维普资讯 http://www.cqvip.com

论 著 文章编号:0253-3626(2008)07-0799-04

MMP-14、MMP-2、TIMP-2 在胃癌组织中表达及意义

贾映东,王子卫

(重庆医科大学附属第一医院普外科,重庆 400016)

【摘 要】目的:探讨基质金属蛋白酶(Metalloproteinase,MMP)-14、-2、基质金属蛋白酶组织抑制因子(Tissue inhibitor of metalloproteinase,TIMP)-2 在胃癌、癌旁组织及胃溃疡中的表达情况及相互关系。方法:用免疫组织化学方法(SP 法)检测 30 例胃癌手术病人及 20 例胃镜活检胃溃疡病人中 MMP-14、MMP-2、TIMP-2 的表达。结果:(1)胃癌组织中,TIMP-2、MMP-2 及 MMP-14 表达阳性率分别为 43.3%、76.7%、53.3%,胃癌癌旁组织中分别为 56.7%、46.7%和 40%,胃溃疡组织中分别为 70%、45%和 30%。(2)在胃癌中,TIMP-2 的阳性表达与癌旁组织及胃溃疡组织比较有统计学差异($P<0.01$),MMP-2 阳性表达与溃疡组织之间比较有统计学差异($P<0.05$)。(3)在癌组织中,MMP-2、MMP-14 和 TIMP-2 表达均与浆膜是否受侵、淋巴结有无转移和 TNM 临床分期密切相关 ($P<0.05$)。(4) 双变量相关分析, 在胃癌组织中,MMP-14 和 MMP-2 阳性表达呈正相关 ($r_s=0.447$,$P>0.05$),而 TIMP-2 阳性表达与前两者均呈显著负相关($r_s=-1.0$,$P<0.01$)。结论:(1)MMP-1 在胃癌中高表达。(2)MMP-14 和 MMP-2 阳性表达呈正相关,是胃癌的侵袭转移性因素之一。(3)MMP-14 表达上调的同时激活了更多的 MMP-2,增加了胃癌向周围组织侵袭转移的能力。

【关键词】胃癌;MMP-14;MMP-2;TIMP-2

【中国图书分类法分类号】R735.2 【文献标识码】A 【收稿日期】2007-10-19

Espression and significance of MMP-14 and MMP-2,TIMP-2 in gastric cancer

JIA Ying-dong,et al

(*Department of General Surgery,the First Affiliated Hospital,Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*:To detect the expression of MMP-14,MMP-2 and TIMP-2 in gastric ulcer tissues, gastric cancer and tissues around gastric cancer. *Methods*:The expression of MMP-14,MMP-2,and TIMP-2 were detected by S-P immunohistochemistry in gastric ulcer tissues,gastric cancer tissues and around tissues from operated patients of gastric cancer (n=30) and gastric ulcer patients(n=20)who were diagnosed by stomach lens. *Results*:(1) The expression rates of TIMP-2, MMP-2 and MMP-14was 43.3%,76.7% and 53.3% respectively in gastric cancer tissues and 56.7%,46.7% and 40%in tissues around it,but 70%,45% and 30% in gastric ulcer tissues. (2) The expression of TIMP-2 in gastric cancer was lower than that in tissues or that in gastric ulcer tissues($P<0.01$).The expression of MMP-2 in gastric cancer was higher then that of gastric ulcer ($P<0.05$).(3) The expression of MMP-2,MMP-14 and TIMP-2 in gastric cancer tissues were closely correlated to the serosa invaded, lymph node metastasis and TNM stages($P<0.05$). (4) There was positive correlation between the expression of MMP-2 and MMP-14 in gastric cancer($r_s=0.447$,$P>0.05$).The expression of TIMP-2 was negatively correlated with the expression of MMP-2 or MMP-14($r_s=-1.0$,$P<0.01$)in gastric cancer. *Conclusions*:(1)The MMP-14 in gastric cancer is over expressed.(2)MMP -14 was one of invading and metastasis factors in gastric cancer and could judge prognosis of it. (3)The high expression of MMP-14 and MMP-2 showed that increased expression of MMP-14 resulted in more MMP-2 activation and increased ability of invading and metastasis in the tissues around gastric cancer. (4)TIMP-2 plays an important role in resisting MMP-14 in gastric cancer and gastric ulcer tissues.

【Key words】Gastric cancer;MMP-14;MMP-2;TIMP-2

胃癌是我国最常见的恶性肿瘤之一,年死亡率居各种恶性肿瘤首位,其确切病因尚未完全明了。对胃癌侵袭转移的研究是目前临床医生热切关心的课题。本研究采用免疫组织化学方法检测胃癌、癌旁组织及胃溃疡中 MMP-14、MMP-2、TIMP-2 的

作者介绍:贾映东(1971-),男,硕士,
研究方向:胃肠道肿瘤的基础与临床研究。
通讯作者:王子卫,男,教授,E-mail:wangziwei571@sina.com。

维普资讯 http://www.cqvip.com

表达情况，探讨三者之间和它们在不同组织中的相互关系，尤其 MMP-14 与另两者的关系，从而深入研究相关基质蛋白降解调节机制，有助于对胃癌的演变和侵袭转移的进一步认识，以期对胃癌的临床治疗提供一定的理论依据。

1 材料和方法

1.1 研究对象

收集 2003 年 10 月 ~2004 年 3 月期间 30 例在本院住院手术、术前未行放、化疗且病理确诊的胃癌病人，中位年龄 56.99 岁(范围 40~75 岁)，其中，男 19 例，女 11 例；同期门诊 20 例经胃镜检查确诊且未经药物治疗的胃溃疡病人，其中男 8 例，女 12 例，中位年龄 45.9 岁(范围 30~70 岁)，胃窦 16 例，胃体 4 例；溃疡直径小于 1.0cm 9 例，大于等于 2.0cm 4 例。

1.2 样本取材及处理

术中切取胃癌及癌旁(距瘤体边缘约 5cm)组织，10%福尔马林液固定；胃溃疡组织由门诊胃镜钳取，10%福尔马林液固定。上述标本全部石蜡包埋，每个石蜡块按 5μm 连续切片 8 张，1 张 HE 染色，6 张免疫组织化学法(SP 法)检测 MMP-14、MMP-2、TIMP-2 并行阴性对照，1 张备用。

1.3 免疫组化染色

MMP-2、MMP-14 和 TIMP-2 抗原免疫组化染色 -SP 法。

1.4 系统对照

PBS 液代替一抗作阴性对照，用胃癌阳性片作阳性对照。

1.5 结果判断

HE 染色显示，胃癌组织细胞核深染、粗大等异型性，细胞排列紊乱，极性消失；而癌旁组织和胃溃疡组织的细胞和组织异型性均不明显。

癌组织中 MMP-2 阳性染色主要位于细胞浆，抗原和抗体结合后，细胞质出现棕黄色颗粒为阳性细胞，阳性细胞≥10%为阳性表达；MMP-14 阳性染色位于细胞膜；TIMP-2 阳性染色位于细胞浆，呈弥漫性胞浆着色(见图 1~3)。

1.6 统计学处理

用 SPSS10.0 软件包处理。图像分析以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示，各指标在不同组织中阳性表达比较和同一指标在不同组织中阳性表达比较用 χ^2 检验(LSD)；各指标在不同组织中阳性表达与临床病理参数关系用 Fisher's Exact Test(单侧)或 Pearson Chi-Square(双侧)检验；同时指标间用双变量相关分析(Bivariate)。$P<0.05$ 为具有统计学意义。

2 结 果

2.1 各指标在不同组织中的表达情况(见表 1)

2.2 各指标在不同组织中阳性表达

胃癌和癌旁组织中，MMP-2 的阳性表达与 MMP-14、TIMP-2 均有统计学意义，$P<0.05$，而后两者之间无统计学意义，$P>0.05$；在胃溃疡组织中，MMP-14 与 TIMP-2 和 MMP-2 阳性表达均存在统计学差异，$P<0.05$。

TIMP-2 和 MMP-14 的阳性表达相似，胃癌和癌旁组织均与胃溃疡组织有统计学差异，P 均 <0.05，而二者之间无统计学意义，$P>0.05$；MMP-2 的阳性表达，只有胃癌和溃疡组织之间有统计学差



图 1 免疫组化染色，MMP-2 在胃癌组织中阳性表达(×100)

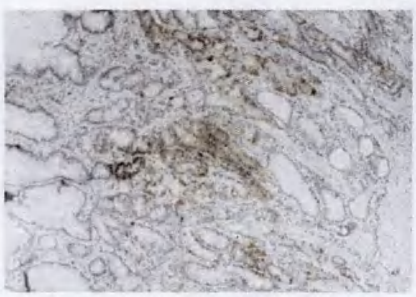


图 2 免疫组化染色，MMP-14 在胃癌组织中阳性表达(×100)



图 3 免疫组化染色，TIMP-2 在胃癌组织中阳性表达(×100)

表 1 TIMP-2、MMP-2、MMP-14 在不同组织中的阳性表达情况

	胃癌(%)	癌旁胃组织(%)	胃溃疡(%)
TIMP-2	13/30(43.3%)*	17/30(56.7%)	14/20(70%)
MMP-2	23/30(76.7%)*	14/30(46.7%)	9/20(45.0%)
MMP-14	16/30(53.3%)*	2/30(40.0%)	6/20(30.0%)

*. 与癌旁组织及胃溃疡比较，$P<0.05$

维普资讯 http://www.cqvip.com

表 2 TIMP-2、MMP-14、MMP-2 在不同组织中的面积积分光密度情况($\bar{x} \pm s$)

	胃癌	癌旁组织	胃溃疡
TIMP-2	0.22 ± 0.11	0.26 ± 0.12	1.21 ± 0.35
MMP-14	0.17 ± 0.10	0.18 ± 0.10	0.70 ± 0.27
MMP-2	0.63 ± 0.13	0.49 ± 0.13	1.04 ± 0.32

表 3 不同组织 3 指标阳性表达间相关分析

		MMP-14		MMP-2	
		r_s	P 值	r_s	P 值
胃癌	MMP	-20.447	>0.05		
	TIMP-2	-1.0	<0.01	-1.0	<0.01
癌旁组织	MMP	-21.0	<0.01		
	TIMP-2	-0.5	>0.05	1.0	<0.01
胃溃疡	MMP-2	-1.0	<0.01		
	TIMP-2	-1.0	<0.01	1.0	<0.01

异,$P<0.05$。见表 2。

2.3 各指标在不同组织中表达与临床病理因素的关系

在癌组织中,MMP-2、MMP-14 和 TIMP-2 的表达均与浆膜是否受侵、淋巴结有无转移和 TNM 临床分期密切相关。而与性别、年龄、肿瘤大小、侵润深度和分化程度无关。

在癌旁组织中,MMP-2、MMP-14 的表达与浆膜是否受侵、淋巴结有无转移和 TNM 临床分期密切相关。而在年龄、性别、肿瘤部位、大小、侵润深度及分化程度等比较上无统计学意义。TIMP-2 的表达与肿瘤侵润深度有关,P 值<0.05,余项比较无统计学意义。

2.4 各指标在不同组织中阳性表达的双变量相关分析(Bivariate)

在胃癌组织中,虽然 MMP-14 和 MMP-2 阳性表达相关系数 r_s 为 0.447,但 P 值>0.05;而 TIMP-2 阳性表达与前两者均呈显著负相关。在癌旁组织中,MMP-2 与 MMP-14、TIMP-2 阳性表达相关系数 r_s 均为 1.0,P 值均<0.01,故可以认为 MMP-2 和后二者存在显著正相关;而 MMP-14 和 TIMP-2 之间阳性表达相关系数 r_s 虽为 -0.5,但 P 值>0.05。

在溃疡组织中,MMP-14 与 TIMP-2、MMP-2 阳性表达相关系数 r_s 均为 -1.0,P 值均<0.01,可以认为 MMP-14 和后二者存在显著负相关;而 MMP-2 和 TIMP-2 之间阳性表达呈显著正相关。

TIMP-2 和 MMP-2 阳性表达相关分析,二者在胃癌中呈显著负相关,而在癌旁和胃溃疡组织中显著正相关。MMP-14 和 MMP-2 阳性表达相关分析,二者在胃癌中呈正相关,但不显著,在癌旁组织中呈显著正相关,在胃溃疡组织中呈显著负相关。TIMP-2 和 MMP-14 阳性表达相关分析,二者在胃癌和胃溃疡组织中呈显著负相关,而在癌旁组织中也呈负相关,但关系不显著(见表 3)。

3 讨 论

胃癌的生长、侵袭和转移是一个多阶段、多水平、多因素的过程,主要包括 5 个步骤:①原发肿瘤部位血管生成;②与内皮细胞及基膜粘附;③降解细胞外基质及基膜;④肿瘤细胞进入并定位于继发器官;⑤肿瘤细胞增殖并有新生血管形成[1],其中的关键步骤是降解肿瘤周围的基质,而 MMPs 是一组重要的细胞外基质降解酶,通过对细胞外基质中不同成份的降解,在肿瘤侵袭转移中起关键性作用。MMP 的过表达或活性增高与胃癌生长、侵袭转移密切相关[2]。有研究提示 MMP-2 高表达胃癌患者预后较差,MMP-2 表达的检测有助于胃癌病期进展评估[3]。国外文献报道,MMP-14 能约束和激活 MMP-2 和 MMP-13[4]。而 TIMP 通过与 MMPs 活性形式结合的方式而抑制其作用,MMPs 和 TIMPs 之间的平衡是 MMP 活性一个关键控制点[5]。膜型基质金属蛋

维普资讯 http://www.cqvip.com

白酶(Membtane-type MMP,MT-MMP)表达增加可触发瀑布式的 MMPs 激活过程并导致细胞周围纤维蛋白溶解,这是肿瘤细胞入侵的一个重要特点[6]。

本组研究显示,MMP-2 在各组织中有较高的表达,但在胃癌中最高。在癌组织、癌旁组织中,MMP-2 的表达与浆膜是否受侵、淋巴结有否转移和 TNM 临床分期密切相关。Murray 等[7]报导 MMP-2 在胃癌中的表达阳性率为 94%,而高嵋等[8]报导为 59.8%,这可能与不同的阳性判断标准有关。MMP-2 不仅在胃癌细胞中表达,而且还在基质中的纤维母细胞及单核巨噬细胞中表达,其表达强度以侵润癌巢周围最明显,这说明 MMP-2 与肿瘤的侵润密切相关,与文献报道一致[9,10]。我们还发现 MMP-2 在胃溃疡及癌旁组织中也有较高的表达,尤其癌旁组织与预期表达弱甚至不表达不相符,这说明即使距肿瘤 5cm 的癌旁组织病理 H-E 染色检查阴性,其 MMP-2 表达仍有上调,这可能为肿瘤术后复发或再发提供了基础。MMP-2 的表达与浆膜是否受侵关系密切,而浆膜是否受侵是胃癌预后的重要指标,故进一步说明 MMP-2 与胃癌预后关系密切。

TIMP 是 MMP 主要的自然抑制物。正常情况下 MMP 与 TIMP 在体内保持着相对的平衡状态,影响细胞基质的降解,从而在组织的修复、重塑、肿瘤细胞的侵润与转移中具有重要的意义。TIMP 通过抑制 MMP 的活性,维持细胞外基质及基膜的完整性,阻止内皮细胞的迁移,抑制新生血管的形成,并阻止肿瘤细胞进入血液循环形成转移灶[11]。TIMP-2 可以和 MMP-2 结合,终止其活动,达到抑制肿瘤细胞侵袭和转移的作用[12]。本组研究显示,TIMP-2 在胃癌及癌旁、胃溃疡组织中均有表达,而在胃癌组织中的表达最低。这与 MMP-2 的表达顺序相反,说明二者有负向相关的趋势;而在癌旁组织中 TIMP-2 的表达与 MMP-2 的表达呈相向表达,导致这一现象的机制尚不清楚,有待进一步研究。

MMP-14(或 MT-MMP-1)是 MMP-2 重要的激活因子[13]。MMP-14 及其家族在细胞表面定位、白明胶酶 A 的激活和调节与肿瘤侵袭、转移有关的蛋白质水解过程中起重要作用,激活的 MMP-2 与肿瘤的扩散有关[14]。本组研究显示,MMP-14 在胃癌组织中的表达最高,并与浆膜是否受侵、淋巴结有无转移及 TNM 临床分期相关。

我们还观察到,在胃癌组织,MMP-14 和 MMP-2 阳性表达呈正相关,但不显著,而 TIMP-2 阳性表达与前两者均呈负相关,且关系紧密,证实 MMP-14 和 MMP-2 一样是判断胃癌侵袭、转移和预后的重要指标之一。在癌旁组织中,MMP-2 与 MMP-14、TIMP-2 阳性表达呈正相关,且关系密切,说明 MMP-14 表达上调的同时激活了更多的 MMP-2,增加了胃癌向周围组织侵袭转移的能力,也进一步证明 MMP-14 与胃癌的侵袭转移密切相关。此外,TIMP-2 和 MMP-2 阳性表达在胃癌中呈显著负相关,而在癌旁和胃溃疡组织中显著正相关,二者存在抑制和被抑制的关系;说明 TIMP-2 在各组织中有对抗 MMP-14 的作用。

总之,MMP-14 和 MMP-2 一样在胃癌、癌旁组织和胃溃疡组织中都有表达,胃癌中最高,与胃癌的侵袭、转移和预后有密切的关系。另外,二者在癌旁组织中高表达说明 MMP-14 表达上调的同时激活了更多的 MMP-2,增加了胃癌向周围组织侵袭转移的能力,也进一步证明 MMP-14 与胃癌的侵袭转移密切相关,而 TIMP-2 在各组织中有对抗 MMP-14 的作用,尤其在胃癌和胃溃疡组织中。因此,我们认为 MMP-14 是判断胃癌的侵袭、转移和预后的指标之一。

参 考 文 献

[1] Woodhouse EC,Chuaqui RF,Liotta LA. General mechanisms of metastasis[J]. Cancer,1997;80(8):1529-1536.

[2] Poulson R,Pignatelli G. Stromal expression of 72ku type Ⅳ collagens and TIMP-2 mRNAs in collected neoplasia[J]. Am J Pathol,1992;142(2):389-397.

[3] 谢庆国,那光宇.基质金属蛋白酶 -2 与肿瘤侵袭转移相关研究[J]. 中华现代医学临床杂志,2003;1(5):63-66.

[4] Nagase H. Activation mechanisms of matrix metalloproteinase[J]. Biol Chem,1997;378(3-4):151-160.

[5] Yoshimoto M,Itoh F,Yamamoto H,et al. Expression of MMP-7 (PUMP-1)mRNA in human colorectal cancers[J]. Int J Cancer,1993;54(4):614-618.

[6] Sato H,Seiki M. Membrane-type matrix metalloproteinase (MT-MMPs) in tumor metastasis[J]. J Biochem(Tokyo),1996;119(2):209-215.

[7] Murray GI,Duncan ME,Arbuckle E,et al. Matrix metalloproteinase and their inhi-bittors in gastric cancer[J]. Gut,1998;43(6):791-797.

[8] 高 嵋,姜汉国,唐慰萍,等.基质金属蛋白酶 -2 在胃癌中的表达及其对癌微血管生产和转移的影响[J]. 广东医学院学报,2004;22(1):8-9.

[9] Allgayer H,Babic R,Grutzner KU,et al. Tumor-associatede proteases and inhibitors in gastric cancer:analysis of prognostic impact and individual risk protease patterns[J]. Clin Exp Metastasis,

(下转第 810 页)

维普资讯 http://www.cqvip.com

FDR)基因也相继激活。VEGF 和VEGFR 结合引起血管内皮细胞增殖和诱导新生血管形成以适应缺血缺氧反应。

在视网膜新生血管病变中,各种原发病因引起的视网膜缺血缺氧,也正是通过上述途径激活了VEGF 表达,最终导致大量新生血管生成。由此可见,如果能抑制 HIF-1(主要是 α 亚基)活性,便可阻断缺氧信号转导通路,缺氧刺激下的 VEGF 表达和随后的新生血管反应都可明显得到抑制。

FK228 是一种环行四肽类 HDAC 抑制剂,可以抑制 HDAC 的去乙酰化作用。主要作用的机制是抑制 HDAC,阻断由于 HDAC 募集功能紊乱而导致的基因表达受抑制,从而达到治疗的目的。并且作为抗肿瘤制剂已开始进入临床研究。

实验结果显示,空白组 HIF-1α 蛋白呈低表达(22.71 ± 1.59)和治疗组 HIF-1α 蛋白的表达水平(24.81 ± 2.50)均低于对照组(40.18 ± 9.07),差异有统计学意义($P < 0.05$)。同样空白组VEGF 蛋白呈低表达(1.40 ± 0.06)和治疗组 VEGF 蛋白的表达水平(1.46 ± 0.08)低于对照组(2.63 ± 0.7)两者相比差异有统计学意义($P < 0.05$)。此结果表明在正常空气环境下的空白组鼠视网膜组织中HIF-1α 蛋白和 VEGF 蛋白呈低表达,在高氧环境下其表达明显增高,而给予 FK228 处理后表达下降。证明 FK228 对 HIF-1α 和 VEGF 表达具有抑制作用。另有实验证明,FK228 抑制 HIF-1α 的活性从而降低 VEGF 的转录和翻译水平。You MeiLi 等[1]实验表明,在用 FK228 治疗的实体性肿瘤中,其缺氧区的一些新生的大血管和微血管发生萎缩。

综上所述,在高氧环境下 7d 龄幼鼠视网膜组织中 HIF-1α 和 VEGF 的表达增高,通过一系列复杂的过程使视网膜新生血管增多。FK228 能够通过抑制 HIF-1α 和 VEGF 的活性及表达,明显抑制新生血管的形成。同时,在本实验中,我们在给药时间上与以往研究不一样,即在缺氧之前给予药物干预,从缺氧信号转导通路的起始开始达到最大限度的抑制 VEGF 的表达。虽然其详细机制还不甚明确,但这足以为我们提供一条控制视网膜新生血管的全新的、大有希望的途径。

参 考 文 献

[1] Mie LY,Kim SH,Kim HS,et al. Inhibition of hypoxia-induced angiogenesis by FK228,a specific histone deacetylase inhibitor,via suppression of HIF-1α activity[J]. Biochem Biophys Res Commun,2003;300(1):241-246.

[2] Kosugi H,Iot M,Yamamoto Y,et al. In vivo effect of a histone deacetylase inhibitor,FK228,on human acute promyelocytic leukemia in NOD/Shi-scid/scid mice[J]. Jpn J Cancer Res,2001;92(5):529-536.

[3] Cress WD,Seto E. Histone deacetylases,transcriptional control,and cancer[J]. Cell Physiol,2000;184(1):1-16.

[4] Shima DT,Gougos A,Miller JW,et al. Cloning and mRNA expression of vascular endothelial growth factor in ischemic retinas of maraca fascicularis[J]. Invest Ophthal Vis Sci,1996;37(7):1334-1340.

[5] Malecaze F,Clamens S,Simorre-Pinatel V,et al. Detection of vascular endothelial growth factor messenger RNA and vascular endothelial growth factor-like activity in proliferative diabetic retinopathy[J]. Arch Ophthal,1994;112(11):1476-1482.

[6] 叶 红,金咸容.低氧诱导因子-1 的结构、功能、调节及其与低氧信号转导的关系[J]. 生理科学进展,2001;1(32):62-64.

[7] Damert A,Ikeda E,Risau W. Activator-protein-1 binding potentiates the hypoxia-induciblefactor-1-mediated hypoxia-induced transcriptional activation of vascular-endothelial growth factor expression in C6 glioma cells[J]. Biochem J,1997;327(2):419-423.

(责任编辑:冉明会)

(上接第 802 页)

1998;16(1):62-73.

[10] Monig SP,Baldus SE,Hennecken JK,et al. Expression of MMP-2 associated with progression and lymph node metastasis of gastric carcinoma[J]. Histopathology,2001;39(4):597-602.

[11] Ichikawa Y,Ishikawa T,Tanaka K,et al. Extracellular matrix degradation enzy- mes:important factors in liver metastasis of colorectal cancer and good targets for anticancer metastasis therapy[J]. Nippon Geka Gakkai Zasshi,2001;102(3):376.

[12] 顾学文,陈月香,肖 琴,等.MMP-2 和 TIMP-2 在胃癌组织中的表达及其意义[J]. 实用癌症杂志,2003;18(1):50-51.

[13] Ueno H,Nakamura H,Inoue M,et al. Expression and tissue localization of memb- rane-types 1,2,and 3 matrix metalloproteinase in human invasive breast carcinomas[J]. Cancer Res,1997;57(10):2055-2060.

[14] Sato H,Seiki M.Membrane-type matrix metalloproteinase (MT-MMPs) in tumor metastasis[J]. J Biochem,1996;119(2):209-215.

(责任编辑:关蕴良)