DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.16.027
第26卷第16期 第三军医大学学报 Vol. 26, No. 16
2004年8月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Aug. 2004

文章编号:1000-5404(2004)16-1491-03

论著

肺癌患者肺组织 MMP-2、MMP-7 和 TIMP-2 表达及意义

梅同华[1],罗 彬[1],马 英[2] (重庆医科大学第二附属医院:[1]呼吸内科,[2]病理科,重庆 400010)

提 要:目的 探讨肺癌组织中基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinase-2, MMP-2)、基质金属蛋白酶-7(matrix metalloproteinase-7, MMP-7)和组织金属蛋白酶-2(tissue inhibitor of matalloproteinase-2, TIMP-2)的表达及其意义。方法 采用免疫组化(S-P)法检测74例肺癌组织、20例癌旁正常肺组织中MMP-2、MMP-7和TIMP-2的表达及其与肺癌类型及预后的关系。结果 癌组织中MMP-2和MMP-7表达均显著高于癌旁正常肺组织($P<0.01$, $P<0.05$)。MMP-2表达在有淋巴结转移者高于无淋巴结转移者($P<0.01$),MMP-7表达与有无淋巴结转移无明显关系($P>0.05$)。肺癌TIMP-2表达在有淋巴结转移者低于无淋巴结转移者($P<0.05$)。肺癌MMP-2和TIMP-2的表达呈负相关($P<0.05$)。单变量分析显示MMP-2表达阳性者生存率低于MMP-2阴性者($P<0.01$),TIMP-2阳性者生存率高于TIMP-2阴性者($P<0.01$)。结论 MMP-2和TIMP-2表达与肺癌侵袭转移密切相关,可作为判断肺癌预后的有用指标,MMP-7表达在肺癌侵袭转移中作用不显著。

关键词:肺肿瘤;基质金属蛋白酶;金属蛋白酶类组织抑制剂
中图法分类号:Q556.9;R730.2;R734.2 文献标识码:A

Expressions of MMP-2, MMP-7 and TIMP-2 in lung carcinoma and their significance

MEI Tong-hua[1], LUO Bin[1], MA Ying[2] ([1]Department of Respiratory Disease, [2]Department of Pathology, Second Affiliated Hospital, Chongqing University of Medical Sciences, Chongqing 400010, China)

Abstract: **Objective** To investigate the expressions of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2), matrix metalloproteinase-7 (MMP-7), and tissue inhibitor of matalloproteinase-2 (TIMP-2) in lung carcinoma tissue and their significance. **Methods** The expressions of MMP-2, MMP-7, and TIMP-2 in 74 cases of lung carcinoma tissues and 20 cases of peri-cancerous normal lung tissues were detected by immunohistochemical method, and the correlation between the expressions of these proteins and the clinicopathological parameters and the prognosis was analyzed. **Results** MMP-2 and MMP-7 expressions in lung carcinoma tissues were significantly higher than those in peri-cancerous normal lung tissues ($P<0.01$, $P<0.05$). The expression of MMP-2 was significantly higher in lung carcinomas with lymph node metastasis than that without lymph node metastasis. The expression of MMP-7 in lung carcinomas was not associated with the presence of lymph node metastasis ($P>0.05$), and the expression of TIMP-2 was significantly lower in lung carcinomas with lymph node metastasis than that in lung carcinomas without lymph node metastasis ($P<0.05$). The expression of MMP-2 was negatively correlated with that of TIMP-2 in lung carcinomas ($P<0.05$). Univariate analysis showed that the survival rate in cases with MMP-2 expression was significantly lower than that in cases without MMP-2 expression ($P<0.01$), and significantly higher in cases with TIMP-2 expression than that in cases without expression ($P<0.01$). **Conclusion** The expressions of MMP-2 and TIMP-2 are closely associated with invasion and metastasis of lung carcinoma. MMP-2 and TIMP-2 may be used as the predicting marker for the prognosis of lung carcinoma. The role of MMP-7 expression in the invasion and metastasis of lung carcinoma is not obvious.

Key words: lung neoplasm; matrix metalloproteinase; tissue inhibitor of metalloproteinase

细胞外基质(extracell matrix, ECM)是恶性肿瘤侵袭转移的重要组织屏障。基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPS)能降解ECM中的各种蛋白成分,在恶性肿瘤侵袭转移中发挥作用,其中以MMP-2的作用尤为重要,MMP-7也与多种肿瘤的侵袭转移关系密切。而组织金属蛋白酶抑制剂-2(tissue inhibitors of metalloproteinase-2, TIMP-2)是MMP-2的特异性抑制剂。本研究采用免疫组化(S-P)法检测74例肺癌MMP-2、

基金项目:重庆市科委基金资助项目(2004-12-20-82)
Supported by the Research Foundation of Scientific Committee of Chongqing (2004-12-20-82)
作者简介:梅同华(1954-),女,重庆市人,教授,主要从事肺癌方面的研究,发表论文30余篇。电话:(023)63849075-2093
收稿日期:2004-01-13;修回日期:2004-02-23

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

MMP-7 及 TIMP-2 的表达，探讨 MMP-2、MMP-7 及 TIMP-2 在肺癌侵袭转移中的作用及其对预后判断的意义。

1 材料与方法

1.1 材料

选取我院 1996 年 1 月至 2001 年 5 月肺癌切除标本 74 例，包括肺鳞癌 28 例，肺腺癌 36 例，小细胞肺癌 10 例。其中鳞癌、腺癌包括中-高分化 39 例，低分化 35 例。根据 1997 年 UICC 的肺癌 TNM 分期标准分为Ⅰ期 27 例，Ⅱ期 18 例，Ⅲ期 26 例，Ⅳ期 3 例。伴有淋巴结转移者 36 例，无淋巴结转移者 38 例。本组病例男性 45 例，女性 29 例，年龄 26～72 岁，平均 53.5 岁。74 例均有随访资料。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 方法

采用链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶免疫组化染色(S-P 法)。即用型 Ultra SensitiveTM S-P 试剂盒、即用型 Mouse Monoclonal Anti-MMP-2、Mouse Monoclonal Anti-MMP-7 及 Mouse Monoclonal Anti-TIMP-2 均购自福州迈新生物技术开发公司。用 PBS 液代替一抗作阴性对照。

1.3 结果判断

镜下观察肿瘤细胞胞浆出现棕黄色颗粒为阳性。高倍镜下取 4 个不同视野，各计数 200 个细胞，按阳性细胞所占的百分率分为＋～＋＋＋：阳性细胞＜30％为＋；阳性细胞占 30％～50％为＋＋；阳性细胞＞50％为＋＋＋。无阳性细胞为阴性－。

1.4 统计学处理

采用秩和检验、Spearman 等级相关、Kaplan-Meier 乘积限法、log-rank 检验、Cox 回归分析。显著检验水准 α 值取 0.05。所有统计学处理均采用 SAS6.12 软件包完成。

2 结果

2.1 MMP-2、MMP-7 和 TIMP-2 的表达

MMP-2、MMP-7 和 TIMP-2 阳性产物呈棕黄色颗粒，主要定位于肿瘤细胞胞浆，见图 1～3。癌组织 MMP-2 和 MMP-7 表达高于癌旁正常肺组织，差异有显著性(分别 $Z=-3.4874$，$P<0.01$；$Z=-1.8440$，$P<0.05$)，癌组织 TIMP-2 表达与癌旁正常肺组织相比，差异无显著性($Z=-2.3780$，$P=0.0652$)，见表 1。PBS 阴性对照组未染色。

表 1 MMP-2、MMP-7 和 TIMP-2 在肺癌及正常肺组织中的表达

Tab 1 Expressions of MMP-2, MMP-7, and TIMP-2 in lung cancer and normal pulmonary tissues

Groups	n	MMP-2				MMP-7				TIMP-2			
		－	＋	＋＋	＋＋＋	－	＋	＋＋	＋＋＋	－	＋	＋＋	＋＋＋
Lung cancer	74	34	32	8	0	51	17	6	0	52	16	5	1
Normal tissue	20	18	2	0	0	19	1	0	0	18	2	0	0

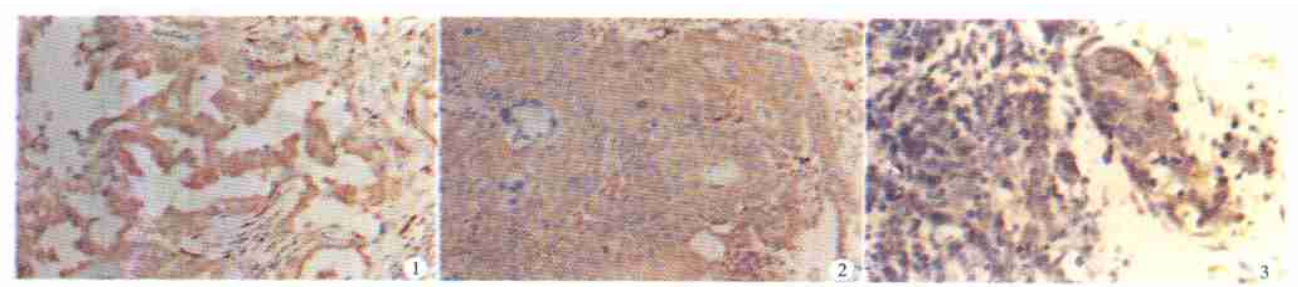


图 1 MMP-2 在肺腺癌中的表达 (S-P×200)

Fig 1 Expression of MMP-2 in lung adenocarcinomas (S-P×200)

图 2 MMP-7 在肺腺癌中的表达 (S-P×200)

Fig 2 Expression of MMP-7 in lung adenocarcinomas (S-P×200)

图 3 TIMP-2 在肺腺癌中的表达 (S-P×200)

Fig 3 Expression of TIMP-2 in lung adenocarcinomas (S-P×200)

2.2 MMP-2、MMP-7 和 TIMP-2 表达与临床病理因素的关系

MMP-2、MMP-7 和 TIMP-2 表达与患者性别、年龄、肺癌组织学类型和分化程度无明显关系($P>0.05$)。MMP-2 表达在有淋巴结转移者高于无淋巴结转移者($Z=2.6855$，$P<0.01$)，Ⅲ～Ⅳ期高于Ⅰ～Ⅱ期($Z=2.1996$，$P<0.05$)。MMP-7 表达与有无淋巴结转移无明显关系($Z=0.8319$，$P>0.05$)，Ⅲ～Ⅳ期与Ⅰ～Ⅱ期相比较差异无显著性($Z=0.5588$，$P>0.05$)。TIMP-2 表达有淋巴结转移者低于无淋巴结转移者($Z=-2.4484$，$P<0.05$)，而Ⅲ～Ⅳ期与Ⅰ～Ⅱ期相比较差异无显著性($Z=-1.2983$，$P>0.05$)，表 2。

表 2 肺癌 MMP-2、MMP-7 和 TIMP-2 表达与临床分期及淋巴结转移的关系

Tab 2 Relationship of expressions of MMP-2, MMP-7, and TIMP-2 with clinical stages and lymph node metastasis

	Group	n	MMP-2				MMP-7				TIMP-2			
			－	＋	＋＋	＋＋＋	－	＋	＋＋	＋＋＋	－	＋	＋＋	＋＋＋
Clinical stage	Ⅰ-Ⅱ	45	25	17	3	0	32	10	3	0	29	12	3	1
	Ⅲ-Ⅳ	29	9	15	5	0	19	7	3	0	23	4	2	0
Lymph node metastasis	without	38	23	13	2	0	28	7	3	0	22	11	4	1
	with	36	11	19	6	0	23	10	3	0	30	5	1	0

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2.3　MMP-2、MMP-7 和 TIMP-2 表达的相关性

癌组织 MMP-2 和 MMP-7 的表达无显著相关性(r=0.039 21, P>0.05); MMP-7 和 TIMP-2 的表达无显著相关性(r=−0.036 75, P>0.05)。肺癌 MMP-2 和 TIMP-2 的表达呈负相关(r=−0.287 58, P=0.013 0)。

2.4　MMP-2、MMP-7 和 TIMP-2 表达与预后

不同 MMP-2 表达结果的生存曲线, MMP-2 表达阳性组的预后显著差于 MMP-2 阴性组(χ^2=15.940 5, P<0.01)。不同 MMP-7 表达结果的生存曲线, MMP-7 表达阳性组的预后与 MMP-7 阴性组相比较, 差异无显著性(χ^2=0.502 9, P>0.05)。不同 TIMP-2 表达结果的生存曲线, TIMP-2 表达阴性组的预后显著差于 TIMP-2 阳性组(χ^2=11.447 6, P<0.01)。

将病人的性别、年龄、肿瘤的组织学类型、临床分期、淋巴结转移、MMP-2、MMP-7 和 TIMP-2 表达引入 Cox 比例风险模型进行多因素分析, 临床分期和 TIMP-2 两种因素被选入模型内, 临床分期为危险因子 β>0, 对肺癌术后生存时间有显著影响, 其每增一级死亡相对危险度增大 2.846 倍; TIMP-2 为保护性因子 β<0, 对肺癌术后生存时间有显著影响, TIMP-2 表达阳性者死亡相对危险度为 TIMP-2 表达阴性者的 0.304 倍(表 3)。

表 3　Cox 模型的参数估计

Tab 3　Parameter estimation of Cox model

Variable	DF	β	SE(β)	χ^2	P	RR
Clinical stage	1	1.045 78	0.185 37	31.827 3	0.000 1	2.846
TIMP-2	1	−1.191 79	0.317 97	14.048 3	0.000 2	0.304

3　讨论

恶性肿瘤最重要的特点是向周围组织侵袭并在远处形成转移, 在此过程中涉及多层次、多因素、多因子的参与, MMPS 是参与侵袭转移的重要因素之一。目前已明确人类 MMPs 有 20 余种, 其中 MMP-2 和 MMP-7 可降解 ECM 中的Ⅳ型胶原、明胶、纤维连接蛋白等多种成分, 促进肿瘤侵袭转移。TIMPS 是一组能特异性抑制 MMPS 活性的低分子量蛋白质, 包括 TIMP-1, -2, -3, -4, TIMP-2 是 MMP-2 的特异性抑制剂, 它通过抑制 MMP-2 的活性从而抑制肺癌侵袭转移。

本研究采用免疫组化 S-P 法检测肺癌组织中 MMP-2、MMP-7、TIMP-2 表达与患者临床分期、淋巴结转移的关系, 结果显示癌组织中 MMP-2 表达均显著高于癌旁正常组织(P<0.01), 与 Delebecq[1] 报道相符。MMP-2 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), 结合本实验结果, 提示 MMP-2 与肺癌侵袭转移关系密切, MMP-2 可能通过降解 ECM, 从而促进肺癌侵袭转移[2]。本研究显示癌组织中 MMP-7 表达显著高于正常组织(P<0.05), 与 Sasaki 等[3] 报道一致。MMP-7 表达与有无淋巴结转移无明显关系(P>0.05), Ⅲ~Ⅳ期与Ⅰ~Ⅱ相比较差异无显著性(P>0.05), 可能预示 MMP-7 在肺癌侵袭转移中作用不显著, 但 MMP-7 在食管癌[3]、结肠癌[4] 侵袭转移中的作用已得到肯定[4], 可能与 MMP-7 在不同组织类型肿瘤中的作用不同有关。

TIMP-2 对 MMP-2 有较高的选择性抑制作用, 既能与无活性 pro-MMP2 的结合, 又能结合激活状态下的 MMP-2, 而且可以终止 MMPs 中所有成员的水解活性。本实验显示肺癌 TIMP-2 表达有淋巴结转移者低于无淋巴结转移者, TIMP-2 和 MMP-2 的表达呈负相关(r=−0.287 58, P=0.013 0), 提示 TIMP-2 与肺癌侵袭转移关系密切, 与 Nawrocki 等[5] 报道一致, TIMP-2 可能通过抑制 MMP-2 的活性, 从而抑制肺癌侵袭转移。

通过对本组 74 例肺癌随访和统计分析表明, MMP-2 表达阳性组的预后显著差于 MMP-2 阴性组(P<0.01), 即阳性表达率越高越易发生侵袭转移。MMP-2 可作为判断肿瘤预后的指标[6]。TIMP-2 作为 MMP-2 的特异性抑制剂, 本实验也探讨了 TIMP-2 与肺癌生存率的关系, 表明 TIMP-2 表达阴性组的预后显著差于 TIMP-2 阳性组(P<0.01), 表明 TIMP-2 也可以作为判断肺癌预后的有用指标。MMP-7 表达阳性组的预后与 MMP-7 阴性组相比较, 差异无显著性(P>0.05), 提示 MMP-7 表达在肺癌侵袭转移中作用不显著。此外, 通过 Cox 回归分析显示, TIMP-2 表达、临床分期与肺癌病人预后显著相关, 这两个指标对判断肺癌预后具有重要的意义。

参考文献:

[1] Delebecq T J, Porte H, Zerimech F, *et al*. Overexpression level of stromelysin 3 is related to the lymph node involvement in non-small cell lung cancer[J]. Clin Cancer Res, 2000, 6(3): 1086−1092

[2] Fang J, Shing Y, Wiederschain D, *et al*. Matrix metalloproteinase-2 is required for the switch to the angiogenic phenotype in a tumor model[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2000, 97(8): 3884−3889.

[3] Sasaki H, Yukiue H, Moiriyama S, *et al*. Clinical significance of matrix metalloproteinase-7 and Ets-1 gene expression in patients with lung cancer [J]. J Surg Res, 2001, 101(2): 242−247.

[4] Kumaki F, Matsui K, Kawai T, *et al*. Expression of matrix metalloproteinases in invasive pulmonary adenocarcinoma with bronchioloalveolar component and atypical adenomatous hyperplasia[J]. Am J Pathol, 2001, 159(6): 2125−2135.

[5] Nawrocki B, Polette M, Marchand V, *et al*. Expression of matrix metalloproteinases and their inhibitors in human bronchopulmonary carcinomas: quantificative and morphological analyses[J]. Int J Cancer, 1997, 72(4): 556−564

[6] 葛明建, 李良彬, 张玉洪, 等. RT-PCR 法检测食管鳞癌患者淋巴结微转移的预后意义[J]. 第三军医大学学报, 2003, 25(17): 1581−1583

(编辑　薛国文)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net