

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2017.25.004

文章编号: 1005-8982(2017)25-0019-04

临床研究·论著

MMP-11 和血管内皮细胞生长因子 在结肠癌中的表达及临床意义*

史晓宇¹, 贾倩², 赵峻峰¹

(河北北方学院附属第一医院 1. 肿瘤内科, 2. 检验科, 河北 张家口 075000)

摘要:目的 检测基质金属蛋白酶 11(MMP-11)和血管内皮细胞生长因子(VEGF)在结肠癌中的表达,探讨两者表达的相关性及临床意义。**方法** 采用免疫组织化学方法检测 72 例结肠癌患者肿瘤组织及 20 例癌旁正常组织中 MMP-11 和 VEGF 的表达。**结果** MMP-11 和 VEGF 在 72 例结肠癌中表达的阳性率分别为 63.89%(46/72)和 69.44%(50/72),与 20 例正常结肠组织中表达阳性率(分别为 20.00%和 10.00%)比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。MMP-11 和 VEGF 的过表达与结肠癌的 TNM 分期、分化程度及淋巴结转移相关($P < 0.05$)。在结肠癌组织中 MMP-11 与 VEGF 的表达呈正相关($P < 0.05$)。**结论** MMP-11 和 VEGF 的异常表达与结肠癌的发生发展密切相关,联合检测两者的表达可作为临床早期诊断、监测转移及预后情况的依据。

关键词: 结肠癌;基质金属蛋白酶-11;血管内皮生长因子;预后

中图分类号: R735.35

文献标识码: A

Expression and clinical significance of MMP-11 and VEGF in colon carcinoma*

Xiao-yu Shi¹, Qian Jia², Jun-feng Zhao¹

(1. Department of Medical Oncology, 2. Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Hebei North University, Zhangjiakou, Heibei 075000, China)

Abstract: Objective To investigate the expression and clinical significance of matrix metalloproteinase -11 (MMP-11) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in colon carcinoma and analyze the correlation between the two. **Methods** Immunohistochemical method was used to detect the expressions of MMP-11 and VEGF in colorectal carcinoma tissues of 72 patients and 20 specimens of paracancerous normal colon tissues, and the correlations between the expressions and the clinical features of colon carcinoma were analyzed. **Results** There were significant differences in positive expression rates of MMP-11 and VEGF between the colon carcinoma tissues and the adjacent normal tissues (63.89% vs 20.00% for MMP-11, $P < 0.05$; and 69.44% vs 10.00% for VEGF, $P < 0.05$). The expressions of MMP-11 and VEGF in the colon carcinoma tissues were correlated with differentiation degree, TNM stage and lymphnode metastasis of the colon carcinoma ($P < 0.05$). The MMP-11 expression was positively correlated with VEGF expression in the colon carcinoma tissues ($P < 0.05$). **Conclusions** The expressions of MMP-11 and VEGF are closely associated with the development of colon carcinoma. Combined detection of MMP-11 and VEGF expressions in colon carcinoma can predict the metastasis and prognosis of the patients, and provide the basis for clinical targeted therapy.

Keywords: colon carcinoma; matrix metalloproteinase 11; VEGF; prognosis

收稿日期:2016-11-15

* 基金项目:河北省医学科学研究重点课题计划(No:20160365)

近年来,我国结肠癌的发病率不断的上升,而且有年轻化的趋势,肿瘤呈现局部侵袭性,且极易发生转移。研究结肠癌的转移及侵袭的分子机制对于改善结肠癌的预后具有重要的临床意义^[1-2]。基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase,MMPS)是一组锌离子依赖性肽链内切酶,参与细胞外基质降解、组织结构重塑、肿瘤转移、炎症反应等一系列病理生理过程的发生^[3]。基质金属蛋白酶 11(matrix metalloproteinase-11,MMP-11)是 MMPS 家族成员之一,参与了肿瘤的浸润和转移,与肿瘤的发生发展关系密切^[4-5]。因此,很多学者认为其有望成为肿瘤治疗的一个新靶点。本课题应用免疫组织化学技术分析结肠癌组织中 MMP-11、血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor,VEGF)在结肠癌不同分型中的表达差异,探讨与结肠癌病理生物学特性的关系,评价其对结肠癌的临床价值,为进一步阐明 MMP-11 和 VEGF 在结肠癌的疾病发病及治疗中的作用,为今后基因靶向治疗研究提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

搜集 2013 年 1 月 -2016 年 1 月河北北方学院附属第一医院确诊为结肠癌的患者 72 例。其中,男性 40 例,女性 32 例;年龄 32 ~ 75 岁,中位年龄 58 岁;术前均未行放、化疗。所有纳入研究的结肠癌患者均手术后取活检,并经病理确诊。另取 20 例患者的癌旁正常结肠组织标本作为对照。

1.2 主要试剂

兔抗人 VEGF 单克隆抗体、兔抗人 MMP-11 多克隆抗体和通用型二抗工作液均购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.3 免疫组织化学方法

采用免疫组织化学 SP 法检测结肠癌组织和癌旁正常组织中 MMP-11 和 VEGF 的表达情况,具体步骤:将结肠癌组织及癌旁正常组织标本蜡块切成 4 μ m 厚的石蜡切片,经二甲苯脱蜡,梯度乙醇水化,用 3%过氧化氢 H₂O₂ 消除内源性过氧化酶活性, pH6.0 的柠檬酸钠溶液中微波抗原修复。一抗置 4℃ 冰箱过夜,按试剂盒说明书进行染色,DAB 显色和苏木素复染,用已知阳性片做阳性对照,以 PBS 代替 1 抗做阴性对照。

1.4 实验结果的判定

阳性结果判定:MMP-11 和 VEGF 染色颗粒位于胞浆之中,棕黄色或棕褐色为阳性,通过显微镜

10 \times 40 倍视野,每张切片对应随机纳入 10 个视野进行阳性细胞计数,阳性细胞 >50% 为强阳性(+++),25% ~ 50% 阳性(++),0 ~ 25% 为弱阳性(+),未着色为阴性(-)。

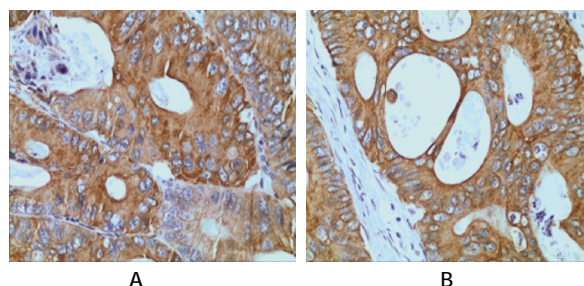
1.5 统计学方法

采用 SPSS 21.0 软件进行数据分析,计数资料采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 MMP-11 和 VEGF 在结肠癌和癌旁组织中的表达

MMP-11 在结肠癌组织中表达的阳性率为 63.89%(46/72),阳性颗粒定位于癌细胞质中(见附图 A),高于在癌旁正常结肠组织中的表达 20.00%(4/20)。VEGF 阳性率为 69.44%(50/72),阳性颗粒定位于癌细胞质(见附图 B),高于在癌旁正常组织中的表达 10.00%(2/20),结肠癌患者的病变组织切片阳性染色与癌旁正常组织中 MMP-11 和 VEGF 表达比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。



A: MMP-11 在结肠癌组织中的表达;B: VEGF 在结肠癌组织中的表达

附图 MMP-11 和 VEGF 在结肠癌组织中的表达 ($\times 200$)

表 1 MMP-11、VEGF 在结肠癌癌旁组织及肿瘤组织中的表达 例(%)

组别	MMP-11		VEGF	
	阴性表达	阳性表达	阴性表达	阳性表达
癌旁组织(n=20)	16(80.00)	4(20.00)	18(90.00)	2(10.00)
结肠癌组织(n=72)	26(36.11)	46(63.89)	22(30.56)	50(69.44)
χ^2 值	12.152		22.507	
P 值	0.001		0.000	

2.2 MMP-11 和 VEGF 在结肠癌中的表达与 TNM 分期之间的相关性

I、II 期 32 例, III、IV 期 40 例,观察 MMP-11、VEGF 在结肠癌中的表达与肿瘤 TNM 分期之间的关系,结果显示,MMP-11、VEGF 在结肠癌中不同 TNM 分期中的表达差异有统计学意义($P < 0.05$)。见

表 2。

2.3 MMP-11 和 VEGF 在结肠癌恶性分级中的表达情况

根据恶性程度分为高中低分化,观察 MMP-11、VEGF 在高中低分化结肠癌的表达情况,结果显示,差异具有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

2.4 MMP-11 和 VEGF 在有无淋巴结转移结肠癌的差异性表达情况

MMP-11 在有淋巴结转移的结肠癌患者和无淋

巴结转移的结肠癌患者中阳性率分别为 86.67%和 47.62%,两组比较差异具有统计学意义($P<0.05$),VEGF 在有淋巴结转移的结肠癌患者和无淋巴结转移的结肠癌患者中阳性表达率分别为 93.33%和 52.38%,两组比较差异具有统计学意义($P<0.05$)。见表 4。

2.5 MMP-11 与 VEGF 在结肠癌中表达的相关性

观察 MMP-11 与 VEGF 之间的相关性,结果显示,MMP-11 和 VEGF 的表达形式具有一致性,呈正相关($r=0.317, P=0.007$)。见表 5。

表 2 MMP-11 和 VEGF 在结肠癌中的表达与 TNM 分期的相关性

组别	MMP-11		阳性率 /%	χ^2 值	P 值	VEGF		阳性率 /%	χ^2 值	P 值
	-	+				-	+			
I、II 期(n=32)	21	11	34.38	21.747	0.000	18	14	43.75	17.921	0.000
III、IV 期(n=40)	5	35	87.5			4	36	90.00		

表 3 MMP-11 和 VEGF 在高中低分化结肠癌的表达情况

组别	MMP-11		阳性率 /%	χ^2 值	P 值	VEGF		阳性率 /%	χ^2 值	P 值
	-	+				-	+			
高中分化(n=38)	21	17	44.74	12.794	0.000	19	19	50.00	14.338	0.000
低分化(n=34)	5	29	85.29			3	31	91.18		

表 4 MMP-11 和 VEGF 在结肠癌淋巴结组与非转移组中的差异性表达

组别	MMP-11		阳性率 %	χ^2 值	P 值	VEGF		阳性率 %	χ^2 值	P 值
	-	+				-	+			
无淋巴结转移(n=42)	22	20	47.62	11.565	0.001	20	22	52.38	13.831	0.000
有淋巴结转移(n=30)	4	26	86.67			2	28	93.33		

表 5 结肠癌组织中 MMP-11 与 VEGF 表达的相关性 例

MMP-11 表达	VEGF 表达		合计
	+	-	
+	37	9	46
-	13	13	26
合计	50	22	72

3 讨论

结肠癌是胃肠道中常见的恶性肿瘤之一,其发病率居全部恶性肿瘤的第 4 位,且近 20 年来其发生率呈逐年上升的趋势^[6]。结肠癌的复发和转移,是影响患者预后及治疗效果的关键因素^[7-8]。近年来,随着分子生物学技术的不断进步与发展,结肠癌的复发转移相关的生物学模式与分子遗传学特性逐步被发现和了解。因此,进一步寻找有关结肠癌复发、转移生物标记物及敏感性和特异性是该病有效治疗、提高生存率的关键点。本研究为探求该病的侵袭机制,寻找靶点基因与疾病的相关性,对该病的治疗和

预后判断提供一定的指导价值。

MMP-11 属于间质溶素类的一种,是 MMPs 中被发现的第 11 个成员,又称间质溶素 3,它以酶的前体形式存在,激活后才能发挥作用。而与大多数 MMPs 不同,MMP-11 在细胞内被细胞内蛋白酶激活,以活性的形式分泌到细胞外,降解细胞外基质和基底膜,导致细胞外基质代谢平衡的失调,从而引起肿瘤的发生发展、浸润和转移^[9]。到目前为止,研究人员已在人体多种肿瘤组织中检测到 MMP-11 的高表达特征,研究还证实了 MMP-11 与肿瘤细胞的转移和侵袭有关^[10]。CHENG 等^[11]认为 MMP-11 在乳腺癌中过表达,且与乳腺癌的分化程度及淋巴结转移相关,是乳腺癌患者预后不良的因素之一。TONGTAWEE 等^[12]研究认为 MMP-11 的异常表达对胆管癌的浸润和转移有促进作用,与胆管癌的不良预后相关。YAN 等^[13]研究发现 MMP-11 在晚期胃癌患者外周血清中高表达,与胃癌的诊断、复发和转移密切相关,可作为晚期胃癌患者的预后因素之一。目前,仅少量报道关

于结肠癌中 MMP-11 的表达情况,但缺乏对 MMP-11 和 VEGF 与结肠癌关系的更深入研究和病例报道,本研究对结肠癌的深入研究具有重要的研究意义。

肿瘤的发生发展、侵袭和转移依赖于肿瘤的血管生成,VEGF 是目前已知的作用性能最强的一类促进血管生长的细胞因子,直接或间接地参与了新生血管的每一个生长过程,与肿瘤的侵袭和转移关系密切^[14-15]。大量临床研究显示 VEGF 过表达与肿瘤的不良预后密切相关^[16]。本研究结果显示,结肠癌患者中 VEGF 的阳性表达水平高于癌旁正常组织,且 VEGF 的表达水平与结肠癌的 TNM 分期、分化程度及淋巴结转移密切相关,差异有统计学意义,与国内文献报道的结果相似^[17],提示 VEGF 可能在结肠癌的发生发展、浸润转移过程中发挥了重要的作用,将有可能成为结肠癌患者肿瘤生物学行为生物学差、预后不良的指标之一。

本研究应用免疫组织化学技术检测 MMP-11 和 VEGF 在结肠癌组织中的表达情况,结果表明 MMP-11 和 VEGF 在结肠癌组织中的表达均高于两者在癌旁正常组织中的表达,且两者的表达水平均随结肠癌组织分化程度的变差、淋巴结转移率的增加及临床分期的升高而增高。该结果提示 MMP-11 和 VEGF 的过表达可能促进了结肠癌的增殖和转移潜能,可作为结肠癌判断恶性程度的指标之一,并认为 MMP-11 和 VEGF 阳性表达是预后不良的指标。此外,本研究还发现 MMP-11 的表达与 VEGF 的表达水平呈正相关,提示两者表达改变在结肠癌发生发展中起协同作用,其具体机制有待于进一步研究和探讨。

综上所述,MMP-11 和 VEGF 与结肠癌的发生、浸润、转移密切相关,有望成为临床上新的肿瘤标志物,可作为判断结肠癌生物学行为和预后不良重要的指标,联合检测 MMP-11 和 VEGF 对判断结肠癌的预后及合理的制定治疗方案具有很好的参考价值。

参 考 文 献:

- [1] GELLAD Z F, PROVENZALE D. Colorectal cancer: national and international perspective on the burden of disease and public health impact[J]. *Gastroenterology*, 2010, 138(6): 2177-2190.
- [2] 赫捷,赵平,陈万青. 2011 中国肿瘤登记年报 [M]. 北京:军事医学科学出版社, 2012: 94-211.
- [3] 马莉,李红伟,柴大敏,等. MMP-1、MMP-13 在食管鳞癌中的表达及与浸润转移的关系[J]. *中国老年学杂志*, 2015, 35(12): 3229-3230.
- [4] HSIN C H, CHEN M K, TANG C H, et al. High level of plasma matrix metalloproteinase-11 is associated with clinicopathological characteristics in patients with oral squamous cell carcinoma[J]. *PLoS One*, 2014, 9(11): e113129.
- [5] TONGTAWEE T, KAEWPITON S J, LOYD R, et al. High expression of matrix metalloproteinase-11 indicates poor prognosis in human cholangiocarcinoma[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2015, 16(9): 3697-3701.
- [6] 邓子龙,刘蔚东. EGFR、PDGFRA 和 VEGFR2 在结肠癌中的表达及变异分析[J]. *中国现代医学杂志*, 2016, 26(4): 24-28.
- [7] WEST N P, KOBAYASHI H, TAKAHASHI K, et al. Understanding optimal colonic cancer surgery: comparison of Japanese d3 resection and european complete mesocolic excision with central vascular ligation[J]. *Journal of clinical oncology*, 2012, 20(15): 1763-1769.
- [8] BAMBOAT Z M, DEPERALTA D, DURSUN A, et al. Factors affecting lymph node yield from patients undergoing colectomy for cancer[J]. *Int J Colorectal Dis*, 2011, 26(9): 1163-1168.
- [9] 王光尧,陈平,宗亮. MMP-11 在胃癌侵袭转移中的作用研究进展[J]. *中国现代普通外科进展*, 2012, 15(8): 637-639.
- [10] ZHANG X, HUANG S, GUO J, et al. Insights into the distinct roles of MMP-11 in tumor biology and future therapeutics (Review)[J]. *Int J Oncol*, 2016, 48(5): 1783-1793.
- [11] CHENG C W, YU J C, WANG H W, et al. The clinical implications of MMP-11 and CK-20 expression in human breast cancer[J]. *Clin Chim Acta*, 2010, 411(3/4): 234-241.
- [12] TONGTAWEE T, KAEWPITON S J, LOYD R, et al. High expression of matrix metalloproteinase-11 indicates poor prognosis in human cholangiocarcinoma[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2015, 16(9): 3697-3701.
- [13] YAN D, DAI H, LIU J W. Serum levels of MMP-11 correlate with clinical outcome in Chinese patients with advanced gastric adenocarcinoma[J]. *BMC Cancer*, 2011, 24(11): 151.
- [14] ABDEL-RAHMAN O. Targeting vascular endothelial growth factor (VEGF) pathway in gastric cancer: preclinical and clinical aspects[J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2015, 93(1): 18-27.
- [15] KASUYA K, SUZUKI M, NAGAKAWA Y, et al. Administration of anti-vascular endothelial growth factor antibody following hepatectomy does not inhibit remnant liver regeneration or growth of remnant metastases[J]. *Exp Ther Med*, 2012, Feb, 3(2): 347-350.
- [16] AGGARWAL S, DEVARAJA K, SHARMA S C, et al. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) in patients with oral squamous cell carcinoma and its clinical significance[J]. *Clin Chim Acta*, 2014, 3(2): 35-40.
- [17] 李素艳,谭林,覃蒙斌,等. 人结肠癌组织中 NIBP、VEGF 及 I-CAM-1 的表达及其意义[J]. *实用医学杂志*, 2015, 31(14): 2315-2318.