基础研究 文章编号:0253-3626(2010)07-0989-03

Ki-67、MMP-7、MMP-2 在宫颈 CIN 和宫颈癌中的表达及意义

滕燕伊[1],刘晓云[1],郑 洪[2],伍小智[1]

(1. 遵义医学院第三附属医院妇产科,遵义 563002;2. 遵义医学院附属医院病理科,遵义 563000)

【摘 要】目的:检测 Ki-67、MMP-7、MMP-2 在宫颈 CIN 及宫颈癌中的表达情况,探讨 Ki-67、MMP-7、MMP-2 与宫颈癌的发生、发展,增殖和侵袭转移之间的关系。方法:采用免疫组化 S-P 法和图像分析技术检测 Ki-67、MMP-7、MMP-2 在已确诊的 50 例宫颈癌(Invasive cervical cancer,ICC)、23 例宫颈上皮内瘤样变(Cervical intraepithelial neoplasm,CIN)和正常宫颈(Normal cervical epithelium,NCE)对照 20 例的表达情况。结果:50 例宫颈癌中 ki-67、MMP-7、MMP-2 的阳性表达分别为 72.00%、78.00%、76.00%;CIN 组 ki-67、MMP-7、MMP-2 的阳性表达分别为 47.83%、60.87%、56.52%;正常对照组 ki-67、MMP-7、MMP-2 的阳性表达分别为 10、0、0;Ki-67 在子宫颈癌组和 CIN 组明显高于正常宫颈上皮组,在腺癌中的表达高于鳞癌($P<0.05$),在 CIN Ⅰ和 CIN Ⅱ、CIN Ⅲ中表达无明显差异,在低分化癌的表达明显高于高分化癌($P<0.05$),在淋巴结转移组中的表达明显高于非淋巴结转移组($P<0.05$);MMP-7、MMP-2 在宫颈癌组织中的表达水平高于 CIN 及正常宫颈组织($P<0.01$),MMP-7、MMP-2 的表达与宫颈癌的病理类型及分化无关,在淋巴结转移组中表达高于非淋巴转移组。结论:Ki-67、MMP-2、MMP-7 与宫颈癌肿瘤细胞的侵袭转移行为相关。

【关键词】宫颈癌、CIN、Ki-67、MMP-2、MMP-7

【中国图书分类法分类号】R737.33 【文献标识码】A 【收稿日期】2010-01-15

Expression and significance of Ki-67, MMP-2 and MMP-7 in CIN and cervical cancer

TENG Yan-yi, et al

(*Department of Obstetrics and Gynecology, the Third Affliated Hospital, Zunyi Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate the Ki-67, MMP-7, MMP-2 expression in cervical intraepithelial neoplasm (CIN) and cervical cancer, with the aim of evaluating their association with the development, aggressiveness and lymph node metastasis. *Methods*: The immunohistochemical S-P method and image analysis were used to detect Ki-67, MMP-7, MMP-2 expression in 50 cases with cervical cancer, 23 cases with CIN and 20 cases of normal control. *Results*: Ki-67, MMP-7, MMP-2 were mainly expressed in the membrane and /or cytoplasm in tumor cells. The positive rate of Ki-67, MMP-7and MMP-2 were 72.00%, 78.00%, 76.00% in carcinoma, 47.83%, 60.87%, 56.52% in CIN lesions, 10, 0, 0 in normal cervical tissues respectively. Expression rate in ICC was obviously higher than that in control group ($P<0.01$). The adencarcinoma (AC) group was higher than squamous cell carcinoma group (SCC) groups ($P<0.05$). No difference was found between CIN Ⅰ and CIN Ⅱ - Ⅲ in their ki-67 expression ($P>0.05$). High grade diseases and those with lymph node involved presented with higher ki-67 expression than low grade diseases and those without lymph node metastasis ($P<0.05$). Similarly, cervical cancer displayed much higher MMP-7 and MMP-2 expression as compared with CIN and normal controls ($P<0.01$). Pathological features or histological differentiation have no impact upon their expression level. However, those with lymph node involved demonstrated higher MMP-7 and MMP-2 expression than those without. *Conclusion*: The expression of ki-67, MMP-2 and MMP-7 was associated with the aggressive and metastatic behavior of tumor cells in CIN and invasive cervical cancer.

【Key words】Cervical cancer; CIN; Ki-67; MMP-2; MMP-7

宫颈癌是常见妇科肿瘤之一,宫颈癌的侵袭转移是其生物学特性,近年来对恶性肿瘤的侵袭转移机制的研究已成为热点并趋向深入。现在 Ki-67 和 MMP-7、MMP-2 开始被引入到对患者预后评估的研究中,对大量正常宫颈上皮,宫颈不典型增生、原位癌和浸润癌组织中 Ki-67 和 MMP-7、MMP-2 的研究显示,随着细胞向恶性转变,其表达大幅度增加。我们

作者介绍:滕燕伊(1967-),女,副主任医师,研究方向:妇科肿瘤。

通讯作者:刘晓云,女,主任医师,E-mail:zyyycklxy@163.com。

基金项目:遵义市自然科学基金[编号:遵字科合社字(2007)13 号]。

通过检测 Ki-67 和 MMP-7、MMP-2 在正常宫颈组织、宫颈上皮内瘤样变和宫颈癌中的表达，以探讨其与宫颈癌的增殖侵袭转移之间的关系。

1 资料与方法

1.1 临床资料

1.1.1 研究对象 收集贵州省遵义医学院附属医院病理科 1999 年 ~2005 年 9 月份的宫颈浸润癌标本 50 例，其中宫颈鳞癌 45 例（高分化 16 例，中分化 17 例，低分化 12 例），腺癌 5 例，取标本前未经放疗和化疗，标本经病理学确诊，有完整保存的石蜡块，后住院行广泛性子宫切除术 + 盆腔淋巴结清扫术，年龄 30 ~ 72 岁，平均年龄 45.5 岁。FIGO 分期：Ⅰa 期 9 例，Ⅰb 期 20 例，Ⅱa 期 21 例，有淋巴结转移 14 例，无淋巴结转移 36 例，宫颈 CIN（Ⅰ~Ⅲ）23 例，其中 CIN Ⅰ~Ⅱ 16 例，CIN Ⅲ 7 例，平均年龄 46 岁；对照组为遵义医院正常人宫颈 20 例，平均年龄 43.7 岁。

1.1.2 入选条件 ①所有病例均在遵义医学院妇科手术，有完整的临床资料及随访资料；②对照组选因子宫肌瘤而切除子宫的正常宫颈。

1.1.3 方法 以宫颈 CIN（Ⅰ~Ⅲ）组和宫颈癌组为实验组，正常宫颈组织为对照组，其中宫颈 CIN（Ⅰ~Ⅱ）与 CIN Ⅲ级比较，鳞癌与腺癌比较，中高分化与低分化比较。

1.2 试剂

一抗分别为浓缩型兔抗人 Ki-67、MMP-2、MMP-7 多克隆抗体以及 SP 试剂盒和 DAB 酶底物显色试剂盒，均购自博士德生物有限公司。一抗、二抗浓度均为 1:100。

1.3 阳性结果判断

Ki-67、MMP-2、MMP-7，阳性信号，以胞核或胞浆内出现淡黄色至棕黄色为阳性。

1.4 统计方法

阳性率用 χ^2 检验。以 $P\leqslant 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 Ki-67 在宫颈各组织中的表达情况（图 1，表 1）

Ki-67 在 NCE、CIN 和 ICC 的阳性表达率分别为 10%、47.83%和 72.00%，Ki-67 在子宫颈癌组和 CIN 组明显高于正常宫颈上皮组，Ki-67 在腺癌中的表达高于鳞癌（$P<0.05$），Ki-67 在 CIN Ⅰ 和 CIN Ⅱ、CIN Ⅲ 中的表达，无明显差异，Ki-67 在低分化癌的表达明显高于高分化癌（$P<0.05$），Ki-67 在淋巴结转移组中的表达明显高于非淋巴结转移组（$P<0.05$）。

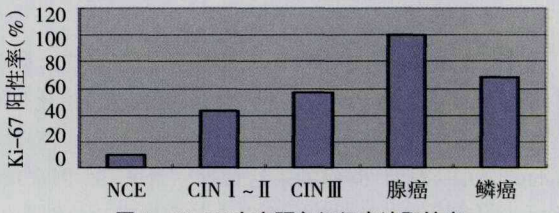


图 1 Ki-67 在宫颈各组织表达阳性率

2.2 MMP-7 在宫颈各组织表达情况（图 2、表 1）

MMP-7 在 NCE、CIN 和 ICC 的阳性表达率分别为 0、60.87%、78.00%，MMP-7 在宫颈癌组织中的表达水平高于 CIN 及正常宫颈组织（$P<0.01$），MMP-7 的表达与宫颈癌的病理类型及分化无关，MMP-7 在有淋巴结转移组中的表达高于非淋巴转移组 $P=0.519$。

2.3 MMP-2 在宫颈各组织间的表达情况（图 3、表 1）

MMP-2 在 NCE、CIN 和 ICC 的阳性表达率分别为 0、56.52%、76.00%，MMP-2 在宫颈癌中的表达高于 CIN 及正常宫颈组织（$P<0.01$），MMP-2 的表达与宫颈癌的病理类型及分化无关，MMP-2 在淋巴结转移组的阳性率显著高于非淋巴转移组（$P<0.05$）。

3 讨 论

增殖是细胞的重要生物学行为之一，细胞周期失控和异常增殖将导致肿瘤发生。Ki-67 存在于增殖细胞中，参与驱

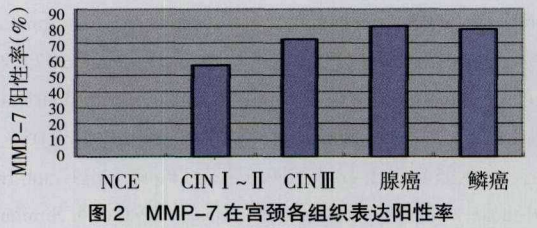


图 2 MMP-7 在宫颈各组织表达阳性率

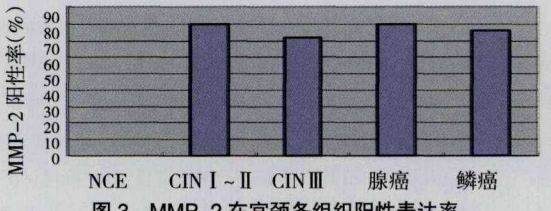


图 3 MMP-2 在宫颈各组织阳性表达率

表 1 Ki-67、MMP-7、MMP-2 在宫颈鳞癌、腺癌、CIN、正常组织中的表达率

组织类型		Ki-67				MMP-7				MMP-2		
		例数	阳性数	阳性率%		例数	阳性数	阳性率%		例数	阳性数	阳性率%
	合计	45	31	68.89	合计	45	35	77.78	合计	45	34	75.56
鳞癌	Ⅰ~Ⅱ	33	20	60.60	Ⅰ~Ⅱ	33	57	81.80	Ⅰ~Ⅱ	33	23	69.70
	Ⅲ	12	11	91.67	Ⅲ	12	8	66.67	Ⅲ	12	11	91.67
腺癌		5	5	100.00		5	4	80.00		5	4	80.00
CIN	合计	23	11	47.83	合计	23	14	60.87	合计	23	13	56.52
	Ⅰ~Ⅱ	16	7	43.83	Ⅰ~Ⅱ	16	9	56.25	Ⅰ~Ⅱ	16	8	80.00
	Ⅲ	7	4	57.10	Ⅲ	7	5	71.43	Ⅲ	7	5	71.43
正常组织		23	2	10.00		20	0	0.00		0	0	0.00

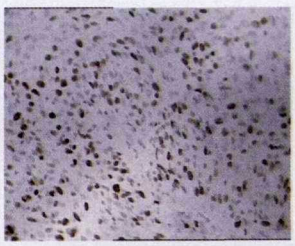


图 1A ki-67 在鳞癌中的表达,阳性信号定位胞核,呈棕色(SP 法×400)

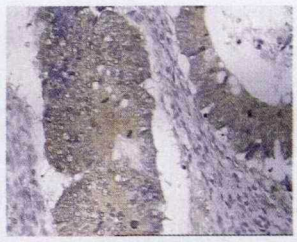


图 1B ki-67 在腺癌中的表达阳性信号定位胞浆,呈淡黄色(SP 法×400)

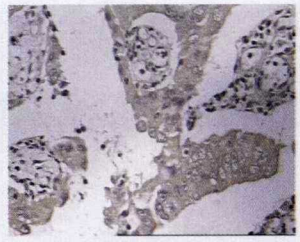


图 2A MMP-7 在腺癌中的表达阳性信号定位于胞浆呈散在棕黄色(SP 法×400)

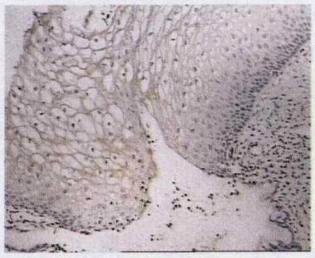


图 2B MMP-7 在 CIN Ⅰ中的表达阳性信号定位于胞浆呈弥漫性棕黄色(SP 法×400)



图 3A MMP-2 在腺癌中的表达阳性信号定位于胞浆呈棕黄色(SP 法×400)



图 3B MMP-2 在宫颈鳞癌中的表达呈棕黄色(SP 法×400)

动细胞周期的调控网络,可以用来识别生长中的正常细胞和肿瘤细胞,评估细胞的增生程度,已成为细胞增殖的标记之一。近年来大量文献报道衡量增生程度的指标 Ki-67 抗原在宫颈癌活检组织及石蜡包埋组织(包括鳞癌及腺癌)中高度异常表达[1],其表达与多种肿瘤的发生、发展、浸润、分期、转移有关[2],研究表明,它与很多恶性肿瘤的发展、转移和预后具有相关性[3,4]。我们从实验中检测发现 Ki-67 在 NCE、C1N 和 ICC 中的阳性表达率分别为 10%、47.83%和 72.00%,Ki-67 在淋巴结转移者中高于非淋巴结转移者(P<0.05),从 NCE 到 CIN 再到 ICC,Ki-67 的阳性表达率显著升高(P<0.01),由此可见,在宫颈癌发生发展的过程中伴有细胞增殖能力的显著增强。在宫颈上皮细胞癌变过程中细胞增殖活性是一个逐渐增强的过程,也进一步证实了宫颈癌的发生是一个逐步发展的过程。本研究还发现 ki-67 在低分化癌的表达明显高于高分化癌(P<0.05),肿瘤的分化程度越低,肿瘤细胞的增殖活性越强,Ki-67 的表达越强,与文献报道的结果基本相似[5]。提示子宫颈癌细胞增殖活性的改变与癌变的过程有关。

目前认为肿瘤的侵袭和转移是肿瘤细胞,宿主细胞及细胞外基质之间一系列复杂、多步骤相互作用的结果。基质金属蛋白酶(Matrix metalloproteinases,MMPs)能够降解绝大多数细胞外基质(Extracellular matrix,ECM)成分和其他一些底物,是一类与肿瘤浸润转移关系最为密切的蛋白水解酶。细胞外基质由Ⅰ型胶原、层粘蛋白、纤维连接蛋白等组成,这些成份均为 MMPs 的作用底物,MMPs 通过降解细胞外基质从而在肿瘤侵袭和转移中起着关键性作用,特别是Ⅰ型胶原酶(MM P-2 及 MM P-9),能够特异性降解基底膜的主要成分Ⅰ型胶原。而在组织学上,基底膜完整性的破坏被认为是恶性肿瘤侵袭开始的一个标志,MMP-7 即基质溶素,是 MMPs 家族中分子量最小的成员,具有广泛的底物特异性和高度的蛋白溶解能力,并在肿瘤血管的生成中发挥重要作用。本研究显示 MMP-7 在 NCE、CIN 和 ICC 的阳性表达率分别为 0、60.87%、78.00%,MMP-7 在宫颈癌组织中的表达水平高于 CIN 及正常宫颈组织(P<0.01),MMP-7 的表达在有淋巴结转移者中表达高于无转移者,MMP-7 具有强大的基质降解活性和广泛的底物特异性。以往研究显示 MMP-7 酶原由肿瘤细胞分泌[6-8],由 MMP-3、MMP-10 激活,自身亦可激活 MMP-2、MMP-9,而 MMP-2 和 MMP-9 已被大量实验证明与宫颈癌及其它恶性肿瘤的侵袭、转移及预后密切相关。

本研究显示:MMP-2 在 NCE、CIN 和 ICC 的阳性表达率分别为 0、56.52%、76.00%,MMP-2 在宫颈癌中的表达高于 CIN 及正常宫颈组织(P<0.01),MMP-2 的表达与淋巴结转移有关,淋巴结转移组 MMP-2 的阳性率均显著高于非淋巴转移组(P<0.05),MMP2 高表达导致细胞外基质和血管基底膜的降解加速,从而使肿瘤细胞易于移出癌巢的进出血管,促进其侵袭、转移。

实验发现在宫颈癌组中 ki-67、MMP-7、MMP-2 高表达,这说明它们在肿瘤的发生、发展有着重要的作用,这些结论为人们探讨宫颈癌的侵袭转移提供了重要的参考价值。

参 考 文 献

[1] Agoff S N, Lin P, Morihara J, et al. p16 (INK4a) Expression correlates with degree of cervical neoplasia: A comparison with Ki67 expression and detection of high-risk HPV types[J]. Mod Pathol, 2003, 16(7): 665-673.

[2] Cher L, Chew K, Rosenau W, et al. Cellular proliferation in prostatic adenocarcinoma as assessed by bromodeoxyuridine uptake and Ki67 and PCNA expression[J]. Prostate, 1995, 26(3): 7-8.

[3] Salvesen H B, Iversen O E, Akslen L A. Prognostic significance of angiogenesis and Ki-67, p53 and p21 expression: a population based endometrial carcinoma study [J]. J Clin Oncol, 1999, 17(5): 1382-1390.

[4] Zhai Y L, Kohaya Shi Y, Mori A, et al. Expression of steroid receptors, Ki-67 and p53 in uterine leiomyosarcomas [J]. Int J Gynecol Pathol, 1999, 18(1): 20.

[5] 王 岩,刘晓霞.上皮内瘤样变及子宫颈癌组织中 Ki-67、P16 的异常表达[J].宁夏医学杂志,2002,24(11):649-651.

[6] Knox J D, Borehum D R, Walker J A, et al Mapping of the metalloproteinase gene matrilysin(MMP7) to human chromosome 11q21→q22[J]. Cytogenet Cell Genet, 1996, 72(2-3): 179-182.

[7] Mori M, Bamard G F, Mimorik K, et al. Overexpression of matrix metalloproteinase-7 mRNA in human colon carcinomas[J]. Cancer, 1995, 75(16): 1516-1519.

[8] Parons S L, Watson S A, Brown P D, et al. Matrix metalloproteinases[J]. Br J Surg, 1997, 84(2): 160-166.

(责任编辑:冉明会)