

[文章编号 1000-1182(2004)02-0106-03

## 口腔癌前沿细胞基质金属蛋白酶-2 表达与颈淋巴结转移的关系

刘来奎,李怡宁,江宏兵,何志秀,易新竹  
(四川大学华西口腔医院 病理科,四川 成都 610041)

**[摘要]** 目的 探讨基质金属蛋白酶-2(MMP-2)在口腔粘膜鳞状细胞癌中的表达特点及其与颈淋巴结转移的关系。方法 应用免疫组织化学 LsAB 法观察 MMP-2 在口腔癌生长前沿区与中央区细胞中的表达分布特点,并分别与颈淋巴结转移发生进行统计学分析。结果 71 例口腔癌原发灶均有 MMP-2 表达,在口腔癌生长前沿区细胞的表达明显强于中央区( $P < 0.01$ ),呈条带状分布;口腔癌前沿区细胞 MMP-2 表达强度与颈淋巴结转移的发生呈正相关( $P < 0.05$ ),而中央区 MMP-2 表达强度与颈淋巴结转移无关( $P > 0.05$ )。结论 口腔癌生长前沿区细胞 MMP-2 表达明显强于中央区,与颈淋巴结转移有关,可作为口腔癌颈淋巴结转移的预测指标。

**[关键词]** 口腔癌; 基质金属蛋白酶-2; 淋巴结转移; 肿瘤侵袭

**[中图分类号]** R 739.8 **[文献标识码]** A

**The Correlation between Neck Lymph Node Metastasis and Matrixmetalloproteinase-2 Expression at the Invasive Tumor Front of Oral Squamous Cell Carcinomas** LIU Lai-kui, LI Yi-ning, JIANG Hong-bing, HE Zhi-xiu, YI Xin-zhu. (Dept. of Oral Pathology, West China College of Stomatology, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

**[Abstract]** **Objective** To explore the correlation between neck lymph node metastasis and matrix metalloproteinase-2 expression at the invasive tumor front of oral squamous cell carcinomas(OSCC). **Methods** Immunohistochemistry LsAB technique was used to observe the expression of MMP-2 at the invasive tumor front and center of OSCC, and the correlation between the expression of MMP-2 in OSCC and neck lymph node metastasis were respectively analyzed by statistics. **Results** The results demonstrated that MMP-2 existed in all 71 cases, which the expression of MMP-2 at the OSCC front was more significant than that of MMP-2 at the OSCC center ( $P < 0.01$ ), and related to neck lymph node metastasis ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The expression of MMP-2 at the OSCC front could be considered as an index of judging the present of neck lymph node metastasis of OSCC.

**[Key words]** oral cancer; matrix metalloproteinase-2; lymph node metastasis; tumor invasion

口腔癌的颈淋巴结转移与不良预后直接关联,深入探讨其发生的生物学机制具有重要意义。现已明确,分泌基质降解酶“打开”细胞外基质通道是癌细胞侵袭转移过程中的关键性行为之一,基质金属蛋白酶类(matrix metalloproteinase, MMPs)是主要的基质降解酶,其中, MMP-2 与多种恶性肿瘤的侵袭转移有关<sup>1~5</sup>;另一方面,口腔癌生长前沿细胞位于肿瘤与正常组织交界处,是发生颈淋巴结转移的前沿阵地,传统的病理学研究证实,与中央区细胞相比,生长前沿细胞的病理学特征能更好地反映肿瘤的生物行为<sup>6,7</sup>。本文通过对口腔癌生长前沿细胞与中央区细胞 MMP-2 表达的比较研究,并结合临床病理特征探讨其与颈淋巴结转移的关系。

### 1 材料和方法

#### 1.1 研究对象

选取四川大学华西口腔医院 1994~1997 年间收治的口腔粘膜鳞状细胞癌共计 71 例。其中,男 63 例,女 8 例,年龄范围 25~86 岁,平均年龄 58 岁,颊癌 28 例,舌癌 19 例,牙龈癌 15 例,口底癌 9 例。所有病例均为“原发灶加颈淋巴清扫”手术治疗者,入院前未经任何相关治疗,术前常规行病理活检诊断,术后对颈清淋巴结作病理检查明确有无颈淋巴结转移,有转移组 37 例,无转移组 34 例。

#### 1.2 免疫组化 LsAB 法染色

鼠抗人 MMP-2 多克隆抗体、ABC 试剂盒、DAB 显色试剂盒均购自武汉博士德公司。手术切除标本经石蜡包埋切片,每个标本分别切片 2 张拟作 HE 和免疫组化染色,免疫组化染色过程按试剂盒所附说明进行,主要步骤如下:常规脱蜡至水,3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 消除内源

[收稿日期 2002-06-28; 修回日期 2003-10-15]

[作者简介]刘来奎(1970-),男,安徽人,住院医师,博士

[通讯作者]易新竹, Tel: 028-85501483

性过氧化物酶,微波抗原修复,山羊血清封闭非特异性抗原,加抗人MMP-2抗体,加生物素化羊抗鼠血清抗体及过氧化物酶标记抗体,DAB呈色,苏木精复染,梯度酒精脱水、二甲苯透明封片,用PBS代替一抗作阴性对照。

### 1.3 染色结果判定

MMP-2以细胞浆呈清晰棕黄色为阳性,根据显色强度及范围分为:肿瘤细胞未着色或着色小于10%为阴性,肿瘤细胞着色在10%~30%记为(+),肿瘤细胞着色在30%~50%记为(++),肿瘤细胞着色大于50%记为(+++)。HE染色切片分别进行WHO分级和Bryne的生长前沿细胞分级(invasive cell grading, ICG), ICG分级系统是根据生长前沿细胞的角化程度、核分裂数、核异形性、浸润方式、炎细胞反应5项指标综合记分,按分值分为三级<sup>6</sup>。

### 1.4 统计学处理

采用SPSS统计软件作卡方检验。

## 2 结果

### 2.1 口腔癌组织中MMP-2的表达特点

MMP-2在正常口腔粘膜和口腔癌组织中均有表达,阳性细胞的胞浆呈棕黄色着色(图1)。71例口腔癌原发灶皆为MMP-2阳性表达,其阳性表达细胞分布表现为非均质性组织象,口腔癌生长前沿区细胞的染色较中央区细胞更为明显,呈条带状分布(图2)。

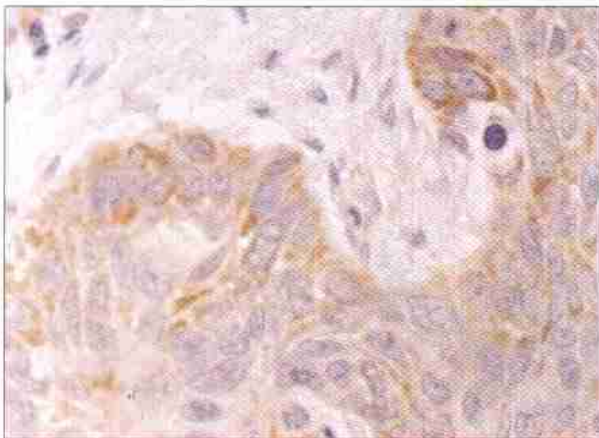


图1 MMP-2表达于口腔癌细胞浆,呈棕黄色着色 免疫组化LsAB ×400

Fig 1 MMP-2 stained in cytoplasm of oral cancer IHC LsAB ×400

### 2.2 口腔癌组织中MMP-2表达与病理分级的关系

71例口腔癌ICG分级结果为 级21例、 级29例、 级21例,其前沿区癌细胞MMP-2高表达(记分为+++)。分别为3例(3/21, 14%)、12例(12/29, 41%)、15例(15/21, 71%);WHO分级结果为 级31例、 级26例、 级14例,其MMP-2高表达分别为11例(11/31, 35%)、12例(12/26, 46%)、7例(7/14,

50%)。

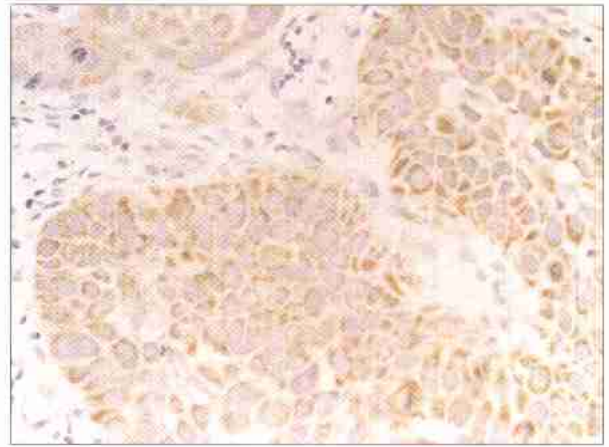


图2 口腔癌生长前沿区细胞MMP-2的表达较中央区细胞更为明显,呈条带状分布 免疫组化LsAB法 ×200

Fig 2 The expression of MMP-2 at the OSCC front was more significant than that of MMP-2 at the OSCC center IHC LsAB ×400

### 2.3 口腔癌生长前沿区与中央区细胞MMP-2表达的比较

经半定量分析,口腔癌生长前沿区与中央区细胞MMP-2表达的记分情况见表1, MMP-2在前沿区细胞的表达比中央区明显增强,两者经统计学处理有显著性差异,  $P < 0.01$ 。

表1 口腔癌前沿区及中央区细胞MMP-2表达与颈淋巴结转移的关系

Tab 1 The correlation between the expression of MMP-2 in OSCC and neck lymph node metastasis

组别	前沿区MMP-2表达 <sup>a</sup>			中央区MMP-2表达 <sup>b,ab</sup>		
	+	++	+++	+	++	+++
有转移	6	10	21	25	8	4
无转移	11	14	9	21	6	7
合计	17	24	30	46	14	11

注:<sup>a</sup>前沿区MMP-2表达与颈淋巴结转移有关,  $P < 0.05$ ;<sup>b</sup>中央区MMP-2表达与颈淋巴结转移无关,  $P > 0.05$ ;<sup>ab</sup>前沿区与中央区MMP-2表达有显著性差异,  $P < 0.01$

### 2.4 口腔癌生长前沿区、中央区细胞MMP-2表达与颈淋巴结转移的关系

对口腔癌生长前沿区与中央区细胞MMP-2表达分别记分,与颈淋巴结转移的关系见表1,经统计学分析,中央区细胞MMP-2表达与颈淋巴结有无转移无关( $P > 0.05$ ),而前沿区细胞MMP-2表达与颈淋巴结有无转移有关( $P < 0.05$ )。

## 3 讨论

恶性肿瘤细胞在穿越组织屏障向其它部位转移过程中需分泌蛋白酶类以降解细胞外基质。其中,基质金属蛋白酶类MMPs因其几乎能降解细胞外基质的所有成分而备受关注, MMP-2是MMPs家族的主要

成员之一,分子量为 72 000,主要降解底物为 I 型胶原,在肿瘤细胞侵袭转移中起重要作用。体外实验证实,癌细胞在侵袭转移过程中,当癌细胞经其膜受体与细胞外基质分子结合时,癌细胞分泌基质降解酶降解细胞外基质<sup>1</sup>。本文从组织学角度进一步探讨口腔癌细胞侵袭性行为的部分分子机制,研究发现,MMP-2 在口腔癌中广泛表达,其中,前沿区细胞 MMP-2 的表达明显强于中央区癌细胞,呈条带状分布,提示口腔癌生长前沿区细胞通过表达 MMP-2 积极参与癌细胞的侵袭转移。

与正常组织交界处的肿瘤细胞是肿瘤生长的前沿区,不少学者的研究表明,口腔生长前沿区细胞具有更强的、增殖活性及运动能力,易于转移,比瘤体中央细胞更能反映肿瘤的生物学行为,有关浸润能力的研究多为传统病理形态学的观察<sup>6-8</sup>。本文在体外实验研究成果的基础上,通过对口腔癌生长前沿区与中央区癌细胞 MMP-2 表达的比较研究发现,两者的表达强度存在显著性差异,说明表达分泌 MMP-2 是前沿区癌细胞具有更强浸润能力的机制之一,从而为前沿区癌细胞的侵袭性生物学特征提供了理论解释。另外,体外研究中 MMP-2 是反映癌细胞浸润能力的一个重要指标,如此,在临床病理诊断中,是否可通过观察肿瘤前沿区细胞 MMP-2 的表达程度来评估口腔癌细胞的浸润能力,尚待进一步深入研究。

MMP-2 表达与多种恶性肿瘤细胞的侵袭转移有关,在口腔癌组织中 MMP-2 表达与颈淋巴结转移的关系各家报道不一<sup>1-3</sup>。Kusukawa 等<sup>1</sup>研究了 46 例口腔鳞癌中 MMP-2 的表达,结果显示,发生颈淋巴结转移组的 MMP-2 表达强于非转移组,并认为,癌细胞分泌的 MMP-2 可随其侵袭迁移而向周围正常组织浸入。本研究将口腔癌前沿区与中央区细胞的 MMP-2 表达分别进行观察记分,并与有无颈淋巴结转移进行统计学分析,结果显示,中央区癌细胞 MMP-2 表达与口腔癌颈淋巴结转移无关,而前沿区癌细胞 MMP-2 表达与颈淋巴结转移有关,可望作为预测口腔癌颈淋巴结转移的指标。

对一个实体瘤来说,并非所有癌细胞的生物学特性是相同的,而表现为肿瘤异质性,Bryne 等<sup>6</sup>发现口腔鳞癌颈淋巴结转移灶内癌细胞同原发灶生长前沿区细胞在病理形态上相似,与中央区细胞有较大的差异。ICG 分级充分考虑肿瘤前沿区特征,与口腔癌颈

淋巴结转移及生存预后有关,本研究虽因样本偏少未能作出统计分析,但结果提示,MMP-2 表达与 ICG 分级比 WHO 分级间具有更好的相关性,因此,在临床病理诊断中应注意对前沿区癌细胞特征的观察。

癌细胞的侵袭转移是一个复杂的过程,在分泌基质降解酶的同时,尚表达分泌组织金属蛋白酶抑制剂(tissue inhibitor of metalloproteinases, TIMP),MMP-2 受 TIMP-2 的抑制<sup>9</sup>。为此,可进一步对 TIMP-2 在口腔癌中的表达特点进行研究。在此基础上,通过设计抑制 MMP-2 表达可望成为一种新的抗口腔癌侵袭转移治疗方法。

### [参考文献]

- 1] Kusukawa J, Sasaguri Y, Shima I, et al. Expression of matrix metalloproteinase-2 related to lymph node metastasis of oral squamous cell carcinoma. A clinicopathologic study J. Am J Clin Pathol, 1993, 99 (1): 18-23.
- 2] Kawata R, Shimada T, Maruyama S, et al. Enhanced production of matrix metalloproteinase-2 in human head and neck carcinomas is correlated with lymph node metastasis J. Acta Otolaryngol, 2002, 122 (1): 101-106.
- 3] O-Chareonrat P, Rhys-Evans PH, Eccles SA, et al. Expression of matrix metalloproteinases and their inhibitors correlates with invasion and metastasis in squamous cell carcinoma of the head and neck J. Arch Otolaryngol Head Neck Surg, 2001, 127(7): 813-820.
- 4] 梁雨荣,赵涛. 基质金属蛋白酶 MMP-9 和 MMP-2 与胃癌转移的关系 J. 中华普通外科杂志, 2000, 15(2): 119-121.
- 5] Mönig SP, Baldus SE, Hennecken JK, et al. Expression of MMP-2 is associated with progression and lymph node metastasis of gastric carcinoma J. Histopathology, 2001, 39 (6): 597-602.
- 6] Bryne M, Köppang HS, Lilleng R, et al. Malignancy grading of the deep invasive margins of oral squamous cell carcinoma has high prognostic value J. J Pathol, 1992, 166(4): 375-381.
- 7] Bankfalvi A, Piffko J. Prognostic and predictive factors in oral cancer: the role of the invasive tumour front J. J Oral Pathol Med, 2000, 29 (7): 291-298.
- 8] Piffko J, Bankfalvi A, Öfner D, et al. Prognostic value of histobiological factors (malignancy grading and AgNOR content) assessed at the invasive tumour front of oral squamous cell carcinomas J. Br J Cancer, 1997, 75(10): 1543-1546.
- 9] Slongo ML, Zampieri M, Onisto M, et al. Expression of matrix metalloproteinases (MMP-2, MT1-MMP) and their tissue inhibitor (TIMP-2) by rat sertoli cells in culture: implications for spermatogenesis J. Biol Chem, 2002, 277(1): 235-239.

(本文编辑 王 晴)