

· 研究原著 ·

文章编号 1000-2790(2006)17-1588-03

滋养细胞肿瘤中 MMP-2、MMP-9 的表达与预后相关分析

王利娟 杨筱凤 宗璐 高积勇 (西安交通大学医学院第一附属医院妇产科 陕西 西安 710061)

Relationship between expressions of MMP-2 and MMP-9 in trophoblastic tumor and patients' prognosis correlation analysis

WANG Li-Juan, YANG Xiao-Feng, ZONG Lu, GAO Ji-Yong

Department of Obstetrics and Gynecology, First Affiliated Hospital, Medical College, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China

【Abstract】 AIM: To study the relationship between the expressions of matrix metalloproteinase-2, matrix metalloproteinase-9 (MMP-2, MMP-9) and the therapeutic outcome in trophoblastic tumor. **METHODS:** The expressions of MMP-2, MMP-9 in trophoblastic tumors including 32 invasive hydatidiform moles and 16 choriocarcinomas were detected by immunohistochemical S-P method, and the results were analyzed by referring to their clinical features. **RESULTS:** In high-risk cases and low-risk cases of choriocarcinoma the positive rates were 100% and 40% respectively. The positive rates of MMP-2 and MMP-9 expressions in low-risk cases of choriocarcinoma were significantly lower than those in high-risk cases of choriocarcinoma ($P < 0.05$). In invasive hydatidiform mole groups without chemotherapy and with chemotherapy the positive rates of MMP-2 expression were 91% and 46% respectively; the positive rates of MMP-2 expression in invasive hydatidiform mole groups with chemotherapy were significantly lower than those without chemotherapy ($P < 0.05$). The expression of MMP-9 was not significantly different among the groups. **CONCLUSION:** The expression of MMP-2 was correlated to the neoplastic prognosis, The detection of MMP-2 expression may be a valuable marker for evaluating the prognosis of trophoblastic tumor.

【Keywords】 metalloproteinase; trophoblastic neoplasms; immuno-histochemical S-P method; prognostic

【摘要】目的:研究滋养细胞肿瘤中基质金属蛋白酶-2、基质金属蛋白酶-9(MMP-2, MMP-9)的表达,探讨 MMP-2、MMP-9 与滋养细胞肿瘤间的关系。方法:用免疫组化 SP 法检测 32 例侵蚀性葡萄胎、16 例绒毛膜癌组织中 MMP-2、MMP-9 的表达情况,并与临床特征相比较。结果:绒毛膜癌低危组强

表达率 40%, 高危组 100%。绒毛膜癌低危组强表达率明显低于高危组 ($P < 0.05$);侵蚀性葡萄胎中化疗组 MMP-2 阳性表达率 46%, 未化疗组 91%。侵蚀性葡萄胎中化疗组 MMP-2 阳性表达率明显低于未化疗组 ($P < 0.05$);MMP-9 强表达率在各组间无统计学意义。结论:MMP-2 高表达与肿瘤预后密切相关, MMP-2 可能作为判断滋养细胞肿瘤患者预后的参考指标。

【关键词】 基质金属蛋白酶 滋养层肿瘤 免疫组化 预后

【中图分类号】 R-71 **【文献标识码】** A

0 引言

妊娠滋养细胞肿瘤的治愈率虽然达到 85% ~ 90%^[1],但治疗后复发导致预后不良仍是目前妊娠滋养细胞肿瘤的研究热点。我们以妊娠滋养细胞肿瘤患者为研究对象,用免疫组化 SP 法检测 MMP-2、MMP-9 在肿瘤组织中的表达情况,结合临床特点分析 MMP-2、MMP-9 与妊娠滋养细胞肿瘤预后、复发的关系,为预测滋养细胞肿瘤复发提供参考指标。

1 材料和方法

1.1 材料 选取 1990 ~ 2000 年于我院行全子宫切除术加化疗治疗的绒癌患者 16 例、侵蚀性葡萄胎患者 32 例,以上患者子宫切除标本为研究对象,根据临床资料分为化疗组与未化疗组。根据改良 FIGO 预后评分标准,对所有患者进行预后评分:小于等于 6 分为低危组,大于等于 7 分为高危组。**②试剂:**鼠抗人 MMP-2、MMP-9 单克隆抗体购自美国 ZYMED 公司。

1.2 方法 标本经中性 40 g/L 甲醛固定,常规石蜡包埋,连续切片,采用复诊登记及电话、信件获取随访信息,以手术日期为随访开始时间,2005-12 为随访截止时间,以复发或因病死亡为随访截止事件,持续无瘤生存或失访视为截尾数据。治愈标准:各项辅助检查均转阴,提示病灶消失,血 β -HCG 值连续 3 次阴性;复发诊断标准:经规范治疗后获完全缓解,停药随诊 3 mo 后出现血人绒毛膜促性腺激素水平升高(再次妊娠除外)或影像学检查发现新的转移灶。采用免疫组化 S-P 法染色,按说明书操作。PBS 代替一抗作阴性对照。

收稿日期 2006-03-29; 接受日期 2006-06-09

作者简介:王利娟,硕士,主治医师。Tel:13700222790 Email:wlijuan1010@126.com

1.3 结果判断 MMP-2、MMP-9 阳性呈黄色、棕黄色或棕褐色染色,定位于胞浆。100 倍光镜下随机观察 10 个视野,400 倍光镜下计数 100 个肿瘤细胞,根据染色强度及阳性细胞数双评分法进行评分。0 分为无色,1 分为淡黄色,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分。阳性细胞所占的百分比评分:阴性为 0 分,阳性细胞 $\leq 29\%$ 为 1 分,30%~69% 为 2 分,70%~100% 为 3 分。两者乘积判断其阳性程度:评 0 分~4 分为弱表达,评 6~9 分为强表达。

统计学处理:应用 SPSS 13.0 统计分析软件进行 χ^2 检验或 Fisher 精确概率检验,Kaplan-meier 法评估生存率,绘制生存曲线。对数秩检验(log-ranktest)对比生存曲线,以 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 MMP-2、MMP-9 在侵蚀性葡萄胎、绒毛膜癌组织中的表达 侵蚀性葡萄胎组中,细胞胞浆内 MMP-2 表达多为阳性或强阳性,胞浆着色不均或黄色颗粒布满胞浆,细胞间质着色不均,肌层内血管内皮细胞呈阳性表达,部分平滑肌组织也有表达,绒毛膜癌细胞浆 MMP-2 为强表达,棕褐色颗粒布满胞浆,细胞间质呈强阳性着色(图 1)。

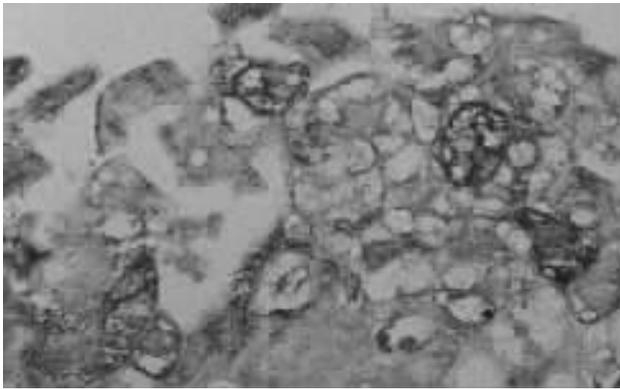


图 1 绒毛膜癌 MMP-2 强表达 $\times 400$

侵蚀性葡萄胎组中,MMP-9 表达在胞质内呈阳性,胞质着色均匀或胞浆布满黄色颗粒,细胞间质呈阳性或弱阳性着色,肌壁内血管内皮细胞呈阳性表达(图 2)。绒毛膜癌细胞质中多呈弱阳性着色,细胞间质着色不均。

2.2 MMP-2、MMP-9 与侵蚀性葡萄胎、绒毛膜癌临床指标的关系 侵蚀性葡萄胎中化疗组 MMP-2 阳性表达率明显低于未化疗组($P < 0.05$)。绒毛膜癌低危组强表达率明显低于高危组($P < 0.05$)。MMP-9 强表达率在各组间无统计学意义(表 1、2)。

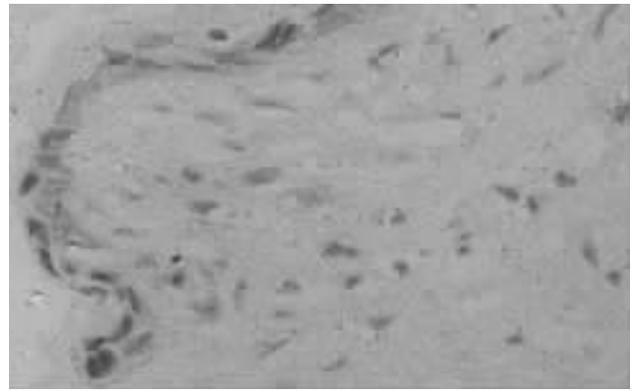


图 2 侵蚀性葡萄胎 MMP-9 强表达 $\times 400$

表 1 MMP-2、MMP-9 在侵蚀性葡萄胎组织中的表达情况 (n)

组别	n	MMP-2 表达		强阳性率 (%)	MMP-9 表达		强阳性率 (%)
		强表达	弱表达		强表达	弱表达	
预后评分							
低危	18	12	6	67	7	11	39
高危	14	12	2	86	5	9	36
术前化疗							
有	11	5	6	46 ^a	2	9	18
无	21	19	2	91	10	11	48

^a $P < 0.05$ vs 未化疗。

表 2 MMP-2、MMP-9 在绒毛膜癌组织中的表达情况 (n)

组别	n	MMP-2 表达		强阳性率 (%)	MMP-9 表达		强阳性率 (%)
		强表达	弱表达		强表达	弱表达	
预后评分							
低危	5	2	3	40 ^a	0	5	0
高危	11	11	0	100	1	10	9
术前化疗							
有	7	5	2	71	5	2	71
无	9	8	1	89	8	1	89

^a $P < 0.05$ vs 高危。

2.3 MMP-2 表达与随访结果分析 48 例患者随访时间为 10 d~180 mo,5 例失访。MMP-2 弱表达组 1 例患者于子宫切除术后 10 d 死亡,其余随访期间无复发。MMP-2 强表达组复发 5 例,2 例因复发性绒毛膜癌死亡。MMP-2 强表达与弱表达生存曲线如图 3,结果表明,MMP-2 强表达组无瘤生存率 91%,MMP-2 弱表达组无瘤生存率 87%,二者无统计学意义($\chi^2 = 0.062, P > 0.05$),可能与样本量小有关。

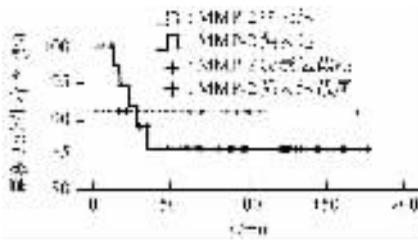


图3 MMP-2 强表达与弱表达生存曲线

3 讨论

妊娠滋养细胞肿瘤是一种妊娠相关性肿瘤,其恶性程度高,虽然可以通过化疗药物治愈,但由于肿瘤耐药、滋养细胞侵袭力强、不规范化疗等因素^[2],仍有复发存在。国际妇产科联盟(FIGO)从患者年龄、前次妊娠、距前次妊娠时间、治疗前血 β -HCG值、最大肿瘤直径、转移部位、转移病灶数目、先前失败化疗几方面对滋养细胞肿瘤患者预后评分,预测复发危险度。

基质金属蛋白酶是一类依赖金属离子锌并以细胞外基质为水解底物的蛋白水解酶。研究显示,滋养细胞侵袭力与MMP-2、MMP-9相关^[3-4],与MMP-2关系更为密切^[5]。两者分泌时限不同,妊娠8 wk内及绒毛膜癌中MMP-2起主要调节作用,9~12 wk以MMP-9作用更为重要^[6],推测基质金属蛋白酶抑制物TIMP-2分泌减少与肿瘤发生可能相关^[7]。

本研究结果显示化疗有使侵蚀性葡萄胎、绒毛膜癌组织中MMP-2表达减弱的趋势,侵蚀性葡萄胎中化疗组MMP-2阳性表达率明显低于未化疗组($P < 0.05$)。滋养细胞恶性程度与MMP-2表达呈相同趋势,提示化疗可能通过某种机制抑制MMP-2表达。通过监测MMP-2的表达情况,有助于了解滋养细胞肿瘤恶性程度、判断化疗疗效及预后。对于化疗耐药细胞株,研发新型MMP-2抑制剂可能成为新的治疗方向。本研究显示绒毛膜癌低危组强表达率明显低

于高危组($P < 0.05$),提示滋养细胞肿瘤高危因素可能与MMP-2调节滋养细胞侵袭能力有关,MMP-2的高表达,尤其是化疗后高表达与预后不良有关。

本研究中所有患者随访满5 a,高危组复发率16%,低危组复发率4.3%。侵蚀患者观察中无死亡,绒毛膜癌死亡率18.8%,复发患者均为MMP-2高表达。用Kaplan-Meier法对MMP-2高表达、低表达组生存分析研究表明MMP-2强表达组无瘤生存率(91%)虽高于MMP-2弱表达组(87%),但无统计学意义。可能与样本量太小有关。有待扩大样本量进一步研究。

本研究结果表明高表达的MMP-2与肿瘤复发相关,MMP-2的检测有望作为滋养细胞肿瘤患者预后判断的一个有价值的指标。

【参考文献】

- [1] 宋鸿钊,杨秀玉,向阳. 滋养细胞肿瘤的诊断和治疗[M]. 北京:人民卫生出版社,2004:240-247.
- [2] 杨隽钧,向阳,万希润,等. 妊娠滋养细胞肿瘤复发的相关因素分析和治疗[J]. 中华医学杂志,2006,86(1):52-55.
- [3] Mahameed S, Goldman S, Gabarin D, et al. The effect of serum from women with preeclampsia on JAR (trophoblast-like) cell line[J]. J Soc Gynecol Investig, 2005, 12(6):45-50.
- [4] Karmakar S, Dhar R. Das C. Inhibition of cytotrophoblastic (JEG-3) cell invasion by interleukin 12 involves an interferon gamma-mediated pathway[J]. J Biol Chem, 2004, 279(53):297-307.
- [5] Isaka K, Usuda S, Ito H, et al. Expression and activity of matrix metalloproteinase 2 and MMP-9 in human trophoblasts[J]. Placenta, 2003, 1(1):53-64.
- [6] Staun-Ram E, Goldman S, Gabarin D, et al. Expression and importance of matrix metalloproteinase 2 and MMP-9 (MMP-2 and MMP-9) in human trophoblast invasion[J]. Reprod Biol Endocrinol, 2004, 2:59.
- [7] Okamoto T, Niu R, Yamada S, et al. Reduced expression of tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP)-2 in gestational trophoblastic diseases[J]. Mol Hum Reprod, 2002, 4(4):392-398.

编辑 王小仲