

# 食管鳞癌基质金属蛋白酶及其抑制因子的表达及其意义

张惠忠<sup>1</sup>, 张 华<sup>1</sup>, 李海刚<sup>2</sup>, 黄洪铮<sup>1</sup>, 熊利华<sup>1</sup>, 华 平<sup>1</sup>, 沈溪明<sup>2</sup>

(中山医科大学孙逸仙纪念医院 1. 心胸外科; 2. 病理科, 广东 广州 510120)

**摘要:**【目的】研究食管鳞癌(ESC)组织中基质金属蛋白酶-2(MMP-2)及其抑制因子-2(TIM P-2)的表达与 ESC 生物学行为之间的关系, 探讨两者与 ESC 组织分化程度、TNM 分期、淋巴结转移和预后的关系。【方法】采用免疫组织化学链霉素抗生物素蛋白-过氧化物酶(SP)法检测 65 例 ESC 组织中 MMP-2、TIM P-2 的表达。【结果】MMP-2 在 ESC 组织的阳性率为 66%, 且其表达越强, 组织分化程度越低( $P=0.031$ )、病程越晚(II B 期和 III 期,  $P=0.000$ )、淋巴结转移率越高( $P=0.000$ )、2 年生存率越低( $P=0.000$ ); TIM P-2 在 ESC 组织的阳性率为 40%, 且其表达越强, 病程越早(I 期和 II A 期,  $P=0.027$ )、淋巴结转移率越低( $P=0.027$ )、2 年生存率越高( $P=0.03$ )。【结论】ESC 组织中的 MMP-2 和 TIM P-2 的表达, 与 ESC 的分化程度、TNM 分期、淋巴结转移情况和预后有密切关系。检测 ESC 组织中的 MMP-2 和 TIM P-2 的表达, 对预后的评价有一定的价值。

**关键词:** 食管肿瘤/病理学; 金属蛋白酶类/拮抗剂和抑制剂; 免疫组织化学

中图分类号: R735.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-257X(2000)05-0352-03

## Expression and Significance of Matrix Metalloproteinase 2 and Its Tissue Inhibitors in Esophageal Squamous Carcinoma

ZHANG Hui-zhong<sup>1</sup>, ZHANG Hua<sup>1</sup>, LI Hai-gang<sup>2</sup>, HUANG Hong-zheng<sup>1</sup>,  
XIONG Li-hua<sup>1</sup>, HUA Ping<sup>1</sup>, SHEN Xi-ming<sup>2</sup>

(1. Department of Cardiothoracic Surgery, Sun Yat-sen Memorial Hospital, 2. Department of Pathology Sun Yat-sen Memorial Hospital, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou 510120, China)

**Abstract:**【Objective】To investigate expression of matrix metalloproteinase-2(MMP-2) and tissue inhibitors of metalloproteinase-2(TIM P-2) in esophageal squamous carcinoma (ESC) and the relationship between the expression and the biological behavior of ESC.【Methods】The expression of MMP-2 and TIM P-2 of 65 cases of ESC were detected by immunohistochemistry (the method of streptavidin-peroxidase, SP).【Results】The expressive rate of MMP-2 of ESC was 66%, and more expression was closely related to poorer differentiation( $P=0.031$ ), later TNM grade(II B and III  $P=0.000$ ), higher rate of lymph node metastasis ( $P=0.000$ ) and lower survival rate of two years( $P=0.000$ ). The expressive rate of TIM P-2 of ESC was 40%, and more expression was closely related to earlier TNM grade(I and II A,  $P=0.027$ ), lower rate of lymph node metastasis ( $P=0.027$ ) and higher survival rate of two years ( $P=0.03$ ).【Conclusions】The expression of MMP-2 and TIM P-2 has a close relationship with the differentiation, TNM grade, lymph node metastasis and survival time of ESC. Examination of MMP-2 and TIM P-2 may be of prognostic value.

**Key words:** esophageal neoplasm/pathology; metalloproteinase/antagonist and inhibitors; immunohistochemistry

收稿日期: 2000-05-02

基金项目: 中山医科大学孙逸仙纪念医院科研基金项目(F000099118)

作者简介: 张惠忠(1963-), 男, 广东阳江人, 硕士, 主治医师

© 1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

肿瘤的浸润和转移是其主要的生物学特征,也是影响治疗效果和预后的主要因素。肿瘤具有这一特性的重要原因在于肿瘤细胞对间质的破坏性影响,并形成适应自身生长和保持恶性特征的微环境。近年研究发现,基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinase-2, MMP-2)和其特异性抑制因子即基质金属蛋白酶-2抑制因子-2(tissue inhibitors of metalloproteinase-2, TIMP-2)在肿瘤的浸润与转移过程中细胞外基质(extra cell matrix, ECM)和基底膜(basement membranes, BM)的降解中起重要作用<sup>[1-3]</sup>。本研究系通过免疫组织化学链霉素抗生物素蛋白-过氧化物酶(SP)法,检测65例食管鳞癌(ESC)组织中MMP-2和TIMP-2的表达,并探讨两者与ESC组织分化程度、TNM分期、淋巴结转移和预后等生物学行为的关系。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

我院胸外科1984~1996年手术切除ESC的标本65例,颈段3例,胸上、中、下段分别有9、29和24例;I期5例、IIA期40例、IIB期2例和III期18例;其中42例有随访资料。全部病例术前未经化疗、放疗,标本由 $\varphi=10\%$ 福尔马林固定,石蜡包埋切片。

### 1.2 方法

MMP-2(CA4001)、TIMP-2(T2-101)和SP试剂盒(即用型)均购自福州迈新公司。作TIMP-2染色的切片先行高温高压抗原修复。一抗的稀释度均为1:50。其余步骤按SP法进行。二氨基联苯胺显色。以PBS代替一抗作阴性对照,人流的胎盘绒毛组织作阳性对照。

### 1.3 免疫组化结果判断

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个癌细胞,按阳性细胞所占的百分率分为:(-)无阳性细胞,(+)阳性细胞 $<30\%$ ,(++)阳性细胞 $30\% \sim 50\%$ ,(+++)阳性细胞 $>50\%$ 。

### 1.4 统计学分析

采用秩和检验(Mann-Whitney test和Kruskal-Wallis test)比较两组或多组等级变量间的差异,使用标准正态分布统计量 $Z$ 确定 $P$ 值。在描述分化程度与MMP-2关系时计算列联系数( $r_p$ )描述相关

的密切程度。

## 2 结果

### 2.1 MMP-2在ESC组织中的表达及其意义

ESC组织中MMP-2的阳性表达率为66%(43/65)。MMP-2在低、中分化组的阳性率较高分化组高,有一剂量效应关系( $r_p=0.42$ ,  $P=0.031$ );IIB期和III期的阳性表达率较I期和IIA期组高( $Z=-4.173$ ,  $P=0.000$ );伴淋巴结转移组的阳性表达率较无转移组高( $Z=-4.173$ ,  $P=0.000$ );术后生存期 $<2$ 年组的阳性表达率较生存期 $\geq 2$ 年组高( $Z=-4.091$ ,  $P=0.000$ ),见表1。

表1 ESC组织MMP-2的表达及其与组织分化、淋巴结转移和生存期的关系

Table 1 Expression of MMP-2 and differentiation, TNM grade, lymph node metastasis and survival time of ESC

|                 | n  | MMP-2 |     |      |       |
|-----------------|----|-------|-----|------|-------|
|                 |    | (-)   | (+) | (++) | (+++) |
| Differentiation |    |       |     |      |       |
| Well            | 37 | 16    | 13  | 7    | 1     |
| Mediate         | 16 | 3     | 4   | 5    | 4     |
| Poor            | 12 | 3     | 1   | 4    | 4     |
| TNM Grade       |    |       |     |      |       |
| I, IIA          | 45 | 19    | 17  | 8    | 1     |
| IIB, III        | 20 | 3     | 1   | 8    | 8     |
| Metastasis(-)   | 45 | 19    | 17  | 8    | 1     |
| Metastasis(+)   | 20 | 3     | 1   | 8    | 8     |
| Survival time   |    |       |     |      |       |
| $\geq 2$ years  | 22 | 8     | 10  | 3    | 1     |
| $< 2$ years     | 20 | 0     | 4   | 10   | 6     |

### 2.2 TIMP-2在ESC组织中的表达及其意义

ESC组织中TIMP-2的阳性表达率为40%(26/65)。TIMP-2在I期和IIA期的阳性表达率较IIB期和III期的高( $Z=-2.212$ ,  $P=0.027$ );无淋巴结转移组的阳性表达率较伴转移组高( $Z=-2.212$ ,  $P=0.027$ );其阳性表达率越高,2年生存率越高( $Z=-2.943$ ,  $P=0.03$ ),见表2。TIMP-2的表达与肿瘤的分化程度无关( $P=0.675$ )。

表2 ESC组织TIMP-2的表达及其与组织分化、淋巴结转移和生存期的关系

Table 2 Expression of TIMP-2 and differentiation, TNM grade, lymph node metastasis and survival time of ESC

|                 | n  | TIMP-2 |     |      |       |
|-----------------|----|--------|-----|------|-------|
|                 |    | (-)    | (+) | (++) | (+++) |
| Differentiation |    |        |     |      |       |
| Well            | 37 | 23     | 4   | 8    | 2     |
| Mediate         | 16 | 8      | 5   | 1    | 2     |
| Poor            | 12 | 8      | 3   | 0    | 1     |
| TNM Grade       |    |        |     |      |       |
| I, II A         | 45 | 23     | 10  | 7    | 5     |
| II B, III       | 20 | 16     | 2   | 2    | 0     |
| Metastasis(-)   | 45 | 23     | 10  | 7    | 5     |
| Metastasis(+)   | 20 | 16     | 2   | 2    | 0     |
| Survival time   |    |        |     |      |       |
| ≥ 2 years       | 22 | 7      | 7   | 5    | 3     |
| < 2 years       | 20 | 16     | 2   | 1    | 1     |

### 3 讨论

肿瘤的浸润和转移是其主要的生物学特征,也是影响治疗效果和预后的主要因素。ECM和BM在肿瘤的浸润与转移过程中起关键作用。肿瘤的浸润和转移必须穿过ECM和BM才能实现。IV型胶原对维护BM的完整性至关重要,它独特的螺旋结构使大部分蛋白酶不能对其进行降解。而IV型胶原酶则可以降解IV型、V型胶原层粘连蛋白等成分,破坏BM的完整性。IV型胶原酶可分为MMP-2及MMP-9两种,其中尤以MMP-2的表达与肿瘤浸润和转移的关系更为密切<sup>[1-4]</sup>。

MMP-2的活性受到3个环节的调节:基因转录水平的调节、无活性酶前体激活水平的调节和特异性抑制因子TIMP-2的负调节,其中TIMP-2的负调节是通过降低MMP-2的活性而起作用的。TIMP-2的分子质量为20 ku,它既能结合无活性的MMP-2酶原,又能结合激活状态下的MMP-2,抑制MMP-2对ECM和BM的降解,进而抑制肿瘤的浸润和转移<sup>[5]</sup>。

本组研究发现,MMP-2和TIMP-2的表达与ESC的生物学行为有密切关系。其中,MMP-2表达的增多,与肿瘤的较低分化、病程较晚期、淋巴结转移以及较低的2年生存率有关,而TIMP-2表达

的增多则与病程较早期、较低的淋巴结转移率和较高的2年生存率有关。肿瘤组织的分化程度和淋巴结转移与否已被证实是影响预后的重要因素,这种影响可能通过肿瘤细胞分泌的MMP-2起作用,分化差的肿瘤可分泌较多的MMP-2,对ECM和BM的降解作用更大,肿瘤细胞就容易发生浸润和转移,因而预后较差。TIMP-2可与MMP-2结合,下调MMP-2对ECM和BM的降解活性,进而抑制肿瘤的浸润和转移,改善患者的预后。

外源性活化和重组的金属蛋白酶组织抑制因子(TIMPs)均有明显抑制肿瘤细胞浸润和转移的作用,这主要是通过抑制基质金属蛋白酶(MMPs)的分泌及活性而起作用<sup>[6,7]</sup>,以TIMPs基因转染有限数量的肿瘤细胞即有可能抑制MMPs对ECM和BM的降解,为肿瘤的基因治疗提供新的途径。

(本文数据统计得到柳青教授指导,特表示衷心感谢)

#### 参考文献:

- [1] Kawamata H, Kameyama S, Kawai K, *et al*. Marked acceleration of the metastatic phenotype of a rat bladder carcinoma cell line by the expression of human gelatinase A [J]. *Int J Cancer*, 1995, 63(4): 568.
- [2] Satoh K, Ohtani H, Shimosegawa T, *et al*. Infrequent stromal expression of gelatinase A and intact basement membrane in intraductal neoplasms of the pancreas [J]. *Gastroenterology*, 1994, 107(5): 1488.
- [3] Poulosom R, Pignatelli M, Stetler-Stenson W G, *et al*. Stromal expression of 72 kDa type IV collagenase (MMP-2) and TIMP-2 mRNA in colorectal neoplasia [J]. *Am J Pathol*, 1992, 141(2): 389.
- [4] Sier C F M, Kubben F J G M, Ganesh S, *et al*. Tissue levels of matrix metalloproteinases MMP-2 and MMP-9 are related to the overall survival of patients with gastric carcinoma [J]. *Br J Cancer*, 1996, 74(3): 413.
- [5] Imren S, Kohn D B, Shimada H, *et al*. Overexpression of tissue inhibitor of metalloproteinases-2 by retroviral-mediated gene transfer in vivo inhibits tumor growth and invasion [J]. *Cancer Res*, 1996, 56(13): 2891.
- [6] DeClerck Y A, Perez N, Shimada H, *et al*. Inhibition of invasion and metastasis in cells transfected with an inhibitor of metalloproteinases [J]. *Cancer Res*, 1992, 52(3): 701.
- [7] 孙建新, 张从昕, 殷学平, 等. 重组金属蛋白酶抑制因子-3抗肿瘤作用的实验研究 [J]. *中华肿瘤杂志*, 1998, 20(4): 287.

(编辑 张敏瑞)