

MMP-14 在乳腺癌中的表达及临床意义

姚广裕, 林 鹏, 王军业, 陈捷鑫, 邓勇军, 杨名添

Significance of MMP-14 Expression in Breast Cancer

YAO Guang-yu, LIN Peng, WANG Jun-ye, CHEN Jie-xin, DENG Yong-jun, YANG Ming-tian

Department of Thoracic Oncology, Cancer Center, Sun Yet-sen University, Guangzhou 510060, China

Abstract: **Objective** To investigate the expression and clinical significance of MMP-14 protein in human breast cancers. **Methods** Forty-six human breast cancer tissues were collected. MT1-MMP protein was detected by immunohistochemistry assay and their correlations with clinicopathological factors were analyzed. **Results** The expression of MMP-14 protein was negative in normal breast tissues and positive in 52.2% of forty-six breast cancers tissues. The positive rates were 12.5%, 54.8% and 85.7% in stage I, stage II and stage III human breast cancers, respectively ($P < 0.05$), and 11.1%, 59.4% and 80.0% in the group of T1, T2 and T3 ($P < 0.05$), and 27.3%, 66.7% and 100.0% in the group of N0, N1 and N2 ($P < 0.05$). MMP-14 protein showed positive relation with VEGF ($P < 0.05$), but no relations with and ER, PR or c-erbB-2 ($P > 0.05$). **Conclusion** MMP-14 protein in human breast cancers had positive correlation with the stage, the tumor size, lymph node metastasis and VEGF. It can be a predictor for the ability of breast cancer invasion and metastasis.

Key words: MMP-14; VEGF; Breast neoplasm

摘要: **目的** 检测膜型-1 基质金属蛋白酶(MMP-14)在乳腺癌中的表达并探讨其临床意义。方法 采用免疫组化的方法检测 46 例乳腺癌手术后标本中 MMP-14 蛋白的表达,探讨 MMP-14 表达与乳腺癌临床病理因子的关系。**结果** MMP-14 蛋白在正常乳腺组织中没有表达,在乳腺癌中表达的阳性率是 52.2%。在 I 期、II 期和 III 期乳腺癌中表达的阳性率分别为 12.5%、54.8% 和 85.7% ($P < 0.05$);在 T1、T2 和 T3 三组中的阳性率分别为 11.1%、59.4% 和 80.0% ($P < 0.05$);在 N0、N1 和 N2 三组中的阳性率分别为 27.3%、66.7% 和 100% ($P < 0.05$)。MMP-14 蛋白的表达与 VEGF 呈正相关($P < 0.05$),但与 ER、PR、c-erbB-2 的状况无统计学差异($P > 0.05$)。**结论** MMP-14 的蛋白质在乳腺癌中的表达与肿瘤分期、肿瘤大小、淋巴结转移和 VEGF 呈正相关,有可能为判断乳腺癌浸润转移能力的一个指标。

关键词: 膜型-1 基质金属蛋白酶;血管内皮生长因子;乳腺癌

中图分类号: R737.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-8578(2005)05-0268-03

0 引言

基质金属蛋白酶(Matrix metalloproteinases, MMPs)是一族锌离子依赖性蛋白水解酶,目前发现有 23 种,它们是参与细胞外基质代谢的主要酶类^[1]。膜型基质金属蛋白酶(Membrane type matrix metalloproteinases)是 MMPs 的一个亚家族,其亚家族中已发现膜型-1 基质金属蛋白酶(MMP-14)、膜型-2 基质金属蛋白酶(MMP-15)等六种成员。近来的研究提示 MMP-14 在乳腺癌的浸润和转移中有重要作用,而有关 MMP-14 在肿瘤中表达的临床意义研究极少。本研究采用免疫组化的方法检测 MMP-14 蛋白在乳腺癌中的表达并探讨 MMP-14 与乳腺癌临床病理因子的关系。

1 资料和方法

1.1 临床资料和标本

收集中山大学肿瘤医院 2003 年 9 月~2004 年 1 月乳腺癌手术后病人 46 例。46 例患者年龄 41~59 岁,中位年龄 47.5 岁,所有病例均经病理证实为乳腺癌。按照 UICC 2002 分期, I 期 8 例, II 期 31 例, III 期 7 例。其中, T1 9 例, T2 32 例, T3 5 例; N0 22 例, N1 18 例, N2 6 例。所有病例手术后均常规检测 ER、PR、c-erbB-2、VEGF。收集上述病例肿瘤组织并留取远离肿瘤的正常乳腺组织作为对照。

1.2 试剂

免疫组化所用的 MMP-14 一抗为 NeoMarkers 公司的兔抗人多克隆抗体,二抗试剂盒为福建迈新公司的 SP 超敏试剂盒(Cat. NO: Kit-9720)。

1.3 免疫组化检测乳腺癌中 MMP-14 蛋白的表达

收稿日期:2004-12-30;修回日期:2005-04-05

作者单位:510060 广州,中山大学肿瘤防治中心胸科

所有标本均经 10 % 中性福尔马林固定,石蜡包埋,4μm 连续切片,行病理常规染色检查及免疫组化研究。免疫组化染色采用 SP 法,MMP-14 抗原经高压修复,一抗工作浓度是 1:60,实验步骤按照试剂盒说明书操作,以 PBS 代替一抗作为阴性对照。

所有切片采用盲法由两位病理科医生独立阅片。MMP-14 免疫组化阳性染色为棕黄色颗粒,位于肿瘤细胞。阳性反应的分级采用兼顾阳性细胞染色强度和阳性细胞所占百分比的判断标准:每张切片随机选取 5 个高倍视野,首先按阳性细胞所占百分比评分:阴性为 0 分,阳性细胞数 10 % 为 1 分,>10 % 且 50 % 为 2 分,>50 % 且 75 % 为 3 分,>75 % 为 4 分;再按染色强度评分:无色为 0,淡黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分;最后按二者乘积分数分为 4 个等级:- (0,1,2),+(3,4),++ (6,8),+++ (9,12)。我们将分数 >3 定位阳性,<3 为阴性。

1.4 统计方法

采用 SPSS 11.0 统计软件处理,统计分析采用卡方检验。 $P < 0.05$ 为有显著性差异。

2 结果

2.1 MMP-14 在乳腺癌中的表达

采用免疫组化方法检测乳腺癌组织中 MMP-14 蛋白的表达,其阳性率为 52.2 %,阳性染色定位于肿瘤细胞,在正常的乳腺组织中没有检测到 MMP-14 的表达(图略)。

2.2 MMP-14 的表达与临床病理因子的关系

本研究发现,采用免疫组化的方法,乳腺癌 MMP-14 蛋白随着肿瘤直径的增大和腋窝淋巴结转移数目的增多阳性率明显增高 ($P < 0.05$)。在 I、II 和 III 期乳腺癌中,MT1-MMP 蛋白的阳性率也有明显差别,分期越晚,阳性率也越高 ($P < 0.05$)。在 VEGF 阳性和阴性组病人中,MMP-14 的阳性率差别也有统计学意义 ($P < 0.05$),见表 1。由此可见,MMP-14 蛋白的表达与乳腺癌的肿瘤大小、淋巴结转移、临床分期和 VEGF 的表达呈正相关,但未发现与 ER、PR、c-erbB-2 相关。

3 讨论

3.1 MMP-14 在乳腺癌中的表达

肿瘤的浸润和转移是一个复杂的过程,在这一过程中肿瘤细胞必须首先突破基底膜,因而基底膜的降解是其浸润和转移的先决条件。目前发现肿瘤可以分泌几种酶类降解基底膜,其中最重要的是

MMPs。MMPs 根据其被发现的顺序分别命名为 MMP-1 ~ MMP-23,共 23 种,而根据其结构和功能又被分为胶原酶、明胶酶、膜型基质金属蛋白酶 (MT-MMPs) 等。

表 1 MMP-14 表达与临床病理因子的关系

		MMP-14 蛋白		P
		- (%)	+ (%)	
T	T 1	8 (88.9)	1 (11.1)	0.011
	T 2	13 (40.6)	19 (59.4)	
	T 3	1 (20.0)	4 (80.0)	
N	N 0	16 (72.7)	6 (27.3)	0.001
	N 1	6 (33.3)	12 (66.7)	
	N 2	0 (0.0)	6 (100.0)	
Stage		7 (87.5)	1 (12.5)	0.018
		14 (45.2)	17 (54.8)	
		1 (14.3)	6 (85.7)	
ER	-	17 (54.8)	14 (45.2)	0.146
	+	5 (33.3)	10 (66.7)	
PR	-	14 (51.9)	13 (48.1)	0.514
	+	8 (42.1)	11 (57.9)	
c-erbB-2	-	16 (59.3)	11 (40.7)	0.080
	+	6 (31.6)	13 (68.4)	
VEGF	-	17 (60.7)	11 (39.3)	0.029
	+	5 (27.8)	13 (72.2)	

: Pearson ² 检验; : Fisher 精确概率检验

MMP-14 是近年来研究的热点之一。诸多研究表明,MMP-14 在正常乳腺组织中基本没有表达,而在乳腺癌中表达则明显升高^[1-5]。本研究中采用免疫组化的方法检测也没有发现 MMP-14 在正常乳腺组织中表达。在乳腺癌组织中,本研究中的 46 例有 24 例表达 MMP-14 蛋白,阳性染色也都定位于肿瘤细胞。Ueno 等^[6]用免疫组化的方法研究 32 例乳腺癌的标本,发现 32 例标本都有 MMP-14 蛋白的表达,且免疫组化阳性染色也都定位于乳腺癌的肿瘤细胞。Lhotak 等^[7]用免疫组化的方法研究了 29 例乳腺癌骨转移的标本,发现有 25 例肿瘤有 MMP-14 蛋白表达,也均定位于肿瘤细胞。但 Jones 等^[8]用免疫组化方法研究的 114 例中,发现乳腺癌组织中肿瘤细胞和间质细胞均有 MMP-14 蛋白表达,并且两种细胞的阳性率均在 90 % 以上。

有关 MMP-14 定位问题报道的差异,目前大多数学者认为,是肿瘤细胞产生某种物质,作用于周围的间质细胞,诱导间质细胞产生 MMP-14 原酶^[1],该酶激活后被肿瘤细胞摄取到细胞膜表面。在肿瘤的细胞膜表面,激活的 MMP-14 不仅可以激活 MMP-2 降解周围的基质,而且自身也可发挥降解细胞外基质的作用,从而促进肿瘤的浸润和转移。当

采用针对 MMP-14 不同肽段的抗体时,就会检测到不同形式的 MMP-14^[5],所以用免疫组化方法研究 MMP-14 的定位会有不一致报道。本研究所用的抗体是识别位于肿瘤细胞的 MMP-14 蛋白水解结构域,所以阳性染色定位于肿瘤细胞。

3.2 MMP-14 的表达在乳腺癌中的临床意义

目前关于 MMP-14 在乳腺癌中的表达的意义研究的不多。本研究发现 MMP-14 的蛋白质在乳腺癌中的表达与肿瘤分期、肿瘤大小、淋巴结转移呈正相关。这与 Ueno 等^[6]和 Jones 等^[8]研究结论一致, Ueno 等用 Northern blot 的方法研究了 32 例病例,发现 MMP-14 mRNA 的表达与肿瘤大小、腋窝淋巴结转移、远处转移、肿瘤分期成正相关。Jones 等也用免疫组化的方法研究仅报道乳腺癌中 MMP-14 蛋白表达与淋巴结的转移成正相关。然而, Ishigaki 等^[9]用免疫组化的方法研究却发现 MMP-14 的表达水平与乳腺癌的 T、N、分期及 ER、PR 均不相关。

出现上面不一致结论的原因可能是所采用免疫组化检测时的抗体不同,而检测到的 MMP-14 的形式不同。因为 MMP-14 有原酶和活化酶两种形式,即非激活形式和激活形式的 MMP-14,只有激活形式的 MMP-14 也即肿瘤细胞表面的 MMP-14 才可能与乳腺癌的临床病理因子有关,本研究所采用的抗体是识别 MMP-14 的水解结构域,所以检测的是 MMP-14 的活性形式。

综上所述,乳腺癌中 MMP-14 蛋白的表达反应肿瘤有更高的恶性生物学行为并有可能成为乳腺癌不良预后的一个指标,提示术后应加强综合治疗。

参考文献:

- [1] Bisson C, Blacher S, Polette M, et al. Restricted expression of membrane type 1-matrix metalloproteinase by myofibroblasts adjacent to human breast cancer cells[J]. *Int J Cancer*, 2003, 105(1):7-13.
- [2] 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.
- [3] Heppner KJ, Matrisian LM, Jensen RA, et al. Expression of most matrix metalloproteinase family members in breast cancer represents a tumor-induced host response [J]. *Am J Pathol*, 1996, 149(1):273-282.
- [4] Polette M, Nawrocki B, Gilles C, et al. MT-MMP expression and localisation in human lung and breast cancers[J]. *Virchows Arch*, 1996, 428(1):29-35.
- [5] Okada A, Bellocq JP, Rouyer N, et al. Membrane-type matrix metalloproteinase (MT-MMP) gene is expressed in stromal cells of human colon, breast, and head and neck carcinomas [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1995, 92(7):2730-2734.
- [6] Ueno H, Nakamura H, Inoue M, et al. Expression and tissue localization of membrane-types 1, 2, and 3 matrix metalloproteinases in human invasive breast carcinomas[J]. *Cancer Res*, 1997, 57(10):2055-2060.
- [7] Lhotak S, Elavathil LJ, Vukmirovic-Popovic S, et al. Immunolocalization of matrix metalloproteinases and their inhibitors in clinical specimens of bone metastasis from breast carcinoma [J]. *Clin Exp Metastasis*, 2000, 18(6):463-470.
- [8] Jones JL, Glynn P, Walker RA. Expression of MMP-2 and MMP-9, their inhibitors, and the activator MT1-MMP in primary breast carcinomas[J]. *J Pathol*, 1999, 189(2):161-168.
- [9] Ishigaki S, Toi M, Ueno T, et al. Significance of membrane type 1 matrix metalloproteinase expression in breast cancer [J]. *Jpn J Cancer Res*, 1999, 90(5):516-522.

[编辑:张麟;校对:刘红武]