

# 基质金属蛋白酶-7和组织金属蛋白酶抑制剂-1与大肠癌的关系

王瑞婷, 申兴斌, 金小平, 于再东

王瑞婷, 承德医学院药理教研室 河北省承德市 067000  
申兴斌, 金小平, 承德医学院附属医院病理科 河北省承德市 067000  
于再东, 滦平县医院病理科 河北省承德市 067000  
河北省科技厅资助课题, No. 032761138  
通讯作者: 王瑞婷, 067000, 河北省承德市翠桥路20号, 承德医学院药理教研室. wrtwrt8324@sina.com  
电话: 0314-2064592-8324  
收稿日期: 2005-03-25 接受日期: 2005-04-08

## 摘要

**目的:** 探讨基质金属蛋白酶-7(MMP-7)、组织金属蛋白酶抑制剂-1(TIMP-1)的表达与大肠癌的发生、发展的关系。

**方法:** 采用免疫组化技术检测15例正常大肠黏膜(NM)、27例大肠腺瘤(Ad)、81例大肠癌(CC)组织中MMP-7、TIMP-1的表达。

**结果:** 从NM到Ad到CC MMP-7、TIMP-1的表达逐渐增高、增强, 经秩和检验MMP-7在每两组间都存在显著差异( $P<0.01$ ), TIMP-1在NM与CC、Ad与CC中存在明显差异( $P<0.01$ )。

**结论:** MMP-7参与了大肠癌的发生, 并具有高度的特异性, 可作为大肠癌的早期预测因子。阻断MMP-7的表达和活性及增强TIMP-1的表达和活性有可能成为抗肿瘤转移治疗的一个新途径。

王瑞婷, 申兴斌, 金小平, 于再东. 基质金属蛋白酶-7和组织金属蛋白酶抑制剂-1与大肠癌的关系. 世界华人消化杂志 2005;13(11):1344-1345  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/1344.asp>

## 0 引言

大肠癌(colorectal carcinoma, CC)是一种常见的消化道恶性肿瘤, 近20 a来, 其发病率逐年增加。细胞外基质降解和新生血管形成是肿瘤生长、浸润和转移的必要条件<sup>[1]</sup>。基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)能降解细胞外基质及血管基底膜, 从而能促进肿瘤细胞的浸润和血管的形成。组织金属蛋白酶抑制剂(tissue inhibitors of metalloproteinases, TIMPs)与MMPs结合可降低MMPs活性<sup>[2]</sup>。MMP-7的作用底物广, 能降解I、II、III、IV型胶原(IV型胶原是血管基底膜的重要组分), 而且其只在癌细胞和异型增生的上皮细胞中表达<sup>[3]</sup>, 有较高的特异性。目前国内外研究CC中MMP-7表达的报道较为少见, 本实验以大肠的正常黏膜(normal mucosa, NM)、腺瘤(adenoma, Ad)及CC标本作为研究对象, 用免疫组化S-P法检测MMP-7、TIMP-1的表达, 探讨其在大肠癌发生中的作用。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集承德医学院附属医院肿瘤外科2001-09/2002-10手术切除的CC标本81例, 同时选取大肠癌远端病理证实的NM15例, 内窥镜活检的Ad 27例。81例大肠癌中男性36例, 女性45例, 年龄30-85岁, 平均57.2岁。鼠抗人MMP-7单克隆抗体, 鼠抗人TIMP-1单克隆抗体, SP(Kit-9720)试剂盒均购自福州迈新公司。

## 1.2 方法

**1.2.1 SP免疫组化染色** 切片脱蜡入水, 3 mL/L甲醇过氧化氢作用5 min, 非免疫血清阻断30 min, 依次加入稀释后(1:50)I抗(孵育过夜), II抗(孵育30 min), III抗(孵育30 min), 期间用PBS缓冲液冲洗, 最后于DAB液显色后, 复染、脱水、透明、封片, 染色时均设立阴性对照(以PBS液代替I抗)和阳性对照已知胃癌阳性切片。

**1.2.2 结果判定** 以NM上皮细胞或肿瘤细胞胞质出现棕黄色颗粒为阳性, 阳性表达的判断按照Volm *et al*<sup>[4]</sup>的判断标准: (1)选染色均匀的肿瘤区, 在400倍视野下计数着色细胞占视野细胞总数的百分数, 共计数5个视野, 取平均值, 以着色细胞占视野细胞总数的多少分0-3级: 0级:0;1级:<25%;2级:26-50%;3级:>50%。(2)按细胞着色强弱分级:0级:不着色;1级:着色弱;2级:中等着色;3级:着色强。按(1)、(2)值之和判断结果:阴性(-):0;弱阳性(+):1-2;中度阳性(++):3-4;强阳性(+++):5-6。

**统计学处理** 数据库的建立和数据分析采用SPSS11.0软件。MMP-7、TIMP-1采用等级资料秩和检验。

## 2 结果

**2.1 大肠NM、Ad及CC中MMP-7的表达** MMP-7表达阳性多表现为黏膜上皮、Ad和癌细胞的胞质中出现棕黄色颗粒, 呈灶性或弥漫分布, 大小不一, 着色轻重不同, 有5例CC细胞质和胞核均有着色。在15例NM中仅1例呈弱阳性;27例Ad中23例(85.2%)呈阳性, 其中强阳性率较低(7.4%);81例CC中2(2.5%)例阴性, 31(38.3%)例强阳性, CC的阴性及弱阳性表达低于Ad, 而中度及强阳性表达高于Ad, 强阳性率在三组中最高。三组间MMP-7的表达有明显差异( $H = 50.289, P<0.01$ ), NM与Ad、NM与CC、Ad与CC间MMP-7的表达均有显著性差异(表1)。

**2.2 大肠NM、Ad及CC中TIMP-1的表达** TIMP-1着色部位与MMP-7相同, 部分间质细胞也有表达。15例NM中6(40%)例阳性, 阳性表达中弱阳性5(33.3%)例;27例Ad中18(66.7%)例阳性, 无强阳性;81例CC中71(87.7%)例阳性, 其中18(22.2%)例强阳性。从NM到Ad到CC,

TIMP-1 表达阳性率逐渐升高, 只有大肠癌有强阳性表达, 三组间 TIMP-1 的表达有明显差异 ( $H = 20.373$ ,  $P < 0.01$ ), CC 与 NM、CC 与 Ad 中 TIMP-1 的表达均有显著差异 ( $P < 0.01$ ), NM 与 Ad 间表达无显著差异 (表 2)。

表1 MMP-7在NM、Ad和CC中的表达(%)

分组	n	阴性	阳性				阳性 n(%)
			-	+	++	+++	
NM	15	14(93.3)	1(6.7)	0(0)	0(0)	0(0)	1(6.7)
Ad	27	4(14.8)	8(29.6)	13(48.2)	2(7.4)	2(7.4)	23(85.2) <sup>b</sup>
CC	81	2(2.5)	8(9.9)	40(49.4)	31(38.3)	31(38.3)	79(97.5) <sup>bd</sup>

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs NM; <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs Ad.

表2 TIMP-1在NM、Ad和CC中的表达(%)

分组	n	阴性	阳性				阳性 n(%)
			-	+	++	+++	
NM	15	9(60.0)	5(33.3)	1(6.7)	0(0)	0(0)	6(40.0) <sup>b</sup>
Ad	27	9(33.3)	12(44.4)	6(22.2)	0(0)	0(0)	18(66.7) <sup>b</sup>
CC	81	10(12.3)	36(44.4)	17(21.0)	18(22.2)	18(22.2)	71(87.7)

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs CC.

### 3 讨论

3.1 MMP-7在大肠癌发生过程中的意义 肿瘤的生长、浸润和转移依赖于细胞外基质的降解和新生血管的形成, 本研究检测了与细胞外基质降解有关的两种指标. 细胞外基质的降解主要由肿瘤细胞分泌的 MMPs 完成, MMP-7 是 MMPs 家族的重要成员, 是 MMPs 中唯一由上皮性肿瘤细胞特异性表达的酶, 能降解基底膜的主要成分 IV 型胶原及层粘连蛋白, 在胃癌及大肠癌的研究中发现 MMP-7 的表达明显增强<sup>[5-6]</sup>.

本研究显示 MMP-7 在正常黏膜几乎不表达, 大肠癌中表达阳性率为 97.5% (79/81), 高于腺瘤, 三组之间均有显著差异, 说明 MMP-7 的异常表达在大肠肿瘤的早期阶段就开始升高, 并可能在大肠组织正常黏膜演变成腺瘤、癌的过程中具有重要作用. 镜下观察还发现多数大肠腺瘤中 MMP-7 的表达见于局灶性分布的腺瘤细胞, 而大肠癌中 MMP-7 则在广泛的癌细胞中分布, 腺瘤中局灶性表达的区域有可能通过 MMP-7 的作用最终发展成为大肠癌. 仅郭颖<sup>[7]</sup>报道在卵巢交界性及恶性浆液性肿瘤中出现 MMP-7 在癌细胞胞核着色, 本研究也发现 5 例大肠癌癌细胞胞

质和胞核均有着色. Zhao *et al*<sup>[8]</sup>推测细胞核中有 MMP, MMP-7 在肿瘤细胞核中定位的生物学意义尚不清楚.

3.2 TIMP-1 与大肠癌发生的关系 TIMP-1 在正常黏膜、腺瘤及癌均有表达, 癌中表达明显高于正常黏膜和腺瘤组. 在正常黏膜膜演变为腺瘤及大肠癌的过程中, MMP-7 表达的阳性率分别为 6.7%, 85.2% 和 97.5%, 而 TIMP-1 表达的阳性率分别为 40%, 66.7% 和 87.7%, 二者均呈现增长趋势, 但 TIMP-1 较 MMP-7 增长慢, TIMP-1 增长是原发性升高还是受 MMP-7 的诱导而升高是值得探讨的问题. 有文献<sup>[9-10]</sup>报道可用 MMP/TIMP 比值作为肿瘤临床研判的一项指标.

MMP-7 在正常黏膜几乎不表达, 在大肠癌中阳性率高达 97.5%, 表明 MMP-7 参与了正常黏膜演变为腺瘤及癌的进程, 并具有高度特异性. 因此 MMP-7 可作为大肠癌的预测因子. TIMP-1 在正常黏膜演变为大肠癌的过程中逐渐升高, 鉴于 TIMP-1 作为 MMP-7 的抑制物及 MMP-7 在大肠癌及其他肿瘤发生、发展中作用, 阻断 MMP-7 的表达和活性及增强 TIMP-1 表达和活性有可能成为抗肿瘤转移治疗的一个新途径.

### 4 参考文献

- Liotta LA, Steeg PS, Stetler-Stenvenson WG. Cancer metastasis and angiogenesis: an imbalance of positive and negative regulation. *Cell* 1991;64:327-336
- Kleiner DE Jr, Tuuttila A, Tryggvason K, Stetler-Stevenson WG. Stability analysis of latent and active 72-KDa type IV collagenase: the role of tissue inhibitor of metalloproteinase-2 (TIMP-2). *Biochemistry* 1993;32:1583-1592
- 高庆, 吴秉铨. 基质金属蛋白酶与肿瘤侵袭和转移. *中华病理学杂志* 1998;27:155-156
- Volm M, Koomagi R, Mattern J. Prognostic value of vascular endothelial growth factor and its receptor Flt-1 in squamous cell lung cancer. *Int J Cancer* 1997;74:64-68
- McDonnell S, Navre M, Coffey RJ Jr, Matrisian LM. Expression and localization of the matrix metalloproteinase pump-1 (MMP-7) in human gastric and colon carcinomas. *Mol Carcinog* 1991;4:527-533
- Yoshimoto M, Itoh F, Yamamoto H, Hinoda Y, Imai K, Yachi A. Expression of MMP-7 (PUMP-1) mRNA in human colorectal cancers. *Int J Cancer* 1993;54:614-618
- 郭颖, 刘军, 吴静, 张建国. 基质金属蛋白酶-7 在卵巢浆液性肿瘤中的表达. *细胞与分子免疫学杂志* 2002;18:471-473
- Zhao WQ, Li H, Yamashita K, Guo XK, Hoshino T, Yoshida S, Shinya T, Hayakawa T. Cell cycle-associated accumulation of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) in the nuclei of human gingival fibroblasts. *J Cell Sci* 1998;111(Pt 9):1147-1153
- Ara T, Kusafuka T, Inoue M, Kuroda S, Fukuzawa M, Okada A. Determination of imbalance between MMP-2 and TIMP-2 in human neuroblastoma by reverse-transcription polymerase chain reaction and its correlation with tumor progression. *J Pediatr Surg* 2000;35:432-437
- Gong YL, Xu GM, Huang WD, Chen LB. Expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases and their local invasiveness and metastasis in Chinese human pancreatic cancer. *J Surg Oncol* 2000;73:95-99

编辑 王谨晖 审读 张海宁