

# MMP-9、TIMP-1在胰腺癌组织中的表达及临床意义

滕晓丽, 马威, 杨家耀, 胡伟, 赵秋

滕晓丽, 杨家耀, 胡伟, 武汉市第一医院消化内科 湖北省武汉市 430022

马威, 武汉市第一医院中心实验室 湖北省武汉市 430022  
赵秋, 华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科 湖北省武汉市 430030

作者贡献分布: 此课题由滕晓丽, 马威, 杨家耀, 胡伟及赵秋设计; 研究过程由滕晓丽, 马威, 杨家耀, 胡伟及赵秋操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由马威提供; 数据分析由滕晓丽, 马威及杨家耀完成; 本论文写作由滕晓丽完成。

通讯作者: 赵秋, 430030, 湖北省武汉市, 华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科. dalianmao2121@hotmail.com  
电话: 027-85332666

收稿日期: 2008-05-12 修回日期: 2008-07-02

接受日期: 2008-07-07 在线出版日期: 2008-08-08

## Expression of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in pancreatic carcinoma and their clinical significances

Xiao-Li Teng, Wei Ma, Jia-Yao Yang, Wei Hu, Qiu Zhao

Xiao-Li Teng, Jia-Yao Yang, Wei Hu, Department of Digestive Diseases, the First Hospital of Wuhan City, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Wei Ma, Department of Central Laboratory, the First Hospital of Wuhan City, Wuhan 430022, Hubei Province, China  
Qiu Zhao, Department of Digestive, Tongji Hospital Affiliated to Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China  
Correspondence to: Qiu Zhao, Department of Digestive, Tongji Hospital Affiliated to Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China. dalianmao2121@hotmail.com

Received: 2008-05-12 Revised: 2008-07-02

Accepted: 2008-07-07 Published online: 2008-08-08

## Abstract

**AIM:** To investigate the expression of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1), and their correlations with the metastasis and prognosis of pancreatic carcinoma.

**METHODS:** Immunohistochemical staining (SP method) was used to measure MMP-9 and TIMP-1 expression in 63 cases of pancreatic carcinoma, 11 cases of chronic pancreatitis (CP) and 6 cases of normal pancreas.

**RESULTS:** The expression of MMP-9 in pan-

creatic carcinoma was significantly higher than that in chronic pancreatitis and normal pancreas (58.7% vs 18.1%, 0.0%; both  $P < 0.05$ ), while the expression of TIMP-1 pancreatic carcinoma was significantly lower than that in normal pancreas (46.0% vs 100.0%,  $P < 0.05$ ). MMP-9 and TIMP-1 expression in pancreatic carcinoma were correlated with lymph node involvements and distant metastases ( $P < 0.05$ ); however, they had no correlations with the sex, age of patients and histological staging.

**CONCLUSION:** MMP-9 and TIMP-1 may be associated with the metastasis of pancreatic carcinoma.

**Key Words:** Pancreatic carcinoma; Matrix metalloproteinase-9; Tissue inhibitor of metalloproteinase-1; Immunohistochemistry

Teng XL, Ma W, Yang JY, Hu W, Zhao Q. Expression of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in pancreatic carcinoma and their clinical significances. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(22): 2545-2548

## 摘要

**目的:** 探讨胰腺癌患者组织中MMP-9、TIMP-1的表达及其相互关系, 分析其与临床及转移预后的关系。

**方法:** 免疫组织化学SP法检测63例胰腺癌、11例慢性胰腺炎和6例正常胰腺组织中MMP-9、TIMP-1的表达。

**结果:** 胰腺癌组织中MMP-9表达明显高于慢性胰腺炎和正常胰腺组织(58.7% vs 18.1%, 0.0%; 均 $P < 0.05$ )。TIMP-1在胰腺癌的表达低于正常胰腺组织(46.0% vs 100.0%,  $P < 0.05$ )。MMP-9和TIMP-1在胰腺癌组织中的表达与性别、年龄、组织学分级无关, 而与患者的淋巴结转移、远处转移情况有关( $P < 0.05$ )。

**结论:** MMP-9、TIMP-1在胰腺癌组织中的表达变化可能与胰腺癌转移相关。

**关键词:** 胰腺癌; MMP-9; TIMP-1; 免疫组织化学

## ■背景资料

MMPs和TIMPs在降解ECM过程中起着重要作用, 是恶性肿瘤侵袭和转移潜能的主要调节蛋白, 本研究采用免疫组织化学方法检测胰腺癌组织中的MMP-9和TIMP-1的表达情况, 以探讨二者在胰腺癌中的表达变化特点、相互关系及其临床意义。

## ■同行评议者

刘海林, 主任医师, 上海交通大学医学院附属第九人民医院消化科

## ■相关报道

文献表明肿瘤侵袭转移的潜能与肿瘤细胞产生MMP-9的能力有着密切的正相关关系,他不仅参与ECM的降解,而且还对肿瘤细胞的黏附能力有影响。

滕晓丽, 马威, 杨家耀, 胡伟, 赵秋. MMP-9、TIMP-1在胰腺癌组织中的表达及临床意义. 世界华人消化杂志 2008; 16(22): 2545-2548

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/2545.asp>

## 0 引言

肿瘤的生长、侵袭和转移是一个复杂的多阶段过程<sup>[1]</sup>. 细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的降解及基底膜的破坏是肿瘤浸润和转移的先决条件之一<sup>[2]</sup>. ECM由多种胶原蛋白、层粘连蛋白、连接蛋白、弹性蛋白和蛋白多糖组成<sup>[3]</sup>, 他的降解过程依靠蛋白水解酶, 主要有丝氨酸蛋白酶类、半胱氨酸蛋白酶类和基质金属蛋白酶类(matrimetalloproteinase, MMPs). 在维持ECM的平衡及肿瘤侵袭转移过程中, MMPs及组织金属蛋白酶抑制剂(tissue inhibitor of metalloproteinases, TIMPs)发挥了重要作用<sup>[4]</sup>. 我们采用免疫组织化学方法检测胰腺癌组织中的MMP-9和TIMP-1的表达情况, 以探讨二者在胰腺癌中的表达变化特点、相互关系及其临床意义。

## 1 材料和方法

1.1 材料 收集2000-2007年华中科技大学同济医学院附属同济医院和武汉市第一医院胰腺癌手术标本63例, 其中男性42例, 女性21例; 年龄20-90(平均54.8)岁. 全部病例术前均未接受放疗或化疗, 均经组织病理学诊断为胰腺癌, 其中导管腺癌61例, 实性乳头状癌1例, 黏液腺癌1例. 组织学分级高中分化腺癌44例, 低分化腺癌17例; 63例临床和/或病检记录中, 胰腺外器官转移阳性者19例, 占30.1%, 淋巴结转移阳性者24, 占38.9%. 另取同期病理证实的11例慢性胰腺炎和6例正常胰腺组织作为对照. 兔抗人MMP-9多克隆抗体、兔抗人TIMP-1多克隆抗体购自武汉博士德生物工程有限公司; 兔抗SP试剂盒、DAB显色试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司.

1.2 方法 免疫组织化学染色按SP试剂盒说明书进行. 用已知的乳腺癌阳性片作为阳性对照, 以0.05 mol/L PBS液代替一抗作为阴性对照. MMP-9和TIMP-1均以细胞胞质中出现清晰棕黄色颗粒为阳性细胞, 切片中计数10个高倍视野阳性细胞百分率, 阳性细胞率 $\geq 30\%$ 为阳性病例,  $<30\%$ 为阴性病例<sup>[5]</sup>. 所有评判过程均由同一病理医师完成。

**统计学处理** 所有数据均用SPSS12.0统计软件包进行统计学分析, 统计方法采用 $\chi^2$ 检验和Fisher检验.  $P < 0.05$ 认为有统计学意义。

表 1 胰腺癌组织中MMP-9、TIMP-1的表达与临床病理特征的关系

	n	MMP-9		TIMP-1	
		阴性	阳性	阴性	阳性
性别					
男	42	18	24	22	20
女	21	8	13	12	9
年龄					
$\geq 60$	25	10	15	14	11
$< 60$	38	16	24	20	18
组织学分级					
高中分化	44	18	26	24	20
低分化	19	8	11	10	9
淋巴结转移					
有	24	2 <sup>a</sup>	22	16 <sup>a</sup>	8
无	39	24	15	13	26
远处转移					
有	19	0 <sup>a</sup>	19	16 <sup>a</sup>	3
无	44	39	5	18	26

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 同组.

## 2 结果

2.1 MMP-9、TIMP-1在胰腺癌组织中的表达 MMP-9在63例胰腺癌组织中有37例阳性表达, 阳性表达率为58.7%, 显著高于慢性胰腺炎组织(2例阳性表达, 阳性表达率为18.1%)和正常胰腺组织(0例阳性表达, 阳性表达率为0%)( $P < 0.05$ ). MMP-9阳性表达主要定位于肿瘤细胞的胞质, 间质细胞、血管内皮细胞也有阳性染色. TIMP-1在63例胰腺癌组织中有29例(46%)表达, 与慢性胰腺炎组织(9例表达, 81.8%)比较, 没有统计学意义; 与正常胰腺组织(6例表达, 100%)比较, 有统计学意义( $P < 0.05$ ). TIMP-1阳性表达主要定位于细胞胞质。

2.2 胰腺癌组织中MMP-9、TIMP-1的表达和临床病理指标的关系 MMP-9和TIMP-1在胰腺癌组织中的表达与性别、年龄、组织学分级无关, 而与患者的淋巴结转移、远处转移情况有关( $P < 0.05$ , 表1)。

2.3 MMP-9、TIMP-1的表达和淋巴结转移间的多因素分析 将63例胰腺癌组织按照MMP-9、TIMP-1的表达情况分为4组: MMP-9 (+)/TIMP-1(-)、MMP-9(-)/TIMP-1(+), MMP-9(+)/TIMP-1(+), MMP-9(-)/TIMP-1(-), 统计淋巴结转移情况, 结果显示: MMP-9(+)/TIMP-1(-)组有11例淋巴结转移, 无淋巴结转移为7例, MMP-9(-)/TIMP-1(+组有1例淋巴结转移, 无

表 2 胰腺癌组织中MMP-9、TIMP-1的表达与淋巴结转移的多因素分析

淋巴结转移	MMP-9(+) /TIMP-1(-)	MMP-9(-) /TIMP-1(+)	MMP-9(+) /TIMP-1(+)	MMP-9(-) /TIMP-1(-)
有	11 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	7	0
无	7	18	6	11

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 无淋巴结转移组.

淋巴结转移为18例, 两组比较有显著性差异( $P < 0.05$ , 表2).

### 3 讨论

MMPs和TIMPs在降解ECM过程中起着重要作用, 参与恶性肿瘤的侵袭和转移, 是恶性肿瘤侵袭和转移潜能的主要调节蛋白<sup>[5-6]</sup>. MMPs是高度保守的依赖于锌离子的内切蛋白水解酶家族, 可降解基底膜和ECM的大多数蛋白质, 目前已发现了至少26个成员<sup>[7]</sup>, 其中属于明胶酶的明胶酶B(即MMP-9)主要降解明胶和基底膜IV型胶原. 文献表明肿瘤侵袭转移的潜能与肿瘤细胞产生MMP-9的能力有着密切的正相关关系, 他不仅参与ECM的降解, 而且还对肿瘤细胞的黏附能力有影响<sup>[8-9]</sup>.

本研究显示MMP-9阳性表达主要定位于肿瘤细胞的胞质, 间质细胞、血管内皮细胞也有阳性染色. MMP-9在胰腺癌组织中的表达明显高于慢性胰腺炎组织和正常胰腺组织, 并且实验还显示MMP-9在胰腺癌组织中的表达与性别、年龄、组织学分级无关, 而与患者的淋巴结转移、远处转移情况有关. 这与国内外学者文献报道的基本一致<sup>[3,10]</sup>. 说明MMP-9在胰腺癌的发生发展过程中起重要作用. MMP-9阳性表达可否作为胰腺癌浸润转移的重要分子标志之一, 仍需进一步研究.

TIMPs是MMPs的天然抑制剂, 是一个多基因家族的编码蛋白, 通过非共价键与MMPs结合抑制MMPs活性. 目前已经发现的TIMPs至少有4种, 其中TIMP-1既能结合无活性MMP-9, 又能结合激活状态的MMP-9, 而且可以终止MMPs所有成员的水解活性<sup>[11]</sup>.

本研究结果显示TIMP-1在胰腺癌组织中的表达低于正常胰腺组织( $P < 0.05$ ), 但与在慢性胰腺炎组织中的表达相比较, 没有统计学意义; TIMP-1在胰腺癌组织中的表达与性别、年龄、组织学分级无关, 而与患者的淋巴结转移、远

处转移情况有关. TIMP-1能与MMP-9形成1:1复合物, 抑制其活性<sup>[10]</sup>, 在肿瘤的侵袭转移中起负性调节作用<sup>[12]</sup>, 甚至可终止肿瘤细胞的浸润. 作者认为TIMP-1阳性表达率低的胰腺癌患者更具有转移倾向<sup>[12]</sup>, 本实验研究的结果也支持这一观察. TIMP-1在抑制肿瘤浸润转移过程中所起的作用, 可以在一定程度上为肿瘤的生物治疗和基因治疗提供新的思路.

MMPs、TIMPs在体内建立起基质合成和降解的平衡, 恶性肿瘤中存在某种因素使MMPs过度表达和表达程度大于TIMPs时, 这种平衡就发生改变, 导致基质降解, 有利于肿瘤浸润转移; 相反, TIMPs的过度表达可防止基质降解, 抑制肿瘤浸润转移. 本研究亦显示在胰腺癌组织中MMP-9和TIMP-1的阳性表达存在负相关. 在有MMP-9阳性表达而TIMP-1阴性表达的11例胰腺癌病例中, 均表现有淋巴结转移; 而在有MMP-9阴性表达而TIMP-1阳性表达的病例中, 只1例有淋巴结转移; 20例无淋巴结转移. 两组比较有明显明显的统计学差异. 由此推测, MMP-9阳性表达而TIMP-1阴性表达的病例相较于MMP-9阴性表达而TIMP-1阳性表达的病例, 预后更差.

本研究提示MMP-9、TIMP-1在胰腺癌组织中的表达变化可能与胰腺癌转移相关, 但其能否可作为临床预后判断指标之一, 仍需进一步研究.

### 4 参考文献

- 1 Duffy MJ. The role of proteolytic enzymes in cancer invasion and metastasis. *Clin Exp Metastasis* 1992; 10: 145-155
- 2 Hirvonen R, Talvensaaari-Mattila A, Pääkkö P, Turpeenniemi-Hujanen T. Matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) in T(1-2)N0 breast carcinoma. *Breast Cancer Res Treat* 2003; 77: 85-91
- 3 Pryczynicz A, Guzińska-Ustymowicz K, Dymicka-Piekarska V, Czyżewska J, Kemona A. Expression of matrix metalloproteinase 9 in pancreatic ductal carcinoma is associated with tumor metastasis formation. *Folia Histochem Cytobiol* 2007; 45: 37-40
- 4 Stetler-Stevenson WG, Aznavoorian S, Liotta LA. Tumor cell interactions with the extracellular matrix

### ■应用要点

本文对胰腺癌组织中的MMP-9和TIMP-1的表达进行了回顾性的研究, 从一定层面上说明了二者在胰腺癌组织中的表达可能与转移相关, 对下一步研究提供了基础.

## ■同行评价

本文是一篇回顾性研究,具有一定的学术价值,如能加入患者存活或死亡方面的数据更好。

- during invasion and metastasis. *Annu Rev Cell Biol* 1993; 9: 541-573
- 5 Görögh T, Beier UH, Bäumken J, Meyer JE, Hoffmann M, Gottschlich S, Maune S. Metalloproteinases and their inhibitors: influence on tumor invasiveness and metastasis formation in head and neck squamous cell carcinomas. *Head Neck* 2006; 28: 31-39
- 6 Hara I, Miyake H, Hara S, Arakawa S, Kamidono S. Significance of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinase expression in the recurrence of superficial transitional cell carcinoma of the bladder. *J Urol* 2001; 165: 1769-1772
- 7 de Coignac AB, Elson G, Delneste Y, Magistrelli G, Jeannin P, Aubry JP, Berthier O, Schmitt D, Bonnefoy JY, Gauchat JF. Cloning of MMP-26. A novel matrilysin-like proteinase. *Eur J Biochem* 2000; 267: 3323-3329
- 8 Ogata Y, Miura K, Ohkita A, Nagase H, Shirouzu K. Imbalance between matrix metalloproteinase 9 and tissue inhibitor of metalloproteinases 1 expression by tumor cells implicated in liver metastasis from colorectal carcinoma. *Kurume Med J* 2001; 48: 211-218
- 9 Zhang S, Li L, Lin JY, Lin H. Imbalance between expression of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in invasiveness and metastasis of human gastric carcinoma. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 899-904
- 10 O'Grady A, Dunne C, O'Kelly P, Murphy GM, Leader M, Kay E. Differential expression of matrix metalloproteinase (MMP)-2, MMP-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP)-1 and TIMP-2 in non-melanoma skin cancer: implications for tumour progression. *Histopathology* 2007; 51: 793-804
- 11 Rhee JS, Diaz R, Korets L, Hodgson JG, Coussens LM. TIMP-1 alters susceptibility to carcinogenesis. *Cancer Res* 2004; 64: 952-961
- 12 Ramer R, Hinz B. Inhibition of cancer cell invasion by cannabinoids via increased expression of tissue inhibitor of matrix metalloproteinases-1. *J Natl Cancer Inst* 2008; 100: 59-69

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2008年版权归世界华人消化杂志

## • 消息 •

## 世界华人消化杂志名词术语标准

**本刊讯** 本刊名词术语一律标准化,前后统一,如原词过长且多次出现者,可于首次出现时写出全称加括号内注简称,以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准,药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准,国家食品药品监督管理局批准的新药,采用批准的药名;创新性新药,请参照我国药典委员会的“命名原则”,新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称),如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD<sub>50</sub>, HBsAg, HCV RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等。为减少排印错误,外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上。中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者,直接采用原有英语词,如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词,如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者,宜用汉语拼音,如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写,如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。(常务副总编辑:张海宁 2008-08-08)