

CD105、MMP-2 和 MMP-9 在骨巨细胞瘤中的表达及意义

蔡颖¹, 冯一中², 张熔熔¹, 施启丰³, 唐威¹

Expression and Significance of CD105, MMP-2 and MMP-9 in Giant Cell Tumor of Bone

CAI Ying¹, FENG Yi-zhong², ZHANG Rong-rong¹, SHI Qi-feng³, TANG Wei¹

1. Department of Pathology, Wuxi the Second People's Hospital, Wuxi 214002, China; 2. Department of Pathology, the Second Hospital Affiliated of Soochow University; 3. Department of Pathology, Xishan People's Hospital

Corresponding Author: FENG Yi-zhong, E-mail: yizhongvon@163.com

Abstract: **Objective** To study the expression level of CD105, MMP-2 and MMP-9 in giant cell tumor of bone and to detect the correlation between their expression levels and tumor recurrence. **Methods** The expressions of CD105, MMP-2 and MMP-9 in 38 cases of giant cell tumor of bone were studied by using SP immunohistochemical method. Their relationship with clinicopathological features and tumor recurrence after operation was analysed too. **Results** (1) The average value of MVD in tumor was 9.70 ± 2.34 , which was much higher in aggressive type cases than in quiescent type ($P < 0.05$). Recurrent cases had higher MVD value than cases without recurrence ($P < 0.01$), yet was not associated with histological grade ($P > 0.05$). (2) The expression ratio of MMP-2 was 47.37%. Recurrent cases had higher positive rate than cases without recurrence ($P < 0.05$). No distinct difference of the expression ratio was found among cases of different histological grade and radiological type ($P > 0.05$). (3) Positive rate of MMP-9 was 60.53%. No distinct difference of the expression level of MMP-9 was found among cases of different histological grade ($P > 0.05$). Tumors of aggressive type and active type had higher positive rate than quiescent type cases ($P < 0.01$), and recurrent cases had higher positive rate than cases without recurrence ($P < 0.01$). (4) MMP-2 positive cases had higher MVD than MMP-2 negative cases ($P < 0.01$), MMP-9 positive cases had higher MVD than MMP-9 negative cases ($P < 0.01$). **Conclusion** MVD counted with CD105 and overexpression of MMP-2 and MMP-9 could be used as objective prognostic indicators of tumor recurrence. Angiogenesis in tumor might be promoted by the overexpression of MMP-2 and MMP-9.

Key words: Giant cell tumor of bone; CD105; Matrix metalloproteinases; Immunohistochemistry

摘要: **目的** 探讨骨巨细胞瘤中 CD105、MMP-2 和 MMP-9 的表达及与肿瘤复发的关系。 **方法** 应用免疫组化 SP 法检测 CD105、MMP-2 和 MMP-9 在 38 例骨巨细胞瘤中的表达, 分析它们与肿瘤临床病理参数及术后复发的关系。 **结果** (1) CD105 标记的肿瘤内 MVD 均值为 9.70 ± 2.34 , 浸润型肿瘤的 MVD 值明显高于静止型 ($P < 0.05$), 复发组 MVD 值显著高于未复发组 ($P < 0.01$), 而与组织学分级无关 ($P > 0.05$)。 (2) MMP-2 的阳性表达率为 47.37%, 其表达与复发有关 ($P < 0.05$), 而与组织学分级、X 线分型无关 ($P > 0.05$)。 (3) MMP-9 的阳性表达率为 60.53%, 与组织学分级无关 ($P > 0.05$), 与 X 线分型和复发有关 ($P < 0.01$)。 (4) MMP-2、MMP-9 阳性组的 MVD 值分别高于相应的阴性组 ($P < 0.01$)。 **结论** CD105 标记的 MVD 值和 MMP-2、MMP-9 过表达可作为预测骨巨细胞瘤复发的客观依据。 MMP-2、MMP-9 过表达与肿瘤内新生血管的形成有关。

关键词: 骨巨细胞瘤; CD105; 基质金属蛋白酶类; 免疫组织化学

中图分类号: R738.104 文献标识码: A 文章编号: 1000-8578(2007)07-0490-03

0 引言

骨巨细胞瘤是一种有低度恶性潜能的肿瘤, 近年报告术后复发率高达 25%^[1]。CD105 是近年来受人瞩目的新生血管标志物。它参与血管生成, 在增殖内皮细胞上高表达。MMP-9、MMP-2 (matrix metalloproteinase, 基质金属蛋白酶) 是明胶酶, 可降

收稿日期: 2006-06-16; 修回日期: 2006-07-31

作者单位: 1. 214002 江苏无锡市第二人民医院病理科; 2. 苏州大学附属第二医院病理科; 3. 无锡市锡山人民医院病理科

通讯作者: 冯一中, E-mail: yizhongvon@163.com

作者简介: 蔡颖 (1973-), 女, 硕士, 主治医师, 主要从事肿瘤病理诊断研究

解细胞外基质。研究表明, MMP-2、MMP-9 的表达水平与多种恶性肿瘤的预后相关。我们应用免疫组化 SP 法检测骨巨细胞瘤中 CD105 标记的微血管密度和 MMP-2、MMP-9 的表达情况, 探讨它们与骨巨细胞瘤临床病理特征和复发的关系, 及 MMP-2 和 MMP-9 与肿瘤内新生血管密度的相关性。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选择无锡二院及外院 1993 ~ 2004 年间临床资料齐备、获得随访的骨巨细胞瘤手术标本 38 例。患者年龄 21 ~ 68 岁, 平均 38 岁, 男性 23 例, 女性 15 例。肿瘤位于股骨远端 12 例、胫骨近端 10 例、股骨近端 5 例、胫骨远端 2 例、腓骨小头 3 例、桡骨远端 2 例、肱骨近端 2 例、尺骨小头和骺骨各 1 例。按 Campanacci 放射学分级, Ⅰ级 20 例, Ⅱ级 13 例, Ⅲ级 5 例。按照 Jaffe 组织学分级, Ⅰ级 20 例, Ⅱ级 13 例, Ⅲ级 5 例。随访时间 6 ~ 96 个月, 有 15 例复发。

1.2 方法 标本均经 10% 中性福尔马林固定, 石蜡包埋, 4 μm 连续切片, 分别作常规 HE 染色和 CD105、MMP-2 和 MMP-9 免疫组化 SP 法染色。鼠抗人 CD105 (105C02)、MMP-2 (CA4001)、MMP-9 (GE-213) 单克隆抗体为美国 Lab Vision 公司产品, 购自福州迈新生物技术公司。CD105 工作浓度为 1:20, MMP-2 和 MMP-9 工作浓度均为 1:40, 免疫组化染色步骤按说明书进行。以 PBS 代替一抗作为阴性对照, 以已知阳性的大肠癌组织切片作为阳性对照。

1.3 结果判断 微血管密度 (MVD) 计数: 采用抗 CD105 单克隆抗体标记新生血管的内皮细胞。参照 Weidner 法^[2]先在低倍镜下找到血管密度最高区域, 随后在高倍镜下选择 5 个视野进行微血管计数, 取平均值为 MVD。MMP-2 和 MMP-9 阳性表达为

棕黄色颗粒, 定位于胞浆内, 参照文献^[3], 按阳性细胞及染色深浅分别记 0 ~ 3 分, 无阳性细胞记 0 分, 阳性细胞占肿瘤细胞总数的比例 < 10% 记 1 分, 10% ~ 50% 记 2 分, > 50% 记 3 分; 染色呈淡黄色记 1 分, 棕黄色记 2 分, 棕褐色记 3 分。两者相乘为最后得分: 0 ~ 1 分为 (-), 2 ~ 3 分为 (+), 4 ~ 5 分为 (++) , > 6 分为 (+++)。

1.4 统计学分析 计量资料采用单因素方差分析, 组间均数的两两比较用 LSD 法。计数资料采用 χ^2 检验。MMP-2、MMP-9、MVD 与临床病理参数间的关系用 Spearman 相关分析。所有统计均在 SPSS 10.0 统计软件中进行。

2 结果

2.1 CD105 在骨巨细胞瘤中的表达 CD105 阳性物质定位于内皮细胞胞浆, 呈棕褐色, 见图 1。肿瘤内 MVD 均值为 9.70 ± 2.34 。随组织学级别的升高, 肿瘤内 MVD 值呈递增的趋势, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。按 X 线表现分型, 浸润型肿瘤的 MVD 值显著高于静止型 ($P < 0.05$)。复发组的骨巨细胞瘤 MVD 值显著高于未复发组 ($P < 0.01$), 见表 1。

2.2 MMP-2 在骨巨细胞瘤中的表达 MMP-2 的阳性表达率为 47.37%, 与组织学分级、X 线分级无相关性 ($P > 0.05$), 与肿瘤术后复发呈正相关 ($P < 0.01$), 见表 1, 见图 2。

2.3 MMP-9 在骨巨细胞瘤中的表达 MMP-9 的阳性表达率为 60.53%。与组织学分级无关 ($P > 0.05$)。MMP-9 在活动型、浸润型两组的阳性率 (15/18, 83.33%) 显著高于静止型组 (8/20, 40%, $P < 0.01$)。MMP-9 在复发组的表达率 (86.67%) 显著高于未复发组 (43.48%, $P < 0.01$), 见表 1, 见图 3。

表 1 CD105、MMP-2 和 MMP-9 在骨巨细胞瘤中的表达

Groups	n	MVD	P	MMP-2		P	MMP-9		P
				-	+		-	+	
radiological stage									
(quiescent)	20	8.89 ±2.35	> 0.05 ¹	14	6		12	8	
(active)	13	10.15 ±1.90	> 0.05 ²	4	9	> 0.05	2	11	< 0.01 *
(aggressive)	5	11.80 ±2.04	< 0.05 ³	2	3		1	4	
Pathological grade									
	20	8.95 ±2.18	> 0.05 ¹	13	7		10	10	
	13	10.41 ±2.58	> 0.05 ²	6	7	> 0.05	4	9	> 0.05
	5	10.88 ±1.34	> 0.05 ³	1	4		1	4	
Recurrence state									
Absence	23	8.83 ±2.34		16	7		13	10	
Presence	15	11.05 ±1.63	< 0.01	4	11	< 0.05	2	13	< 0.01

Note: 1: grade I vs grade II, 2: grade II vs grade III, 3: grade I vs grade III; * quiescent type compared to active type and aggressive type

2.4 MVD 与 MMP-9、MMP-2 表达的相关性
MMP-2 阳性组的 MVD 值(11.24 ± 2.04)显著高于 MMP-2 阴性组(8.32 ± 1.63) ($P < 0.01$)。Spearman 相关分析显示, MMP-2 的表达与 MVD 呈正相关($r = 0.669$, $P < 0.01$)。MMP-9 阳性组的 MVD 值(10.76 ± 2.15)显著高于 MMP-9 阴性组(8.09 ± 1.61) ($P < 0.01$)。Spearman 相关分析显示, MMP-9 与 MVD 呈正相关($r = 0.599$, $P < 0.01$)。

3 讨论

CD105 是近年发现的新生血管标志物,已有学者用 CD105 来标记肿瘤内新生血管,研究其作为辅助判断肿瘤预后指标的可行性。文献报道了 CD105 抗体标记的 MVD 值与结直肠癌^[4]、肺癌^[5]等恶性肿瘤预后的相关性。用 CD105 标记骨巨细胞瘤内微血管,研究 CD105 标记的 MVD 值与骨巨细胞瘤复发的关系尚未见文献报道。

本组 38 例骨巨细胞瘤的研究结果显示, CD105 标染的 MVD 随肿瘤组织学级别的升高而递增,但不同组别间的 MVD 值的差异无统计学意义($P > 0.05$),提示骨巨细胞瘤内 MVD 与组织学分级无相关性,与用 CD34 标记 MVD 进行研究得出的结论一致^[6]。依据放射学分型,浸润型组的 MVD 值明显高于静止型组($P < 0.05$),提示骨巨细胞瘤内 MVD 值与肿瘤放射学表现有关,新生血管的生成可能是促使肿瘤呈现活动性改变的原因之一。复发组的骨巨细胞瘤的 MVD 值高于未复发组($P < 0.01$),提示骨巨细胞瘤的 MVD 与其术后复发有关。本实验结果提示:CD105 标记的 MVD 与骨巨细胞瘤的生物学行为、术后复发相关,可作为预测肿瘤复发危险性的客观指标之一。

MMP-2 和 MMP-9 高表达与多种肿瘤的侵袭、转移能力增强有关。曾弘等^[7]研究结果显示, MMP-2 的阳性单位值与骨巨细胞瘤的组织学分级无关,而在复发组与未复发组之间的差异有显著性。本研究发现,38 例骨巨细胞瘤中 MMP-2 呈过表达,阳性率达 47.37%。阳性物质定位于单核间质细胞和多核巨细胞的胞浆,提示瘤细胞能分泌 MMP-2 降解肿瘤基质成分。MMP-2 阳性表达率随组织学分级、X 线分级的增高而增高,但差异均无显著性($P > 0.05$)。而 MMP-2 在复发组的阳性表达率明显高于未复发组,差异有显著性($P < 0.05$),提示 MMP-2 过表达与肿瘤复发有关,与曾弘等的研究结论一致。

Kumta 等^[8]研究结果显示 MMP-9 与肿瘤局部复发有关。本研究中,单核间质细胞和多核巨细胞

胞质内均有 MMP-9 表达,说明两者均参与了溶骨过程。MMP-9 的阳性表达率与组织学分级无相关性($P > 0.05$)。根据放射学分型, MMP-9 在活动型、浸润型两组的阳性率高于静止型组($P < 0.01$),推测 MMP-9 可能参与了肿瘤局部骨质破坏的过程。MMP-9 在复发组的表达率高于未复发组($P < 0.01$),提示 MMP-9 过表达与肿瘤复发有关,与 Kumta 等的研究结果一致, MMP-9 的过表达可提示肿瘤复发的风险。

有研究表明肿瘤组织中 MMP 类含量增加,新生血管也相应地增加^[9]。本组研究发现, MMP-2 阳性组的 MVD 值高于 MMP-2 阴性组,差异有显著性($P < 0.01$)。MMP-9 阳性组的 MVD 值高于 MMP-9 阴性组,差异有显著性($P < 0.01$)。Spearman 相关分析显示 MVD 与 MMP-2、MMP-9 的表达呈正相关性,提示 MMP-2、MMP-9 可能具有促进骨巨细胞瘤中新生血管形成的作用,它们所介导的溶细胞外基质和溶骨作用为血管内皮细胞的分裂增殖、推进肿瘤边缘起到了引导作用。

(本文图见第 546 页)

参考文献:

- [1] Fletcher CDM, Unni KK, Mertens F. Pathology and genetics of tumors of soft tissue and bone[M]. World Health Organization Classification of Tumors. 3rd ed. Lyon: IARC Press, 2002. 310-312.
- [2] Weidner N, Folkman J, Pozza F, et al. Tumor angiogenesis: a new significant and independent prognostic indicator in early-stage breast carcinoma[J]. Natl Cancer Inst, 1992, 84(24): 1875-1887.
- [3] Mattern J, Koomagi R, Volm K. Association of vascular endothelial growth factor expression with intratumoral microvessel density and tumor cell proliferation in human epidermoid lung cancer[J]. Br J Cancer, 1996, 73(7): 931-934.
- [4] Akagi K, Ikeda Y, Sumiyoshi Y, et al. Estimation of angiogenesis with anti-CD105 immunostaining in the process of colorectal cancer development[J]. Surgery, 2002, 131(1 suppl): s109-113.
- [5] Tanaka F, Otake Y, Yanagihara K, et al. Correlation between apoptotic index and angiogenesis in non-small cell lung cancer: comparison between CD105 and CD34 as a marker of angiogenesis[J]. Lung Cancer, 2003, 39(3): 289-296.
- [6] 潘焱, 陈嵘嵘. 骨巨细胞瘤中血管内皮生长因子及微血管密度的表达[J]. 复旦学报(医学版), 2003, 30(3): 239-242.
- [7] 曾弘, 文剑明, 董书坤, 等. 骨巨细胞瘤基质金属蛋白酶系统的表达及其与复发的关系[J]. 癌症, 2001, 20(10): 1049-1052.
- [8] Kumta S M, Huang L, Cheng Y Y, et al. Expression of VEGF and MMP-9 in giant cell tumor of bone and other osteolytic lesions[J]. Life Sciences, 2003, 73(11): 1427-1436.
- [9] Huang S, Van Arsdal M, Tedjarati S, et al. Contributions of stromal metalloproteinase-9 to angiogenesis and growth of human ovarian carcinoma in mice[J]. J Natl Cancer Inst, 2002, 94(15): 1113-1142.

[编辑:周永红;校对:安 凤]

CD105、MMP-2 和 MMP-9 在骨巨细胞瘤中的表达及意义

(正文见 490 页)

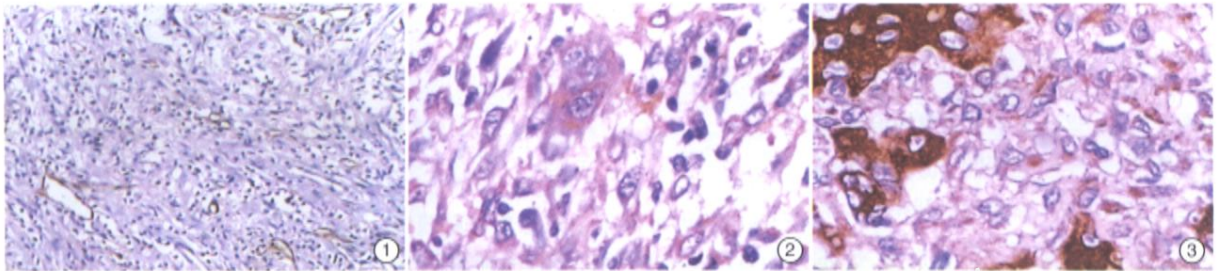


图 1 CD105 标记的新生血管, 管腔仅由数个内皮细胞围成(SP × 100)
 图 2 MMP-2 在骨巨细胞瘤的多核巨细胞和单核间质细胞胞浆内呈阳性表达(SP × 400)
 图 3 MMP-9 在骨巨细胞瘤的单核间质细胞和多核巨细胞胞浆均呈阳性表达(SP × 400)

HIF-1 α 和 VEGF 的表达与肝细胞癌侵袭转移的关系

(正文见 504 页)

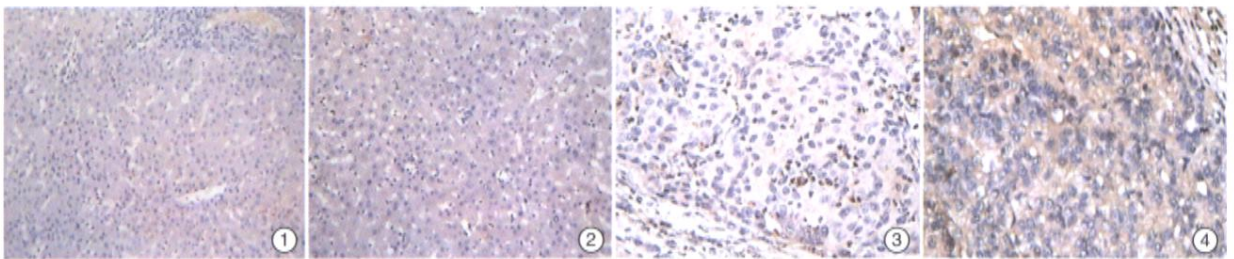


图 1 正常肝组织 HIF-1 α 免疫染色(IHC × 200) 图 2 癌旁肝组织 HIF-1 α 免疫染色(IHC × 200) 图 3 中分化肝癌组织 HIF-1 α 免疫染色(IHC × 400) 图 4 低分化肝癌组织中 HIF-1 α 免疫染色(IHC × 400)

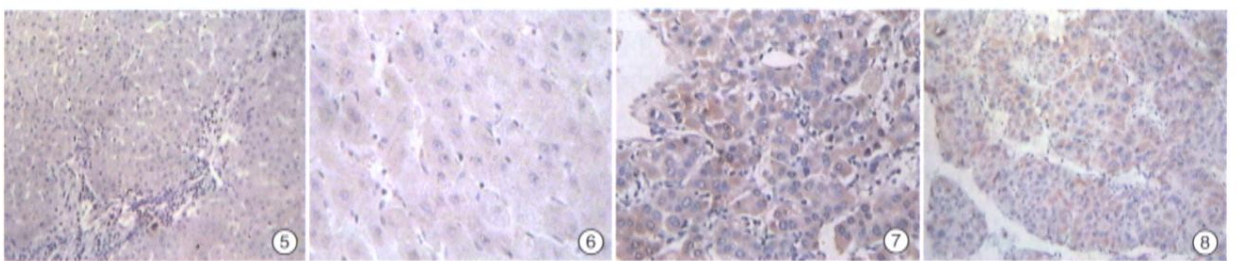


图 5 正常肝组织 VEGF 免疫染色(IHC × 200) 图 6 癌旁肝组织 VEGF 免疫染色(IHC × 400) 图 7 中分化肝癌组织 VEGF 免疫染色(IHC × 400) 图 8 低分化肝癌组织中 VEGF 免疫染色(IHC × 200)

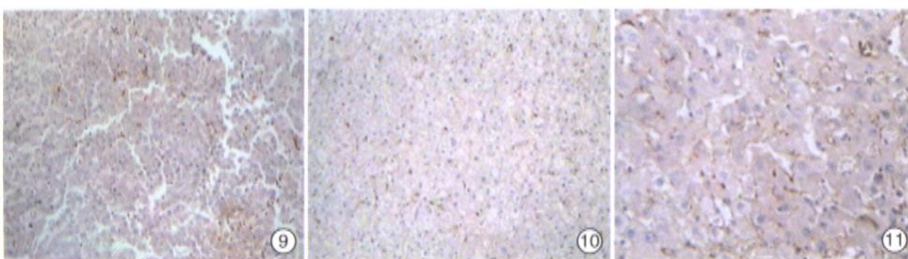


图 9 正常肝组织中微血管染色(IHC × 200) 图 10 癌旁肝组织中微血管染色(IHC × 200) 图 11 肝癌组织中微血管染色(IHC × 400)