

CD147 及 MMP-7 在胆管癌中的表达及其临床意义

王志凯, 张 超, 白军伟, 张 辉, 田 鹏
(河南省人民医院胃肠外科三病区, 河南 郑州 450003)

摘要:目的 探讨细胞表面糖蛋白酶诱导体 cluster of differentiation 147 (CD147) 和基质金属蛋白酶-7 (matrix metalloproteinase-7, MMP-7) 在胆管癌组织中的表达及与临床病理特征的关系。方法 选取行手术切除胆管癌且病理证实的 109 例患者的胆管癌组织为胆管癌组, 同期行胆管癌根治术的 100 例患者的癌旁正常胆管组织标本为对照组。采用 Image-pro Plus 6.0 图像分析和免疫组织化学实验检测 CD147 和 MMP-7 在组织中的表达。结果 胆管癌组细胞表面 CD147 和 MMP-7 的 PU 值均高于对照组, 差异均具有统计学意义 [(33.9 ± 9.4) PU vs (12.3 ± 4.3) PU, (57.5 ± 15.4) PU vs (12.2 ± 2.5) PU, 均 $P < 0.01$]。CD147 和 MMP-7 表达在胆管癌患者性别、年龄和有无神经侵犯方面比较, 差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$), 而在浸润深度、病理分化程度及 TNM 分期方面比较, 差异均具有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。结论 CD147 和 MMP-7 在胆管癌组织中高表达, 且与胆管癌浸润深度、病理分化程度及 TNM 分期有关。

关键词:胆管肿瘤/病理学;胆管肿瘤/诊断;基质金属蛋白酶-7;膜糖蛋白类;基因表达;预后;免疫组织化学
中图分类号:R735.8;R730.23 文献标志码:A 文章编号:1001-1692(2019)01-0035-04

Expression and clinical significance of CD147 and MMP-7 in cholangiocarcinoma

Wang Zhikai, Zhang Chao, Bai Junwei, Zhang Hui, Tian Peng

(Department of Gastrointestinal Surgery, Henan Provincial People's Hospital, Zhengzhou 450003, China)

Abstract: Objective To investigate the expression of cluster of differentiation 147 (CD147) and matrix metalloproteinase-7 (MMP-7) in cholangiocarcinoma and their relationships with the clinicopathological features of cholangiocarcinoma patients. **Methods** Tumor tissue samples from 109 patients who underwent surgical resection and were pathologically confirmed as cholangiocarcinoma were collected as the cholangiocarcinoma group. Besides, the specimens of adjacent normal bile duct tissues of 100 patients who underwent cholangiocarcinoma radical surgery during the same time period were included as the control group. Image-pro Plus 6.0 image analysis and immunohistochemistry experiments were used to detect the expressions of CD147 and MMP-7 in tissues. **Results** The PU values of the cell surface CD147 and MMP-7 of the cholangiocarcinoma group were significantly higher than those of the control group [CD147: (33.9 ± 9.4) PU vs (12.3 ± 4.3) PU, MMP-7: (57.5 ± 15.4) PU vs (12.2 ± 2.5) PU, both $P < 0.01$]. Moreover, as for their relationships with clinicopathological features, the expressions of CD147 and MMP-7 were significantly related to the infiltration depth, pathological differentiation and TNM staging (all $P < 0.05$), but not related to gender, age or neurological invasion (all $P > 0.05$). **Conclusion** CD147 and MMP-7 are highly expressed in cholangiocarcinoma tissues, and are related with the infiltration depth, pathological differentiation, and TNM stage of cholangiocarcinoma.

Key words: bile duct neoplasms/pathology; bile duct neoplasms/diagnosis; matrix metalloproteinase 7; membrane glycoproteins; gene expression; prognosis; immunohistochemistry

收稿日期:2017-11-27

DOI:10.13267/j.cnki.syzlzz.2019.01.008

作者简介:王志凯(1980-),男,河南长垣人,主治医师,硕士,从事腹腔镜胃肠肿瘤诊治研究。

胆管癌是指原发于左右肝管汇合部至胆总管下端的肝外胆管恶性肿瘤^[1]。其临床症状表现为胆管出血、肝脏损害、胆管感染和黄疸等。因胆管癌发病病因尚未明确,导致患者一旦确诊为胆管癌即已进入疾病进展期,又因患者需解剖的部位和邻近器官的特殊性,手术难度大,根治不易,预后较差。随着胆管癌患者的增多,近几年国内有关肿瘤发生机制的研究也受到越来越多研究学者的重视^[2-3]。随着科技的发展,肿瘤的诊断与治疗也成为研究的热点。细胞表面糖蛋白酶诱导体 cluster of differentiation 147 (CD147) 和基质金属蛋白酶-7 (matrix metalloproteinase-7, MMP-7) 均可表达人体多种组织,高表达多出现于肿瘤细胞中;CD147 能诱导基质金属蛋白酶的分泌,MMP-7 则主要在肿瘤细胞或肿瘤浸润边缘的间质中表达^[4]。CD147 和 MMP-7 在肿瘤的检测和诊断中起到重要作用^[5]。目前有关 CD147 和 MMP-7 表达研究较少。本研究主要分析 CD147 和 MMP-7 在胆管癌组织中的表达及其与临床特征的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集 2015 年 4 月至 2016 年 4 月本院经手术切除胆管癌且经病理证实的 109 例胆管癌组织标本为胆管癌组,男性 95 例,女性 14 例;年龄 32 ~ 58 岁,中位年龄 49 岁。另取同期经胆管癌根治手术治疗的 100 例患者癌旁正常胆管组织标本为对照组,男性 87 例,女性 13 例;年龄 33 ~ 56 岁,中位年龄 48 岁。两组患者在年龄和性别等一般资料方面比较,差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$),具有可比性。

1.2 纳入及排除标准

纳入标准:(1)年龄 30 ~ 70 岁;(2)胆管癌诊断标准^[6];(3)没有其他重大心脏类疾病;(4)知情并同意参与本研究。排除标准:(1)合并患有其他肿瘤患者;(2)有精神病史;(3)术前进行过肿瘤治疗。

1.3 检测方法

所有患者均采用 Image-pro Plus 6.0 图像分析^[7]和免疫组织化学法检测 CD147 和 MMP-7 在胆管癌和癌旁胆管组织中的表达。

1.3.1 主要试剂及实验仪器 鼠抗人 CD147、鼠抗人 MMP-7 单克隆抗体、DAB 显色剂和免疫组织化学试剂盒采购于北京中杉金桥生物技术公司。主要仪器包括北京佳源兴业科技有限公司 YD-1508R 型病理切片机和日本奥林巴斯 OLYMPUS 光学显微镜等。

1.3.2 SP 免疫组织化学染色 将石蜡切成片并脱蜡 10 min,共 3 次,然后放入不同浓度乙醇均保留 1 min。先后采用蒸馏水和磷酸盐缓冲液各清洗 5 min。浸于 0.01 mol/L pH 6.0 枸橼酸盐缓冲液内,在微波炉中高温加热至修复液沸腾,调至中火保持沸腾 5 min。修复后切片在修复液中冷却至室温(MMP-7 不进行抗原修复,直接进入下一步)。采用 PBS 冲洗后滴加 3% 过氧化氢阻断试剂,室温下孵育 10 ~ 15 min。之后继续使用 PBS 冲洗,完成后放在保湿盒中,将其置于 4℃ 冰箱过夜孵育。将一抗孵育后的切片用 PBS 清洗,滴加二抗山羊抗鼠 IgG (H + L) 抗体,室温下 60 min。使用 PBS 清洗后将 DAB 显色剂以 1:20 稀释于 DAB 底物缓冲液,每张切片上滴加新鲜配制的 DAB 50 μ L。显色后,切片置于自来水中,冲洗 10 min,再经蒸馏水洗,对比染色 1 min,乙醇盐酸分化,自来水冲洗,氨水返蓝 30 s,再自来水冲洗至满意为止。经乙醇脱水,各乙醇浓度分别保留 1 min。再置于 100% 三级二甲苯透明,每次 5 min,共 3 次,中性树胶封固。

1.4 观察与评价标准

对 CD147 和 MMP-7 的染色切片拍取不同视野,并对每个视野采用 Image-pro plus 6.0 图像分析软件进行分析,在测量 CD147 和 MMP-7 表达时,染色图片的表达使用阳性单位(positive unit, PU)^[8]作为代表。对各个标本 CD147 和 MMP-7 的 PU 值进行检测和计算,依次统计分析其在胆管癌组和对对照组的表达情况,PU 值 = $(G_a - G_A) / AA_\beta \times G_{max}$ (G_a : 待测阳性产物 a 的灰度值; G_A : A 区域的灰度值; AA_β : β 在 A 区的密度; G_{max} : 系统最大灰度分级)。根据灰度图像把 PU 值分为 0 ~ 100 个等级,代表免疫组织化学反应程度,并排除切片与涂片本底因素干扰。

免疫组织化学法判别标准:染色强度评分标准为黄褐色 3 分,棕黄色 2 分,黄色 1 分,不着色 0 分;阳性细胞所占比例评分标准采用 0 ~ 4 分级别评分法,阳性细胞数 $\geq 70\%$ 为 3 分, $40\% \leq$ 阳性细胞数 $< 70\%$ 为 2 分, $10\% \leq$ 阳性细胞数 $< 40\%$ 为 1 分,阳性细胞数 $< 10\%$ 为 0 分;上述 2 种评分相加 0 ~ 2 分为弱表达,3 ~ 6 分为强表达。

1.5 统计学分析

使用 SPSS 20.0 统计学软件进行数据分析。计量资料使用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$),组间比较采用 t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 CD147 和 MMP-7 的表达

胆管癌组 CD147 和 MMP-7 的 PU 值均高于对照组,差异均具有统计学意义[(33.9 ± 9.4) PU vs (12.3 ± 4.3) PU, (57.5 ± 15.4) PU vs (12.2 ± 2.5) PU, 均 $P < 0.01$]。免疫组织化学检查显示,CD147 在胆管癌细胞核或间质呈低表达,在细胞膜或细胞质中呈高表达;MMP-7 在胆管癌细胞核或间质呈现无表达或低表达,在细胞质中呈高表达(图 1)。

2.2 MMP-7 和 CD147 表达与胆管癌临床病理特征的关系

MMP-7 和 CD147 表达在胆管癌患者的性别、年龄和有无神经侵犯方面比较,差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$),而 MMP-7 和 CD147 表达在浸润深度、病理分化程度及 TNM 分期方面比较,差异均具有统计学意义(均 $P < 0.05$,表 1)。

表 1 MMP-7 和 CD147 表达与胆管癌患者临床病理特征的关系(PU, $\bar{x} \pm s$)

Table 1 Relationships between the expression of MMP-7 and CD147 and the clinicopathologic parameters of cholangiocarcinoma patients(PU, $\bar{x} \pm s$)

临床病理特征	例数	CD147	P 值	MMP-7	P 值
性别					
男	95	33.2 ± 7.9	0.612	56.1 ± 12.9	0.589
女	14	34.2 ± 9.8		58.6 ± 17.9	
年龄					
≤60 岁	82	34.5 ± 10.2	0.805	55.8 ± 17.5	0.982
>60 岁	27	33.7 ± 7.1		56.2 ± 11.5	
浸润深度					
T1 ~ T2	58	29.8 ± 9.2	0.005	54.8 ± 14.7	0.015
T3 ~ T4	51	37.8 ± 9.1		61.1 ± 16.1	
有无神经侵犯					
有	87	34.4 ± 10.3	0.214	57.8 ± 17.1	0.816
无	22	29.5 ± 5.2		58.6 ± 10.5	
病理分化程度					
高	54	25.5 ± 6.1	0.005	44.8 ± 8.5	0.005
中	36	36.8 ± 2.9		62.8 ± 11.5	
低	19	47.5 ± 1.1		77.8 ± 3.1	
TNM 分期					
I ~ II 期	81	32.2 ± 9.6	0.015	53.8 ± 15.8	0.010
III ~ IV 期	28	39.5 ± 8.3		67.8 ± 5.5	

3 讨论

胆管癌属于消化系统内常见的恶性肿瘤,多发于 50 ~ 70 岁,且以男性为主。目前胆管癌的病因尚不明确,胆管癌发生的基础是因感染影响产生的慢

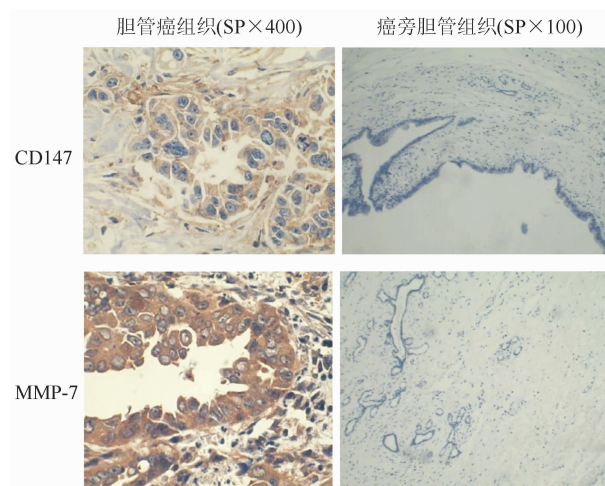


图 1 CD147 和 MMP-7 在胆管癌组织和癌旁正常胆管组织中的表达

Fig. 1 Expression of CD147 and MMP-7 in cholangiocarcinoma and adjacent normal bile duct tissues

性炎症反应及胆管慢性炎症反应的刺激。而近年来有研究显示,胆管癌的发生与丙型肝炎及乙型肝炎也可能存在一定的关系^[9]。据肿瘤的生长部位,可将胆管癌分为下段、中段和上段胆管癌。其病理形态可分为乳头状癌、弥漫性癌及结节状癌^[10]。基质

金属蛋白酶-1 和基质金属蛋白酶-2 等均可由 CD147 在体外诱导成纤维细胞合成。通过对肿瘤和 CD147 更进一步的研究发现,CD147 在多种恶性肿瘤中均高表达^[11]。CD147 参与促进乳腺癌肿瘤细胞的生长、浸润及转移。MMP-7 在乳腺癌、前列腺癌及肺癌等肿瘤中也呈高表达,能促进肿瘤细胞及肿瘤血管的生长及生成,在一定程度上可促进肿瘤细胞的浸润及转移。MMP-7 的表达在恶性肿瘤中随着浸润深度的增加而增加^[12]。

本研究结果显示,胆管癌组织中表达 CD147 和 MMP-7。其表达在患者浸润深度、病理分化程度及 TNM 分期方面比较,差异均具有统计学意义(均 $P < 0.05$),且趋势相同,提示 CD147 和 MMP-7 之间存在着某种关联。本研究结果表明,CD147 和 MMP-7 的表达与肿瘤的发生、发展和预后均有相关。联合 CD147 和 MMP-7 的检测对胆管癌患者早期诊断、治疗及预后可能具有较高的临床价值。

参考文献:

[1] Han YH, Gao B, Huang JH, et al. Expression of CD147, PCNA, VEGF, MMPs and their clinical significance in the giant cell tumor of bones[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(7):8446-8452.

[2] Wang W, Belosay A, Yang X, et al. Effects of letrozole on breast cancer micro-metastatic tumor growth in bone and lung in mice inoculated with murine 4T1 cells[J]. Clin Exp Metastas, 2016, 33(5):475.

[3] 万宗森, 张 斌, 肖 俊, 等. 转录因子 Brachyury 上调基质金属蛋白酶与促进肺癌细胞转移的机制研究 [J]. 南昌大学学报(医学版), 2017, 57(1):13-18.

[4] 易为民, 彭 创, 厉 鸥, 等. 胆管细胞癌细胞 CD147 表达及其临床意义 [J]. 实用肝脏病杂志, 2017, 20(1):97-100.

[5] Bakar F, Kilic-Kurt Z, Caglayan MG, et al. The effects of 1,3,5-trisubstituted indole derivatives on cell growth, apoptosis and MMP-2/9 mRNA expression of MCF-7 human breast cancer cells [J]. Anticancer Agents Med Chem, 2016, 16(999):1.

[6] 谢芝芝, 毛 强, 余金芸, 等. 华支睾吸虫重组 14-3-3ε 蛋白对胆管癌 CCLP-1 细胞迁移侵袭的作用研究 [J]. 热带医学杂志, 2015, 15(5):571-575.

[7] 孙延豹, 王军燕, 方 春, 等. 肝包膜凹陷征在邻表面肝脏恶性肿瘤诊断中的价值研究 [J]. 实用肿瘤杂志, 2015, 30(4):356-359.

[8] 周 萍, 付 勇, 高文华, 等. CD147 和 EGFR 蛋白表达与胃癌转移和预后的关系 [J]. 国际肿瘤学杂志, 2016, 43(3):184-187.

[9] 周志鹏, 于牧川, 谭向龙, 等. MMP 诱导因子 CD147 和 MMP-9 在胆囊癌组织中的表达及其意义 [J]. 中国现代普通外科进展, 2016, 19(7):543-546.

[10] 马 鹏, 冯 俊, 彭 涛. 基质金属蛋白酶-7 在鼻咽癌中的表达及其与肿瘤侵袭转移的相关性研究 [J]. 西部医学, 2017, 29(6):769-772.

[11] 冯耀霞, 张 岚, 李群锋, 等. 恶性潜能未定的高分化甲状腺肿瘤中 CK19、Galectin-3、HBME-1 和 TPO 的表达及意义 [J]. 实用肿瘤杂志, 2017, 32(4):362-366.

[12] Huang L, Xu A, Peng Q. CD147 and MMP-9 expressions in type II/III adenocarcinoma of esophagogastric junction and their clinicopathological significances [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(2):1929-1937.



读者 · 作者 · 编者

《实用肿瘤杂志》列为浙江大学国内一级刊物

《实用肿瘤杂志》是由中华人民共和国教育部主管、浙江大学主办的肿瘤专业学术性期刊,已被众多国内外知名数据库收录。目前《实用肿瘤杂志》已被作为浙江大学国内一级刊物统计。感谢大家一直以来对期刊的支持与厚爱!欢迎广大作者与读者继续踊跃投稿及订阅!

本刊编辑部