

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.27.010
文章编号: 1005-8982 (2018) 27-0053-04

结肠癌组织中基质金属蛋白酶 9、转录因子 1 与细丝蛋白 A 的表达研究

周昱

(江苏省无锡市第二人民医院 普外科, 江苏 无锡 214000)

摘要:目的 探讨结肠癌患者组织基质金属蛋白酶 9(MMP-9)、Ets 转录因子 1(Ets-1)与细丝蛋白 A(FLNa) 的表达情况。**方法** 选取已确诊为结肠癌并行手术治疗的患者 24 例,术中采集患者肿瘤组织、癌旁组织及正常结肠组织,检测各组织中 MMP-9、Ets-1 与 FLNa 表达水平,并分析肿瘤组织的临床病理指标与 MMP-9、Ets-1 与 FLNa 表达水平的关系, MMP-9 与 Ets-1、FLNa 表达的相关性。**结果** ① MMP-9 与 Ets-1 表达水平比较,肿瘤组织 > 癌旁组织 > 正常结肠组织 ($P < 0.05$); FLNa 表达水平比较,肿瘤组织 < 癌旁组织 < 正常结肠组织 ($P < 0.05$); ② 肿瘤组织中 MMP-9 与 Ets-1 高表达 ($P < 0.05$), FLNa 低表达 ($P < 0.05$),与肿瘤直径越大、Dukes 分期越严重、分化程度越低、术后有复发转移有关; ③ 在癌旁组织及肿瘤组织中, MMP-9 与 Ets-1 的表达呈正相关 ($P < 0.05$),与 FLNa 表达呈负相关 ($P < 0.05$)。**结论** MMP-9 与 Ets-1 在结肠癌组织中的表达正相关,与 FLNa 表达负相关, MMP-9、Ets-1 表达水平升高, FLNa 表达水平降低。

关键词: 结肠癌; 基质金属蛋白酶 9; Ets 转录因子 1; 细丝蛋白 A

中图分类号: R735.3

文献标识码: A

Expression study of matrix metalloproteinase-9, Ets transcription factor-1 and filament protein A in colon cancer

Yu Zhou

(Department of General Surgery, Wuxi Second People's Hospital, Wuxi, Jiangsu 214000, China)

Abstract: Objective To investigate the expression levels of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), Ets transcription factor-1 (Ets-1) and filament protein A (FLNa) in colon cancer patients. **Methods** Totally 24 patients diagnosed with colon cancer were enrolled. Cancer tissues, para-cancerous tissues and normal colorectal tissues were collected. The expression levels of MMP-9, Ets-1 and FLNa were determined. Correlations between tumor clinicopathological parameters and the expression levels of MMP-9, Ets-1 and FLNa were analyzed. **Results** Expression of MMP-9 and Ets-1 was increased while FLNa was decreased significantly in tumor tissues when compared with paracancerous tissues or normal colon tissues ($P < 0.05$). Downregulated expression of FLNa and upregulated expression of MMP-9 and Ets-1 were closely correlated with tumor size, Dukes staging, degree of differentiation and the recurrence and metastasis after surgery ($P < 0.05$). In adjacent tissues and tumor tissues, the expression of MMP-9 was positively correlated with Ets-1 ($P < 0.05$) while negative relationship was identified between MMP-9 and FLNa ($P < 0.05$). **Conclusion** Upregulation of MMP-9 and Ets-1 and downregulation of FLNa in colon cancer tissues are closely correlated with recurrence and metastasis of colon cancer.

Keywords: colon cancer; MMP-9; Ets-1; FLNa

结肠癌是常见的消化道恶性肿瘤，每年我国该病患者占全球新发病例的 18.6%，并逐年上升^[1]。研究发现，基质金属蛋白酶 9 (matrix metalloproteinase-9, MMP-9) 和 Ets 转录因子 1 (E-twenty six transcription factor-1, Ets-1) 在结肠癌的侵袭、转移和术后复发过程中起了重要作用^[2-5]。细丝蛋白 A (filamin A, FLNa) 能够削弱结肠癌细胞的侵袭力，对结肠癌的发生有抑制作用^[6]。但目前关于 MMP-9 与 Ets-1、FLNa 在结肠癌组织中的表达及其相关性的研究较少，因此本研究通过对正常组织及不同分化程度的癌组织中 MMP-9 与 Ets-1、FLNa 表达水平进行分析研究，探讨其在结肠癌发生、发展中的作用及相关性。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取 2010 年 10 月 -2015 年 4 月本院确诊为结肠癌并行手术治疗的患者 24 例。其中，男性 13 例，年龄 30 ~ 75 岁，平均 (52.67 ± 7.76) 岁；女性 11 例，年龄 32 ~ 78 岁，平均 (53.32 ± 7.48) 岁。结肠癌诊断标准依据术后病理学检查结果。排除标准包括：①合并其他恶性肿瘤；②术前接受放疗、化疗；③存在手术禁忌证的患者；④病历资料不完整。

1.2 方法

1.2.1 样本采集 所有患者均进行肿瘤切除手术，术中采集患者肿瘤组织、癌旁组织及正常结肠组织作为研究样本，采用病理学检查确定肿瘤组织的大小、Dukes 分期^[7]、分化程度情况，术后随访是否有复发转移，并进行记录分析。

1.2.2 相关指标检测 将术中取得的组织剪碎，放入 1 ~ 2 ml 匀浆器中，加入 400 μl 裂解液，使用匀浆器反复匀浆，裂解 30 min 后，将裂解液移入 1.5 ml 离心管，在 4℃, 12 000 r/min，离心 5 min，取上清液置入 -20℃ 冰箱冷冻保存备用。选用人 MMP-9 检测试剂盒、人

FLNa 检测试剂盒 (上海百蕊生物科技有限公司提供)，利用全自动酶标仪 318C (Peiyou, 上海沛欧分析仪器有限公司提供)，通过 ELISA 测定各组织上清液中 MMP-9 蛋白、FLNa 的表达情况。采用 Trizol 法提取研究对象的总 RNA，利用 ABI 7500 实时荧光定量 PCR 仪测定各组织中 Ets-1 的表达水平，以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 值 >2 为有统计学意义。

1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 17.0 统计软件，计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示，比较采用 *t* 检验，或方差分析 (两两比较用 LSD-*t* 检验)，相关性分析采用 Pearson 法，*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 正常结肠组织、癌旁组织及肿瘤组织中 MMP-9、Ets-1 与 FLNa 表达水平比较

各组织中 MMP-9 和 Ets-1 表达水平比较，差异有统计学意义 (*P* < 0.05)，表达水平由高到低依次为，肿瘤组织 > 癌旁组织 > 正常结肠组织；各组织中 FLNa 表达水平比较，差异有统计学意义 (*P* < 0.05)，表达水平由低到高依次为，肿瘤组织 < 癌旁组织 < 正常结肠组织。见表 1。

表 1 正常结肠组织、癌旁组织及肿瘤组织中 MMP-9、Ets-1 与 FLNa 表达水平比较 (*n* = 24, $\bar{x} \pm s$)

组别	MMP-9/ (ng/ml)	FLNa/ (ng/ml)	Ets-1 (2 ^{-ΔΔCt})
正常结肠组织	20.28 ± 5.22	147.27 ± 21.47	1.02 ± 0.15
癌旁组织	195.38 ± 24.46 ⁽¹⁾	64.28 ± 8.36 ⁽¹⁾	3.74 ± 0.52 ⁽¹⁾
肿瘤组织	482.38 ± 68.26 ⁽¹⁾⁽²⁾	19.37 ± 2.38 ⁽¹⁾⁽²⁾	6.38 ± 0.84 ⁽¹⁾⁽²⁾
<i>F</i> 值	92.687	70.630	64.744
<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000

注：1) 与正常结肠组织比较，*P* < 0.05；2) 与癌旁组织比较，*P* < 0.05

表 2 肿瘤组织的临床病理指标与 MMP-9、Ets-1 及 FLNa 表达水平的关系 ($\bar{x} \pm s$)

临床指标	例数	MMP-9/ (ng/ml)	Ets-1 (2 ^{-ΔΔCt})	FLNa/ (ng/ml)	临床指标	例数	MMP-9/ (ng/ml)	Ets-1 (2 ^{-ΔΔCt})	FLNa/ (ng/ml)
肿瘤直径					分化程度				
≥ 5 cm	11	7.02 ± 1.11	526.37 ± 78.72	13.47 ± 1.45	高分化	10	4.92 ± 0.74	437.44 ± 62.1	25.37 ± 3.65
< 5 cm	13	5.27 ± 0.94	449.29 ± 62.37	25.38 ± 4.18	中低分化	14	7.26 ± 1.12	513.45 ± 72.14	14.66 ± 2.06
<i>t</i> 值		4.185	2.677	8.978	<i>t</i> 值		5.753	2.691	9.170
<i>P</i> 值		0.004	0.014	0.000	<i>P</i> 值		0.000	0.013	0.000

表 2 肿瘤组织的临床病理指标与 MMP-9、Ets-1 及 FLNa 表达水平的关系 ($\bar{x} \pm s$)

临床指标	例数	MMP-9/ (ng/ml)	Ets-1 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)	FLNa/ (ng/ml)	临床指标	例数	MMP-9/ (ng/ml)	Ets-1 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)	FLNa/ (ng/ml)
Dukes 分期					术后复发转移				
A 期	7	4.72 ± 0.63	408.27 ± 57.28	26.37 ± 4.13	有	12	7.09 ± 0.93	519.56 ± 69.77	13.57 ± 1.69
B 期	6	5.32 ± 0.73	437.21 ± 63.68	24.35 ± 4.68	无	12	5.02 ± 0.76	432.46 ± 59.89	24.89 ± 3.57
C 期	7	6.47 ± 0.85	472.84 ± 65.77	19.33 ± 2.96	<i>t</i> 值		5.970	3.281	9.928
D 期	4	7.15 ± 1.03	517.67 ± 74.29	13.41 ± 1.64	<i>P</i> 值		0.000	0.003	0.000
<i>F</i> 值		5.330	1.556	7.267					
<i>P</i> 值		0.026	0.274	0.011					

2.2 肿瘤组织的临床病理指标与 MMP-9、ETS-1 及 FLNa 表达水平的关系

本研究显示, MMP-9 与 FLNa 的表达与肿瘤直径、Dukes 分期、分化程度、术后有无复发转移有关。Ets-1 的表达与肿瘤直径、分化程度、术后有无复发转移有关, 与 Dukes 分期无关。见表 2。

2.3 正常结肠组织、癌旁组织及肿瘤组织中 MMP-9 与 Ets-1、FLNa 表达的相关性

本研究显示, 在癌旁组织及肿瘤组织中, MMP-9 与 Ets-1 表达呈正相关 ($P < 0.05$), MMP-9 与 FLNa 表达呈负相关 ($P < 0.05$), Ets-1 与 FLNa 表达无相关性 ($P > 0.05$)。见表 3。

表 3 正常结肠组织、癌旁组织及肿瘤组织中 MMP-9 与 Ets-1、FLNa 表达相关性分析 ($n = 24, \bar{x} \pm s$)

组别	MMP-9 与 Ets-1		MMP-9 与 FLNa		Ets-1 与 FLNa	
	相关系数 <i>r</i>	<i>P</i> 值	相关系数 <i>r</i>	<i>P</i> 值	相关系数 <i>r</i>	<i>P</i> 值
正常结肠组织	0.045	0.758	0.026	0.825	0.026	0.825
癌旁组织	0.847	0.000	-0.735	0.001	-0.236	0.135
肿瘤组织	0.829	0.000	-0.858	0.000	-0.287	0.126

3 讨论

近年来, 随着人们生活方式的不断改变, 我国结肠癌的发病率逐年增高, 已成为仅次于胃癌的第二大消化道恶性肿瘤性疾病, 且具有预后差、死亡率高的特点, 给患者带来较大的痛苦^[8]。尽快的研究结肠癌的发病与进展过程, 并进行适当干预显得尤为重要。目前, 研究认为^[9], 肿瘤的发生、发展与多种基因的表达有关。研究发现^[10], MMP-9 是锌离子依赖性基质金属蛋白酶家族的一员, 常由肿瘤细胞合成分泌, 其对细胞外基质中的弹力蛋白和胶原蛋白具有降解作用, 破坏细胞外基质的完整性, 有利于肿瘤细胞的侵袭, 促进肿瘤转移; 另外, MMP-9 还能调控血管内皮细胞生长因子的分泌, 促进肿瘤组织周围血供的形成^[11]。Ets-1 是一种原癌基因, 有资料显示^[12] 其对与肿瘤发生发展相关的许多基因都有调控作用, 促进金属蛋白酶家族的表达, 摧毁周围组织屏障, 增强肿瘤细胞的侵袭性,

还可以与血管生成因子相关的启动子结合, 促进血管内皮细胞生长相关因子分泌, 加速血管新生, 为肿瘤组织的血液循环提供基础, 提高肿瘤细胞对缺氧的耐受力。FLNa 是一种大分子的胞质蛋白, 与细胞内多种肿瘤形成相关受体表达及信号转导有关, 体外能够阻断 MMP-9 表达的信号通路, 妨碍其表达, 使细胞侵袭力降低^[13]。现有的研究表明^[14], MMP-9、Ets-1 分别在多种恶性肿瘤组织中存在, 并在肿瘤发展中其重要作用。

研究结果显示, 各组织中 MMP-9 与 Ets-1 表达水平, 肿瘤组织 > 癌旁组织 > 正常结肠组织, 表明结肠癌的发生与 MMP-9 与 Ets-1 表达水平升高有关。曾有研究报告^[15], 对 122 例结肠癌患者血清及组织 MMP-9 水平进行检测, 结果发现结肠癌患者 MMP-9 水平较高, 且与其恶性程度有关; 亦有研究发现, 在正常结肠、息肉中 Ets-1 无表达, 而在不典型增生腺瘤、

结肠癌中 Ets-1 表达升高^[16]，这与本研究结果相一致。各组织中 FLNa 表达水平，肿瘤组织 < 癌旁组织 < 正常结肠组织，提示 FLNa 在肿瘤组织中表达受到抑制，无法对肿瘤发展发挥阻碍作用。

MMP-9、Ets-1 的表达水平还与肿瘤组织的临床病理指标有关，直径 ≥ 5 cm 的肿瘤组织中 MMP-9、Ets-1 表达水平高于直径 < 5 cm 的肿瘤组织，Ets-1 能够调控 MMP-9 基因的表达，促进 MMP-9 合成分泌，破坏周围正常的细胞基质，解除其对肿瘤组织的限制，促进肿瘤生长扩张；不同 Dukes 分期的肿瘤组织中 MMP-9、Ets-1 表达水平比较，A 期 < B 期 < C 期 < D 期，Dukes 分期越高，表明肿瘤侵袭的深度越大，周围淋巴结转移及远处器官转移的范围越广，这可能与 MMP-9、Ets-1 协同促进血管内皮细胞生长因子分泌，为肿瘤组织建立丰富血运，肿瘤组织增大的同时出现血行播散转移有关；高分化肿瘤组织中 MMP-9、Ets-1 表达水平低于中低分化的肿瘤组织，肿瘤的分化程度越低，MMP-9、Ets-1 表达越高，肿瘤的侵袭能力越强，恶性程度更高，预后不佳；术后有复发转移的肿瘤组织中 MMP-9、Ets-1 表达水平高于术后无复发转移的肿瘤组织，提示 MMP-9 和 Ets-1 的高表达提高中路侵袭性，同时破坏正常组织的防御，及时切除原有肿瘤组织，还易再次复发^[17]。肿瘤直径越大、Dukes 分期越严重、分化程度越低、术后有复发转移，FLNa 表达水平越低，在肿瘤组织中，FLNa 表达受到抑制，EPK1 磷酸化不受影响，Ras/EPR 通路激活，促进 Ets 家族与 MMP-9 结合位点的相互作用，引起 MMP-9 高表达，使得肿瘤细胞侵袭能力增强^[18]。

研究结果显示，在正常结肠组织中，MMP-9 与 Ets-1 极少表达；在癌旁组织及肿瘤组织中，MMP-9 与 Ets-1 表达呈正相关，表明 MMP-9 与 Ets-1 可能有协同作用。有资料显示^[19]，MMP-9 基因的启动子区包含 Ets 结合位点，过度表达的 Ets-1 能够与之结合，进一步促进 MMP-9 表达，降低周围正常组织细胞黏附力，有助于肿瘤细胞侵袭，两者共同促进血管新生，为肿瘤组织提供营养支持。MMP-9 与 FLNa 表达呈负相关，表明 FLNa 表达减少，使得其对 MMP-9 的负面影响减轻，丧失抑制癌细胞增殖、转移的能力。

本实验显示，在结肠癌组织中，MMP-9 与 Ets-1 的表达呈正相关，与 FLNa 表达呈负相关，MMP-9、Ets-1 表达水平升高，FLNa 表达水平降低，其可能参

与结肠癌的发生、形成、转移、复发等环节。在下一步研究中，可对结肠癌 MMP-9、Ets-1 与 FLNa 的基因靶向治疗进行探讨。

参 考 文 献：

- [1] IRVING A A, YOSHIMI K, HART M L, et al. The utility of Apc-mutant rats in modeling human colon cancer[J]. *Dis Model Mech*, 2014, 7(11): 1215-1225.
- [2] 鹿晓麟. 金属硫蛋白 2 与基质金属蛋白酶 9 在炎症相关性结肠癌中的表达及意义[D]. 哈尔滨: 哈尔滨医科大学, 2014.
- [3] 金宁, 张崇国, 李红妍, 等. MMP-9 在结直肠癌中的表达及临床意义[J]. *中国医药科学*, 2016, 6(21): 33-37.
- [4] 刘春丽, 张圣林, 马桂琴, 等. MMP-1 和 Ets-1 在喉癌组织中的表达及其临床意义[J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2012, 25(24): 1111-1114.
- [5] 范大平, 陈艳昕, 杨振宇, 等. Ets-1, MMP9 在肺癌中的表达及其与侵袭转移的关系[J]. *实用预防医学*, 2014, 21(8): 981-983.
- [6] 武雪亮. 细丝蛋白 A 对人结肠癌 SW480 细胞株体外侵袭能力影响的研究[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2011.
- [7] 卿三华. 结直肠癌临床病理分期系统及其临床意义[J]. *世界华人消化杂志*, 2004, 11(11): 1760-1763.
- [8] 王晓辉, 周力, 李小军, 等. 不同部位直肠癌的临床病理特点及预后分析[J]. *中国普通外科杂志*, 2016, 25(8): 1224-1228.
- [9] 白向艳, 罗丹阳, 苏乌云. 结直肠癌分子靶向治疗的研究进展[J]. *山东医药*, 2016, 56(40): 107-109.
- [10] 陈应超, 李泽文, 周洁, 等. 转移抑制基因 1 和基质金属蛋白酶-9 在鼻咽癌中表达的相关性及临床意义[J]. *安徽医药*, 2016, 20(2): 304-307.
- [11] 梁乃超. MMP-9 和 VEGF 在非小细胞肺癌患者中的表达情况[J]. *医学综述*, 2017, 23(9): 1867-1869.
- [12] 祁义军, 孟翔凌, 汪正广, 等. 胃肠道间质瘤组织中 Ets-1、MMP-9、VEGF 的表达变化及意义[J]. *山东医药*, 2010, 50(10): 50-51.
- [13] 王坤. 细丝蛋白 A 调控表皮生长因子受体活化在大肠癌发病中的作用[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2016.
- [14] 赵文娣, 吴继锋, 张红, 等. 转录因子 Ets-1 与 MMP-9 在胃癌中的表达及临床意义[J]. *中国组织化学与细胞化学杂志*, 2010, 19(2): 176-180.
- [15] 余启文, 包仕廷. 结肠癌组织中 MIF, VEGF-C 和 MMP-9 的表达及其临床意义[J]. *广东医学院学报*, 2009, 27(2): 149-151.
- [16] 李寅. Ets-1 与 STAT6 在食管病变组织中的表达及其临床意义[D]. 新乡: 新乡医学院, 2013.
- [17] 方开锋. 结直肠癌组织 Ets-1 和 MMP-9 表达水平与肿瘤血管生成及恶性进展的关系[D]. 武汉: 华中科技大学, 2003.
- [18] 史建伟. 细丝蛋白 A 在结直肠癌中的表达及其抑癌作用的研究[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2011.
- [19] 陈惠新, 欧志英, 陈丽莎, 等. IL-8 受体介导 c-Jun 和 Ets-1 异常调控 MMP-9 促进胃癌细胞侵袭[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2017, 37(2): 184-188.

(王荣兵 编辑)