

• 临床医学 •

文章编号: 1002-0217(2016) 06-0537-03

MMP-2 的表达及微血管密度与乳腺癌淋巴结转移的关系

任俊玲¹, 王亚兵², 陈 斌²

(1. 芜湖市第一人民医院 普外科, 安徽 芜湖 241000; 2. 皖南医学院第一附属医院 弋矶山医院 甲乳外科, 安徽 芜湖 241001)

【摘要】目的: 探讨乳腺癌组织中基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinase-2, MMP-2) 的表达及微血管密度(microvessel density, MVD) 与乳腺癌生物学特性的相关性。方法: 采用免疫组织化学方法检测 62 例乳腺癌组织中 MMP-2 和 MVD(CD34) 表达。结果: 淋转组 MMP-2 的阳性表达率(74%)、表达强度及 MVD 值(48.05±13.49) 明显高于非淋转组($P<0.05$); MVD 值在 MMP-2 不同表达中存在差异; MMP-2 的表达和 MVD 的含量在不同乳腺癌 TNM 分期中存在差异。结论: MMP-2 可通过促进降解细胞外基质、促进乳腺癌新生血管形成而促进乳腺癌的进展, MMP-2 及 MVD 在乳腺癌发展及转移中可能发挥重要作用。

【关键词】乳腺癌; 基质金属蛋白酶-2; 微血管密度

【中图分类号】R 737.9 **【文献标识码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2016.06.008

MMP-2 expression, microvessel density and metastasis of lymph node in breast cancer

REN Junling, WANG Yabing, CHEN Bin

Department of Surgery, Wuhu No.1 People's Hospital, Wuhu 241000, China

【Abstract】Objective: To investigate the relationship between matrix metalloproteinase-2(MMP-2) expression, microvessel density(MVD) and the biological property in breast carcinoma. **Methods:** Immunohistochemistry was used to detect MMP-2 expression and MVD in the breast cancer tissues obtained from 62 patients. **Results:** Patients with lymph node metastasis had significantly higher positive rate of MMP-2(74%) and MVD(48.05±13.49) than those without lymph node involvement($P<0.05$). MVD value varied to a certain extent in diverse MMP-2 expression, and MMP-2 expression and MVD content were distinct in patients with diverse TNM staging for breast cancer. **Conclusion:** MMP-2 may promote the progression of breast cancer through hastening the degradation of extracellular matrix and accelerating neovascularization, suggesting that MMP-2 and MVD play critical part in the development and lymph node metastasis of breast carcinoma.

【Key words】breast carcinoma; matrix metalloproteinase-2; microvessel density

乳腺癌是女性中位列第一的恶性肿瘤,是危害妇女身心健康的常见疾病^[1]。肿瘤血管密度与肿瘤的增殖、生长、侵袭转移直接相关,也和多种细胞因子的作用相关。基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinase-2, MMP-2) 是 MMPs 的一员,它在肿瘤的浸润转移中起重要作用,研究提示其可通过降解细胞基底膜和细胞外基质,促进新生血管发生^[2]。本文采用免疫组化法检测淋转组和非淋转组乳腺癌组织中的 MVD 值和 MMP-2 表达,为阐述其在乳腺癌淋巴结发生转移中的生物学意义提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 62 例皖南医学院弋矶山医院甲乳外科 2008 年 1 月~2010 年 12 月收治并行乳腺癌改良根治术的患者,根据病理有无淋巴结转移分成两组,淋转组 38 例,非淋转组 24 例。年龄 32~68 岁,中位年龄 49 岁,均为女性。全组病例经病理确诊,包块浸润性小叶癌 3 例,浸润性导管癌 50 例,其他 9 例。

1.2 标本及试剂 标本用 10% 甲醛固定,石蜡包埋、切片。试剂: 标记的山羊抗兔 IgG、兔抗人 MMP-2 多克隆抗体、生物素标记的羊抗鼠 IgG、鼠抗人

基金项目: 安徽省卫生厅医学科研项目(09B132)

收稿日期: 2016-07-15

作者简介: 任俊玲(1982-), 女, 主治医师, 硕士(电话) 15357886268(电子信箱) 94366511@qq.com;

王亚兵, 主任医师(电子信箱) Wangeb3@sina.com 通信作者。

CD34 单克隆抗体均购自福州迈新公司; DAB 显色试剂盒由北京中衫金桥公司提供。

1.3 检测方法 采用免疫组织化学法(SABC 法) , 将标本 4 μm 厚切片 , 常规脱蜡 , 去除内源性过氧化物酶 , 微波修复抗原 , 分别滴加 MMP-2 和 CD34 40℃ 过夜 , 同时 , 用不加一抗的切片作阴性对照 , 滴加生物素化二抗工作液 , 滴加三抗 SABC 试剂 DAB 显色 , 苏木精轻度复染 , 中性树胶封片 , 显微镜下观察。

1.4 结果 染色后 400 高倍视野下 , 观察 10 个视野 , 阳性表现为胞质内出现棕黄色颗粒 , 每个视野选 100 个肿瘤细胞 , 按肿瘤细胞中阳性比例计算百分率 , <10% 为阴性(-) ; 10% ~ 24% 为阳性(+) ; 25% ~ 50% 为阳性(++) ; >50% 为阳性(+++) 。因至少出现两个 T<1 的情况 , 予合并同类项 , 即: 阳性细胞 < 10% 为阴性(-) ; 阳性细胞 >10% 为阳性(+) ; 阳性对照取博士德公司提供的阳性切片 , 阴性对照取 PBS 液代替一抗的乳腺癌组织切片。MVD 计数参照 Weidner 方法^[3] 进行 , 即低倍镜下选取热点(高血管密集区) , 计数高倍镜下棕色颗粒的数目 , 以 3 个视野下微血管数的平均数表示。

1.5 统计学处理 应用 SPSS 13.0 统计软件进行统计分析 , 有序变量、连续变量之间的比较分别采用 χ^2 检验、*t* 检验 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MMP-2 的表达与乳腺癌淋巴结转移的关系 MMP-2 以胞浆着色为主 , 淋转组 38 例患者中阳性表达 28 例(74%) , 阴性表达 10 例(26%) ; 非淋转组 24 例患者中阳性表达 5 例(21%) , 阴性表达 19 例(79%) , 两组比较差异有统计学意义(*P*<0.01) , 见表 1。MMP-2 的阳性和阴性表达分别见图 1A、B。

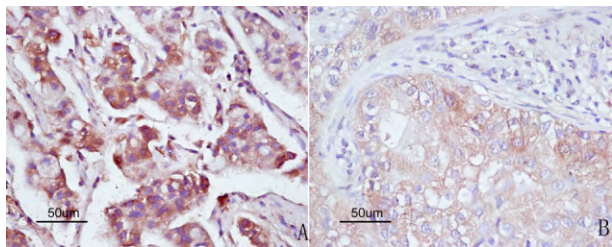


图 1 MMP-2 在乳腺癌组织的阳性(A) 和阴性(B) 表达

2.2 MVD 与乳腺癌淋巴结转移的关系 肿瘤血管内皮细胞染色呈棕黄色、均匀一致。通常肿瘤边缘 MVD 值高 , 也可位于肿瘤组织内的任何部位。本研究显示乳腺癌淋转组 MVD 值(40.85±13.49) 明显高于非淋转组的 MVD 值(32.96±8.44) , 见表 2、图 2 ,

可见 CD34 标记的 MVD 的含量在乳腺癌淋转组与非淋转组之间存在差异。

表 1 淋转组与非淋转组 MMP-2 的比较

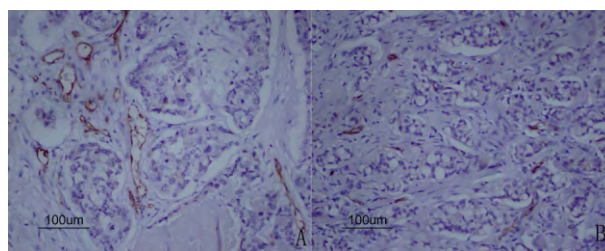
组别	n	MMP-2		χ^2	P
		-	+		
淋转组	38	10	28	16.504	0.000
非淋转组	24	19	5		

注: 淋转组与非淋转组比较 *P*<0.01。

表 2 淋转组与非淋转组 MVD 的比较

组别	n	MVD	<i>t</i>	<i>P</i>
淋转组	38	48.05±13.49	4.90	0.000
非淋转组	24	32.96±8.44		

注: 淋转组与非淋转组比较 *P*<0.01。



A: 淋转组 B: 非淋转组。

图 2 MVD 在乳腺癌组织中的表达

2.3 MVD 在 MMP-2 阳性与阴性表达中的差异 62 例乳腺癌组织中 MMP-2 阳性 33 例 , 其 MVD 值 49.67±12.15 , MMP-2 阴性 29 例 , 其 MVD 值 33.72±10.47 , 二者差异有统计学意义 , 表明 MVD 在 MMP-2 阳性与阴性表达中存在差异(*P*<0.01) 。见表 3。

表 3 MVD 在 MMP-2 阳性与阴性表达中的差异($\bar{x}\pm s$)

MMP-2	n	MVD	<i>t</i>	<i>P</i>
阳性	33	49.67±12.15	5.49	0.000
阴性	29	33.72±10.47		

注: MMP-2 与 MVD 的比较 *P*<0.01。

2.4 MMP-2 的表达和 MVD 的含量在不同乳腺癌 TNM 分期中的差异 见表 4、5。62 例乳腺癌中 TNM 分期 I 期 26 例 , MMP-2 阳性 5 例(19.2%) , MVD 值 32.04±8.73; II 期 26 例 , MMP-2 阳性 19 例(73.1%) , MVD 值 44.31±7.49; III 期 10 例 , MMP-2 阳性 9 例(90%) , MVD 值 63.20±11.57; III 期 MMP-2 阳性表达率、MVD 值显著高于 I 期、II 期 , MMP-2 的表达和 MVD 的含量在乳腺癌 TNM 分期中存在差异(*P*<0.01) 。见表 4、5。

表 4 MVD 含量在乳腺癌 TNM 分期中的差异

TNM 分期	n	MVD	F	P
I 期	26	32.04±8.73	47.14	0.000
II 期	26	44.31±7.49		
III 期	10	63.20±11.57		

表 5 MMP-2 表达在乳腺癌 TNM 分期中的差异

TNM 分期	n	MMP-2		χ ²	P
		-	+		
I 期	26	21	5	21.62	0.000
II 期	26	7	19		
III 期	10	1	9		

3 讨论

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤,且发病趋于年轻化^[4]。浸润和转移是乳腺癌致死的重要原因,乳腺癌组织中 MVD、MMP-2 的表达与其浸润、转移、预后的关系成为目前研究的热点。

肿瘤的浸润、转移是个多步骤、多阶段、多基因参与的复杂过程,其中基底膜细胞基质的降解是其发展的必要阶段,因此,细胞外基质的降解过程的研究成为热点^[5]。基质金属蛋白酶(metalloproteinases, MMPs)是一组肽链内切酶,能裂解维系蛋白结构的肽键,主要参与结缔组织的降解,在肿瘤的生长及转移中起重要作用,研究认为, MMP-2 与乳腺癌关系密切,特别与乳腺癌的侵袭和转移有关^[6]。MMP-2 表达增高者,乳腺癌恶性程度高,侵袭、转移发生率高,且预后较差^[7]。MMP-2 使基底膜丧失完整性的重要原因是降解其主要成分 IV 型胶原和层粘连蛋白, MMP-2 可通过影响毛细血管内皮细胞,促进新生血管形成,从而促进肿瘤生长、扩散,还可通过降解基底膜及肿瘤基质,突破基底屏障,促使肿瘤侵袭转移。本组实验发现淋转组 38 例患者中阳性表达 28 例(74%),阴性表达 10 例(26%);非淋转组 24 例患者中阳性表达 5 例(21%),阴性表达 19 例(79%),两组比较差异显著(P<0.01)。这与尚培中等^[8]报道结果相似,由此可见, MMP-2 在乳腺癌的浸润和转移中起重要作用,可作为乳腺癌预后的标记物,对肿瘤的侵袭、转移范围及程度进行评估。

MVD 不但可以确定血管生长水平、肿瘤位置,还可用来评估肿瘤靶向治疗的疗效,是目前检测肿瘤微血管水平的金标准^[9]。肿瘤血管生成是实体瘤生长和转移的必要条件。乳腺癌的生长、转移是一个极为复杂的过程,其中肿瘤组织内 MVD 是较

为重要的影响因素。本研究显示:淋转组 MVD 值(40.85±13.49)明显高于非淋转组 MVD 值(32.96±8.44),可见 CD34 标记的 MVD 的含量在乳腺癌淋转组与非淋转组之间存在差异,这可能与乳腺癌组织中 MVD 越高,就越容易为癌细胞提供营养,促进癌细胞的增殖、分化有关。大量研究表明: MVD 在乳腺癌淋转组和非淋转组间存在差异, MVD 高,转移率高,这与 Shpitz 等^[10]报道一致。

本研究表明,淋转组 MMP-2 的阳性表达率(74%)、表达强度及 MVD 值(48.05±13.49)明显高于非淋转组(P<0.05); MMP-2 的表达和 MVD 的含量在不同乳腺癌 TNM 分期中存在差异; MVD 值在 MMP-2 不同表达中存在差异。提示 MMP-2 的阳性表达及 CD34 标记的 MVD 的含量越高,乳腺癌细胞的浸润与转移越高, MMP-2 可通过促进降解细胞外基质、促进乳腺癌新生血管形成而促进乳腺癌的进展。因此, MMP-2 及 MVD 在乳腺癌发展及转移中可能发挥重要作用,检测乳腺癌中 MMP-2 的表达及 MVD 值可能有助于判断乳腺癌预后。

【参考文献】

- [1] 邵志敏,沈镇宙,徐兵河.乳腺癌学[M].2版.上海:复旦大学出版社,2013:1.
- [2] PUZOVIC V, BRCIC I, RANOGAJEC I *et al.* Prognostic values of ETS-1, MMP-2 and MMP-9 expression and co-expression in breast cancer patients[J]. *Neoplasma*, 2014, 61(4): 439-446.
- [3] WEIDNER N, SEMPLE JP, WELCH WR *et al.* Tumor angiogenesis and metastasis—correlation in invasive breast carcinoma[J]. *Engl J Med*, 1991, 324: 1.
- [4] 郑莹,吴春晓,吴凡.中国女性乳腺癌死亡现状和发展趋势[J]. *中华预防医学杂志*, 2011, 45(2): 105-108.
- [5] SWARTZ MA, JIDA N, ROBERTS EW *et al.* Tumor microenvironment complexity: emerging roles in cancer therapy[J]. *Cancer Res*, 2012, 72: 2473-2480.
- [6] SULLU Y, DEMIRAG GG, YILDIRM A *et al.* Matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and MMP-9 expression in invasive ductal carcinoma of the breast[J]. *Pathol Res Pract*, 2011, 207: 747-753.
- [7] KATUNINA AI, GERSHTEIN ES, ERMILOVA VD *et al.* Matrix metalloproteinases 2, 7, and 9 in tumors and sera of patients with breast cancer[J]. *Bull Exp Biol Med*, 2011, 151(3): 359-362.
- [8] 尚培中,张金江,贾国洪,等.基质金属蛋白酶-2 和唾液酸化 Lewis-X 在乳腺癌中的表达及其意义[J]. *中华乳腺病杂志(电子版)*, 2008, 2(2): 28-31.
- [9] 郭易萍,李子樵,练子富.肿瘤新生血管检测的研究进展[J]. *国际生物工程杂志*, 2011, 34(5): 314-317.
- [10] SHPITZ B. ANGIOGENESIS, P53 and C-erbB-2 immunoreactivity and clinicopathological features in male breast cancer[J]. *J Surg Oncol*, 2000, 75(4): 252-257.