

· 研究简报 · 文章编号 1000-2790(2007)16-封3-01

## 基质金属蛋白酶9在急性淋巴细胞白血血病中的表达

杨军<sup>1</sup>,汪道鑫<sup>2</sup>,汪炜<sup>3</sup> ( <sup>1</sup> 上饶市市立医院血液科,江西医学院上饶分院; <sup>2</sup> 组织学教研室, <sup>3</sup> 病理学教研室,江西上饶 334000 )

【关键词】基质金属蛋白酶-9;白血病;淋巴细胞性;急性

【中图分类号】R733.7 【文献标识码】B

**0 引言** 基质金属蛋白酶(MMP)是由24种Zn<sup>2+</sup>依赖性蛋白酶组成的一个大家族,它通过降解细胞外基质在组织重塑中起重要作用。此外,MMP在皮炎、多发性硬化、肿瘤进展等病理过程中起着重要的作用。根据结构和底物特异性的不同,MMP可以被分为几类。MMP-9属于其中的明胶酶类,是降解基底膜的关键酶,与肿瘤的生长转移和临床预后密切相关。MMP-9的表达使肿瘤的恶性程度增高,在肝癌、胃癌、肺癌等实体肿瘤的发生和进展中起着重要的作用。MMP-9在急性淋巴细胞白血病(ALL)中的表达及其与预后、中枢神经系统浸润的关系,目前报道较少。我们采用流式细胞仪检测了ALL细胞MMP-9的表达情况,并探讨了MMP-9在ALL预后及中枢神经系统侵犯的作用。

### 1 对象和方法

**1.1 对象** ALL患者53(男29,女24)例,年龄14~70(中位31)岁。L1 25例,L2 19例,L3 9例,初治40例,复发13例。诊断标准符合文献[1]。所有病例在治疗前取骨髓检测MMP-9。正常对照骨髓取自胸外科手术切除的肋骨。骨髓缓解后行鞘内注射预防脑膜白血病,同时送检脑脊液细胞数。检测仪器为BD FACScan流式细胞仪。鼠抗人mAb由北京岳泰公司提供,FITC标记的羊抗鼠二抗为KPL公司产品,阴性对照FITC标记鼠IgG1为DIAclone公司产品。

**1.2 方法** 肝素抗凝的骨髓液加入Ficoll分离液,1700 r/min离心,分离出单个核细胞,加PBS调整细胞浓度为10<sup>10</sup>/L,各取100 μL细胞悬液加一抗MMP-9和FITC标记阴性对照鼠mAb IgG1 10 μL,室温避光反应30 min后,加入FITC标记羊抗鼠二抗继续温育20 min,加入PBS 2 mL洗涤2次,弃上清,加入PBS 500 μL待测。上机检测后收集1万个细胞。测试完后用CellQuest Plot软件(美国BD公司提供)分析数据,由HP1200c/PS打印结果。MMP-9以标记阳性细胞百分数表示。MMP-9表达率=(标记细胞阳性数/受检细胞数)×100% - 非特异性结合细胞阳性率。

统计学处理:所有数据经SPSS11.5统计软件处理。生存分析采用乘积极限(Kaplan-Meier)法,有效性采用log-rank检验,以P<0.05为差异有统计学意义。

**2 结果** MMP-9在ALL的表达率为18.2%~97.4%(平均63.7%),高于正常对照24.9%(P<0.01)。53例患者经化疗

两疗程后,骨髓缓解者37例,16例未缓解。缓解组患者骨髓MMP-9的表达率与未缓解组无统计学差异。根据患者MMP-9表达的高低,将患者分为两组:高于正常对照者为高表达组,低于正常对照者为低表达组。其中,高表达组15例,低表达组22例。白血病患者脑脊液白细胞>10个/μL是白血病细胞侵犯中枢神经系统的指征。因此,为了判断MMP-9与中枢神经浸润的关系,我们检测了缓解患者脑脊液的白细胞数。MMP-9高表达组有5例脑脊液白细胞高于10个/μL,而低表达组无一例白细胞升高,差异有显著性的统计学意义(P=0.004)。对两组患者进行随访,并进行Kaplan-Meier生存分析,结果发现高表达组的生存时间显著少于低表达组(P=0.0248)。

**3 讨论** 以往的研究多采用免疫组化法检测MMP-9,根据染色阳性细胞所占的比例及显色程度对阳性细胞进行积分<sup>[2]</sup>,以此判断MMP-9表达的高低。但免疫组化法主观性较强,容易产生误差,因而我们采用更客观的流式细胞术检测MMP-9在ALL细胞上的表达情况,结果表明,ALL细胞有较高水平的MMP-9的表达,这与以往的有关研究一致<sup>[3]</sup>。

成人急性淋巴细胞白血病是一种恶性程度很高的血液系统肿瘤,有着比急性髓细胞白血病更多的髓外浸润症状。其中,中枢神经系统浸润是对机体损害较大一种侵犯。赵莉敏等<sup>[2]</sup>发现有髓外浸润表现的初治ALL患者的骨髓细胞中MMP-9的表达显著高于无髓外浸润表现的初治患者,并认为MMP-9可能通过增强白血病细胞降解细胞外基质(EcM)等机制参与急性白血病的发生和髓外浸润过程,并在其中发挥重要作用。本研究我们也发现MMP-9高表达组发生中枢浸润的机会明显高于低表达组,提示MMP-9与中枢神经系统白血病有密切的关系,也提示对MMP-9高表达的ALL患者要加强预防中枢神经系统白血病的治疗,如大剂量化疗、加大鞘内注射药物剂量等。

Kuittinen等<sup>[4]</sup>发现MMP-9阳性患者生存率更低,但由于该研究仅有20例患者,没有得出明确的效果更差的结论。本研究我们共随访了37例患者,也得到了同样的结果,提示MMP-9对患者的生存确有影响。Kuittinen等<sup>[4]</sup>曾发现儿童ALL的生存时间与MMP-9的表达无关。这种差异可能与不同年龄白血病有着不同的治疗方案以及患者对各种治疗的反应不同有关。

### 【参考文献】

- [1] 张之南. 血液病诊断及疗效标准[M]. 2版. 北京: 科学出版社, 1998: 214.
- [2] 赵莉敏, 孙慧, 李晓文, 等. MMP-2和MMP-9在急性白血病骨髓细胞中的表达及与白血病髓外浸润的相关性[J]. 临床血液学杂志, 2005, 18(6): 326-328.
- [3] Lin LI, Lin DT, Chang CJ, et al. Marrow matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of MMP in acute leukaemia: Potential role of MMP-9 as a surrogate marker to monitor leukaemic status in patients with acute myelogenous leukaemia[J]. Br J Haematol, 2002, 117: 835-841.
- [4] Kuittinen O, Savolainen ER, Koistinen P, et al. MMP-2 and MMP-9 expression in adult and childhood acute lymphatic leukemia (ALL)[J]. Leuk Res, 2001, 25: 125-131.

收稿日期 2007-05-29; 接受日期 2007-06-18

作者简介: 杨军, 本科, 副主任医师. Tel (0793) 8382272 Email:

ww320248@163.com

编辑 袁天峰