织或肿瘤细胞系中高表达，并与肿瘤细胞的失控性增殖、浸润、转移及血管生成等过程密切相关[12]。但到目前为止，尚缺乏PCDGF与舌鳞状细胞癌关系的研究。

本研究应用免疫组化技术检测了 PCDGF 蛋白在舌鳞状细胞癌和正常舌组织中的表达，发现 PCDGF 在舌鳞状细胞癌中的表达强度明显高于正常舌组织，表明 PCDGF 参与了舌鳞状细胞癌的发生，此结论与 Kong 等[3]对喉鳞状细胞癌和 Chen 等[2]对食管鳞状细胞癌的研究结果一致。本实验还发现 PCDGF 蛋白在舌鳞状细胞癌中的表达强度与肿瘤的 T 分期、淋巴结转移及临床分期均呈显著性相关，提示 PCDGF 可能参与了舌鳞状细胞癌的浸润和转移，此结论与对食管鳞状细胞癌[2]、乳腺癌[8]、卵巢癌[13]、和肝癌[6]的研究结果一致。众所周知，肿瘤发生浸润和转移，首先肿瘤细胞必须逃脱细胞外基质的局限，其次逃脱的肿瘤细胞能够在新的环境中存活、增殖。研究表明，高表达的 PCDGF 能促进多种基质降解酶的产生，从而克服细胞外基质对肿瘤细胞的生长抑制作用，如在对 SW-3 肾上腺癌细胞系的研究中发现，PCDGF 能促进 MMP-13 和 MMP-17 的表达[14]，这些基质降解酶尤其是MMP-13与多种肿瘤的侵袭密切相关[15]。高表达 PCDGF 的肿瘤细胞生长不依赖外源性激素的刺激，这些细胞能逃避失巢凋亡现

象[16]，转移至新的环境中存活、增殖。此外，PCDGF 还能上调 VEGF 的表达，促进肿瘤新生血管的形成[12,17]。正是这些特性使得 PCDGF 在肿瘤的浸润和转移中发挥重要作用，然而 PCDGF 在舌鳞状细胞癌中具体以何种机制参与肿瘤细胞的浸润和转移，尚需待下一步的研究。

MMP-9 又称明胶酶 B，是 MMPs 家族的重要成员，以酶原形式分泌，激活后能降解Ⅳ、Ⅴ型胶原等，从而破坏基底膜的完整性，为肿瘤浸润周围组织以及侵入血管和淋巴管转移创造条件。研究发现，MMP-9 在乳腺癌[18]、食道鳞状细胞癌[19]等多种肿瘤组织中高表达，并与肿瘤的浸润和转移潜能密切相关。本研究发现，在舌鳞状细胞癌中 MMP-9 蛋白的表达明显高于正常对照组的表达，且 MMP-9 的表达与舌鳞状细胞癌的 T 分期、淋巴结转移及临床分期密切相关，提示 MMP-9 在舌鳞状细胞癌的生长、浸润和转移中发挥重要作用。

近年的研究显示，PCDGF 能上调 MMP-9 的表达，如 Liu 等[20]发现在人类卵巢癌细胞系中 PCDGF 能上调 MMP-9 的表达和诱导 MMP-2 的活化。Tangkeangsirisin 等[12]发现PCDGF 能直接刺激肿瘤细胞表达 MMP-9 蛋白。本研究显示，在舌鳞状细胞癌中 PCDGF 蛋白和 MMP-9 蛋白的表达呈正相关，推测在舌鳞状细胞癌中 PCDGF 可能作为一种上游基因蛋白通过上调 MMP-9 的表达，增强肿瘤细胞外基质的降解，而促进肿瘤细胞的浸润和转移，这可能是 PCDGF 参与舌鳞状细胞癌浸润和转移的机制之一。

综上所述，PCDGF 蛋白和 MMP-9 蛋白的异常表达在舌鳞状细胞癌的发生和发展中可能发挥重要作用，并与舌鳞状细胞癌的浸润和转移密切相关，联合检测 PCDGF 和 MMP-9 蛋白的表达可能有助于临床上对舌鳞状细胞癌浸润和转移潜能作出评估及预后分析提供依据。

参 考 文 献

[1] Zhou J, Gao G, Crabb J W, et al. Purification of an autocrine growth factor homologous with mouse epithelin precursor from a highly tumorigeniec cell line[J]. J Biol Chem, 1993, 268 (15): 10863-10869.

[2] Chen X Y, Li J S, Liang Q P, et al. Expression of PC cell- derived growth factor and vascular endothelial growth factor in esophageal squamous cell carcinoma and their clinicopathologic significance[J]. Chin Med J, 2008, 121(10): 881-886.

[3] Kong W J, Zhang S L, Chen X, et al. PC cell- derived growth factor overexpression promotes proliferation and survival of laryngeal carcinoma[J]. Anti-Cancer Drugs, 2007, 18(1): 29-40.

[4] Lu R, Serrero G. Inhibition of PC cell -derived growth factor (PCDGF, epithelin/granulin precursor) expression by antisense PCDGF cDNA transfection inhibits tumorigenicity of the human breast carcinoma cell line MDA-MB-468[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2000, 97(8): 3993-3998.

[5] Jones M B, Spooner M, Kohn E C. The granulin-epithelin precursor: a putative new growth factor for ovarian cancer[J]. Gynecol Oncol, 2003, 88(1 Pt2): S136-139.

[6] Cheung S T, Wong S Y, Leung K L, et al. Granulin-epithelin precursor overexpression promotes growth and invasion of hepatocellular carcinoma[J]. Clin Cancer Res, 2004, 10(22): 7629-7636.

[7] Pan C X, Kinch M S, Kiener P A, et al. PC cell- derived growth factor expression in prostatic intraepithelial neoplasia and prostatic adenocarcinoma[J]. Clin Cancer Res, 2004, 10(4): 1333-1337.

[8] Serrero G, Ioffe O B. Expression of PC cell-derived growth factor in benign and malignant human breast epithelium[J]. Hum Pathol, 2003, 34(11): 1148-1154.

[9] Hong S D, Hong S P, Lee J I, et al. Expression of matrixmetalloproteinase-2 and -9 in oral squamous cell carcinomas with regard to *the metastatic potential[J]. Oral Oncol, 2000, 36(2): 207-213.*

[10] He Z, Bateman A. Progranulin (granulin-epithelin precuraor, PC-cell-derived growth factor, acrogranin) mediates tissue repair and tumorigenesis[J]. J Mol Med, 2003, 81(10): 600-612.

[11] Serrero G. Autocrine growth factor revisited: PC-cell-derived growth factor (progranulin), a critical player in breast cancer tumorigenesis[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2003, 308(3): 409-413.

[12] Tangkeangsirisin W, Serrero G. PC cell-derived growth factor (PCDGF/GP88, progranulin) stimulates migration, invasiveness and VEGF *expression in breast cancer cells[J]. Carcinogenesis*, 2004, 25(9): 1587-1592.

[13] Zhang H, Serrero G. Inhibition of tumorigenicity of the teratoma PC cell line by transfection with antisense cDNA for PC cell-derived growth factor (PCDGF, epithelin/granulin precursor)[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1998, 95(24): 14202-14207.

[14] He Z, Ismail A, Kriazhev L, et al. Progranulin (PC-cell-derived growth factor/acrogranin) regulates invasion and cell survival[J]. Cancer Res, 2002, 62(19): 5590-5596.

[15] Brinckerhoff C E, Rutter J L, Benbow U. Interstitial collagenases as markers of tumor progression[J]. Clin Cancer Res, 2000, 6(12): 4823-4830.

[16] He Z, Bateman A. Progranulin gene expression regulates epithelial cell growth and promotes tumor growth in vivo[J]. Cancer Res, 1999, 59 (13): 3222-3229.

[17] 黄 韬，宋海平，张景辉. PCDGF shRNA 对乳腺癌细胞系 MCF-7 增殖凋亡和 VEGF 表达的影响[J]. 癌症，2006，25(3)：303-307.

[18] Bartsch J E, Staren E D, Appert H E. Matrix metalloproteinase expression in breast cancer[J]. J Surg Res, 2003, 110(2): 383-392.

[19] Tanioka Y, Yoshida T, Yagawa T, et al. Matrix metalloproteinase-7 and matrix metalloproteinase -9 are associated with unfavourable prognosis in superficial oesophageal cancer[J]. Br J Cancer, 2003, 89 (11): 2116-2121.

[20] Liu Y, Xi L, Liao G, et al. Inhibition of PC cell-derived growth factor (PCDGF)/granulin-epithelin precursor (GEP) decreased cell proliferation and invasion through downregulation of cyclinD and CDK4 and inactivation of MMP-2[J]. BMC Cancer, 2007, 7: 22.

（责任编辑：冉明会）