

MMP-13及HSP-90在肝癌组织中的表达及临床病理价值

寇雪梅^{1*} 冯向东² 陈怡¹ 崔芳¹ 王晓枫¹ 董秋艳³

(¹中国人民武装警察部队北京市总队医院, 检验病理科, 北京 100027; ²首都医科大学附属北京复兴医院, 病理科, 北京 100038; ³中国人民武装警察部队北京市总队医院, 特色专业二科, 北京 100027)

摘要 该研究探讨基质金属蛋白酶-13(MMP-13)和热休克蛋白-90(HSP-90)在肝癌组织中的表达及临床病理价值。收集160例肝癌组织和160例非肝癌组织, 采用免疫组化法检测MMP-13、HSP-90α、HSP-90β表达水平, 并采用RT-PCR法测定MMP-16、HSP-90α、HSP-90β mRNA表达水平。对比检测结果, 并分析MMP-13、HSP-90α、HSP-90β表达与肝癌临床病理特征的相关性。与非肝癌组织相比, 肝癌组织的MMP-13、HSP-90α、HSP-90β阳性率明显更高($P<0.05$); 非肝癌组织中, 肝炎组织和肝硬化组织的MMP-13、HSP-90α、HSP-90β阳性率均明显高于正常肝组织($P<0.05$), 而肝炎组织和肝硬化组织的HSP-90α、HSP-90β阳性率接近($P>0.05$)。肝癌组织中HSP-90α、HSP-90β与MMP-13表达均呈正相关关系($r=0.527$ 、 0.561 , $P<0.05$)。不同病理类型、TNM分期肝癌组织的MMP-13、HSP-90α、HSP-90β阳性率比较, 差异均无统计学意义($P>0.05$); 不同分化程度肝癌组织的MMP-13、HSP-90α、HSP-90β阳性率比较, 低分化肝癌组织的MMP-13、HSP-90α、HSP-90β阳性率显著高于中分化、高分化肝癌组织($P<0.05$)。有包膜受累-门脉癌栓的肝癌组织, 其MMP-13、HSP-90α、HSP-90β阳性率均显著高于无包膜受累-门脉癌栓肝癌组织($P<0.05$)。不同分化程度、不同TNM分期肝癌组织的MMP-16、HSP-90α、HSP-90β mRNA表达水平比较, 低分化肝癌组织的MMP-16、HSP-90α、HSP-90β mRNA表达水平随着分化程度的升高而降低, 随着TNM分期的升高而升高, 并且有包膜受累-门脉癌栓肝癌组织的MMP-16、HSP-90α、HSP-90β mRNA表达水平明显高于无包膜受累-门脉癌栓肝癌组织($P<0.05$)。HSP-90α、HSP-90β和MMP-13在肝癌组织中的表达明显上调, 并且其与门脉癌栓、组织分化等临床病理特征紧密相关。

关键词 基质金属蛋白酶-13; 热休克蛋白-90; 肝癌; 组织分化; 门静脉癌栓

Expression of MMP-13 and HSP-90 in Hepatocellular Carcinoma and Their Clinicopathological Values

KOU Xuemei^{1*}, FEGN Xiangdong², CHEN Yi¹, CUI Fang¹, WAGN Xiaofeng¹, DONG Qiuyan³

(¹Department of Pathology, Beijing General Team Hospital of the Chinese People's Armed Police Force, Beijing 100027, China;

²Department of Pathology, Beijing Fuxing Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100027, China;

³Chinese people's Armed Police Force Beijing General Hospital Ophthalmology, Beijing 100027, China)

Abstract This study was to investigate the expression of MMP-13 (matrix metalloproteinase-13) and HSP-90 (heat shock protein-90) in HCC (hepatocellular carcinoma) and their clinicopathological values. Totally 160 tissues of hepatocellular carcinoma and 160 tissues of non-hepatocellular carcinoma were collected. The expression levels

收稿日期: 2020-05-15 接受日期: 2020-08-11

*通讯作者。Tel: 15001116069, E-mail: 76174737@qq.com

Received: May 15, 2020 Accepted: August 11, 2020

*Corresponding author. Tel: +86-15001116069, E-mail: 76174737@qq.com

URL: <http://www.cjcb.org/arts.asp?id=5361>

of MMP-13, HSP-90 α and HSP-90 β were detected by immunohistochemistry, and the expression levels of *MMP-16*, *HSP-90 α* and *HSP-90 β* mRNA were measured by RT-PCR. The correlation between the expression of MMP-13, HSP-90 α and HSP-90 β and the clinicopathological characteristics of HCC were analyzed. Compared with non-HCC tissues, the positive rates of MMP-13, HSP-90 α and HSP-90 β in HCC tissues were significantly higher ($P<0.05$); in non-HCC tissues, the positive rates of MMP-13, HSP-90 α and HSP-90 β in hepatitis and cirrhosis tissues were significantly higher than those in normal liver tissues ($P<0.05$), while the positive rates of HSP-90 α and HSP-90 β in hepatitis and cirrhosis tissues were similar ($P>0.05$). There was a positive correlation between the expression of HSP-90 α , HSP-90 β and MMP-13 ($r=0.527, 0.561, P<0.05$). The positive rates of MMP-13, HSP-90 α and HSP-90 β in different pathological types and TNM stages of HCC tissues were not significantly different ($P>0.05$); the positive rates of MMP-13, HSP-90 α and HSP-90 β in differentiated hepatocellular carcinoma tissues were significantly different. The positive rates of MMP-13, HSP-90 α and HSP-90 β in poorly differentiated hepatocellular carcinoma tissues were significantly higher than those in moderately differentiated and highly differentiated hepatocellular carcinoma tissues ($P<0.05$). The positive rates of MMP-13, HSP-90 α and HSP-90 β in hepatocellular carcinoma with capsular involvement-portal vein cancer thrombus were significantly higher than those in hepatocellular carcinoma without capsular involvement-portal vein cancer thrombus ($P<0.05$). The expression levels of *MMP-16*, *HSP-90 α* and *HSP-90 β* mRNA in different differentiation degree and TNM stage HCC tissues were significantly different. The expression levels of *MMP-16*, *HSP-90 α* and *HSP-90 β* mRNA decreased with the increase of differentiation degree, and increased with the increase of TNM stage. The expression levels of *MMP-16*, *HSP-90 α* and *HSP-90 β* mRNA in HCC tissues with capsule involvement-portal vein tumor thrombus were significantly higher than those without TNM stage capsule involvement-portal vein tumor thrombus ($P<0.05$). The expressions of HSP-90 α , HSP-90 β and MMP-13 in hepatocellular carcinoma tissues are significantly up-regulated, and they are closely related to clinicopathological features such as portal vein cancer thrombus and tissue differentiation.

Keywords matrix metalloproteinase-13; heat shock protein-90; HCC; tissue differentiation; portal vein cancer thrombus

原发性肝癌是临床发病率较高的一种恶性肿瘤,在我国恶性肿瘤中的发病率排在第三位,仅次于肺癌和胃癌,是危害人类健康的重大疾病^[1]。研究认为,基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)与肿瘤血管生长有着密切关联,其在肿瘤的生长、转移与侵袭过程中发挥着正向作用^[2]。MMP-13为MMPs家族成员,其具有广泛的、专一的酶作用底物,能够对细胞外基质中的水凝胶、胶原、纤维连接素、聚合素等发挥降解作用,有报道指出,多种肿瘤的侵袭、转移都与MMP-13相关。热休克蛋白(heat shock protein, HSP)为结构高度保守的蛋白质,其在蛋白的转运、折叠过程中均有参与,同时还有助于维持蛋白质的免疫应答与自身稳定^[3]。机体在应激状态下, HSP能够结合靶蛋白形成复合体,调节靶蛋白活性,从而增强细胞的应激耐受性。热休克蛋白-90(HSP-90)是HSP家族重要的成员之一,其在多种肿瘤的生长、发展过程中均有参与,其能

通过结合客户蛋白来促进细胞的生长与增殖。为了解MMP-13与HSP-90在肝癌组织的表达特征,及其与临床病理特征的关系,本研究对肝癌组织和非肝癌组织进行了MMP-13、HSP-90表达检测,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 标本来源

收集本院2015年3月至2019年3月行手术切除的肝癌组织与非肝癌组织标本320例(各160例)。其中肝癌组织标本中,男46例,女34例,年龄30~81岁,中位年龄53.5岁。肿瘤分化程度:低分化72例,中分化44例,高分化44例。肝癌TNM分期:I期8例、II期70例、III期80例、IV期2例。肝细胞癌144例、肝内胆管癌10例、混合型肝癌6例;低分化72例、中分化44例、高分化44例,其中62例有包膜受累-门脉癌栓。非肝癌组织标本中,男82例,女78例,年龄35~84岁,中位年龄55.2岁,其中正

常肝组织56例, 肝炎组织56例, 肝硬化组织48例。纳入标准: 肝癌病例均为初诊患者; 手术标本经2名及2名以上经验丰富的病理医师诊断; 检测前未接受放化疗及其他生物治疗; 临床病例资料完整; 无其他肿瘤。排除标准: 肝癌复发或转移者; 合并其他肿瘤者。本研究均获得了患者本人及家属的知情同意书, 并通过了本院医学伦理委员会审查批准。

1.2 方法

1.2.1 主要试剂 免疫组化相关试剂: 一抗鼠抗人HSP-90 α 和HSP-90 β 单克隆抗体购自美国Abcam公司; 鼠抗人MMP-13单克隆抗体购自美国Lab Vision公司; SP超敏免疫组化试剂盒、DAB试剂盒购自福州迈新生物技术公司; 苏木素购自北京益力精细化学有限公司。

RT-PCR相关试剂: RNA later组织保存液购自美国Ambion公司; Trizol试剂购自美国Invitrogen公司; cDNA合成试剂盒、PCR反应试剂盒购自Thermo公司; 琼脂糖凝胶、50 $\times$ TAE缓冲液购自上海泰因生物技术有限公司。

1.2.2 免疫组化检测 检测方法: 石蜡切片, 脱蜡、水化。使用柠檬酸缓冲液进行组织抗原热修复, 时间30 min。自然冷却到室温, 使用PBS洗涤3次, 3 min/次。洗涤后, 使用内源性过氧化物酶阻断剂覆盖组织, 室温孵育20 min。再使用PBS洗涤3次, 3 min/次。洗涤后加入动物非免疫血清, 室温封闭20 min。去除封闭液, 加入MMP-13、HSP-90 α 、HSP-90 β 抗体, 放入保湿盒中, 在4 $^{\circ}$ C环境下过夜孵育。PBS洗涤3次, 3 min/次, 去除PBS, 加入二抗羊抗鼠标记的IgG, PBS洗涤5次, 3 min/次。去除PBS, 加入链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶, 室温孵育10 min。PBS洗涤3次, 3 min/次。去除PBS, 加入DAB显色液。在显微镜下观察组织显色情况, 自来水冲洗终止。苏木素复染5 min, 盐酸酒精分色, 自来水冲洗。梯度酒精脱水干燥, 使用中性树脂封片。

结果判断: 染色结构完整、染色对比清除、定位明确, 细胞质呈棕黄色判定为阳性结果。根据阳性细胞在切片内全部细胞中的占比分为阴性、弱阳性、中阳性、强阳性。切片内未发现阳性细胞的为阴性; 阳性细胞占比小于33%为弱阳性; 阳性细胞占比在34%~66%为中阳性; 阳性细胞占比大于66%为强阳性。阳性包括强阳性和中阳性; 阴性包括阴性和弱阳性。

1.2.3 RT-PCR检测 (1)检测方法: 取100 g待检组织, 加入Trizol试剂进行研磨获得破裂细胞。在样品中加入0.2 mL氯仿, 冰上静置3 min。将加入氯仿的Trizol试剂与样品颠倒混合均匀, 离心15 min, 然后吸取上清液, 将上层水相转移到另一EP管中, 加入相等体积的异丙醇, 颠倒混合均匀并静置10 min。离心10 min, 弃上清液, 获得附着在管壁和管底的凝胶样物质, 即为RNA沉淀。在RNA沉淀中加入预冷的乙醇(75%), 重复离心, 弃上清液, 空气干燥10 min, 最后使用DEPC水溶解沉淀, 保存待检。取少量RNA样品, 使用100倍的DEPC水对样品进行稀释, 使用紫外分光光度计读取 D 值。根据260 nm、280 nm下的 D 值计算 D_{260}/D_{280} 比值, 以估算RNA纯度。根据公式 $D_{260} \times \text{稀释倍数} \times 40$ 计算出RNA浓度。合成cDNA后进行RT反应, 产物做PCR反应。引物序列: HSP-90 α 上游5'-GAA CTG GCG GAA GAT AAA GAG A-3', HSP-90 α 下游5'-TCT GGT TCT CCT TCA TTC TGG T-3'; HSP-90 β 上游5'-TGG TGT TGG CTT TTA TTC TGC-3', HSP-90 β 下游5'-CTA CTT CTT TGA CCC GCC TCT-3'; MMP-13上游5'-GGG ACT TTG TTG AGG GCT AT-3', MMP-13下游5'-CTG GCG AGA TGG AGG TGT-3'; GAPDH上游5'-CAA GGT CAT CCA TGA CAA CTT TG-3', GAPDH下游5'-GTC CAC CAC CCT GTT GCT GTA G-3'。PCR反应结束后, 取6 μ L样品与2 μ L溴酚蓝缓冲液换混合, 加入琼脂糖凝胶, 电泳35 min后观察结果。

(2)结果判读: 通过Trizol法提取组织中的mRNA, 逆转录PCR扩增出基因片段, 再使用凝胶成像系统软件测定样本目的片段、GAPDH的灰度值, 最后计算出目的片段与GAPDH的灰度值比值。

1.3 统计学方法

研究数据运用SPSS 20.0软件进行处理, 计数资料(%)比较进行 χ^2 检验, 计数结果以($\bar{x} \pm s$)表示, 数据比较进行方差分析或 t 检验, 相关数据关系分析做Spearman相关性检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肝癌组织与非肝癌组织中的MMP-13、HSP-90 α 、HSP-90 β 表达情况

与非肝癌组织相比, 肝癌组织的MMP-13、HSP-90 α 、HSP-90 β 阳性率明显更高($P < 0.05$); 非

肝癌组织中, 肝炎组织和肝硬化组织的MMP-13、HSP-90 α 、HSP-90 β 阳性率均明显高于正常肝组织($P<0.05$), 而肝炎组织和肝硬化组织的HSP-90 α 、HSP-90 β 阳性率接近($P>0.05$)(表1)。

2.2 肝癌组织中HSP-90 α 、HSP-90 β 表达与MMP-13表达的关系

对肝癌组织中的HSP-90 α 、HSP-90 β 表达与MMP-13表达分别做Spearman相关性检验, 结果显示, 肝癌组织中HSP-90 α 表达与MMP-13表达变化一致, 两者呈正相关关系($r=0.527$, $P<0.05$); 肝癌组织中HSP-90 β 表达与MMP-13表达也呈正相关($r=0.561$, $P<0.05$)。

2.3 MMP-13表达与临床病理特征的关系

不同病理类型、TNM分期肝癌组织的MMP-13

阳性率比较, 差异均无统计学意义($P>0.05$); 不同分化程度肝癌组织的MMP-13阳性率比较有显著性差异, 低分化肝癌组织的MMP-13阳性率显著高于中分化、高分化肝癌组织($P<0.05$)。有包膜受累-门脉癌栓的肝癌组织, 其MMP-13阳性率显著高于无包膜受累-门脉癌栓肝癌组织($P<0.05$)(表2)。

2.4 HSP-90 α 、HSP-90 β 表达与临床病例特征的关系

不同病理类型、TNM分期肝癌组织的HSP-90 α 、HSP-90 β 阳性率比较, 差异均无统计学意义($P>0.05$); 不同分化程度肝癌组织的HSP-90 α 、HSP-90 β 阳性率比较有显著性差异, 低分化肝癌组织的HSP-90 α 、HSP-90 β 阳性率均显著高于中分化、高分化肝癌组织($P<0.05$)。有包膜受累-门脉癌栓的

表1 肝癌组织与非肝癌组织中的MMP-13、HSP-90 α 、HSP-90 β 表达情况

Table 1 Expression of MMP-13, HSP-90 α and HSP-90 β in HCC and non HCC tissues

组别 Group	例数 <i>n</i>	MMP-13[n(%)]		HSP-90 α [n(%)]		HSP-90 β [n(%)]	
		阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
		Positive	Negative	Positive	Negative	Positive	Negative
HCC tissue	160	148 (92.50%)	12 (7.50%)	132 (82.50%)	28 (17.50%)	136 (85.00%)	24 (15.00%)
Non-HCC tissue	160	26 (16.25%)*	134 (83.75%)	30 (18.75%)*	130 (81.25%)	68 (42.50%)*	92 (57.50%)
Normal	56	6 (10.71%)*	50 (89.29%)	8 (14.29%)*	48 (85.71%)	12 (21.43%)*	44 (78.57%)
Hepatitis	58	10 (17.86%)*	46 (82.14%)	12 (21.43%)*	44 (78.57%)	20 (35.71%)	36 (64.29%)*
Cirrhosis	48	10 (20.83%)*	38 (79.17%)	10 (20.83%)*	38 (79.17%)	14 (29.17%)*	34 (70.83%)
χ^2		10.254		7.331		8.014	
<i>P</i>		<0.05		<0.05		<0.05	

* $P<0.05$, 与肝癌组织比较。

* $P<0.05$ compared with HCC tissue.

表2 肝癌组织中MMP-13表达与临床病理特征的关系

Table 2 Relationship between the expression of MMP-13 and clinicopathological features in HCC tissues

临床病理特征 Pathological features	例数 <i>n</i>	MMP-13[n(%)]		χ^2	<i>P</i>
		阳性	阴性		
		Positive	Negative		
Pathological type	Hepatocellular carcinoma	144	134 (93.06%)	1.005	>0.05
	Intrahepatic cholangiocarcinoma	10	8 (80.00%)		
	Mixed hepatocellular carcinoma	6	6 (100.00%)		
Differentiation degree	Low	72	72 (100.00%)	5.214	<0.05
	Middle	44	38 (86.36%)		
	High	44	38 (86.36%)		
TNM stages	I stage	8	8 (100.00%)	2.117	>0.05
	II stage	70	64 (91.43%)		
	III stage	80	74 (92.50%)		
	IV stage	2	2 (100.00%)		
Capsule involvement portal vein tumor thrombus	Yes	62	62 (100.00%)	6.054	<0.05
	No	98	86 (87.76%)		

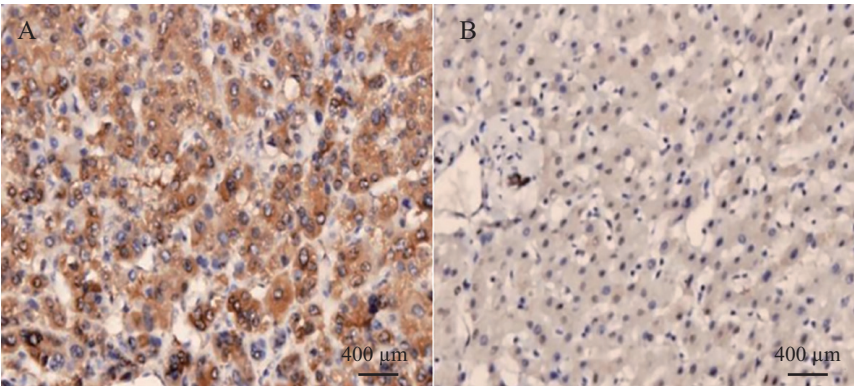
肝癌组织, 其HSP-90 α 、HSP-90 β 阳性率显著高于无包膜受累-门脉癌栓肝癌组织($P<0.05$)(表3)。不同分化程度腺癌组织中HSP-90 α 蛋白及HSP-90 β 蛋白阳性表达的镜下表现如图1和图2所示。

2.5 肝癌组织MMP-16、HSP-90 α 、HSP-90 β mRNA表达与临床病理特征的关系

不同级别肝癌组织中的HSP-90 α 、HSP-90 β mRNA表达情况如图3和图4所示。RT-PCR检测结

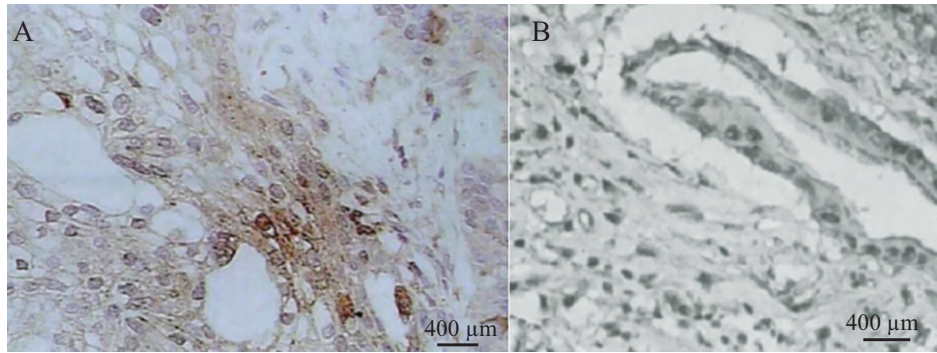
果显示: 不同病理类型肝癌组织的MMP-16、HSP-90 α 、HSP-90 β mRNA表达水平接近($P>0.05$)。不同分化程度、不同TNM分期肝癌组织的MMP-16、HSP-90 α 、HSP-90 β mRNA表达水平比较有显著性差异, MMP-16、HSP-90 α 、HSP-90 β mRNA表达水平随着分化程度的升高而降低, 随着TNM分期的升高而升高, 并且有包膜受累-门脉癌栓肝癌组织的MMP-16、HSP-90 α 、HSP-90 β mRNA表达水平明显高于无包

Table 3 Relationship between the expression of HSP-90 α , HSP-90 β and clinicopathological features in HCC tissues										
临床病理特征		例数 <i>n</i>	HSP-90 α [<i>n</i> (%)]		χ^2	<i>P</i>	HSP-90 β [<i>n</i> (%)]		χ^2	<i>P</i>
Pathological features			阳性 Positive	阴性 Negative			阳性 Positive	阴性 Negative		
Pathological type	Hepatocellular carcinoma	144	120 (83.33%)	24 (16.67%)	0.965	>0.05	122 (84.72%)	22 (15.28%)	1.005	>0.05
	Intrahepatic chol- angiocarcinoma	10	8 (80.00%)	2 (20.00%)			8 (80.00%)	2 (20.00%)		
	Mixed hepatocel- lular carcinoma	6	4 (66.67%)	2 (33.33%)			6 (100.00%)	0		
Differentiation degree	Low	72	70 (97.22%)	2 (2.78%)	6.874	<0.05	72 (100.00%)	0	7.552	<0.05
	Middle	44	34 (77.27%)	10 (22.73%)			34 (77.27%)	10 (22.73%)		
	High	44	28 (63.64%)	16 (36.36%)			30 (68.18%)	14 (31.82%)		
TNM stages	I stage	8	8 (100.00%)	0	2.304	>0.05	8 (100.00%)	0	1.774	>0.05
	II stage	70	62 (88.57%)	8 (11.43%)			64 (91.43%)	6 (8.57%)		
	III stage	80	68 (85.00%)	12 (15.00%)			70 (87.50%)	10 (12.50%)		
	IV stage	2	2 (100.00%)	0			2 (100.00%)	0		
Capsule involvement	Yes	62	60 (96.77%)	2 (3.23%)	10.205	<0.05	62 (100.00%)	0	9.874	<0.05
	No	98	72 (73.47%)	26 (26.53%)			74 (75.51%)	24 (24.49%)		
portal vein tu- mor thrombus										



A: 高分化腺癌HSP-90 α 阳性表达; B: 癌旁正常组织HSP-90 α 阴性表达。
A: positive expression of HSP-90 α protein in well differentiated adenocarcinoma; B: negative expression of HSP-90 α protein in normal tissues adjacent to carcinoma.

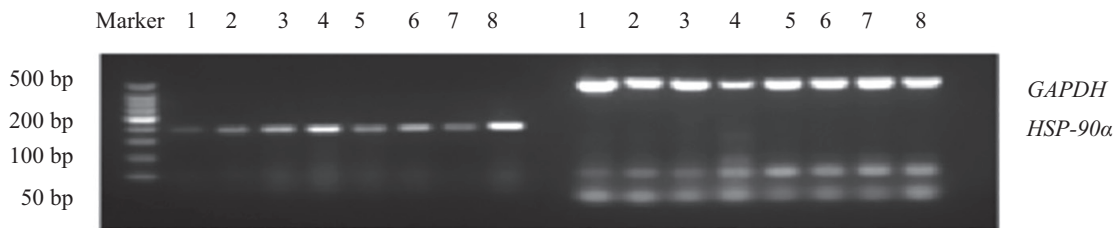
图1 HSP-90 α 蛋白的镜下表现
Fig.1 Microscopic expression of HSP-90 α protein



A: 低分化腺癌HSP-90β阳性表达; B: 癌旁正常组织HSP-90β阴性表达。

A: positive expression of HSP-90β protein in poorly differentiated adenocarcinoma; B: negative expression of HSP-90β protein in normal tissues adjacent to carcinoma.

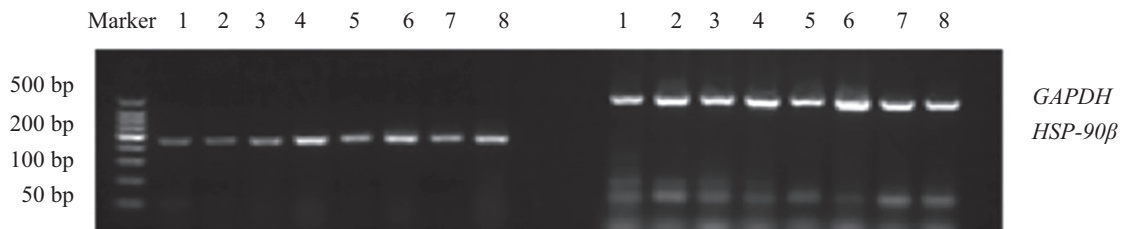
图2 HSP-90β蛋白的镜下表现
Fig.2 Microscopic expression of HSP-90β protein



1: 正常组织; 2: 高分化癌; 3: 中分化癌; 4: 低分化癌; 5: 淋巴结转移阴性; 6: 淋巴结转移阳性; 7: I~II期; 8: III~IV期。

1: normal tissue; 2: highly differentiated carcinoma; 3: moderately differentiated carcinoma; 4: poorly differentiated carcinoma; 5: negative lymph node metastasis; 6: positive lymph node metastasis; 7: stage I-II; 8: stage III-IV.

图3 HSP-90α mRNA在不同级别肝癌组织中的表达情况
Fig.3 Expression of HSP-90α mRNA in different grades of HCC tissues



1: 正常组织; 2: 高分化癌; 3: 中分化癌; 4: 低分化癌; 5: 淋巴结转移阴性; 6: 淋巴结转移阳性; 7: I~II期; 8: III~IV期。

1: normal tissue; 2: highly differentiated carcinoma; 3: moderately differentiated carcinoma; 4: poorly differentiated carcinoma; 5: negative lymph node metastasis; 6: positive lymph node metastasis; 7: stage I-II; 8: stage III-IV.

图4 HSP-90β mRNA在不同级别肝癌组织中的表达情况
Fig.4 Expression of HSP-90β mRNA in different grades of HCC tissues

膜受累-门脉癌栓肝癌组织($P<0.05$)(表4)。

3 讨论

研究显示, 肝癌的复发、转移与细胞外基质、基底膜毁损密切相关, 而MMPs在细胞外基质及基底膜毁损过程中发挥着关键性作用^[4]。MMPs对肿瘤的影响机制主要为: MMPs能够降解细胞外基质, 调节细胞黏附, 促进血管新生, 影响免疫功能, 调节

细胞凋亡等^[5]。MMP-13作为MMPs家族的重要成员, 其具有MMPs家族的所有结构特征, 其能与其他MMPs共同发挥细胞外基质降解作用。研究证实, MMP-13在结肠癌、胃癌、多发性骨髓瘤等多种肿瘤疾病中均呈高表达, 并且与癌细胞侵袭、转移有着密切关联^[6]。有学者采用免疫组化法对正常肺组织、非典型增生肺组织及非小细胞肺癌组织进行检测, 发现MMP-13在非小细胞肺癌组织中的表达水平

表4 肝癌组织MMP-16、HSP-90α、HSP-90β mRNA表达与临床病理特征的关系

Table 4 Relationship between the expression of MMP-16, HSP-90α, HSP-90β mRNA and clinicopathological features in HCC tissues

临床病理特征		例数	MMP-16/	t/F	P	HSP-90α/	t/F	P	HSP-90β/	t/F	P
Pathological features		n	GAPDH			GAPDH			GAPDH		
			mRNA			mRNA			mRNA		
Pathological type	Hepatocellular carcinoma	144	1.50±0.37	0.241	>0.05	0.22±0.12	0.074	>0.05	0.37±0.14	0.024	>0.05
	Intrahepatic cholangiocarcinoma	10	1.63±0.42			0.23±0.11			0.32±0.12		
Pathological type	Hepatocellular carcinoma	6	1.58±0.50			0.21±0.17			0.35±0.11		
Differentiation degree	Low	72	1.82±0.41	12.301	<0.05	0.70±0.22	9.014	<0.05	0.83±0.21	14.902	<0.05
	Middle	44	1.21±0.66			0.52±0.24			0.63±0.18		
	High	44	0.97±0.58			0.14±0.07			0.29±0.14		
TNM stages	I stage	8	0.96±0.38	10.684	<0.05	0.36±0.34	7.958	<0.05	0.31±0.13	15.270	<0.05
	II stage	70	1.25±0.41			0.41±0.29			0.53±0.16		
	III stage	80	1.32±0.84			0.52±0.31			0.60±0.15		
	IV stage	2	1.71±0.96			0.70±0.23			0.79±0.11		
Capsule involvement	Yes	62	1.69±0.63	6.21	<0.05	0.68±0.25	8.901	<0.05	0.73±0.24	9.301	<0.05
	No	98	1.02±0.54			0.29±0.14			0.43±0.33		
portal vein tumor thrombus											

最高, 非典型增生肺组织次之, 正常肺组织最低^[7-8]。由此提示, MMP-13在肺癌的发生发展过程中发挥着重要作用, 并且其表达水平还与肿瘤的临床分期有关。国内有文献报道, 在非小细胞肺癌患者的血清中检测到了MMP-13表达明显升高^[9]。本次研究通过免疫组化法对原发性肝癌组织、正常肝组织、肝炎组织及肝硬化组织的MMP-13表达水平进行了检测, 发现肝癌组织的MMP-13阳性率高达92.50%, MMP-13阳性率明显比非肝癌组织更高, 而在非肝癌组织中, 正常肝组织的MMP-13阳性率要比肝炎组织和肝硬化组织更低。这与国内相关文献报道结论相符, 再次证实了MMP-13在肝癌的生长过程中发挥着重要作用^[10]。

临床研究指出, HSP-90在恶性肿瘤的生长过程中能够通过结合客户蛋白来调控应激信号转导通路、生长信号通路、死亡受体信号转导通路等, 从而影响肿瘤细胞生长与增殖, 其在癌基因通路中发挥着重要作用^[11]。HSP-90α和HSP-90β是HSP-90家族中分布最为广泛的两种异构体, 两者由不同的基因编码, 虽然具有高度同源性, 但其发挥功能差异却非常大。既往有文献指出, HSP-90α在多种恶性肿瘤(如喉癌、胰腺癌等)中呈高表达, 而HSP-90β在肿

瘤中的表达无明显升高, 但是近期也有研究显示, 肿瘤中的HSP-90α和HSP-90β均呈高表达^[12]。肝癌作为临床最为常见的恶性肿瘤之一, HSP-90在肝癌组织中的表达特征广受临床关注。付锋^[13]的报道显示, HSP-90α在肝癌组织中的表达水平较高, 认为HSP-90α可能在肝癌的发生、发展过程中发挥着重要作用。目前, 关于HSP-90α与肝癌关系的研究较多, 关于HSP-90β与肝癌关系的报道则较为少见。国外有研究指出, HSP-90β在肝癌组织中的表达上调, 且HSP-90β表达水平越高者, 临床预后越差^[14]。本次研究结果显示, 肝癌组织中的HSP-90α和HSP-90β阳性率均显著高于正常肝组织、肝炎组织及肝硬化组织, 这说明, HSP-90α和HSP-90β均与肝癌的发生密切相关, 提示HSP-90可能与肝癌的恶性生物学行为有着密切联系, 其能促进肝癌的浸润与侵袭。

本研究通过分析肝癌患者临床病理特征发现: 不同病理类型肝癌组织的MMP-13、HSP-90α、HSP-90β阳性率接近, 而不同分化程度肝癌组织的MMP-13、HSP-90α、HSP-90β阳性率差异显著, 分化程度越低, MMP-13、HSP-90α、HSP-90β阳性率越高, 基因检测结果也显示, MMP-13、HSP-90α、HSP-90β mRNA水平也随着分化程度的增加而降低。许

建功等^[15]的报道指出,食管鳞状细胞癌中HSP-90 α 与MMP-2表达变化一致,有正相关关系。MMP-2与MMP-13同为基质金属酶蛋白家族成员,由此推测HSP-90表达与MMP-13表达可能存在一定联系。本次研究通过相关分析证实,肝癌组织中HSP-90 α 、HSP-90 β 表达与MMP-13表达均有正相关关系,HSP-90表达的变化规律与MMP-13一致。这可能是因为在肿瘤细胞的分化过程中,HSP-90、MMP-13能够抑制细胞的凋亡与分化,其能在肿瘤细胞的增殖过程中发挥促进作用,所以肿瘤细胞中HSP-90、MMP-13的表达与分化程度有一定的负相关关系,张雄杰等^[16]的报道结果也证实了这一说法,提示MMP-13、HSP-90 α 、HSP-90 β 蛋白的高表达与肝癌的生物学行为密切相关,其可能均参与了肝癌的发生与发展过程。结果还显示,有包膜受累-门脉癌栓的肝癌组织,其MMP-13、HSP-90 α 、HSP-90 β 阳性率及mRNA表达水平均显著高于无包膜受累-门脉癌栓肝癌组织。包膜受累-门脉癌栓是肝癌浸润、转移的重要标识,MMP-13、HSP-90 α 、HSP-90 β 表达的升高,说明MMP-13和HSP-90均参与了肝癌的浸润与转移。这可能是因为HSP-90的分泌能够促进肿瘤侵袭,其能够与MMP-13相互作用,促进肿瘤血管形成,加快肿瘤细胞上皮间质化,进而加快肿瘤的侵袭与转移。免疫组化结果显示,不同TNM分期肝癌组织的MMP-13、HSP-90 α 、HSP-90 β 阳性率接近,但mRNA检测结果显示,MMP-13、HSP-90 α 、HSP-90 β mRNA水平却随着TNM分期的升高而升高。免疫组化结果与RT-PCR检测结果并不完全一致,这一方面可能与基因的转录、调控有关,另一方面还可能与本次研究收集的样本数较少,倚倚较大有关。

综上所述,HSP-90 α 、HSP-90 β 和MMP-13在肝癌组织中的表达明显上调,并且其与门脉癌栓、组织分化等临床病理特征紧密相关,临床在进行肝癌诊断时可参考HSP-90 α 、HSP-90 β 及MMP-13表达水平,以提高诊断准确性。另外,临床也可将HSP-90、MMP-19作为治疗肝癌的新靶点,通过应用HSP-90抑制剂和MMPs抑制剂降低HSP-90、MMP-13表达,以增强抗肿瘤效果。

参考文献 (References)

[1] 相迪,戴建国.原发性肝癌的综合治疗研究进展[J].山东医药(XIANG D, DAI J G. Advance of comined therapy in treating

primary liver cancer [J]. China Oncol), 2017, 57(20): 111-2.

[2] 严树宏,严腾超,胡刚,等.基质金属蛋白酶-9血管内皮生长因子及肿瘤标志物对肺癌病理分型分期的应用价值[J].中国药物与临床(YAN H S, YAN T C, HU G, et al. Application value of matrix metalloproteinase-9 vascular endothelial growth factor and tumor markers in pathological classification and staging of lung cancer [J]. Chinese Remedies Clin), 2019, 19(14): 2442-4.

[3] 蒋琼慧,杨平,姬广辉,等.热休克蛋白90 α 在索拉非尼治疗的原发性肝细胞癌中的表达及临床意义[J].临床肿瘤学杂志(JIANG Q H, YANG P, JI G H, et al. Expression and clinical significance of heat shock protein 90 α in hepatocellular carcinoma treated with sorafenib [J]. Chinese Clin Oncol), 2019, 24(5): 423-7.

[4] 杨锡彤,秦燕,王光明,等.MMPs和TIMPs与肿瘤关系的研究进展[J].广东医学(YANG X T, QIN Y, WANG G M, et al. Research progress on the relationship between MMPs, TIMPs and tumor [J]. Guangdong Med J), 2018, 39(16): 2538-41.

[5] 吴伟东,罗磊,丁锋.肺癌相关基质金属蛋白酶研究进展[J].山东医药(WU W D, LUO L, DING F. Research progress of matrix metalloproteinases associated with lung cancer [J]. Shandong Med J), 2018, 58(13): 93-6.

[6] 周银锁,范文兵.基质金属蛋白酶-13、基质金属蛋白酶-14和组织蛋白酶D在结肠癌中的表达及意义[J].国际免疫学杂志(ZHOU Y S, FANG W B. Expression and significance of matrix metalloproteinase-13, matrix metalloproteinase-14 and Cathepsin D in colon cancer [J]. Int J Immunol), 2018, 41(1): 27-31.

[7] 杨阳,张舒,周思琦,等.BRD4和MMP-13在胃癌中的表达及其临床意义[J].胃肠病学(YANG Y, ZHANG S, ZHOU S Q, et al. Expression and clinical significance of BRD4 and MMP-13 in gastric cancer [J]. Chinese J Gastroenterol), 2018, 23(7): 395-9.

[8] LORETO C, LOMBARDO C, CALTABIANO R, et al. Immunohistochemical expression and localization of MMP-9, MMP-13, E-Cadherin and Ki-67 in road pavers' skin chronically exposed to bitumen products [J]. Histol Histopathol, 2019, 34(10): 1141-50.

[9] 黄佳滨,李爽,王凤玲,等.MMP-13和MMP-9在非小细胞肺癌中的临床意义及表达[J].微量元素与健康研究(HUANG J B, LI S, WANG F L, et al. Clinical significance and expression of MMP-13 and MMP-9 in non-small cell lung cancer [J]. Studies Trace Elements Health), 2017, 34(5): 77-8.

[10] 张洪海,孙玉,刘芳,等.肝细胞癌患者血浆基质金属蛋白酶的检测及临床意义[J].临床肝胆病杂志(ZHANG H H, SUN Y, LIU F, et al. Determination and clinical significance of plasma matrix metalloproteinase in patients with hepatocellular carcinoma [J]. J Clin Hepatol), 2019, 35(4): 131- 5.

[11] CASTAGNOLA P, BELLESE G, BIROCCCHI F, et al. Identification of an HSP90 modulated multi-step process for ERBB2 degradation in breast cancer cells [J]. Oncotarget, 2017, 7(51): 85411-29.

[12] 张智光,任民,胡芸海,等.NSCLC组织中MMP-9、bcl-2及HSP 90 α 表达及其临床意义[J].医学临床研究(ZHANG Z G, REN M, HU Y H, et al. Expression of MMP-9, bcl-2, and the HsP90 α protein in non-small cell lung cancer tissues and its clinical significance [J]. J Clin Res), 2017, 34(1): 36-8.

[13] 付锋.HSP90 α 联合肿瘤标志物在早期肝癌诊断的应用研究[J].现代消化及介入诊疗(FU F. Application of Hsp90 α combined with tumor markers in the diagnosis of early hepatocellular carcinoma [J]. Modern Digestion Int), 2017, 22(6): 856-8.

- [14] MENG J, LIU Y, HAN J, et al. Hsp90 β promoted endothelial cell-dependent tumor angiogenesis in hepatocellular carcinoma [J]. *Mol Cancer*, 2017, 16(1): 72.
- [15] 许建功, 李庆军, 赵宾. 食管鳞状细胞癌中热休克蛋白90 α 和基质金属蛋白酶-2的表达及意义[J]. 中国实用医刊(XU J G, LI Q J, ZHAO B. Expression and clinical significance of HSP 90 α and MMP-2 in esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Chinese J Practical Med*), 2009, 36(2): 14-8.
- [16] 张雄杰, 丁佑铭. TACE对肝癌组织中MMP-2和MMP-9表达及其预后的影响[J]. 实用癌症杂志(ZHANG X J, DING M Y. Effect of TACE on MMP-2 and MMP-9 expression and prognosis of liver cancer [J]. *Practical J Cancer*), 2017, 32(1): 30-3.