

CD147 和 MMP-9 在结直肠癌组织中的表达及临床意义*

830000 乌鲁木齐 兰州军区乌鲁木齐总医院肿瘤诊疗中心

陈娟, 卢宁¹, 黄建国, 王勇强, 赵晓伟, 谢伟

【摘要】目的 探讨 CD147 和基质金属蛋白酶(MMP)-9 在结直肠癌中的表达及临床意义。**方法** 采用免疫组化法检测 60 例结直肠癌和 50 例癌旁组织中 CD147 和 MMP-9 的表达,并分析两者表达与结直肠癌临床病理特征的关系。**结果** 结直肠癌组织中 CD147 及 MMP-9 的阳性表达率分别为 86.7% 和 85.0%, 高于癌旁组织中的 20.0% 和 15.0% ($P < 0.05$)。两者表达与年龄、性别、肿瘤部位、分化程度、pTNM 分期、淋巴结转移、浸润深度和远处转移均无关。CD147 和 MMP-9 在结直肠癌中的表达呈正相关($r = 0.470, P < 0.001$)。**结论** MMP-9 及其诱导因子 CD147 在结直肠癌组织中高表达,两者与结直肠癌发生、发展的关系需进一步研究。

【关键词】 CD147; 基质金属蛋白酶 9; 结直肠癌

中图分类号:R735.3 文献标识码:A 文章编号:1009-0460(2013)11-0982-04

Expressions and significances of CD147 and MMP-9 in colorectal cancer

CHEN Juan, LU Ning, HUANG Jianguo, WANG Yongqiang, ZHAO Xiaowei, XIE Wei. Cancer Diagnosis and Therapy Center, Urumuqi General Hospital, Lanzhou Command, PLA, Urumuqi 830000, China

Corresponding author: LU Ning, E-mail: luning407@sina.com

【Abstract】Objective To investigate the expressions of CD147 and MMP-9 in colorectal cancer, and the correlation of them with clinopathological characteristics. **Methods** Expressions of CD147 and MMP-9 in 60 colorectal cancer and 50 adjacent normal tissues were detected by immunohistochemistry, and the relationship of their expressions with clinical characteristics was further analyzed. **Results** The positive rates of the expressions of CD147 and MMP-9 in 60 cases of colorectal cancer tissues were 86.7% and 85.0%, higher than 20.0% and 15.0% in adjacent normal tissues ($P < 0.05$). CD147 and MMP-9 were not related to age, gender, tumor location, differentiation, TNM stage, lymph node metastasis and distant metastasis. CD147 was positively correlated with MMP-9 ($r = 0.470, P < 0.001$). **Conclusion** MMP-9 and CD147 were over-expressed in colorectal cancer. The role of them in colorectal cancer needs further study.

【Key Words】 CD147; Matrix metalloproteinases-9; Colorectal cancer

近年来结直肠癌的发病率逐步上升,且其死亡率居高不下,目前主要采用以手术为主的综合治疗,虽然 5 年生存率有所提高,但形势仍不十分乐观^[1]。结直肠癌患者的预后常与其侵袭性和转移密切相关,而在肿瘤细胞复发和转移中,基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMPs)发挥着重要作用,若能抑制 MMPs 的产生并阻断其功能,即有可能阻止肿瘤的复发和转移。CD147 又称细胞外基质金属蛋白酶诱导因子(extracellular matrix metallo-

proteinase inducer, EMMPRIN),是一种细胞表面糖蛋白,属于免疫球蛋白超家族,其在癌组织细胞表面高表达,可刺激各种 MMPs 的产生^[2],从而促进肿瘤细胞的浸润和转移,除了已知的 MMP-1、MMP-2 与肿瘤进展关系密切外^[3],近年来 MMP-7、MMP-9 也备受关注。本研究试图通过观察 MMP-9 及其诱导因子 CD147 在结直肠癌组织中的表达情况,来探讨其临床价值,以期为临床研究结直肠癌的发展及预后判断提供理论支持。

* 基金项目:兰州军区医药卫生科研计划课题资助项目(LXH2008032)

1 通讯作者, E-mail: luning407@sina.com

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集兰州军区乌鲁木齐总医院 2007 年 1 月至 2009 年 12 月间经手术切除的结直肠癌组织标本 60 例(结直肠癌组),均有明确的病理诊断、随访资料,并且术前均未经任何抗肿瘤治疗(放疗、化疗、内分泌治疗及分子靶向治疗等)。其中女性 20 例,年龄为 36~68 岁,中位年龄 61 岁,男性 40 例,年龄为 28~82 岁,中位年龄 66 岁;25 例有淋巴结转移,8 例远处转移;病理分期依据 2010 年 AJCC/UICC 结直肠癌 pTNM 分期系统: I 期 18 例, II 期 17 例, III 期 16 例, IV 期 9 例。同时切取 50 例距肿瘤切缘 10cm 以上的癌旁正常组织作对照(对照组)。

1.2 方法

1.2.1 免疫组化染色 所有标本均经 10% 甲醛固定、脱水、石蜡包埋、4 μ m 连续切片、常规 HE 染色。兔抗人 CD147 和 MMP-9 单克隆抗体均购自北京中杉金桥生物技术有限公司。用免疫组化 En Vision 二步法检测 CD147、MMP-9 的表达,以 PBS 代替一抗作为阴性对照。CD147 和 MMP-9 工作浓度均为 1:100。

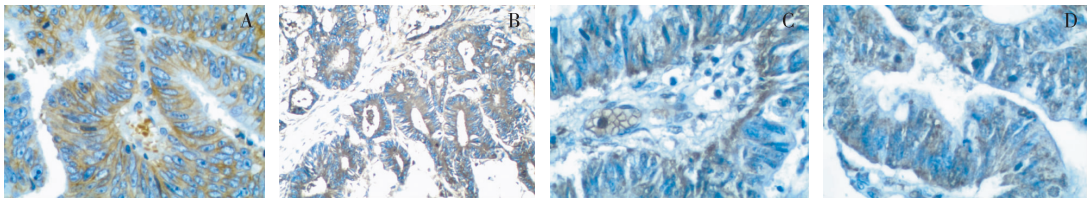
1.2.2 结果判定 光镜下观察免疫组化染色结果, CD147 及 MMP-9 抗原阳性反应均为细胞膜和胞浆上出现棕黄色或棕褐色均匀细颗粒。阳性判断标

准均采用 FDA 推荐的 Hercept Test^[4] 评分方法,无肿瘤细胞染色或 <30% 的细胞膜或胞质较弱染色设为 (-); $\geq 30%$ 的胞膜或胞质部分较弱染色设为 (+); $\geq 30%$ 的胞膜或胞质完全较弱到中等染色设为 (++) ; $\geq 30%$ 的胞膜或胞质完全强染色 (+++)。

1.3 统计学分析 采用 SPSS 18.0 版统计软件进行分析。CD147 和 MMP-9 的表达与临床病理特征之间的关系采用秩和检验分析,分化程度、pTNM 分期与 CD147 和 MMP-9 表达程度之间的相关性采用 Spearman 法分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CD147 和 MMP-9 在结直肠癌组织中的表达 结直肠癌组中 52 例(86.7%) CD147 阳性表达,其中大部分在细胞膜上出现弥漫且较强的染色,部分病例胞膜有较弱或者不连续表达,其中 (-) 者 8 例, (+) 者 17 例, (++) 者 13 例, (+++) 者 22 例;51 例(85.0%) MMP-9 阳性表达,其中 (-) 者 9 例, (+) 者 28 例, (++) 者 14 例, (+++) 者 9 例。对照组有 10 例(20.0%) CD147 阳性表达,6 例(12.0%) MMP-9 阳性表达,且均为较弱或者不连续表达。见图 1。



A:CD147 在结直肠癌中阳性表达; B:CD147 在癌旁组织中阴性表达; C:MMP-9 在结直肠癌中阳性表达; D:MMP-9 在癌旁组织中阴性表达

图 1 CD147 和 MMP-9 在结直肠癌和癌旁组织中的表达情况(En Vision $\times 400$)

2.2 CD147 表达与结直肠癌临床病理特征之间的关系 CD147 表达与年龄、性别、肿瘤部位、分化程度、pTNM 分期、淋巴结转移、浸润程度和远处转移均无关($P > 0.05$)。分化程度($r = -0.011, P = 0.936$)、pTNM 分期($r = -0.023, P = 0.860$)与 CD147 表达程度之间行秩相关分析,差异亦均无统计学意义。见表 1。

2.3 MMP-9 表达与结直肠癌临床病理特征之间的关系 MMP-9 表达与年龄、性别、肿瘤部位、分化程度、pTNM 分期、淋巴结转移、浸润程度和远处转移

均无关($P > 0.05$)。分化程度($r = -0.183, P = 0.161$)、pTNM 分期($r = 0.242, P = 0.062$)与 MMP-9 表达程度之间行秩相关分析,差异亦均无统计学意义。见表 2。

2.4 CD147 与 MMP-9 表达程度关联性分析 52 例 CD147 阳性表达中, MMP-9 阳性 48 例;51 例 MMP-9 阳性表达中, CD147 阳性 48 例。经 Spearman 等级相关分析显示,CD147 与 MMP-9 表达呈正相关($r = 0.470, P = 0.001$),差异有统计学意义。见表 3。

表 1 CD147 表达与结直肠癌临床病理特征的关系

临床病理参数	n	CD147				Z(χ^2)	P
		-	+	++	+++		
性别					0.737	0.461	
女	20	4	7	1	8		
男	40	4	10	12	14		
年龄(岁)					0.389	0.697	
<60	21	1	8	4	8		
≥60	39	7	9	9	14		
肿瘤部位					0.286	0.779	
直肠	31	5	8	7	11		
结肠	29	3	9	6	11		
分化程度					1.215	0.545	
低	15	2	5	3	5		
中	41	4	12	9	16		
高	4	2	0	1	1		
pTNM 分期					1.504	0.681	
I	18	3	4	4	7		
II	17	1	6	3	7		
III	16	3	4	6	3		
IV	9	1	3	0	5		
淋巴结转移					1.097	0.273	
无	35	4	9	7	15		
有	25	4	8	6	7		
浸润程度					0.192	0.847	
不超过肌层	22	4	5	5	8		
超过肌层	38	4	12	8	14		
远处转移					0.216	0.829	
无	52	7	14	13	18		
有	8	1	3	0	4		

表 2 MMP-9 表达与结直肠癌临床病理特征的关系

临床病理参数	n	MMP-9				Z(χ^2)	P
		-	+	++	+++		
性别					0.109	0.913	
女	20	6	4	7	3		
男	40	3	24	7	6		
年龄(岁)					0.769	0.442	
<60	21	1	11	7	2		
≥60	39	8	17	7	7		
肿瘤部位					0.573	0.608	
直肠	31	5	13	7	6		
结肠	29	4	15	7	3		
分化程度					1.983	0.371	
低	15	1	7	3	4		
中	41	7	19	10	5		
高	4	1	2	1	0		
pTNM 分期					5.476	0.140	
I	18	3	10	3	2		
II	17	2	10	5	0		
III	16	3	6	5	2		
IV	9	1	2	1	5		
淋巴结转移					1.151	0.250	
无	35	5	19	8	3		
有	25	4	9	6	6		
浸润程度					1.292	0.196	
不超过肌层	22	4	12	4	2		
超过肌层	38	5	16	10	7		
远处转移					1.774	0.076	
无	52	8	26	13	5		
有	8	1	2	1	4		

3 讨论

恶性肿瘤的侵袭生长是一个多因素参与、多步骤完成的复杂过程,涉及肿瘤细胞、宿主细胞、细胞外基质(ECM)和基膜等微环境间的相互作用,其生长依赖于血管生成,而血管生成与血管内皮生长因子及 MMPs 密切相关。Littlepage 等^[5]报道 MMP-9 参与了肿瘤新生血管的生成,新生微血管在结构上不完善,缺乏肌层,基膜不连续,这些结构特点丧失了组织对肿瘤侵犯的屏障作用,增加了肿瘤进入淋巴、血液循环的可能性。而 CD147 作为 MMPs 的诱导因子^[6],可通过刺激肿瘤细胞及周围纤维母细胞产生 MMPs 和促进肿瘤新生血管的生长,促进肿瘤的形成和发展^[7]。将 CD147 cDNA 转染 MDA-MB 436 乳腺癌细胞,能够加速裸鼠肿瘤生长、浸润和转

表 3 结直肠癌中 CD147 与 MMP-9 表达的相关性

CD147	MMP-9				r	P
	-	+	++	+++		
-	5	3	0	0	0.470	0.001
+	2	10	3	2		
++	2	6	3	2		
+++	0	9	8	5		

移,同时肿瘤细胞中 MMP-2 和 MMP-9 表达增加,这充分证明了 CD147 在肿瘤细胞浸润和转移中的作用^[8]。由此可见,CD147 可能通过激活、促进 MMP-9 的表达,进而影响肿瘤的侵袭与转移。

本研究显示,癌旁组织中 CD147 的表达明显低于结直肠癌组织($P < 0.05$)。研究报道 CD147 在肺癌、乳腺癌、结直肠癌、神经胶质瘤、黑色素瘤等肿

瘤细胞中均表达增高^[9],同时 MMPs 活性增加,并且与肿瘤的临床分期和转移呈正相关^[10]。但在本研究中,将 CD147 的表达分别与肿瘤的临床分期、分化程度进行秩相关分析,差异均无统计学意义。本研究结果与相关研究不完全相符,考虑可能与样本量偏小有关,也不排除不同研究的阳性判断标准不同所致,需进一步研究证实。

MMP-9 属于明胶酶也称 IV 型胶原酶,能酶解 ECM 成分,还能酶解基膜的主要成分 IV 型胶原,与肿瘤的发展和侵袭密切相关^[11]。在正常稳态组织中 MMP-9 表达量很少,参与人体的多种生理及病理过程,而在肿瘤发生、发展过程中,MMPs 常过度表达。武欣等^[12]发现 MMP-9 在大肠正常黏膜组织、癌组织和转移灶中的阳性率逐渐升高,有淋巴结转移者的阳性表达率高于无淋巴结转移者,提示 MMP-9 蛋白表达情况可能与肿瘤的生长和淋巴结转移有关,其高表达可能促进癌细胞的侵袭与转移。本研究也证实了 MMP-9 的高表达导致肿瘤细胞在体内生长和侵袭能力显著增强。但将淋巴结转移与 MMP-9 进行秩相关分析,差异无统计学意义。本研究与上述结果不完全一致,也有学者表明 MMPs 在淋巴结转移过程中的作用尚无统一结论^[13]。潘亿文等^[1]采用免疫组化法测定 80 例结直肠癌组织中 MMP-9 的表达情况,结果在发生脉管转移的结直肠癌组织中 MMP-9 蛋白的阳性表达率为 72.5%,高于无转移的结直肠癌组织(40.0%),提示 MMP-9 在结直肠癌转移过程中发挥着重要作用。

本研究还发现 CD147 和 MMP-9 在结直肠癌患者中的表达程度呈正相关,表明 CD147 和 MMP-9 表达情况可能与结直肠癌病情进展密切相关,联合检测可能对患者预后具有指导意义,然而这需要进一步加大样本量和增加随访时间。

张香梅等^[14]在对结直肠癌患者的研究中发现,CD147 阳性患者的 5 年生存率明显低于 CD147 阴性者,差异有统计学意义($P < 0.05$),表明 CD147 的表达与患者预后不良相关。本研究未能对两者表达与预后的关系进行分析,这也是本研究的不足,需加大样本量进一步来研究证实。此外,人工合成特异性的 CD147 及 MMPs 抗体及抑制因子能够特异高效地抑制恶性肿瘤细胞的侵袭转移,有望在不久的将来为临床治疗结直肠癌提供新的、有效

的靶点。

参考文献

- [1] 潘亿文,何娟,陈胜林,等. C-erbB-2、MMP-9 在结直肠癌中的表达及相关意义[J]. 现代生物医学进展,2012,12(1):90-93.
- [2] 王为东,李玉军. CD147 和 CK19 在肝细胞癌中的表达及临床意义[J]. 临床肿瘤学杂志,2012,17(4):334-338.
- [3] 裴素霞,齐贵胜. Twist 和基质金属蛋白酶-2 在乳腺浸润性导管癌组织中的表达分析[J]. 中国全科医学,2010,13(32):3646-3648.
- [4] Ellis IO, Dowsett M, Bartlett J, et al. Recommendations for HER-2 testing in the UK[J]. J Clin Pathol, 2000, 53(12):890-892.
- [5] Littlepage LE, Sternlicht MD, Rouquier N, et al. Matrix metalloproteinases contribute distinct roles in neuroendocrine prostate carcinogenesis, metastasis, and angiogenesis progression [J]. Cancer Res, 2010, 70(6):2224-2234.
- [6] Zhang W, Erkan M, Abiatari L, et al. Expression of extracellular matrix metalloproteinase inducer (EMMPRIN/CD147) in pancreatic neoplasm and pancreatic stellate cells[J]. Cancer Biol Ther, 2007, 6(2):218-227.
- [7] Yan L, Zucker S, Toole BP. Roles of the multifunctional glycoprotein, emmprin (basigin; CD147), in tumor progression [J]. Thromb Haemost, 2005, 93(2):199-204.
- [8] Zucker S, Hymowitz M, Rollo EE, et al. Tumorigenic potential of extracellular matrix metalloproteinase inducer [J]. Am J Pathol, 2001, 158(6):1921-1928.
- [9] Kanekura T, Chen X, Kanzaki T. Basigin (CD147) is expressed on melanoma cells and induces tumor cell invasion by stimulating production of matrix metalloproteinases by fibroblasts [J]. Int J Cancer, 2002, 99(4):520-528.
- [10] Dalberg K, Eriksson E, Enberg U, et al. Gelatinase A, membrane type 1 matrix metalloproteinase, and extracellular matrix metalloproteinase inducer mRNA expression; correlation with invasive growth of breast cancer [J]. World J Surg, 2000, 24(3):334-340.
- [11] 翟凤钰,鞠久鑫,王芳,等. KAI1/CD82 及 MMP9 在乳腺癌中的表达及意义[J]. 广东医学,2012,33(7):979-982.
- [12] 武欣,李坤,张凡,等. 大肠癌中 CCR7、L-selectin、CD44v6 和 MMP-9 表达及其与淋巴结转移的关系[J]. 临床与实验病理学杂志,2013,29(1):32-35.
- [13] Amalinei C, Caruntu ID, Giusca SE, et al. Matrix metalloproteinases involvement in pathologic conditions [J]. Rom J Morphol Embryol, 2010, 51(2):215-228.
- [14] 张香梅,何常,张维元,等. 大肠癌内 CD147 蛋白表达与生物学行为及预后的关系[J]. 贵阳医学院学报,2006,31(2):127-130.

收稿日期:2013-07-10; 修回日期:2013-10-08