

基质金属蛋白酶-9, 组织抑制因子-1 在进展期胃癌中的表达与意义

高峰 黄元夕

(黑龙江省医院普外二科 哈尔滨 150036)

摘要 目的: 研究基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)及其组织抑制因子-1(tissue inhibitor of metalloproteinase-1, TIMP-1)在进展期胃癌中的表达情况, 探讨二者的表达与胃癌侵袭转移间的关系及二者间的联系。方法: 应用免疫组化方法检测70例进展期胃癌标本中MMP-9, TIMP-1的表达, 并进行回顾性随访。结果: 侵及肌层以上者MMP-9的阳性表达(66.67%)明显高于肿瘤局限于粘膜、粘膜下者(20% $P < 0.01$)。MMP-9阳性表达与胃癌的淋巴转移与肝转移有相关性($P < 0.01$)。TIMP-1的表达随胃癌浸润深度增加而减少, 当肿瘤突破浆膜时TIMP-1的表达呈现陡降趋势($P < 0.01$)。结论: MMP-9的过阳性表达和TIMP-1的表达失衡可能与胃癌转移行为有关。TIMP-1可能抑制胃癌的浸润转移。

关键词: 胃癌; 基质金属蛋白酶-9; 组织抑制因子-1; 转移

Expressions of Matrix Metalloproteinase-9 and Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-1 in Progressive Gastric Cancer

GAO Feng, HUANG Yuan-xi

Department of Surgery, Heilongjiang Hospital, Harbin 150036, China

ABSTRACT Objective: To study the expressions of Matrix Metalloproteinase-9 (MMP-9) and Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-1 (TIMP-1) in progressive gastric cancer (PGC), including the correlation between the MMP-9 and TIMP-1 and invasion metastasis of gastric cancer. **Methods:** The expressions of MMP-9 and TIMP-1 in 70 specimens with PGC were determined by immunohistochemistry method. The patients with PGC were retrospectively followed up. **Results:** Positive expression (66.67%) of MMP-9 in the patients with tumor invading into or over muscular layer was significantly higher than that (20%) of the patients with tumor in the mucous membrane or submucous tumor ($P < 0.01$). The positive expression of MMP-9 was relative to lymphnode and hepatic metastasis ($P < 0.01$). The expression of TIMP-1 lowered with the increasing depth of gastric cancer infiltration, which suddenly lowered when tumor broke through the serous membrane ($P < 0.01$). **Conclusion:** The over positive expression of MMP-9 and expression disbalance of TIMP-1 may be relative to gastric cancer metastasis; TIMP-1 may inhibit infiltrating metastasis of gastric cancer.

Key words: Gastric cancer; Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9); Tissue inhibitor of metalloproteinase-1; Metastasis

临床统计, 约有80%以上的肿瘤病人死于肿瘤的侵袭与转移。肿瘤侵袭转移的过程虽然很复杂, 但其基本步骤包括压力的作用, 癌组织的黏附性降低, 癌细胞的迁移, 细胞黏附分子的作用和细胞外基质的降解。基质金属蛋白酶9(MMP-9)能降解细胞外基质中的主要成分IV型胶原^[1], 在肿瘤向周围组织浸润并侵入血管、淋巴管远隔转移中发挥重要作用, TIMP-1是其组织抑制因子, 能抑制MMP-9活性^[2], 对肿瘤的转移起抑制作用。MMP-9和TIMP-1在胃癌中表达的研究可见报道, 但二者表达情况与进展期胃癌侵袭转移间关系的研究尚罕见, 且MMP-9、TIMP-1系统失衡是否与胃癌的浸润转移存有更密切联系也值得研究。

1 材料与方法

1.1 材料

选取黑龙江省医院1999-2000年间资料完整的原发性胃癌手术切除标本的存档蜡块70例, 其中男性48例, 女性22例

平均年龄51岁(27岁-72岁), 淋巴结转移(+)44例, 术中及术后5年内肝转移21例。所有病人手术前均未接受放疗、化疗, 对所有病人进行了随访, 获得随访资料。

1.2 方法

手术标本常规福尔马林固定, 24小时内取材, 石蜡包埋, 连续4 μ m厚切片, HE染色。

MMP-9、TIMP-1免疫组化染色: 本实验采用链霉素-生物素(S-P)免疫组化技术, MMP-9和TIMP-1的单克隆抗体及免疫组化试剂盒购自福州迈新生物技术公司, 按说明书进行操作。用已知的乳腺阳性片作阳性对照, 同时用PBS替代第一抗体作阴性对照。根据细胞膜或胞浆的染色程度及染色细胞百分率进行判定: 细胞膜或胞浆中有棕黄色颗粒沉着为阳性。基本不着色者或着色细胞 $< 5\%$ 者为(-), 着色淡者或着色细胞占计数细胞百分率 $5\% - 25\%$ 者为(+), 着色深者或细胞计数占 $26\% - 50\%$ 者为(++), 细胞计数 $> 50\%$ 者为(+++)

(收稿日期: 2006-03-03 接受日期: 2006-04-06)

1.3 统计学处理

各样本资料差异的统计学处理采用 X^2 检验方法。

2 结果

2.1 MMP-9 和 TIMP-1 的表达与胃癌临床病理特征

MMP-9 和 TIMP-1 的阳性染色主要见于肿瘤细胞的胞膜、胞浆棕黄色着色, 见图 1-3。在 70 例原发胃癌标本中,

MMP-9 阳性为 42 例 (60.0%), TIMP-1 阳性为 39 例 (55.7%)。MMP-9、TIMP-1 阳性表达与胃癌病人的性别、肿瘤位置、肿瘤大小、组织分化程度未见明显关系。侵及肌层以上者 MMP-9 的阳性表达 (66.67%) 明显高于肿瘤局限于粘膜、粘膜下者 (20% $P < 0.01$)。MMP-9 阳性表达与胃癌的淋巴转移与肝转移有相关性 ($P < 0.01$)。TIMP-1 的表达随胃癌浸润深度增加而减少, 当肿瘤突破浆膜时 TIMP-1 的表达呈现陡降趋势 ($P < 0.01$)。

表 1 C-Met、MMP-9、TIMP-1 的表达情况

	MMP-9+ (%)	Pvalue	TIMP-1+ (%)	Pvalue
(1) Sex				
Male	30(62.50)	> 0.05	25(52.08)	> 0.05
Female	12(54.54)		14(63.64)	
(2) Location				
Antrum	22(5.00)	> 0.05	21(55.00)	> 0.05
Others	20(57.14)		18(52.38)	
(3) Tumor size(cm)				
< 5	19(61.11)	> 0.05	19(66.67)	> 0.05
≥ 5	23(60.87)		20(43.48)	
(4) Differentiation				
Well-moderate	24(63.16)	> 0.05	18(57.89)	> 0.05
Poor	18(59.09)		21(50.00)	
(5) Depth of invasion				
Lamina propria or submucosa	2(20.00)	< 0.01	4(80.00)	< 0.01
Muscularis propria	19(66.67)		21(66.67)	
Visceral peritoneum	21(66.67)		14(33.33)	
(6) Lymph node metasis				
Negative	11(42.30)	< 0.05	14(53.84)	< 0.05
Positive	31(70.21)		25(54.54)	
(7) Liver metastasis				
Negative	24(50.00)	< 0.05	28(57.19)	< 0.05
Positive	18(85.73)		11(52.30)	

2.2 胃癌中 MMP-9、TIMP-1 表达与淋巴结转移和肝转移的关系。

表 2 MMP-9、TIMP-1 表达与淋巴结转移和肝转移关系

	n	淋巴结(+)	P	肝转移(+)	P
A	40	35(87.5%)	< 0.05	19(47.50%)	< 0.05
B	25	8(32%)		2(8%)	
C	5	1(20%)		0	

(A: 标本中 MMP-9 的表达 > TIMP-1 的表达 B: MMP-9 = TIMP-1 C: MMP-9 < TIMP-1)

可见 A (MMP-9 > TIMP-1) 的淋巴结和肝转移率明显高于 C (MMP-9 < TIMP-1)。($P < 0.05$)

3 讨论

胃癌是我国常见的恶性肿瘤, 发病率超过 25/10 万, 肿瘤细胞通过浸润转移扩散到远隔部位是胃癌病人致死的主要原因, 也是胃癌分期的依据, 因此研究胃癌浸润转移的机制, 针对其中的某些环节施加影响可能成为胃癌治疗的新策略。

肿瘤浸润转移的重要的环节之一是细胞外基质的降解, 因 IV 型胶原是细胞外基质的主要成分, 所以降解 IV 型胶原的 MMP-9 及它的抑制因子 TIMP-1 在肿瘤侵袭转移的作用日益受到重视。有报道在乳腺癌中存在 MMP-9 的表达上升, 且与淋巴结转移相关^[3]。Sier 等的研究也证实胃癌组织中 MMP-9 的表达显著高于癌旁正常组织中的表达, MMP-9 高表达者的生存率明显低于未表达者, MMP-9 可成为独立判断胃癌病人预后的指标^[4]。本实验中胃癌 MMP-9 的阳性表达率为 60.98%, 与 Murray 报道中相近。MMP-9 的过表达与肿瘤的浸润深度, 淋巴结转移及肝转移密切相关, 说明 MMP-9 的过表达可能是细胞恶变后获得的一种有助肿瘤细胞浸润转移的能力, MMP-9 的上升促进了胃癌的转移。如果下调胃癌 MMP-9 的表达对肿瘤的转移可能有抑制作用, 这一点在结肠癌转移的研究中得到证实^[5]。此外, 结果显示 MMP-9 的阳性率在进展期胃癌较早期胃癌明显上升, 原因尚不清楚, 可能为肿瘤的异质性, 也可能为肿瘤细胞在不同发展阶段的表现, 有待进一步研究。

(下转第 32 页)

表1 改良组与对照组术中、术后情况比较

术式	改良组	对照组	P 值
例数	60	60	
手术时间(min)			
切皮- 胎儿娩出	5.0	9.6	< 0.05
总时间	25.8	40.1	< 0.05
新生儿 Apgar 评分	9.8	9.7	> 0.05
术中出血量(ml)	140	220	< 0.05
术后镇痛药物使用(例)	10	30	< 0.01
术后排气时间(h)	16.2	38.5	< 0.05
术后病率	0	0	—
术后住院天数	5.2	7.6	< 0.05

改良组与对照组观察比较, 手术操作简单易掌握, 胎儿娩出时间、手术总时间、术中出血量、术后镇痛药物使用、术后排气时间、住院天数均明显少于对照组, 有显著性差异, 而新生儿 Apgar 评分、术后病率在统计学上无差异。

3 讨论

新式剖宫产术采用了 Joel- Cohen 开腹方法, 为一种改良的下腹部横切口子宫下段剖宫产术, 适用于所有有剖宫产手术指征的产妇, 具有安全、简单、快捷的特点。(1) Joel- Cohen 切口位置比 Pfannenstiel 切口位置高, 远离锥状肌, 使腹直肌易于撕拉, 且采用撕拉法分离皮下脂肪、腹直肌前鞘, 膀胱腹膜反折, 壁层腹膜及子宫肌层, 此法使走行于其中的血管, 神经借助于本身的弹性完整地保留, 即减少了出血, 也减少因结扎血管或电凝止血造成的局部组织缺血, 大大缩短了从开腹到胎儿娩出的时间, 更适宜紧急情况剖宫产^[1]。(2) 子宫肌层全层以针距为 1cm 作连续锁扣缝合, 即保证切口血运, 又减少子宫肌肉损伤, 减少因缝合过多造成的缺血甚至局部坏死, 一次性达到止血目的。(3) 改良组横切口由于切口较纵切口低, 手

术过程无需排肠肠管, 羊水及血迹很少流入腹腔, 对腹腔干扰少, 术后胃肠道功能恢复快, 肛门排气时间较对照组明显缩短^[2]。(4) 不缝合腹膜, 术后疼痛主要缘于腹膜的牵扯和缺血, 腹膜的愈合不同于皮肤, 不需要相互贴近, 而在游离状态下 24-48 小时内由再生的间皮细胞完全修复, 形成新的脏、壁层腹膜, 因此不缝合腹膜反而减少了术后的粘连和疼痛^[3]。并且, 不缝合腹膜组比缝合腹膜组手术及麻醉时间短, 术后发热、膀胱炎及抗生素使用均少于缝合腹膜组^[4,5]。(5) 关腹时皮肤、皮下脂肪作全层宽间距缝合, 整个切口仅缝合 3 针, 不仅简单、省时, 而且有利于愈合, 减少疤痕形成^[1]。

本文观察表明新式剖宫产术与传统的腹部纵切口剖宫产术相比减少了手术步骤, 缩短了手术时间及麻醉时间, 术后伤口疼痛轻, 损伤小, 可早期下床活动。术后排气、进食和进水时间提前, 康复快, 有利于母乳喂养, 加上伤口对合好, 术后 5 天拆线, 全部甲级愈合, 有利于产妇身心健康, 即增加了床位使用和周转, 又减少了住院费用, 使病人的满意度增加, 从而产生良好的社会效益和经济效益, 值得产科医生推广使用。

参考文献

- [1] 马彦彦. 新式剖宫产术特殊并发症[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2003, 19(7): 402
- [2] 杨孟君, 李娟, 秦莉, 等. 新式剖宫产术的探讨[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 1998, 14(5): 301
- [3] Togas T, Hing SH, Morrie MG. Closure of laparotomy incision with or without peritoneal suturing and second-look laparoscopy[J]. Am J Obstet Gynecol, 1988, 158(2): 536
- [4] Marcello P, Michael TP, William F, et al. Peritoneal closure or non-closure at cesarean section[J]. Obstet Gynecol, 1991, 77(1): 293
- [5] Fritz N, Hemann K, Dietmar S. Closure or non-closure of the visceral peritoneum at cesarean delivery[J]. Am J Obstet Gynecol, 1996, 174(5): 1366

(上接第 26 页)

TIMP-1 的功能主要是天然地抑制 MMP-9, 在调节细胞外基质的代谢中起重要的作用。其作用机制较为复杂, 大多数情况下以 1:1 的比例形成复合物, 使 MMP-9 的活性丧失。即使在有激活剂存在的情况下, MMP-9 的活化还要取决于内源性的 MMP-9/TIMP-1 的比值, 只有当这个比值超过 1.0 时, MMP-9 才会被活化^[6]。在本研究中, TIMP-1 的表达随着肿瘤浸润深度的增加而明显降低, 说明 TIMP-1 抑制 MMP-9 作用的下降也是胃癌浸润转移的原因之一, 因此我们认为单纯以 MMP-9 的增高判断肿瘤浸润转移能力的大小及预后并不全面, 应结合 TIMP-1 加以综合判断可能更有意义。本研究的 70 例胃癌中, MMP-9 > TIMP-1 时的淋巴结及肝的转移率比 MMP-9 < TIMP-1 时明显增高 (P < 0.05), 说明 MMP-9/TIMP-1 系统失衡与胃癌的浸润转移有更密切的关系。

Kabashima 认为以最小的手术创伤治疗早期胃癌是胃癌治

疗发展的趋势, 包括 MMP-9 等与肿瘤转移相关的分子生物学检查是进行此治疗的重要条件^[7]。我们的认为由于 MMP-9/TIMP-1 在胃癌的侵袭转移机制中可能发挥了重要的作用, 应重视它们在未来临床应用中的价值, 加以进一步研究。

参考文献

- [1] Lenz O, Elliot ST, Stetler-Stevenson WG. Matrix metalloproteinases in renal development and disease[J]. J Am Soc Nephrol, 2000, 11: 547-581
- [2] Ishizaki T, Katsumata K, Tsuchida A, et al. Emodolac, a selective cyclooxygenase-2 inhibitor, inhibits liver metastasis of colorectal cancer cells via the suppression of MMP-9 activity[J]. Int J Mol Med. 2006 Feb; 17(2): 357-362
- [3] Kabashima A, Maehara Y, Koga T, et al. The biologic features of intramucosal gastric carcinoma with lymph node metastasis[J]. Surgery 2002 Jan, 131(1 Suppl): S71-77