doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.20.015

非小细胞肺癌组织 MMP-2、MMP-9 的表达与组织学类型及临床分期的关系 *

薛慧君 方 圆 杨娟利 鄯慧良 张 艳△

(空军军医大学西京医院呼吸与危重症医学科 陕西 西安 710032)

摘要 目的:探究非小细胞肺癌组织基质金属蛋白酶 -2(MMP-2)、基质金属蛋白酶 -9(MMP-9)的表达及其与患者组织学类型及其临床分期的关系。**方法**:选取 2014 年 1 月至 2017 年 1 月于我院进行就诊并确诊为非小细胞肺癌的 96 例患者为实验组,另选取 30 例肺良性病变患者为对照组,使用免疫组织化学的方法检测患者肺癌组织或肺良性病变组织中 MMP-2、MMP-9 的表达,并分析 MMP-2、MMP-9 的表达与患者组织学类型及临床分期之间的关系。**结果**:非小细胞肺癌组织 MMP-2 及 MMP-9 表达水平显著高于肺良性病变组织($P<0.05$)。非小细胞肺癌鳞癌组织 MMP-2、MMP-9 表达明显高于腺癌和腺鳞癌($P<0.05$),而鳞癌与腺鳞癌组织 MMP-2、MMP-9 表达相比差异无统计学意义($P>0.05$)。随着非小细胞肺癌临床分期的增加,癌组织 MMP-2 及 MMP-9 表达逐渐上升,各分期比较差异均具有统计学意义($P<0.05$)。**结论**:MMP-2、MMP-9 在非小细胞肺癌组织中的表达水平明显上调,以鳞癌最高,且与临床分期显著相关,提示其对组织学类型、临床分期、病情评估和预后判断均具有一定的参考意义。

关键词:非小细胞肺癌;基质金属蛋白酶 -2;基质金属蛋白酶 -9;组织学类型;临床分期

中图分类号:R734.2 **文献标识码**:A **文章编号**:1673-6273(2018)20-3870-04

Relationship between the Expression of MMP-2 and MMP-9 in Non-small Cell Lung Cancer and the Histological Type and Clinical Stage*

XUE Hui-jun, FANG Yuan, YANG Juan-li, SHAN Hui-liang, ZHANG Yan△

(Pneumology and Intensive Care Unit, Xijing Hospital of Air Force Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China)

ABSTRACT Objective: To explore the expression of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2), matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and their correlation with the histological type and clinical stage of non-small cell lung cancer. **Methods:** A total of 96 cases of patients with NSCLC diagnosed as non-small cell lung cancer admitted in our hospital from January 2014 to January 2017 were selected as the experimental group, 30 cases of patients with benign lung disease were selected as the control group. The expressions of MMP-2 and MMP-9 in lung cancer tissues were detected by immunohistochemical method. The relationship between MMP-2, MMP-9 expressions and histological type and clinical stage of non-small cell lung cancer patients were analyzed. **Results:** The expression of MMP-2 and MMP-9 in non-small cell lung cancer tissue were significantly higher than those in the lung benign lesion tissue($P<0.05$). The expression of MMP-2 and MMP-9 in non-small cell lung cancer squamous cell carcinoma was significantly higher than those in the adenocarcinoma and adenosquamous carcinoma ($P<0.05$), while there was no significant difference between squamous cell carcinoma and adenosquamous carcinoma ($P>0.05$). The expression of MMP-2 and MMP-9 in lung cancer tissue were significantly increased with the increase of non-small cell lung cancer stage ($P<0.05$). **Conclusions:** The expression of MMP-2 and MMP-9 in non-small cell lung cancer tissues was significantly up-regulated, which was the highest in squamous cell carcinoma, they may contribute to the prognostic prediction and evaluation of histological type and clinical stage.

Key words: Non-small cell lung cancer; Matrix metalloproteinase-2; Matrix metalloproteinase-9; Histological type; Clinical stage

Chinese Library Classification(CLC): R734.2 Document code: A

Article ID: 1673-6273(2018)20-3870-04

前言

随着近些年居民饮食结构和生活方式的改变,癌症的发病率呈现逐年递增趋势, 癌症是一类起源于上皮组织的恶性肿瘤,因其具有异常细胞分化和增殖性,且易发生转移和浸润,发展至后期会对人体正常组织产生严重破坏,进而导致患者死亡[1,2]。肺癌是呼吸系统中最常见的恶性肿瘤之一,其发病率具有恶性肿瘤首位,其中非小细胞癌为最为常见的病理类型。统计数据显示,2012 年全球癌症发病数为 1.41 亿例,而肺癌发病例数为 1600 万, 约占总数的 12.9%, 同年死于肺癌的人数高达 1600 万例[3-5]。

非小细胞型肺癌包括鳞状细胞癌(鳞癌)、腺癌、大细胞癌,

* 基金项目:国家自然科学基金青年基金项目(81601989)

作者简介:薛慧君(1970-),女,本科,副主任医师,研究方向:呼吸慢病,肺癌,E-mail: xuehuijun2018@163.com

△ 通讯作者:张艳(1979-),女,本科,主治医师,研究方向:肺癌,呼吸介入治疗,E-mail: zhangyan_1979@medhos2017.com

(收稿日期:2018-03-06 接受日期:2018-03-31)

与小细胞癌相比其癌细胞生长分裂较慢，扩散转移相对较晚，约占所有肺癌的 80 %[6,7]。虽然近些年对肺癌的治疗手段不断更新，但肺癌患者仍会或早或晚的死于肺癌的复发和转移，究其原因为肺癌具有较高的转移和侵袭性，大大增加了其治疗难度[8,9]。近年研究表明 MMP-2 及 MMP-9 与非小细胞肺癌的发展密切相关[10,11]。因此，本研究主要探讨了非小细胞肺癌组织 MMP-2、MMP-9 的表达及其与组织学类型及其临床分期的相关性，现详述如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2014 年 1 月至 2017 年 1 月于我院进行就诊并确诊为非小细胞肺癌的 96 例患者为实验组，包括男性 45 例，女性 51 例，年龄 35-64 岁，平均年龄(42.36± 10.15)岁，鳞癌 36 例，腺癌 35 例，腺鳞癌 25 例，I 期 26 例，II 期 30 例，III 期 27 例，IV 期 13 例。另选取 30 例肺良性病变患者为对照组，其中男性 15 例，女性 15 例，年龄 34-63 岁，平均年龄(41.96± 11.56)岁，支气管扩张 10 例，肺脓肿 12 例，肺结核瘤 7 例，炎性假瘤 1 例。两组患者一般资料如性别、年龄等比较差异均无统计学意义(*P*> *0.05*)，具有可比性。

病例纳入标准：① 实验组患者均经病理检查证实为非小细胞肺癌；② 病历资料齐全者；③ 意识清醒能够配合进行调研者；④ 患者及其家属对本次调研过程、方法、原理清楚明白并签署知情同意书。排除标准：① 合并精神疾患者；② 合并其他器质性疾病如冠心病、肾衰竭等；③ 前期已进行抗癌治疗者；④ 依从性差者；⑤ 干预过程中死亡病例；⑥ 患者或其家属主动要求退出调研者。

1.2 免疫组化检测

所有研究对象均进行肺部组织石蜡包埋，而后使用湖北康龙电子科技公司生产的生物组织切片机进行组织切片，切片厚度 4 μm，使用鼠抗人 MMP-2 单克隆抗体抗(1:400，上海研生生化试剂有限公司)及 MMP-9 单抗(1:100，上海扶生实业有限公司)对切片进行处理，操作步骤严格按照说明书进行，而后使用金拓丰仪器公司生产的 XDL-7000 型连续变倍体视显微镜在 400 倍镜下对切片进行观察，每个切片取 10 个视野，每个视野以 100 个细胞为基数，合计 1000 个细胞，对视野中被染色为黄色的细颗粒状细胞数进行统计，并计算出其表达水平。

1.3 观察指标及评测标准

观察两组患者阳性细胞数并进行统计，而后进行对比；对实验组患者不同组织学类型患者阳性细胞数进行统计而后进行组内对比；对不同临床分期非小细胞癌患者阳性细胞表达进行记录并进行组内对比。

1.4 统计学方法

使用 SPSS22.0 进行数据分析，计数资料以率(%)的形式表示，组间比较采用卡方检验，计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示，组间比较采用 t 检验，以 *P<0.05* 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 MMP-2、MMP-9 表达的比较

实验组肺癌组织 MMP-2 及 MMP-9 相对表达显著高于对照组良性病变肺组织，差异具有统计学意义(*P<0.05*)，见表 1。

表 1 两组 MMP-2、MMP-9 表达的对比($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Comparison of the expression of MMP-2, MMP-9 between two groups($\bar{x}\pm s$)

Groups	n	MMP-2(%)	MMP-9(%)
Study group	96	62.35± 11.06	66.87± 12.17
Control group	30	14.32± 2.68	17.63± 1.95
P	-	0.000	0.000

2.2 不同组织学类型肺癌组织 MMP-2、MMP-9 表达的比较

鳞癌组 MMP-2 及 MMP-9 表达水平最高，与腺癌和腺鳞癌患者对比差异具有统计学意义(*P<0.05*)，而鳞癌和腺鳞癌患者 MMP-2、MMP-9 表达水平对比差异不具有统计学意义 (*P> 0.05*)，见表 2。

表 2 不同组织学类型患者 MMP-2、MMP-9 表达比较($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Comparison of the expression of MMP-2, MMP-9 between lung cancer patients with different histological types($\bar{x}\pm s$)

Histological types	n	MMP-2(%)	MMP-9(%)
Squamous carcinoma	36	65.26± 13.28	66.15± 11.86
Adenocarcinoma	35	54.29± 10.38*	55.26± 11.26*
Adenocarcinoma carcinoma	25	53.27± 12.06*	52.98± 11.83*

Note: compared with squamous carcinoma, **P<0.05*.

2.3 不同临床分期肺癌组织 MMP-2、MMP-9 表达的比较

如表 3 所示，MMP-2 及 MMP-9 表达水平 I 期 <II 期 <III 期 <IV 期，且各组间对比差异具有统计学意义(*P<0.05*)，见表 3。

3 讨论

近些年我国工业化进程不断发展，环境污染问题逐渐凸显，加之居民生活方式和饮食结构的改变，各类呼吸系统疾病

表 3 不同临床分期患者 MMP-2、MMP-9 表达的比较($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Comparison of the expression of MMP-2, MMP-9 between patient with different clinical stages($\bar{x}\pm s$)

Different clinical stages	n	MMP-2(%)	MMP-9(%)
Stage I	26	22.32± 6.28	26.76± 5.25
Stage II	30	31.69± 5.82*	32.76± 4.96*
Stage III	27	43.98± 6.97*#	46.39± 5.62*#
Stage IV	13	59.68± 5.28*#^	61.82± 5.61*#^

Note: compared with Stage I, *$P<0.05$; compared with Stage II satage, #$P<0.05$; compared with Stage III, ^$P<0.05$.

的发病率不断上升[12,13]。肺癌一种较常见的癌症,其发病率和致死率一直位列肿瘤前茅,统计数据显示近些年我国肺癌的发病率和致死率呈现逐年递升趋势,已经成为威胁居民生命健康的重要因素[14,15]。有研究显示空气污染、吸烟等因素是诱发肺癌发生的重要原因,肺癌的发病率会随着年龄的增长而上升,提示未来肺癌会成为影响我国经济和社会发展的重要影响因素[16]。

非小细胞肺癌是肺癌中较为常见的病理类型，世界卫生组织(WHO)根据肺癌的组织学类型,将其区分为鳞癌、腺癌、小细胞癌和腺鳞癌等几类，非小细胞肺癌即指除去小细胞癌的组织学类型,该类型约占全部肺癌比例的 80%[17,18]。相比于小细胞癌,非小细胞癌肿瘤组织分裂速度慢,扩散较晚,但其临床症状不明显，故而约有 75%的患者在发现时已经为中晚期,故而其致死率较高[19,20]。早期对组织学类型定和临床分期的确定对于后期治疗的开展具有极为重要的意义,传统检查手段主要为病理活检,虽然准确率高,但由于其为有创操作,患者多难以忍受[21-23]。

MMP-2 及 MMP-9 属于基质金属蛋白酶(MMPs),其主要生理作用包括参与呼吸道粘膜修复、调节其他其他细胞因子活性、促进血管内皮生长因子(VEGF)释放等。近些年的研究表明[24,25]MMP-2、MMP-9 具有降解细胞基底膜和细胞外基质的作用,能够加快肿瘤细胞的浸润和转移过程,同时由于其具有促进 VEGF 分泌的作用，也能够促进肿瘤组织新生血管的形成,进一步加快肿瘤组织的转移[26,27]。有研究者[28]对 39 例肺癌组织及 8 例正常对照肺组织中 MMP-2 表达进行对比，发现非小细胞癌患者肺癌组织中的 MMP-2 表达水平显著高于对照组，N1-2 肺癌组织中的 MMP-2 表达显著高于 N0 组织肺癌患者，鳞癌患者 MMP-2 水平高于腺癌患者。该学者认为 MMP-2 属于基质金属蛋白酶中分布最广的蛋白酶,当细胞出现恶性病变时,MMP-2 会通过讲解细胞外基质中的胶原蛋白来促进肿瘤细胞的转移和浸润,故而该物质与非小细胞肺癌的临床分期及组织学类型具有一定关联[29]。有研究者[30]对 80 例非小细胞肺癌患者及 20 例良性肺病变患者的对比分析，发现 MMP-9 及 MMP-2 在鳞癌中表达水平最高。MMPs 具有较强的细胞基质溶解能力，同时能够通过刺激血管形成为肿瘤的转移提供条件,因而在预测肺癌预后及判断肺癌分期方面具有较为实际的意义。

本研究结果显示非小细胞肺癌组织 MMP-2、MMP-9 的表达远高于肺良性病变组织，提示 MMP-2、MMP-9 与肺癌的发生相关;同时,非小细胞肺癌鳞癌组织 MMP-2、MMP-9 的表达明显高于腺癌和腺鳞癌组织,且其随着患者临床分期的加重而逐渐升高，提示 MMP-2、MMP-9 与非小细胞肺癌患者的病情进展相关。

总之,MMP-2、MMP-9 在非小细胞肺癌组织中的表达水平明显上调,以鳞癌最高,且与临床分期显著相关,提示起对组织学类型、临床分期、病情评估和预后判断均具有一定的参考意义。

参 考 文 献(References)

[1] Hanna N, Shepherd F A, Fossella F V, et al. Randomized phase III trial of pemetrexed versus docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer previously treated with chemotherapy [J]. Journal of Clinical Oncology, 2015, 22(9): 1589-1597

[2] Garon E B, Rizvi N A, Hui R, et al. Pembrolizumab for the treatment of non-small-cell lung cancer [J]. New England Journal of Medicine, 2015, 372(21): 2018-2028

[3] Rizvi N A, Hellmann M D, Snyder A, et al. Cancer immunology. Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non-small cell lung cancer[J]. Science, 2015, 348(6230): 124-128

[4] Jänne P A, Yang J C, Kim D W, et al. AZD9291 in EGFR inhibitor-resistant non-small-cell lung cancer [J]. New England Journal of Medicine, 2015, 372(18): 1689-1699

[5] Herbst R S, Baas P, Kim D W, et al. Pembrolizumab versus docetaxel for previously treated, PD-L1-positive, advanced non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-010): a randomised controlled trial [J]. Lancet, 2016, 387(10027): 1540-1550

[6] Sequist L V, Soria J C, Goldman J W, et al. Rociletinib in EGFR-mutated non-small-cell lung cancer [J]. New England Journal of Medicine, 2015, 372(18): 1700-1709

[7] D'Incecco A, Andreozzi M, Ludovini V, et al. PD-1 and PD-L1 expression in molecularly selected non-small-cell lung cancer patients [J]. British Journal of Cancer, 2015, 112(1): 95-102

[8] Reck M, Rodríguezabreu D, Robinson A G, et al. Pembrolizumab versus Chemotherapy for PD-L1-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer[J]. New England Journal of Medicine, 2016, 375(19): 1823-1833

[9] Rittmeyer A, Barlesi F, Waterkamp D, et al. Atezolizumab versus docetaxel in patients with previously treated non-small-cell lung cancer (OAK): a phase 3, open-label, multicentre randomised controlled trial[J]. Lancet, 2017, 389(10066): 255-265

[10] Yang G L, Tao H R, Wang H W, et al. Ara-C increases gastric cancer cell invasion by upregulating CD-147-MMP-2/MMP 9 via the ERK signaling pathway[J]. Oncology Reports, 2015, 33(4): 2045-2051

[11] Che Y L, Luo S J, Li G, et al. The C3G/Rap1 pathway promotes

secretion of MMP-2 and MMP-9 and is involved in serous ovarian cancer metastasis[J]. Cancer Letters, 2015, 359(2): 241-249

[12] Ou S I, Ahn J S, De P L, et al. Alectinib in Crizotinib-Refractory ALK-Rearranged Non-Small-Cell Lung Cancer: A Phase II Global Study[J]. Journal of Clinical Oncology, 2016, 34(7): 661-668

[13] Bidoli P, Zilembo N, Cortinovis D, et al. Randomized phase II three-arm trial with three platinum-based doublets in metastatic non-small-cell lung cancer. An Italian Trials in Medical Oncology study[J]. Annals of Oncology, 2016, 18(3): 461-467

[14] Quantin X. Brain metastases at the time of presentation of non-small cell lung cancer: a multi-centric AERIO* analysis of prognostic factors[J]. British Journal of Cancer, 2015, 84(7): 903-909

[15] Barlesi F, Mazieres J, Merlio J P, et al. Routine molecular profiling of patients with advanced non-small-cell lung cancer: results of a 1-year nationwide programme of the French Cooperative Thoracic Intergroup (IFCT)[J]. Lancet, 2016, 387(10026): 1415-1426

[16] Sellers K, Fox M P, Slone S P, et al. Pyruvate carboxylase is critical for non-small-cell lung cancer proliferation [J]. Journal of Clinical Investigation, 2015, 125(2): 687-698

[17] Sun B, Yang N, Jiang Y, et al. Antagomir-1290 suppresses CD133 cells in non-small cell lung cancer by targeting fyn-related Src family tyrosine kinase[J]. Tumor Biology, 2015, 36(8): 6223-6230

[18] Jamalhanjani M, Wilson G A, Mcgranahan N, et al.Tracking the Evolution of Non-Small-Cell Lung Cancer [J]. New England Journal of Medicine, 2017, 376(22): 2109-2121

[19] Lastwika K J, Rd W W, Li Q K, et al. Control of PD-L1 expression by oncogenic activation of the AKT/mTOR pathway in non-small cell lung cancer[J]. Cancer Research, 2015, 76(2): 227-238

[20] Gao Y, Guan Z, Chen J, et al. CXCL5/CXCR2 axis promotes bladder cancer cell migration and invasion by activating PI3K/AKT-induced upregulation of MMP2/MMP9[J]. International Journal of Oncology, 2015, 47(2): 690-700

[21] Ni Y, Ye X, Wan C, et al. Percutaneous microwave ablation (MWA) increased the serum levels of VEGF and MMP-9 in stage I non-small cell lung cancer (NSCLC)[J]. International Journal of Hyperthermia, 2017, 33(4): 435-439

[22] Zhao L, Liu L, Dong Z, et al. miR-149 suppresses human non-small cell lung cancer growth and metastasis by inhibiting the FOXM1/ cyclin D1/MMP2 axis[J]. Oncology Reports, 2017, 38(6): 3522-3530

[23] Zhen Y, Liu J, Huang Y, et al. miR-133b Inhibits Cell Growth, Migration, and Invasion by Targeting MMP9 in Non-Small Cell Lung Cancer[J]. Oncology Research, 2017, 25(7): 1109-1116

[24] Huang H, Du T, Xu G, et al. Matrine suppresses invasion of castration-resistant prostate cancer cells by downregulating MMP-2/9 via NF-κB signaling pathway [J]. International Journal of Oncology, 2017, 50(2): 640-648

[25] Yang L, Song X, Zhu J, et al. Tumor suppressor microRNA-34a inhibits cell migration and invasion by targeting MMP-2/MMP-9/ FNDC3B in esophageal squamous cell carcinoma [J]. International Journal of Oncology, 2017, 51(1): 378-388

[26] Schwegmann K, Bettenworth D, Hermann S, et al. Detection of Early Murine Colorectal Cancer by MMP-2/-9-Guided Fluorescence Endoscopy[J]. Inflammatory Bowel Diseases, 2015, 22(1): 82-91

[27] Välimäki J, Uusitalo H. Matrix metalloproteinases (MMP-1, MMP-2, MMP-3 and MMP-9, and TIMP-1, TIMP-2 and TIMP-3) and markers for vascularization in functioning and non-functioning bleb capsules of glaucoma drainage implants [J]. Acta Ophthalmologica, 2015, 93 (5): 450-456

[28] Su Y, Wan D, Song W. Dryofragin inhibits the migration and invasion of human osteosarcoma U2OS cells by suppressing MMP-2/9 and elevating TIMP-1/2 through PI3K/AKT and p38 MAPK signaling pathways[J]. Anti-cancer drugs, 2016, 27(7): 660- 668

[29] Huang L L, Wang Z, Cao C J, et al. AEG-1 associates with metastasis in papillary thyroid cancer through upregulation of MMP2/9 [J]. International Journal of Oncology, 2017, 51(3): 812-822

[30] Li Z, Takino T, Endo Y, et al. Activation of MMP 9 by membrane type 1 MMP/MMP 2 axis stimulates tumor metastasis [J]. Cancer Science, 2017, 108(3): 347-353

（上接第 3829 页）

[23] Martínez-Sánchez P, Gutiérrez-Fernández M, Fuentes B, et al. Biochemical and inflammatory biomarkers in ischemic stroke: translational study between humans and two experimental rat models [J]. J Transl Med, 2014, 12: 220-233

[24] Tuttolomondo A, Pecoraro R, Pinto A. Studies of selective TNF inhibitors in the treatment of brain injury from stroke and trauma: a review of the evidence to date[J]. Drug Des Devel Ther, 2014, 8: 2221 -2238

[25] Thiem B, Kikowska M, Maliński MP, et al. Ecdysteroids: production in plant in vitro cultures[J]. Phytochem Rev, 2017, 16(4): 603-622