

# 遗传性非息肉病性大肠癌中hMSH2, hMLH1, T $\beta$ R II, MMP-7及TIMP-2的表达和其特殊生物学行为间的关系

顾国利, 魏学明, 王石林, 任力, 胡益云, 李德昌

## ■背景资料

TGF $\beta$ /Smad信息通路、MMP、TIMP和HNPCC均是当前肿瘤学的研究热点。TGF $\beta$ /Smad信息通路在肿瘤的发生、发展、侵袭、转移中起着非常重要的作用。TGF $\beta$ 必须借助细胞膜上T $\beta$ R II的介导才能完成上述生物学作用。MMP通过参与降解细胞外基质(ECM)而在肿瘤的侵袭转移过程中扮演着重要角色, 而TIMP则是其特异性的抑制剂。MMP/TIMP比例的失衡将影响肿瘤的侵袭、转移。研究发现TGF $\beta$ 、T $\beta$ R II、MMP-7和TIMP-2与大肠癌的侵袭转移密切相关。

顾国利, 魏学明, 王石林, 中国人民解放军空军总医院普通外科 北京市 100036  
任力, 胡益云, 李德昌, 中国人民解放军空军总医院病理科 北京市 100036  
顾国利, 硕士, 主治医师, 主要从事胃肠道临床肿瘤学的研究。  
通讯作者: 王石林, 100036, 北京市, 中国人民解放军空军总医院普通外科。wangshilin@medmail.com.cn  
电话: 010-66928302  
收稿日期: 2007-02-10 接受日期: 2007-03-19

## Expression of hMSH2, hMLH1, transforming growth factor $\beta$ receptor type II, matrix metalloproteinase-7, tissue inhibitor of metalloproteinase-2 and their correlations with the biological behaviors of hereditary nonpolyposis colorectal cancer

Guo-Li Gu, Xue-Ming Wei, Shi-Lin Wang, Li Ren, Yi-Yun Hu, De-Chang Li

Guo-Li Gu, Xue-Ming Wei, Shi-Lin Wang, Department of General Surgery, General Hospital of Chinese PLA Air force, Beijing 100036, China  
Li Ren, Yi-Yun Hu, De-Chang Li, Department of Pathology, General Hospital of Chinese PLA Air force, Beijing 100036, China  
Correspondence to: Shi-Lin Wang, Department of General Surgery, General Hospital of Chinese PLA Air force, Beijing 100036, China. wangshilin@medmail.com.cn  
Received: 2007-02-10 Accepted: 2007-03-19

## Abstract

**AIM:** To investigate the correlation of hMSH2, hMLH1, transforming growth factor  $\beta$  receptor type II (T $\beta$ R II), matrix metalloproteinase-7 (MMP-7) and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 (TIMP-2) expression with the biological behaviours of human hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC).

**METHODS:** Immunohistochemical staining was used to detect the expression of hMSH2, hMLH1, T $\beta$ R II, MMP-7 and TIMP-2 protein in 30 cases of sporadic colorectal cancer (SCRC), 30

cases of HNPCC and 8 cases of normal colorectal mucosa, and their corresponding clinical datas were studied retrospectively.

**RESULTS:** The positive rates of hMSH2, hMLH1, T $\beta$ R II, MMP-7 and TIMP-2 expression were significantly related to the depth of invasion and lymph node metastasis, but not to the sex of patients and the size or position of tumors. The positive rates of hMSH2, hMLH1, T $\beta$ R II, MMP-7 and TIMP-2 expression were remarkably different between SCRC and HNPCC ( $P < 0.05$ ). The expression of hMSH2 had a positive correlation with hMLH1 ( $r = 0.835$ ,  $P < 0.01$ ); The expression of T $\beta$ R II had positive correlations with hMSH2 ( $r = 0.592$ ,  $P < 0.01$ ), hMLH1 ( $r = 0.472$ ,  $P < 0.01$ ) and MMP-7 ( $r = 0.735$ ,  $P < 0.01$ ), while the expression of MMP-7 had negative correlations with T $\beta$ R II ( $r = -0.582$ ,  $P < 0.01$ ), TIMP-2 ( $r = -0.421$ ,  $P < 0.01$ ) in HNPCC.

**CONCLUSION:** The mutations of hMSH2 and hMLH1 beget the inactivation of T $\beta$ R II in HNPCC, which induces down-regulated expression of MMP-7 and up-regulated expression of TIMP-2. This might be one reason for the special biological behaviours of HNPCC.

**Key Words:** Human hereditary nonpolyposis colorectal cancer; Sporadic colorectal cancer; Human mismatch repair gene; Transforming growth factor  $\beta$  receptor type II; Matrix metalloproteinase-7; Tissue inhibitor of metalloproteinase-2; Immunohistochemistry

Gu GL, Wei XM, Wang SL, Ren L, Hu YY, Li DC. Expression of hMSH2, hMLH1, transforming growth factor  $\beta$  receptor type II, matrix metalloproteinase-7, tissue inhibitor of metalloproteinase-2 and their correlations with the biological behaviors of hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007;15(15):1738-1744

## 摘要

**目的:** 探讨遗传性非息肉病性大肠癌(HNPCC)中错配修复基因hMSH2、hMLH1、

转化生长因子 $\beta$  II型受体(T $\beta$ R II)、基质金属蛋白酶-7(MMP-7)、组织抑制因子-2(TIMP-2)表达的相互关系及其与HNPCC特殊生物学行为的关系。

**方法:** 应用免疫组织化学染色法检测HNPCC和散发性大肠癌(SCRC)肿瘤组织石蜡标本各30例、正常大肠黏膜石蜡标本8例。观察其hMSH2, hMLH1, T $\beta$ R II, MMP-7, TIMP-2的表达, 并结合临床病理资料综合分析。

**结果:** 在HNPCC和SCRC中, hMSH2, hMLH1, T $\beta$ R II, MMP-7, TIMP-2均与患者的性别、肿瘤大小和部位无关; 而与肿瘤的侵犯深度和是否转移密切相关, 阳性表达率差异显著( $P < 0.05$ , HNPCC vs sporadic CRC)。在HNPCC中, hMSH2和hMLH1 ( $r = 0.835$ ,  $P = 0.000$ ), T $\beta$ R II与hMSH2 ( $r = 0.592$ ,  $P = 0.001$ ), hMLH1 ( $r = 0.472$ ,  $P = 0.009$ )和MMP-7 ( $r = 0.735$ ,  $P = 0.000$ )表达均呈明显正相关; 而TIMP-2与T $\beta$ R II ( $r = -0.582$ ,  $P = 0.001$ ), MMP-7 ( $r = -0.421$ ,  $P = 0.008$ )表达呈明显负相关。

**结论:** 由于hMSH2, hMLH1突变引起T $\beta$ R II的失活而诱导的MMP表达减弱和TIMP的下调可能是HNPCC特殊生物学行为的一个原因。

**关键词:** 遗传性非息肉病性大肠癌; 散发性大肠癌; 错配修复基因; 转化生长因子 $\beta$  II型受体; 基质金属蛋白酶-7; 基质金属蛋白酶组织抑制因子-2; 免疫组织化学

顾国利, 魏学明, 王石林, 任力, 胡益云, 李德昌. 遗传性非息肉病性大肠癌中hMSH2, hMLH1, T $\beta$ R II, MMP-7及TIMP-2的表达和其特殊生物学行为间的关系. 世界华人消化杂志 2007;15(15):1738-1744

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/1738.asp>

## 0 引言

遗传性非息肉病性大肠癌(HNPCC)是一种显性遗传性综合征<sup>[1]</sup>。因其遗传病因特殊、临床病理特点突出<sup>[2-4]</sup>, HNPCC是目前大肠癌研究的热点。虽然HNPCC的发病年龄早、病理分化差、多原发癌多见, 但其预后却明显好于散发性大肠癌<sup>[2-6]</sup>。原因: 在获得诊断时HNPCC比散发性大肠癌(sporadic CRC)的侵袭更弱、转移更少。诸多因素参与大肠癌的侵袭、转移; 肿瘤旁分泌和/或自分泌的转化生长因子 $\beta$ 1(TGF $\beta$ 1)、基质金属蛋白酶(MMP)和组织抑制因子(TIMP)是其中的重要因素之一<sup>[6-7]</sup>。TGF $\beta$ 1借助肿瘤细胞膜上

的II型受体(T $\beta$ R II)的介导参与诱导肿瘤的生长分化, 继而影响侵袭转移。MMP直接分解基底膜和细胞外基质从而造成肿瘤的侵袭和转移, 而TIMP则是其特异性抑制物。肿瘤组织中T $\beta$ R II的活性以及MMP/TIMP间的平衡关系分别决定着TGF $\beta$ 1和MMP的活性。研究发现, T $\beta$ R II、MMP-7和TIMP-2的活性与大肠癌的侵袭、转移密切相关<sup>[6-10]</sup>。我们采用免疫组织化学SP染色法检测hMSH2, hMLH1, T $\beta$ R II, MMP-7, TIMP-2在HNPCC, sporadic CRC和正常大肠黏膜中的表达, 探讨其与HNPCC特殊生物学行为之间的关系。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取1980-05/2005-06北京空军总医院普通外科收治的HNPCC病例30例组成试验组, 全部病例均符合Amsterdam II标准<sup>[11]</sup>。随机选取同期收治的年龄 $\geq 60$ 岁的、没有家族遗传倾向和多原发癌的sporadic CRC病例30例组成阳性对照组, 选取正常大肠黏膜组织8例组成阴性对照组。具体临床资料(表1), 3组的年龄差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

**1.2 方法** 选取HNPCC, sporadic CRC病例的大肠癌组织石蜡块和正常大肠黏膜组织石蜡块切片染色。上述标本均经HE染色确诊。T $\beta$ R II兔抗人多克隆抗体(sc-400)购自Santa Cruz Biotechnology公司; hMLH1鼠抗人mAb(ZM-0154)、hMSH2鼠抗人mAb(ZM-0156)、MMP-7鼠抗人mAb(ZM-0334)、TIMP-2鼠抗人mAb(ZM-0431)工作液、SP试剂盒、DAB显色试剂盒均购自北京中杉金桥生物公司。试验由LAB vision Autostainer360自动染色仪系统(福建迈新公司)程控完成、镜下图像以Olympus Dp70图像采集分析仪采集。采用免疫组织化学SP染色法<sup>[6]</sup>, hMSH2, hMLH1, T $\beta$ R II组以pH8.0的1 mmol/L的EDTA缓冲液微波修复5 min, TIMP-2以pH9.0的1 mmol/L的EDTA缓冲液微波修复5 min, MMP-7组不需修复。磷酸盐缓冲液(PBS)代替一抗作阴性对照, 已知阳性切片作阳性对照。

hMLH1, T $\beta$ R II, MMP-7, TIMP-2均定位于细胞质, hMSH2定位于细胞核。依据染色强度和阳性细胞率来计算评分。染色强度: 0为无染色; 1为染色弱; 2为中等染色强度; 3为染色强。阳性细胞率: 0为 $< 1\%$ , 1为 $< 10\%$ , 2为 $< 50\%$ , 3为 $< 80\%$ , 4为 $\geq 80\%$ 。以染色强度与阳性细胞率之和计算评分, 0-2分为阴性(-), 3-5分为阳性(+), 6-7分为

## ■创新盘点

大肠癌可分为5个临床亚型(散发性大肠癌、家族性大肠癌、FAP恶变、HNPCC、大肠IBD恶变), 目前虽有TGF $\beta$ /Smad信息通路, MMP, TIMP在大肠癌中作用的研究报道, 但多是各亚型混在一起处理, 而大肠癌不同临床亚型之间生物学行为可以截然不同, 其中可能存在着TGF $\beta$ /Smad信息通路蛋白、MMP, TIMP表达的差异。目前HNPCC的研究集中在基因和临床两端, 研究蛋白水平这个中间环节的报道很少, 本文应用免疫组化方法对T $\beta$ R II, MMP-7, TIMP-2在HNPCC和散发性大肠癌组织的表达进行了研究, 分析其表达与临床病理的关系及其表达的相关性和意义, 初步探讨TGF $\beta$ /Smad信息通路、MMP-7/TIMP-2在HNPCC侵袭转移中可能的作用机制, 希望为以后深入研究打下基础。

### ■应用要点

本研究的结果显示T $\beta$ R II, MMP-7/TIMP-2与肿瘤的侵袭转移密切相关,因此, T $\beta$ R II, MMP-7/TIMP-2的检测有可能成为判断肿瘤侵袭能力及预后的一个指标。目前MMP的化学合成的抑制剂已开始用于肿瘤的治疗,本研究为新药物的应用提供了一些理论借鉴依据。

表 1 三组病例的相关临床资料

分组	n	男	女	年龄(mean $\pm$ SD, 岁)	病变部位		Dukes分期			
					结肠	直肠	A	B	C	D
HNPCC组	30	23	7	18-68(46.0 $\pm$ 10.6)	21	9	2	19	7	2
sporadic CRC组	30	20	10	60-89(70.3 $\pm$ 7.2)	19	11	1	11	15	3
正常黏膜组	8	6	2	45-70(57.8 $\pm$ 8.1)	6	2				

表 2 hMSH2, hMLH1, T $\beta$ R II, MMP-7, TIMP-2在三组中的阳性表达评分(n, mean  $\pm$  SD)

分组	n	hMSH2	hMLH1	T $\beta$ R II	MMP-7	TIMP-2
HNPCC组	30	7 (1.33 $\pm$ 0.99)	16 (2.70 $\pm$ 1.18)	12 (4.02 $\pm$ 1.32)	14 (3.20 $\pm$ 1.49)	19 (3.73 $\pm$ 1.64)
sporadic CRC组	30	19 (2.27 $\pm$ 0.98)	25 (3.90 $\pm$ 1.09)	22 (5.21 $\pm$ 1.61)	26 (4.60 $\pm$ 1.65)	6 (2.33 $\pm$ 0.71)
正常黏膜组	8	8 (5.75 $\pm$ 1.17)	8 (6.13 $\pm$ 0.35)	8 (5.75 $\pm$ 1.17)	0 (0.88 $\pm$ 0.83)	0 (0.75 $\pm$ 0.89)

强阳性(++). 评分过程由两名高年资病理科医生双盲法独立完成。

**统计学处理** 应用SPSS13.0统计软件包进行统计分析。计数资料采用两个(或多个)样本率比较的 $\chi^2$ 检验, 正态分布的计量资料采用随机设计的两总体均数的 $t$ 检验, 偏态分布的计量资料采用两组完全随机设计的Mann-Whitney秩和检验。积分相关性采用Spearman等级相关分析,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 hMSH2, hMLH1, T $\beta$ R II, MMP-7, TIMP-2蛋白在三组中的表达特征** hMLH1, T $\beta$ R II, MMP-7, TIMP-2均主要定位于细胞质, 镜下可见胞质内出现棕黄色颗粒, 呈弥漫性分布, 部分胞膜染色, 肿瘤间质不染色或浅染。hMSH2主要定位于细胞核, 部分胞质轻染, 镜下可见胞核呈棕褐色, 呈局灶性分布。hMLH1, T $\beta$ R II, MMP-7的染色强度高于hMSH2和TIMP-2的表达。除sporadic CRC和正常黏膜两组中TIMP-2表达的 $\chi^2$ 检验无显著性差异外(该项评分的 $t$ 检验有统计学意义), 其余各组相关项目间比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )(表2)。

**2.2 hMSH2, hMLH1, T $\beta$ R II, MMP-7, TIMP-2表达水平与HNPCC和sporadic CRC临床病理参数之间的关系** 两组内hMSH2, hMLH1与患者的性别及肿瘤的大小、部位、侵犯深度和是否转移均无明显关系( $P > 0.05$ ), 两组间比较在年龄、性别、肿瘤大小和部位及侵袭深度及转移与否等方面差异显著( $P < 0.05$ )。HNPCC和sporadic CRC两组内和两组间的T $\beta$ R II, MMP-7, TIMP-2

阳性表达率均与患者性别及肿瘤的大小、部位无明显关系( $P > 0.05$ ), 而与肿瘤的侵犯深度和是否转移密切相关。即: T $\beta$ R II, MMP-7, TIMP-2的表达与HNPCC和sporadic CRC的Dukes分期密切相关。MMP-7在侵犯浆膜外组织和有转移者的阳性表达率明显高于侵犯限于浆膜和无转移者( $P < 0.05$ )。而T $\beta$ R II, TIMP-2在侵犯限于浆膜和无转移者中的阳性率明显高于侵犯浆膜外组织和有转移者( $P < 0.05$ )(表3)。

**2.3 HNPCC和sporadic CRC中hMSH2, hMLH1, T $\beta$ R II, MMP-7, TIMP-2表达的相关性** 将结果(表4)进行Spearman等级相关分析显示, HNPCC组中hMSH2和hMLH1的表达呈明显正相关( $r = 0.835$ ,  $P = 0.000$ )。T $\beta$ R II与hMSH2( $r = 0.592$ ,  $P = 0.001$ )、hMLH1( $r = 0.472$ ,  $P = 0.009$ )和MMP-7( $r = 0.735$ ,  $P = 0.000$ )表达均呈明显正相关; 而与TIMP-2表达呈明显负相关( $r = -0.582$ ,  $P = 0.001$ )。MMP-7和TIMP-2表达之间呈明显负相关( $r = -0.421$ ,  $P = 0.008$ )。sporadic CRC组中hMSH2和hMLH1的表达也呈明显正相关( $r = 0.549$ ,  $P = 0.002$ )。T $\beta$ R II也与hMSH2( $r = 0.444$ ,  $P = 0.014$ )、hMLH1( $r = 0.682$ ,  $P = 0.000$ )和MMP-7( $r = 0.792$ ,  $P = 0.000$ )表达呈明显正相关, 与TIMP-2表达呈明显负相关( $r = -0.394$ ,  $P = 0.031$ )。MMP-7和TIMP-2表达之间呈明显负相关( $r = -0.545$ ,  $P = 0.034$ )。HNPCC组中MMP-7(+++)/TIMP-2(-)者有5例(17%), MMP-7(-)/TIMP-2(+++)者有10例(33%)。而sporadic CRC组中MMP-7(+++)/TIMP-2(-)者有20例(67%); 没有MMP-7(-)/TIMP-2(+++)病例。两组中MMP-7(+++)/TIMP-2(-)、MMP-7(-)/

表 3 大肠癌hMSH2, hMLH1, TβR II, MMP-7, TIMP-2阳性表达与临床病理的关系n(%)

分组	n	hMSH2	hMLH1	TβR II	MMP-7	TIMP-2
HNPCC组	30	7 (23)	16 (53)	12 (40)	14 (47)	19 (63)
男性	23	4 (17)	10 (43)	10 (43)	12 (52)	14 (61)
女性	7	3 (43)	6 (86)	2 (29)	2 (29)	5 (71)
肿瘤<4 cm	16	4 (25)	8 (50)	7 (44)	8 (50)	10 (63)
肿瘤≥4 cm	14	3 (21)	8 (57)	5 (36)	6 (43)	9 (64)
右半结肠部位	18	4 (22)	9 (50)	7 (39)	10 (56)	11 (61)
左半结肠部位	3	1 (33)	2 (67)	1 (33)	1 (33)	2 (67)
直肠部位	9	1 (11)	5 (56)	4 (44)	3 (33)	6 (67)
侵犯浆膜及以内	21	5 (24)	10 (48)	11 (52)	7 (33)	17 (81)
侵犯浆膜外组织	9	2 (22)	6 (67)	1 (11)	7 (78)	2 (22)
无淋巴结或远处转移	21	4 (19)	11 (52)	11 (52)	6 (29)	18 (86)
有淋巴结或远处转移	9	3 (33)	5 (56)	1 (11)	8 (89)	1 (11)
sporadic CRC组	30	19 (63)	25 (86)	22 (73)	26 (87)	6 (20)
男性	20	12 (60)	17 (85)	14 (70)	18 (90)	4 (20)
女性	10	7 (70)	8 (80)	8 (80)	8 (80)	2 (20)
肿瘤<4 cm	13	9 (69)	11 (85)	9 (69)	10 (77)	4 (31)
肿瘤≥4 cm	17	10 (59)	14 (82)	13 (76)	16 (94)	2 (12)
右半结肠部位	14	8 (57)	11 (79)	12 (86)	13 (93)	3 (21)
左半结肠部位	5	4 (80)	4 (80)	3 (60)	4 (80)	1 (20)
直肠部位	11	7 (64)	10 (91)	7 (64)	9 (82)	2 (18)
侵犯浆膜及以内	14	7 (50)	11 (79)	13 (93)	10 (71)	5 (36)
侵犯浆膜外组织	16	12 (75)	14 (88)	9 (56)	16 (100)	1 (6)
无淋巴结或远处转移	12	7 (58)	10 (83)	12 (100)	8 (67)	5 (42)
有淋巴结或远处转移	18	12 (67)	15 (83)	10 (56)	18 (100)	1 (6)

TIMP-2(+/-)病例差异显著( $P<0.01$ ).

### 3 讨论

HNPCC又称Lynch综合征, 是一种由MMR突变引起的常染色体显性遗传病<sup>[1-3]</sup>. HNPCC中MMR的种系突变中以hMSH2、hMLH1突变为主<sup>[1-3]</sup>, 约占71%-90%<sup>[1]</sup>. 其余的hPMS2、hMSH6和hPMS1突变很少且是在hMSH2、hMLH1突变的基础上发生<sup>[12-14]</sup>. 本研究结果显示, HNPCC中hMSH2的正常表达率仅为23.3%, 而hMLH1的表达率为53.3%, 均明显低于在sporadic CRC中的表达, 这与文献[3,12-14]报道一致, 同时也说明以Amsterdam II标准诊断的HNPCC与MMR的突变情况有良好的符合率. 因此, 以Amsterdam II标准作为HNPCC的临床诊断标准是适合的. 在目前尚无法广泛开展MMR基因检测的情况下, 以hMSH2、hMLH1免疫组织化学染色对大肠肿瘤的检测可能是筛选HNPCC的一种简便易行方法.

肿瘤的发生、发展过程存在着多种基因结构或功能改变, 先发生改变的上游基因可能

是其下游基因改变的原因. 因此, 上游基因在肿瘤的发生、发展中可能起着更关键的作用. 研究发现, TβR II是hMSH2、hMLH1的下游基因<sup>[9]</sup>. 本研究发现, 在HNPCC和sporadic CRC中TβR II均与hMSH2、hMLH1呈明显的正相关; 且在HNPCC中, 随着hMSH2、hMLH1表达的减少, TβR II的表达也明显降低. 这与上述理论一致. 因此, hMSH2、hMLH1的突变失活在引起HNPCC发病的同时, 也将导致其下游基因TβR II的突变失活. 而TGFβ与TβR II的结合是TGFβ-Smad信息通路的启动环节. TGFβ-Smad信息通路在肿瘤的发生、发展、侵袭、转移中起着非常重要的作用. 研究发现, TGFβ在上述复杂过程中扮演着双重角色, 即: 在肿瘤的发生阶段扮演者肿瘤抑制者的角色; 但在肿瘤进展期却起着促进肿瘤浸润转移的作用<sup>[15-16]</sup>. TGFβ/Smad信息通路的上述生物学作用必须借助肿瘤细胞膜上TβR II的介导才能启动完成. 目前认为TβR II是1个抑癌基因<sup>[17-20]</sup>, 其突变失活将使早期肿瘤逃逸TGFβ的抑制作用, 从而促进肿瘤的发展. 研究发现: 持续激活的TGFβ信号传导

表 4 hMSH2, hMLH1, T $\beta$ R II, MMP-7, TIMP-2在HNPCC和sporadic CRC中表达的关系

		hMSH2			hMLH1			T $\beta$ R II			MMP-7		
		(++)	(+)	(-)	(++)	(+)	(-)	(++)	(+)	(-)	(++)	(+)	(-)
HNPCC组													
hMLH1	(++)	0	7	0									
	(+)	0	0	9									
	(-)	0	0	14									
T $\beta$ R II	(++)	0	2	2	0	0	4						
	(+)	0	4	4	0	0	8						
	(-)	0	1	17	7	9	2						
MMP-7	(++)	0	2	1	2	0	1	1	2	0			
	(+)	0	4	7	4	1	6	3	2	6			
	(-)	0	1	15	1	8	7	0	4	12			
TIMP-2	(++)	0	2	2	2	1	1	0	0	4	1	1	2
	(+)	0	2	13	2	8	5	0	4	11	1	6	8
	(-)	0	3	8	3	0	8	4	4	3	1	4	6
sporadic CRC组													
hMLH1	(++)	0	14	0									
	(+)	0	5	6									
	(-)	0	0	5									
T $\beta$ R II	(++)	0	4	4	7	0	1						
	(+)	0	10	4	7	5	2						
	(-)	0	5	3	0	6	2						
MMP-7	(++)	0	6	4	6	2	2	7	3	0			
	(+)	0	12	4	6	9	1	1	11	4			
	(-)	0	1	3	2	0	2	0	0	4			
TIMP-2	(++)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	(+)	0	4	2	4	0	2	2	2	2	4	2	0
	(-)	0	15	9	10	11	3	6	12	6	6	14	4

延长了乳腺肿瘤形成的潜伏期,但同时增加了血管外的肺转移;相反, T $\beta$ R II的突变失活将减少肿瘤形成的潜伏期,但会显著抑制肿瘤的肺转移<sup>[21]</sup>. 本研究证实, T $\beta$ R II在HNPCC中的表达较sporadic CRC明显减少;因此,依照上述理论, HNPCC肿瘤形成的潜伏期将较sporadic CRC的潜伏期明显缩短,但转移将较sporadic CRC显著较少. 这可能就是HNPCC的发病年龄较sporadic CRC明显提前,但转移明显减少的原因. 同时由于HNPCC失去了TGF $\beta$ 对其早期肿瘤的抑制作用,因此, HNPCC的肿瘤发展将较sporadic CRC快,且可能多处发生;这可能是HNPCC在获得诊断时病理分化类型差、多原发癌多见的原因. 本研究还发现, T $\beta$ R II在HNPCC和sporadic CRC两组中均随肿瘤侵袭深度加深、出现淋巴结转移而表达明显降低. 这说明T $\beta$ R II的突变失活不但参与了CRC的早期发生,而且还影响到CRC的侵袭、转移. 目前认为肿瘤的发生、发展、

侵袭、转移属于肿瘤整个生物学进程的不同阶段,从基因突变意义上可以认为在肿瘤的起源阶段已决定了肿瘤的转移性状<sup>[15]</sup>. 本研究结果显示, T $\beta$ R II表达异常贯穿了CRC从早期发生直至晚期转移的全过程,与这一理论相吻合.

MMP家族中的MMP-7分子量最小,而且是唯一在肿瘤细胞表达、不在肿瘤间质表达的MMP. 因其缺乏与TIMP相互作用的C末端区域,因此, MMP-7的基质降解功能强大、底物特异性广泛,同时受TIMP的负调节作用较小<sup>[22-26]</sup>. 因此,在CRC的侵袭转移过程中MMP-7的作用比其他MMP成员更重要<sup>[27-29]</sup>. TIMP-2作为MMP的特异性抑制剂,可抑制血管内皮细胞迁移、肿瘤生长和血管生成,并可造成肿瘤现有血管的坏死<sup>[29]</sup>. 因此, MMP-7、TIMP-2是影响CRC侵袭、转移的关键因素之一. 其比例的失衡较单纯表达水平的变化意义更大<sup>[27-29]</sup>. 本研究发现, MMP-7和TIMP-2在肿瘤组织中的表达明



显高于正常大肠黏膜组织; 并且随着肿瘤侵袭转移MMP-7表达明显增高, TIMP-2表达逐渐减弱. 因此, MMP-7(+/-)/TIMP-2(-)比例失衡随着肿瘤的侵袭转移将明显升高. 这说明在CRC侵袭、转移过程中MMP-7起促进作用, 而TIMP-2则起抑制作用. 本研究发现, MMP-7和TIMP-2在HNPCC和sporadic CRC两组中的表达差异显著. sporadic CRC组中MMP-7(+/-)/TIMP-2(-)的比例失衡明显高于HNPCC组. 由于MMP-7和TIMP-2与肿瘤的侵袭转移直接相关. 因此, 这可能是造成HNPCC在获得诊断时侵袭弱、转移少并最终导致其预后好的原因之一. 我们认为产生上述结果的原因可能与HNPCC中TGF $\beta$ /Smad信息通路的作用减弱有关. Akhurst *et al*<sup>[15]</sup>研究发现, 借助T $\beta$ R II的介导, TGF $\beta$ 可诱导肿瘤细胞中MMP的表达, 并抑制TIMP的产生. 本研究发现, HNPCC和sporadic CRC两组中T $\beta$ R II均与MMP-7表达呈明显正相关, 与TIMP-2表达呈明显负相关. 而HNPCC中的T $\beta$ R II的表达较sporadic CRC明显减少. 因此, 这将是导致HNPCC中MMP-7表达减弱、TIMP-2表达增强的原因之一. 其中的具体细节有待我们进一步研究.

化学合成的MMP抑制剂药物已开始进入临床并成为抑制肿瘤转移治疗的热点<sup>[30]</sup>. 但目前该类药物价格较昂贵. 本研究结果显示并非所有的CRC肿瘤均表现出MMP(HNPCC的MMP-7表达明显低于sporadic CRC); 或MMP在不同阶段的肿瘤中表达也不尽相同. 因此, 是否对所有CRC患者均应给予MMP抑制剂药物以及何时给予为最佳的治疗时机都值得商榷. 我们认为像乳腺癌内分泌治疗和分子靶向治疗前需进行雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR)和人类表皮生长因子2(c-erbB-2)等的检测一样, 在应用MMP抑制剂药物治疗前可能对患者肿瘤组织和/或血清样本进行相应的MMP检测是适宜的. 以免造成药物的浪费和增加患者的经济负担. 因此, 本研究结果为临床应用MMP抑制剂选择性治疗CRC的侵袭转移提供了一个有益的参考.

#### 4 参考文献

- 1 Jass JR. Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer: the rise and fall of a confusing term. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 4943-4950
- 2 顾国利, 王石林, 魏学明, 周晓武, 黄蓉蓉. 大肠多原发癌临床分析42例. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 1933-1936
- 3 王达, 薛英威, 周宪军, 乔凤, 张妍, 李辉, 赵亚双. 遗传

- 性非息肉病性大肠癌13家系分析. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 180-183
- 4 Colombino M, Cossu A, Manca A, Dedola MF, Giordano M, Scintu F, Curci A, Avallone A, Comella G, Amoroso M, Margari A, Bonomo GM, Castriota M, Tanda F, Palmieri G. Prevalence and prognostic role of microsatellite instability in patients with rectal carcinoma. *Ann Oncol* 2002; 13: 1447-1453
- 5 盛剑秋, 李世荣, 杨欣艳, 张英辉, 苏惠, 余东亮, 闫伟, 耿洪刚. 遗传性非息肉病性大肠癌和家族性腺瘤性息肉病肿瘤的预防性干预治疗. *中华医学杂志* 2006; 86: 526-529
- 6 Behrens P, Mathiak M, Mangold E, Kirdorf S, Wellmann A, Fogt F, Rothe M, Florin A, Wernert N. Stromal expression of invasion-promoting, matrix-degrading proteases MMP-1 and -9 and the Ets 1 transcription factor in HNPCC carcinomas and sporadic colorectal cancers. *Int J Cancer* 2003; 107: 183-188
- 7 Moran A, Iniesta P, Garcia-Aranda C, De Juan C, Diaz-Lopez A, Sanchez-Pernaute A, Torres AJ, Diaz-Rubio E, Balibrea JL, Benito M. Clinical relevance of MMP-9, MMP-2, TIMP-1 and TIMP-2 in colorectal cancer. *Oncol Rep* 2005; 13: 115-120
- 8 Ii M, Yamamoto H, Adachi Y, Maruyama Y, Shinomura Y. Role of matrix metalloproteinase-7 (matrilysin) in human cancer invasion, apoptosis, growth, and angiogenesis. *Exp Biol Med (Maywood)* 2006; 231: 20-27
- 9 程芳洲, 余细球. TGF- $\beta$ R II与错配修复基因hMSH<sub>2</sub>在大肠癌组织中的表达及临床意义. *江苏医药* 2005; 31: 546
- 10 Bian Y, Caldes T, Wijnen J, Franken P, Vasen H, Kaklamani V, Nafa K, Peterlongo P, Ellis N, Baron JA, Burn J, Moeslein G, Morrison PJ, Chen Y, Ahsan H, Watson P, Lynch HT, de la Chapelle A, Fodde R, Pasche B. TGFBR1\*6A may contribute to hereditary colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2005; 23: 3074-3078
- 11 Lenz HJ. First Amsterdam, then Bethesda, now Melbourne? *J Clin Oncol* 2005; 23: 6445-6449
- 12 Liu WZ, Jin F, Zhang ZH, Wang SB. Role of detection of microsatellite instability in Chinese with hereditary nonpolyposis colorectal cancer or ordinary hereditary colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 4745-4749
- 13 刘善润, 王振军, 赵博, 万远廉, 黄庭庭. 遗传性非息肉病性结直肠癌患者的临床特点及hMSH2与hMLH1种系突变的筛查. *中华医学杂志* 2004; 84: 714-717
- 14 Chialina SG, Fornes C, Landi C, de la Vega Elena CD, Nicolovich MV, Dourisboure RJ, Solano A, Solis EA. Microsatellite instability analysis in hereditary non-polyposis colon cancer using the Bethesda consensus panel of microsatellite markers in the absence of proband normal tissue. *BMC Med Genet* 2006; 7: 5
- 15 Akhurst RJ, Derynck R. TGF-beta signaling in cancer-a double-edged sword. *Trends Cell Biol* 2001; 11: S44-51
- 16 Xiong B, Gong LL, Zhang F, Hu MB, Yuan HY. TGF beta1 expression and angiogenesis in colorectal cancer tissue. *World J Gastroenterol* 2002; 8: 496-498
- 17 Shin KH, Park YJ, Park JG. Mutational analysis of the transforming growth factor beta receptor type II gene in hereditary nonpolyposis colorectal cancer and early-onset colorectal cancer patients. *Clin*

- Cancer Res* 2000; 6: 536-540
- 18 Tian YC, Phillips AO. Interaction between the transforming growth factor-beta type II receptor/Smad pathway and beta-catenin during transforming growth factor-beta1-mediated adherens junction disassembly. *Am J Pathol* 2002; 160: 1619-1628
- 19 Labbe E, Letamendia A, Attisano L. Association of Smads with lymphoid enhancer binding factor 1/T cell-specific factor mediates cooperative signal-ing by the transforming growth factor-beta and wnt pathways. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 8358-8363
- 20 Peinado H, Quintanilla M, Cano A. Transforming growth factor beta-1 induces snail transcription factor in epithelial cell lines: mechanisms for epithelial mesenchymal transitions. *J Biol Chem* 2003; 278: 21113-21123
- 21 Siegel PM, Shu W, Cardiff RD, Muller WJ, Massague J. Transforming growth factor beta signaling impairs Neu-induced mammary tumorigenesis while promoting pulmonary metastasis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 8430-8435
- 22 Brabletz T, Jung A, Dag S, Hlubek F, Kirchner T. beta-catenin regulates the expression of the matrix metalloproteinase-7 in human colorectal cancer. *Am J Pathol* 1999; 155: 1033-1038
- 23 Behrens J, Lustig B. The Wnt connection to tumorigenesis. *Int J Dev Biol* 2004; 48: 477-487
- 24 Wong NA, Pignatelli M. Beta-catenin-a linchpin in colorectal carcinogenesis? *Am J Pathol* 2002; 160: 389-401
- 25 Johnson V, Volikos E, Halford SE, Eftekhari Sadat ET, Popat S, Talbot I, Truninger K, Martin J, Jass J, Houlston R, Atkin W, Tomlinson IP, Silver AR. Exon 3 beta-catenin mutations are specifically associated with colorectal carcinomas in hereditary non-polyposis colorectal cancer syndrome. *Gut* 2005; 54: 264-267
- 26 Li YJ, Wei ZM, Meng YX, Ji XR. Beta-catenin up-regulates the expression of cyclinD1, c-myc and MMP-7 in human pancreatic cancer: relationships with carcinogenesis and metastasis. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 2117-2123
- 27 Heslin MJ, Yan J, Johnson MR, Weiss H, Diasio RB, Urist MM. Role of matrix metalloproteinases in colorectal carcinogenesis. *Ann Surg* 2001; 233: 786-792
- 28 Rundhaug JE. Matrix metalloproteinases and angiogenesis. *J Cell Mol Med* 2005; 9: 267-285
- 29 Li BH, Zhao P, Liu SZ, Yu YM, Han M, Wen JK. Matrix metalloproteinase-2 and tissue inhibitor of metallo-proteinase-2 in colorectal carcinoma invasion and metastasis. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 3046-3050
- 30 袁云霞, 徐文方, 刘健, 陈明慧, 孟红, 曲显俊. 基质金属蛋白酶抑制剂LY52对人卵巢上皮癌细胞SKOV3中MMP-2, MMP-9表达及其侵袭转移能力的抑制作用. *癌症* 2006; 25: 663-670

电编 张敏 编辑 张焕兰

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2007年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

## 世界华人消化杂志在线办公系统

本刊讯 自2005-12-15起, 世界华人消化杂志正式开通了在线办公系统(<http://www.wjgnet.com/wcjd/ch/index.aspx>), 所有办公流程一律可以在线进行, 包括投稿、审稿、编辑、审读, 以及作者、读者、编者之间的信息反馈交流. 凡在在线办公系统注册的用户, 将可获得世界华人消化杂志最新出版消息.