

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2016.09.007

文章编号: 1005-8982(2016)09-0034-05

论著

## 基质金属蛋白酶-2 和 E-钙黏蛋白在胰腺癌组织中的表达及临床意义

田峰, 方瑞忠, 徐建

(山东省临沂市沂水中心医院, 山东 临沂 276000)

**摘要:目的** 研究基质金属蛋白酶-2(MMP-2)及 E-钙黏蛋白(E-cad)在胰腺癌组织中的表达及临床意义。**方法** 选取 2011 年 6 月-2013 年 6 月该院收集的手术石蜡标本 89 例,其中正常胰腺组织标本 34 例,胰腺癌组织标本 55 例,采用免疫组织化学法检测 MMP-2 及 E-cad 的表达。**结果** 胰腺癌组织 MMP-2 阳性率为 52.7%,正常组织 MMP-2 阳性率为 2.9%,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),胰腺癌组织 MMP-2 阳性率高于正常组织。胰腺癌组织 E-cad 阳性率为 32.7%,正常组织 MMP-2 阳性率为 100.0%,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),胰腺癌组织 E-cad 阳性率低于正常组织。MMP-2 及 E-cad 的表达与临床分期、组织学分化、是否有淋巴结转移及肿瘤直径有关( $P < 0.05$ ),而与患者性别、年龄及肿瘤部位无关( $P > 0.05$ )。MMP-2 及 E-cad 蛋白表达阳性 2 例,阴性 10 例,两者表达呈负相关( $r = -0.673, P = 0.027$ )。**结论** MMP-2 表达上调和 E-cad 表达下调与胰腺癌的发生、发展、转移关系密切。临床上可通过检测 MMP-2 和 E-cad 表达对胰腺癌的发展和转移进行预测和评估。

**关键词:** 胰腺癌;基质金属蛋白酶-2;E-钙黏蛋白;免疫组织化学法

**中图分类号:** R735.9

**文献标识码:** A

## Expressions of MMP-2 and E-cadherin in pancreatic cancer tissues and their clinical significance

Feng Tian, Rui-zhong Fang, Jian Xu

(Yishui Central Hospital, Linyi, Shandong 276000, China)

**Abstract: Objective** To study the expression and clinical significance of matrix metalloproteinase 2 (MMP-2) protein and E-cadherin (E-cad) in pancreatic cancer tissues. **Methods** From June 2011 to June 2013, 89 tissue specimens were collected in our hospital, including 34 specimens of normal pancreatic tissue and 55 specimens of pancreatic cancer tissues. The expressions of MMP-2 and E-cad proteins were detected by immunohistochemical technique. **Results** The positive rate of MMP-2 in the pancreatic cancer tissues was 52.7% which was significantly higher than 2.9% of the normal tissue ( $P < 0.05$ ). The positive expression rate of E-cad in the pancreatic cancer tissues was 32.7% which was significantly lower than 100.0% in the normal tissue ( $P < 0.05$ ). The expressions of MMP-2 and E-cad were correlated to clinical stage, histological differentiation, lymph node metastasis and tumor diameter ( $P < 0.05$ ), but were not correlated to gender, age or tumor location ( $P > 0.05$ ). MMP-2 and E-cad protein expressions were positive in 2 cases, negative in 10 cases; the MMP-2 and E-cad expressions were negatively correlated ( $r = -0.673, P = 0.027$ ). **Conclusions** The up-regulation of MMP-2 expression and down-regulation of E-cad expression in pancreatic cancer tissues are closely correlated with the occurrence, development and metastasis of pancreatic cancers. The development and metastasis of pancreatic cancers can be predicted and evaluated by detection of MMP-2 and E-cad expressions.

**Keywords:** pancreatic cancer; matrix metalloproteinase protein 2; E-cadherin; immunohistochemistry

收稿日期: 2015-03-25

胰腺癌为临床常见消化道恶性肿瘤。近年来研究表明,胰腺癌发病率有逐年上升趋势,2008年不发达地区发病率为2.1/100 000,而发达地区发病率高达5.2/100 000<sup>[1]</sup>。胰腺癌为高度恶性肿瘤,且临床症状隐蔽,若不进行全面诊断将难以发现和治疗。因此胰腺癌患者早期即可出现浸润和转移,直接侵犯血管神经,严重影响患者预后。因此,研究胰腺癌浸润、转移的分子机制和有效的临床诊断方法具有重要意义<sup>[2]</sup>。基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinase protein-2, MMP-2),可降解胞外基质,协助癌细胞转移<sup>[3]</sup>。E-钙黏蛋白(E-cadherin protein, E-cad)为一种跨膜糖蛋白,可维持细胞间的连接作用<sup>[4]</sup>。目前,MMP-2和E-cad的研究主要集中于胃癌、乳腺癌等,在胰腺癌的研究中鲜有报道。本文研究MMP-2和E-cad在胰腺癌中的表达,目的为探讨这两种蛋白在胰腺癌发生、发展及转移中的作用。

## 1 资料与方法

### 1.1 临床资料

选取2011年6月-2013年6月本院收集的手术石蜡标本89例,其中正常胰腺组织标本34例,胰腺癌组织标本55例,所有患者有详细的临床病理资料,术前未接受任何放疗及化疗。正常胰腺组织标本为外伤性胰腺部分切除。其中男性20例,女性14例;年龄36~73岁,平均(64.1±1.2)岁。胰腺癌组织中男性36例,女性19例;年龄36~74岁,平均(64.8±1.4)岁;胰腺头部肿瘤39例,胰腺尾部肿瘤16例;TNM临床分期:I、II期32例,III、IV期23例;组织学分化:G<sub>1</sub> 15例,G<sub>2</sub> 32例,G<sub>3</sub> 8例;淋巴结转移患者24例,无淋巴结转移患者31例;肿瘤直径≤3 cm 38例,肿瘤直径>3 cm 17例。两组患者一般资料比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

### 1.2 材料与试剂

兔抗人MMP-2单克隆抗体和兔抗人E-cad单克隆抗体购自美国Satta Cruz公司,二氨基联苯胺(Diaminobenzidine, DAB)染色试剂盒和辣根过氧化物酶标记二抗购自武汉博士德公司,链霉菌抗生素蛋白-过氧化物酶连接法(streptavidin-peroxidase, SP)免疫组织化学法试剂盒购自北京中杉生物工程公司。

### 1.3 研究方法

将石蜡标本切片,进行苏木精-伊红染色法(hematoxylin-eosin staining, HE)染色,最后采用链

霉亲和素-生物素复合物(strept avidin-biotin complex, SABC)法进行免疫组织化学法染色。石蜡切片脱蜡,3%双氧水H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>室温下孵育10 min以消除内源性过氧化物酶活性。修复抗体并磷酸盐缓冲溶液(phosphate buffer saline, PBS)冲洗。5~10%山羊血清封闭,室温孵育20~30 min。加入一抗,4℃过夜。PBS冲洗,加入辣根过氧化物酶标记二抗,37℃孵育10~30 min, PBS缓冲液冲洗。加入SABC, 37℃孵育10~30 min。加DAB,复染、脱水、封片。

### 1.4 判定标准

切片制作完成后先观察整体染色,然后在400倍镜下随机选取3~5个视野,固定窗口面积并用细胞计数软件计数。MMP-2阳性着色主要以细胞质为主,呈棕色或黄色颗粒。E-cad阳性着色主要以细胞膜为主,也呈棕色或黄色颗粒。细胞显色计分:细胞无显色为0分;细胞呈浅黄色为1分;细胞呈棕黄色为2分;细胞呈棕褐色为3分;阳性细胞比例计分:无阳性细胞为0分;细胞阳性<25%为1分;细胞阳性率在25~50%为2分;细胞阳性率>50%为3分。将上述两项计分相加,其中总分<3分为阴性,总分≥3分为阳性。

### 1.5 统计学方法

采用SPSS 19.0统计软件进行数据分析,计数资料用 $\chi^2$ 检验,相关性检验用Spearman分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 MMP-2及E-cad蛋白在组织标本中表达

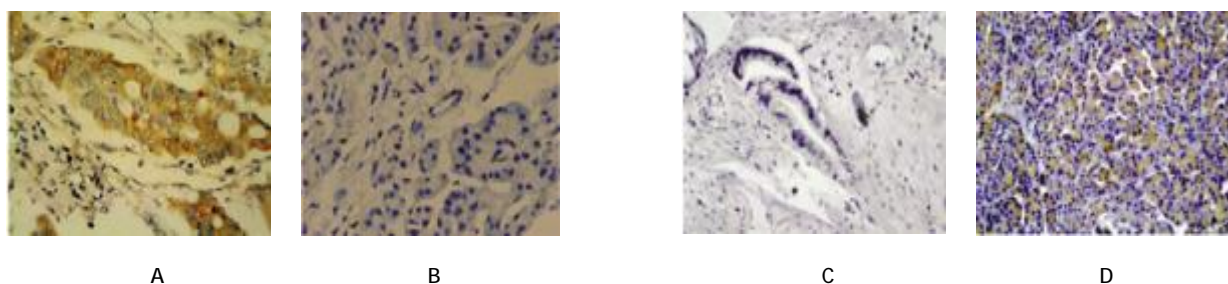
胰腺癌组织MMP-2阳性率为52.7%,正常胰腺组织MMP-2阳性率为2.9%,差异有统计学意义( $\chi^2=5.363, P=0.021$ ),胰腺癌组织MMP-2阳性率高于正常胰腺组织。胰腺癌组织E-cad阳性率为32.7%,正常胰腺组织E-cad阳性率为100.0%,差异有统计学意义( $\chi^2=39.148, P=0.000$ ),胰腺癌组织E-cad阳性率低于正常胰腺组织。见附图和表1。

### 2.2 MMP-2及E-cad表达与胰腺癌临床病理因素的相关性

MMP-2及E-cad的表达与临床分期、组织学分化、是否有淋巴结转移及肿瘤直径有关( $P<0.05$ ),与患者性别、年龄及肿瘤部位无关( $P>0.05$ )。见表2。

### 2.3 MMP-2和E-cad蛋白在胰腺癌组织中表达的相关性分析

MMP-2及E-cad蛋白表达为阳性2例,阴性



A: MMP-2 在胰腺癌组织中表达; B: MMP-2 在正常胰腺组织中表达; C: E-cad 在胰腺癌组织中表达; D: E-cad 在正常胰腺组织中表达

附图 MMP-2 及 E-cad 蛋白表达 (×400)

表 1 两组 MMP-2、E-cad 蛋白表达比较

组别	例数	MMP-2/ 例		阳性率 /%	$\chi^2$ 值	P 值	E-cad/ 例		阳性率 /%	$\chi^2$ 值	P 值
		+	-				+	-			
胰腺癌组织	55	29	26	52.7	5.363	0.021	18	37	32.7	39.148	0.000
正常组织	34	1	33	2.9			34	0	100.0		

表 2 胰腺癌临床病理因素与 MMP-2 及 E-cad 表达的相关性 例

因素	例数	MMP-2		$\chi^2$ 值	P 值	E-cad		$\chi^2$ 值	P 值	
		+	-			+	-			
性别										
男	36	18	18	0.311	0.577	12	24	0.972	0.324	
女	19	11	8			6	13			
年龄										
≤55 岁	21	13	8	1.148	0.284	5	16	1.227	0.268	
>55 岁	34	16	18			13	21			
部位										
胰腺头部	39	21	18	0.067	0.795	14	25	0.612	0.434	
胰腺尾部	16	8	8			4	12			
临床分期										
I、II 期	32	13	19	4.497	0.034	15	17	6.957	0.008	
III、IV 期	23	16	7			3	20			
组织学分化										
G <sub>1</sub>	15	5	10	6.146	0.046	10	5	11.046	0.004	
G <sub>2</sub>	32	17	15			7	25			
G <sub>3</sub>	8	7	1			1	7			
淋巴结转移										
有	24	19	5	11.942	0.001	4	20	4.989	0.026	
无	31	10	21			14	17			
肿瘤直径										
≤3 cm	38	15	23	8.664	0.003	16	22	4.911	0.027	
>3 cm	17	14	3			2	15			

10 例,两者表达呈负相关( $r=-0.673, P=0.027$ )。见表 3。

表 3 MMP-2 和 E-cad 蛋白在胰腺癌组织中表达的相关性例

MMP-2	E-cad		合计
	+	-	
+	2	27	29
-	16	10	26
合计	18	37	55

### 3 讨论

胰腺为人体重要器官,位于机体上腹部腹膜后间隙,可分为外分泌腺和内分泌腺。由于胰腺位于机体较深位置,且供血较差,因此容易出现病变,病变后也不易发现和治疗。胰腺癌为胰腺常见肿瘤,多起源于腺管上皮,半数以上位于胰头。胰腺癌患者生存率较低,即便进行放、化疗和手术治疗,达 5 年生存率仅为 6%,且多数患者在确诊时,胰腺肿瘤已转移,已无法通过手术治疗及放、化疗进一步延长生命<sup>[5-6]</sup>。由于胰腺位置原因,胰腺癌诊断难度较大,多数患者在确诊时已是癌症晚期,无法进行有效治疗。即便患者通过治疗,暂时抑制癌症发展,其复发率也较高。目前行之有效的延长胰腺癌患者生命的方法为早诊断、早治疗,故有必要发现新的有效的肿瘤标志物来提高胰腺癌的诊断率<sup>[7-8]</sup>。

基质金属蛋白酶为一种重要蛋白水解酶,属于锌肽酶超家族,可降解细胞外基质所有成分<sup>[9-10]</sup>。研究表明,MMP 蛋白的增多,可大量降解细胞外基质,导致细胞外机制稳定性下降,从而使细胞间的黏附和连接作用减弱,细胞的转移能力提高<sup>[11]</sup>。在 MMP 家族中,MMP-2 蛋白与肿瘤关系较密切,在肿瘤的转移中发挥重要作用。研究发现,MMP-2 蛋白在其他恶性肿瘤中有过量分泌的趋势,该蛋白可降解细胞质基质中层黏蛋白、胶原蛋白等,在细胞连接中发挥重要作用,但细胞间黏附作用减弱,导致肿瘤转移<sup>[11]</sup>。研究表明,在人体膀胱癌、乳腺癌中 MMP-2 蛋白均表达上调,而且与肿瘤的进展、转移及患者的预后关系密切,可以作为肿瘤进展标志物<sup>[11]</sup>。但关于胰腺癌中 MMP-2 的研究鲜有报道。本文对 MMP-2 蛋白在胰腺癌组织中的表达做相关研究,对胰腺癌组织及正常胰腺组织中的 MMP-2 表达做免疫组织化学法检测,结果发现,胰腺癌组织中 MMP-2 的阳性表达

率高达 52.7%,高于正常组织的 2.9%,说明在胰腺癌中 MMP-2 蛋白有过量表达的趋势。本实验对 MMP-2 表达与临床病理因素进行分析,结果发现,其与临床分期、肿瘤分化程度、有无淋巴结转移及肿瘤直径密切相关,但与性别、年龄机肿瘤位置无关,说明肿瘤的发生、发展及转移与 MMP-2 蛋白关系密切。

E-cad 为一种重要黏附分子,在细胞与细胞、细胞与细胞外基质的黏附中发挥重要作用。E-cad 为一种跨膜蛋白,可以连接环蛋白、微丝及肌动蛋白等形成连接复合体,并与相邻细胞中复合体连接,使细胞与细胞间形成稳定连接<sup>[12]</sup>。若 E-cad 蛋白表达下降或功能抑制,将导致细胞与细胞间、细胞与细胞基质间的连接能力减弱,致使细胞转移。研究发现,E-cad 表达下调与胃癌、食管癌及口腔鳞癌等的转移关系密切<sup>[13]</sup>,但在胰腺癌却鲜有报道。本文对胰腺癌组织中 E-cad 蛋白的表达做相关研究,结果发现,胰腺癌组织中 E-cad 蛋白的阳性表达率为 32.7%,低于正常组织的 100.0%,说明 E-cad 表达下调与胰腺癌的发生、发展有重要联系,且与 E-cad 表达在胃管、食管癌中的研究结果相似。本实验进一步探讨 E-cad 表达与临床病理因素的相关性,结果发现与 MMP-2 结果相似,E-cad 的表达只与胰腺癌的临床分期、分化程度、有无淋巴结转移及肿瘤直径有关,而与患者性别、年龄和肿瘤位置无关,说明胰腺癌的发生、发展及转移与 E-cad 蛋白有关。

笔者对 MMP-2 和 E-cad 蛋白表达的相关性做进一步研究,结果发现,MMP-2 蛋白与 E-cad 的表达呈负相关,说明 MMP-2 表达上调及 E-cad 表达下调与胰腺癌的发生、发展及转移关系密切。

综上所述,MMP-2 表达上调和 E-cad 表达下调与胰腺癌的发生、发展及转移关系密切。临床上可通过检测 MMP-2 和 E-cad 的表达对胰腺癌的发展、转移进行预测和评估。

### 参 考 文 献:

- [1] JEMAL A, BRAY F, CENTER MM, et al. Global cancer statistics[J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61(2): 69-90.
- [2] KLEEFF J, MICHALSKI C, FRIESS H, et al. Pancreatic cancer: From bench to 5-year survival[J]. Pancreas, 2006, 33(2): 111-118.
- [3] PRYCYCZ A, GUZINSKA-USTYMOWICZ K, DYMICKA PIEKARSKA V, et al. Expression of matrix metalloproteinase 9 in pancreatic ductal carcinoma in associated with tumor metastasis formation[J]. Folia Histochem Cytobiol, 2007, 45(12): 37-40.

- [4] 崔银江, 李少华. E-钙粘附素的研究进展[J]. 中国矫形外科杂志, 2009, 17(13): 1001-1003.
- [5] PLATE J M. Advances in therapeutic vaccines for pancreatic cancer[J]. *Disco Med*, 2012, 14(75): 89-94.
- [6] BRISTI B, DUNCAN J. Progress in pancreatic cancer: moving beyond gemcitabine [J]. *Expert Review of Anticancer Therapy*, 2012, 12(8): 997-1000.
- [7] PARK K S, KIM S J, KIM K H, et al. Clinical characteristics of timp2, MMP-2, and MMP-9 gene polymorphisms in colorectal cancer[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2011, 26(2): 391-397.
- [8] 崔鹏, 区金锐, 简志祥, 等. miR-146a 在胰腺癌组织中的表达及临床意义[J]. 岭南现代临床外科, 2013, 13(1): 18-28.
- [9] 吴年付, 汤志刚, 陈炯, 等. 胰腺癌中 MMP-26 mRNA 和蛋白的表达及其临床意义[J]. 安徽医科大学学报, 2014, 49(7): 981-983.
- [10] 郭梅梅, 刘江伟, 贾福鑫, 等. Survivin 和 COX-2 的表达及与胰腺癌预后的关系[J]. 现代生物医学进展, 2013, 13(19): 3632-3636.
- [11] DELASSUS G S, CHO H, ELICEIRI G L. New signaling pathways from cancer progression modulators to matrix expression of matrix metalloproteinases in breast cancer cells[J]. *J Cell Physiol*, 2011(12): 143-145.
- [12] 纪清莲, 孙玲玲, 付伟伟, 等. 胰腺癌组织 Cx43 和 E-cad 表达及意义[J]. 青岛大学医学院学报, 2009, 45(1): 38-40.
- [13] 徐晓艳, 范鹏程, 马秀梅. E-钙粘附素、组织蛋白酶 D 与胃癌侵袭转移的关系[J]. 山西医科大学学报, 2008, 39(2): 237-241.

(童颖丹 编辑)