

doi:10.3971/j.issn.1000-8578.2012.11.017

# MMP-7 和 survivin 在胃癌组织中的表达及意义

胡忠东<sup>1</sup>, 钟美佐<sup>2</sup>, 周慧俊<sup>3</sup>

## Expression and Significance of MMP-7 and survivin in Gastric Cancer

Hu Zhongdong<sup>1</sup>, Zhong Meizuo<sup>2</sup>, Zhou Huijun<sup>3</sup>

1. Department of Hematology and Oncology, The Third Hospital, Changsha 410015, China; 2. Department of Oncology, Xiangya Hospital, Central South University; 3. Department of Gastrointestinal and Urological, Hu'nan Province Tumor Hospital

**Abstract: Objective** To investigate the expression and significance of MMP-7 and survivin in gastric cancer. **Methods** Immunohistochemical assay was used to detect the expressions of MMP-7 and survivin in 61 gastric carcinoma specimens and 30 gastric mucosa membrane. And the result with consolidation of clinical pathological materials was analyzed. **Results** Expressions of MMP-7 and survivin were correlated with tumor invasion, lymph node metastasis, TNM staging, tumor differentiation, and five years survival time ( $P < 0.05$ ), and were not positively correlated with age grading, gender, tumor sizes and position ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** Overexpressions of MMP-7 and survivin correlate with occurrence and development of gastric cancer.

**Key words:** MMP-7; survivin; Gastric cancer; Immunohistochemistry

**摘要:目的** 探讨 MMP-7 和 survivin 在胃癌组织中的表达及意义。**方法** 应用免疫组织化学 SP 法分别检测 MMP-7、survivin 在 61 例胃癌和 30 例正常胃黏膜中的表达情况,结合患者临床病理资料进行综合分析。**结果** MMP-7、survivin 表达与肿瘤的浸润深度、淋巴结转移、TNM 分期、分化程度、5 年生存时间相关 ( $P < 0.05$ ),与胃癌患者年龄、性别、肿瘤大小、部位均无关 ( $P > 0.05$ )。**结论** MMP-7、survivin 表达上调可能与胃癌的发生、发展有关。

**关键词:** MMP-7; survivin; 胃癌; 免疫组织化学

**中图分类号:** R735.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-8578(2012)11-1349-04

## 0 引言

胃癌是消化道最常见的恶性肿瘤之一,寻找更有效的早期诊断和治疗手段是提高胃癌患者生存期的唯一方法。肿瘤侵袭和转移是恶性肿瘤最重要的生物学特征,许多研究表明基质金属蛋白酶(MMPs)在肿瘤侵袭转移中起着促进作用,而 MMP-7<sup>[1]</sup> 是 MMPs 中一个比较重要的成员,具有广泛的蛋白水解活性,作用底物广,可水解多种组织蛋白。此外,人们认为肿瘤的发生发展亦是细胞凋亡的结果,细胞凋亡的抑制与恶性肿瘤的发生发展有着密切的关系。生存素(survivin)属于凋亡抑制蛋白 IAP(inhibitor of apoptosis protein)<sup>[2]</sup> 家族的成员之一,表达于胚胎和发育的胎儿组织以及多数肿瘤组织内,其表达具有高度的特异性。本研究应用免疫组织化学的方法,观察两者在胃

癌组织中的表达及揭示它们与胃癌发生、发展的关系,为研究胃癌的侵袭转移和判断预后提供实验依据。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

选自湖南省肿瘤医院外科 2004 年 1 月—2004 年 12 月 61 例胃癌术后标本,全部病例均经手术和常规病理证实,术前未行任何化疗、放疗。其中男 40 例,女 21 例,中位年龄 52 岁,随访时间 5 年。(1)肿瘤部位:贲门、胃底、胃体癌一共 16 例,胃窦部,胃角癌 45 例;(2)浸润深度:未浸及浆膜者 19 例,浸润至浆膜层或超过浆膜者 42 例;(3)分化程度:高、中分化胃腺癌 17 例,未分化、低分化胃腺癌 44 例;(4)TNM 分期:I 期+II 期 29 例,III 期+IV 期 32 例;(5)淋巴结转移:无区域淋巴结转移者 23 例,有区域淋巴结转移者 38 例;(6)瘤体大小: $\geq 5$  cm 有 19 例, $< 5$  cm 有 42 例。另选取正常胃黏膜标本 30 例作对照(均取自距胃癌切缘 5 cm 以外,并经病理证实)。

### 1.2 主要方法和试剂

收稿日期:2011-12-07;修回日期:2012-03-23

作者单位:1. 410015 长沙,长沙市第三医院肿瘤血液科;2. 中南大学湘雅医院肿瘤科;3. 湖南省肿瘤医院消化泌尿内科

作者简介:胡忠东(1981-),女,硕士,主治医师,主要从事肿瘤的临床治疗与研究

免疫组织化学技术采用 SP 法。标本经 10% 的中性福尔马林溶液固定,石蜡包埋。每例选择有代表性的组织蜡块连续切片 4 张,切片厚 4 μm,进行常规 HE 染色和 SP 免疫组织化学染色。试剂鼠抗人 MMP-7 单克隆抗体,兔抗人 survivin 多克隆抗体,SP 免疫组织化学试剂盒,DAB 酶底物显色试剂盒,均购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.3 结果判定

由两位不知临床资料的病理科主治医生独立观察每张切片后做出判断。根据文献<sup>[3]</sup>,先在低倍镜下(10×10)观察选择有代表性的区域,再在高倍光学显微镜下(10×40)观察 5 个阳性细胞较多的视野,每个视野计数 100 个细胞。survivin、MMP-7 阳性着色主要位于细胞质。根据染色阳性细胞占细胞的百分比,分为五个等级:0 分:<5%;1 分:5%~25%;2 分:>25%~50%;3 分:>50%~75%;4 分:>75%。根据染色强度分为三个等级:(1)淡黄色为 1 分;(2)棕黄色为 2 分;(3)棕褐色为 3 分。以阳性细胞数和染色强度的分值乘积作为每一例的积分,积分为 0 者判定为阴性,积分≥1 为阳性。

1.4 统计学方法

应用 SPSS13.0 统计软件,以χ<sup>2</sup>检验分析各組间胃癌组织中 survivin、MMP-7 表达的差异,与胃癌临床病理参数的关系,并计算 Spearman 相关系数。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

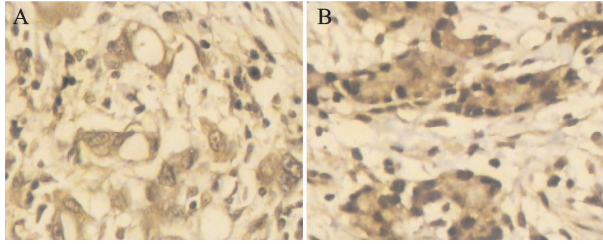
2.1 MMP-7、survivin 在胃癌组织中的表达情况

MMP-7 在 61 例胃癌组织中的阳性表达率为 68.8%,见图 1A,其阳性表达率在分化程度、浸润程度、淋巴结转移及 TNM 分期中,差异有统计学意义(P<0.05),而在不同年龄、性别、肿瘤部位、大小比较中均无统计学意义(P>0.05)。survivin 在 61 例胃腺癌组织中的阳性表达率为 75.4%,见图 1B,其阳性表达率在分化程度、浸润程度、淋巴结转移及 TNM 分期中,差异有统计学意义(P<0.05),而在不同年龄、性别、肿瘤部位、大小比较中均无统计学意义(P>0.05)。此外,正常胃黏膜 MMP-7 阳性表达率为 13.0%,survivin 在正常胃黏膜中不表达(P>0.05),见表 1。

表 1 MMP-7、survivin 的表达与胃癌患者临床病理特征的相关性

Table 1 The relationship between expression of MMP-7 and survivin with clinical pathological factors of gastric cancer patients

Category	Cases	Positive expression			Positive expression		
		of MMP-7 Cases(%)	χ <sup>2</sup>	P	of survivin Cases(%)	χ <sup>2</sup>	P
Gender							
Male	40	26(65.00)			30(75.00)		
Female	21	16(76.19)	0.804	>0.05	16(76.19)	0.011	>0.05
Age(years)							
<60	42	32(76.19)			31(73.80)		
≥60	19	10(52.63)	3.386	>0.05	15(78.94)	0.012	>0.05
Cell differentiation							
Well and moderately differentiated glandular cancer	17	6(35.29)			8(47.05)		
Undifferentiation,poorly differentiated glandular cancer	44	36(81.81)	12.376	<0.05	38(86.36)	10.216	<0.05
Infiltrate degree							
T1 + T2	19	9(47.36)			10(52.63)		
T3 + T4	42	33(78.57)	5.939	<0.05	36(85.71)	7.721	<0.05
Lymph node diversion							
Positive	38	30(78.94)			33(86.84)		
Negative	23	12(52.17)	4.789	<0.05	13(56.52)	7.103	<0.05
TNM staging							
I + II	29	16(55.17)			18(62.00)		
III + IV	32	26(81.25)	4.824	<0.05	28(87.50)	5.306	<0.05
Tumor size(cm)							
≥5	19	12(63.15)			15(78.94)		
<5	42	30(71.42)	0.417	>0.05	31(73.81)	0.012	>0.05
Tumor position							
Cardia,fundus of stomach,body of stomach	16	9(56.25)			11(68.75)		
Sinus ventriculi,comer of stomach	45	33(73.33)	1.606	>0.05	35(77.77)	0.519	>0.05



A: MMP-7; B: survivin

图 1 MMP-7 和 survivin 在胃癌组织中的表达(SP × 400)

Figure 1 Expression of MMP-7 and survivin in gastric cancer tissues(SP × 400)

### 2.2 胃癌组织中 MMP-7、survivin 表达的等级相关性

在 61 例胃癌中, MMP-7、survivin 同时表达阳性者 39 例, 同时表达阴性者 12 例, survivin 阳性而 MMP-7 阴性表达者 7 例, survivin 阴性而 MMP-7 阳性表达者 3 例, Spearman 等级相关分析显示 MMP-7、survivin 表达呈正相关 ( $r = 0.602, P < 0.01$ ), 见表 2。

表 2 胃癌中 MMP-7 的表达与 survivin 表达的相关性

Table 2 The relationship between expressions of MMP-7 and survivin in gastric cancer

Expression of MMP-7	Expression of survivin		<i>r</i>	<i>P</i>
	Positive	Negative		
Positive	39(92.85%)	3(7.14%)		
Negative	7(36.84%)	12(63.15%)	0.602	<0.01

### 2.3 胃癌患者 MMP-7、survivin 的表达和 5 年生存时间的关系

生存时间 < 5 年患者 MMP-7 阳性表达率 [86.48% (32/37)] 明显高于生存时间 ≥ 5 年者 [41.66% (10/24)]; 生存时间 ≥ 5 年患者 MMP-7 阴性表达率 [58.33% (14/24)] 明显高于生存时间 < 5 年者 [15.62% (5/37)] ( $\chi^2 = 13.636, P < 0.01$ )。此外, 生存时间 < 5 年者 survivin 阳性表达率 [94.59% (35/37)] 明显高于生存时间 ≥ 5 年者 [45.83% (11/24)]; 生存时间 ≥ 5 年者 survivin 阴性表达率 [54.16% (13/24)] 明显高于生存时间 < 5 年者 [5.4% (2/37)] ( $\chi^2 = 16.129, P < 0.01$ )。

## 3 讨论

MMP-7<sup>[1]</sup> 属 MMPs 家族成员, 其相对分子质量是 28 kD, 激活后为 19 kD。是 MMPs 中分子量最小的成员, 其基因位于染色体的 11q21q22。在正常组织中, MMP-7 表达于子宫内膜的分泌性上皮细胞中, 同时也可表达于各种外分泌腺, 但其主要表达于某些肿瘤细胞中, 是 MMPs 中唯一由上

皮性肿瘤细胞特异性表达的酶。MMP-7 能降解基底膜和 ECM 的多种成分, 从而在多种肿瘤发展过程中起重要作用。有研究表明 MMP-7 对基底膜和基质的降解作用具有两面性, 一方面有助于生长过程中组织的修复和塑形, 另一方面有助于肿瘤细胞的扩散、转移以及血管生长。另有研究发现 MMP-7 还参与了恶性肿瘤转移的其他关键环节, 既能提高肿瘤细胞的增殖活性, 增强其侵袭能力, 又能提高内皮细胞的增殖活性, 促进肿瘤的淋巴管和血管生成, 为肿瘤细胞转移提供帮助。滕燕伊等<sup>[4]</sup> 发现 MMP-7 与宫颈癌肿瘤细胞的侵袭转移行为相关, 康凯夫等<sup>[5]</sup> 研究表明 MMP-7 在原发性肝细胞性肝癌组织中的表达明显高于在正常肝组织中的表达。本研究发现 MMP-7 的阳性表达与患者年龄、性别、肿瘤部位、大小无关, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 与低分化癌、浸润程度、淋巴结转移、TNM 分期、5 年生存时间显著相关 ( $P < 0.05$ ), MMP-7 表达量的增多可能预示着肿瘤恶性程度的增加, 与肿瘤的浸润和转移密切相关, 因此其可能参与了胃癌细胞转移过程的调节, 在胃癌的恶性演变进程中具有促进作用。

survivin 基因是 1997 年耶鲁大学的 Ambrosini 等<sup>[6]</sup> 利用效应细胞蛋白酶受体 1 (EPR1) cDNA, 在人类基因组文库中杂交筛选并克隆产生的 1 个 IAP (inhibitor of apoptosis) 基因家族成员, 因其可延长细胞的生存, 故又称为生存素。该基因全长 15 kb, 定位于 17q25, 相对分子质量 16.2 kD。正常组织分布上, survivin 只表达于胚胎和发育的胎儿组织, 但是在大多数肿瘤组织如肺癌、乳腺癌、结肠癌中也检测到 survivin 的表达<sup>[7-9]</sup>。研究表明细胞凋亡受抑作为细胞增殖紊乱的对应面在肿瘤发生、发展和转归方面均有相当重要的作用, survivin 是迄今发现的最强的凋亡抑制因子, 抗凋亡就是其主要的生物学功能。由于 survivin 对凋亡的抑制, 癌细胞得以继续分裂, 造成肿瘤的临近和远隔部位转移灶的形成。本研究显示胃癌中 survivin 阳性表达率明显高于正常的胃黏膜, 虽然与患者年龄、性别、肿瘤组织大小、部位无关, 没有统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 但随临床分期增加、浸润深度加深、淋巴结的转移, survivin 阳性表达率逐渐升高 ( $P < 0.05$ ), 提示其可能参与胃癌发生发展的过程, 其在胃癌组织中的表达可能抑制了异常突变的细胞的凋亡, 细胞增殖和凋亡平衡被打破, 从而扰乱了细胞的生长与凋亡途径, 促使细胞逃离了生长监控, 导致肿瘤的发生。在肿瘤的浸润转移过程中, survivin 表达量的增多可能预示着肿瘤恶性程度的增加, 与肿瘤的浸润和转移密切相关, 综合本研究结果和文献报道分

析<sup>[10-11]</sup>,survivin 是影响细胞周期、有丝分裂和细胞凋亡的关键分子,其在正常组织和肿瘤组织中表达的显著差异,为构建能特异杀伤肿瘤细胞的生物分子提供了一个平台<sup>[12]</sup>,有研究发现 survivin 蛋白低表达者对新辅助化疗相对敏感,其有望成为预测胃癌新辅助化疗的敏感度指标<sup>[13]</sup>,并且可作为胃癌早期诊断的标志物<sup>[14]</sup>。

本研究表明,胃癌原发灶中 MMP-7、survivin 阳性表达率分别为 68.8%、75.4%,并且 MMP-7 及 survivin 表达阳性的胃癌,发生淋巴结转移和浆膜浸润的病例多,分期晚,5 年生存时间短,预后差。在 61 例胃癌中 MMP-7、survivin 同时表达阳性者达 39 例,Spearman 等级相关分析显示两者表达呈正相关( $r = 0.602, P < 0.01$ ),这可能因为两者表达为阳性的患者肿瘤浸润程度深,分期晚,生存率相对较低,而表达阴性患者生存率相对较高,提示两者可能通过参与胃癌的生长、浸润、转移和血管形成以及抑制细胞凋亡作用而在胃癌的发生和演进中起到重要作用,为研究胃癌的侵袭转移和判断预后提供实验依据,使其成为胃癌有希望的治疗靶点。

#### 参考文献:

- [1] Honda M, Mori M, Ueo H, et al. Matrix metalloproteinase-7 expression in gastric carcinoma[J]. Gut, 1996, 3(9): 444-8.
- [2] Deveraux QL, Reed JC. IAP family proteins-suppressors of apoptosis[J]. Genes Dev, 1999, 13(3): 239-52.
- [3] Lu CD, Altieri DC, Tanigawa N. Expression of a novel anti-apoptosis gene, surviving, correlated with tumor cell apoptosis and p53 accumulation in gastric carcinomas[J]. Cancer Res, 1998, 58(9): 1808-12.
- [4] Teng YY, Liu XY, Zheng H, et al. Expression and significance of Ki-67, MMP-2 and MMP-7 in CIN and cervical Cancer[J]. Chongqing Yi Ke Da Xue Xue Bao, 2010, 35(7): 989-91. [滕燕伊, 刘晓云, 郑洪, 等. Ki-67、MMP-7、MMP-2 在宫颈 CIN 和宫颈癌中的表达及意义[J]. 重庆医科大学学报, 2010, 35(7): 989-91.]
- [5] Kang KF, Zhang X, Chen XW, et al. Expression and Significance of MMP-7 and PTEN Protein in Primary Human Hepatocellular Carcinoma[J]. Zhong Liu Fang Zhi Yan Jiu, 2010, 37(6): 652-5. [康凯夫, 张鑫, 陈小伍, 等. MMP-7 和 PTEN 蛋白在原发性肝细胞性肝癌中的表达及其意义[J]. 肿瘤防治研究, 2010, 37(6): 652-5.]
- [6] Ambrosini G, Adida C, Altieri DC. A novel anti-apoptosis gene, survivin, expressed in cancer and lymphoma[J]. Nat Med, 1997, 3(8): 917-21.
- [7] Yagihashi A, Asanuma K, Kobayashi D, et al. Detection of autoantibodies to livin and survivin in Sera from lung cancer patients[J]. Lung Cancer, 2005, 48(2): 217-21.
- [8] Li JX, Zhou KY, Liang T, et al. Knockdown of survivin Expression by Small Interfering RNA Induces Apoptosis in Human Breast Carcinoma Cell Line MCF-7[J]. Ai Zheng, 2005, 24(3): 268-72.
- [9] Suga K, Yamamoto T, Yamada Y, et al. Correlation between transcriptional expression of survivin isoforms and clinicopathological findings in human colorectal carcinomas[J]. Oncol Rep, 2005, 13(5): 891-7.
- [10] Vallböhmer D, Drebbler U, Schneider PM, et al. Survivin expression in gastric cancer: Association with histomorphological response to neoadjuvant therapy and prognosis[J]. J Surg Oncol, 2009, 99(7): 409-13.
- [11] Song KY, Jung CK, Park CH. Expression of the antiapoptosis gene Survivin predicts poor prognosis of stage III gastric adenocarcinoma[J]. Jpn J Clin Oncol, 2009, 39(5): 290-6.
- [12] Altieri DC. Targeted therapy by disabling crossroad signaling networks: the survivin paradigm [J]. Mol cancer Ther, 2006, 5(3): 478-82.
- [13] Wang GZ, Li B, Ren W. Effects of neo-adjuvant chemotherapy of gastric carcinoma on the expression of Survivin and COX-2 [J]. Zhengzhou Da Xue Xue Bao (Yi Xue Ban), 2011, 46(3): 419-22. [王耿泽, 厉冰, 任武. 新辅助化疗对胃癌组织 COX-2 和 Survivin 蛋白表达的影响[J]. 郑州大学学报(医学版), 2011, 46(3): 419-22.]
- [14] Li H, Hui QY, Tian ZL. Quantitative Analysis of survivin and CD34 in Gastric Carcinoma and Dysplasia and Their Clinical Significance[J]. Zhong Liu Fang Zhi Yan Jiu, 2011, 37(5): 544-6. [李宏, 惠起源, 田正良. survivin 和 CD34 在胃癌及胃黏膜异型增生中的定量分析及其临床意义[J]. 肿瘤防治研究, 2010, 37(5): 544-6.]

[编辑: 黄园玲; 校对: 刘红武]