

哈萨克族食管癌 MMP-1 与 MMP-7 表达及相关性*

陈艳¹, 王洪江², 李卉³, 庞作良², 李秀梅⁴, 李惠武³

摘要:目的 探讨基质金属蛋白酶 1(MMP-1)、基质金属蛋白酶 7(MMP-7) 基因在哈萨克族食管癌和正常组织的表达及与病理特征关系, 分析两者表达的相关性。方法 采用逆转录聚合酶链反应(RT-PCR) 方法在 45 例哈萨克族食管癌组织及其远端正常组织中检测 MMP-1 与 MMP-7 基因的表达。结果 在 45 例食管癌组织中, MMP-1、MMP-7 基因的表达阳性率分别为 75.56% 和 73.33%, 在远端正常组织的表达阳性率分别为 15.56% 和 31.11%, 二者差异均有统计学意义($P < 0.05$); MMP-1 表达与 TNM 分期有关, MMP-7 表达与 TNM 分期及淋巴结转移有关($P < 0.05$); MMP-1 与 MMP-7 基因的表达具有正相关性($P < 0.05$)。结论 MMP-1 和 MMP-7 在哈萨克族食管癌发生发展中起一定作用, 两者之间具有协同作用, 促进食管癌发病进程。

关键词: 食管癌; 基质金属蛋白酶 1; 基质金属蛋白酶 7; 哈萨克族

中图分类号: R 735.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-0580(2012)05-0657-02

Expressions and correlations of MMP-1, MMP-7 with pathologic pattern in Hazak esophageal cancer patients

CHEN Yan, WANG Hong-jiang, LI Hui et al. Department of Biochemistry and Molecular Biology, Basic Medical College, Xinjiang Medical University(Urumqi 830011, China)

Abstract: Objective To explore the expressions of matrix metalloproteinase-1(MMP-1) and matrix metalloproteinase-7(MMP-7) in esophageal cancer tissue and normal tissue and to analyze their relationship with clinicopathological features among Hazak esophageal cancer patients. **Methods** The expression of MMP-1 and MMP-7 in cancer tissue and normal tissue of 45 esophageal cancer patients were detected with reverse transcription-PCR(RT-PCR). **Results** The positive rates of MMP-1 and MMP-7 mRNA in cancer tissues were 75.56% and 73.33% and the positive rates of MMP-1 and MMP-7 mRNA in distal normal tissues were 15.56% and 31.11%, respectively. There were significant differences in MMP-1 and MMP-7 levels between cancer tissue and corresponding distal normal tissue($P < 0.05$). The expression of MMP-1 was related to tumor node metastasis(TNM) classification, while the expression of MMP-7 was correlated with lymph nodes metastasis and TNM stage($P < 0.05$). Positive correlation was observed between the expression of MMP-1 and MMP-7($P < 0.05$). **Conclusion** The expressions of MMP-1 and MMP-7 play an important role in carcinogenesis of esophageal cancer among Hazak people. The combined actions of MMP-1 and MMP-7 may promote development of esophageal cancer.

Key words: esophageal cancer; MMP-1; MMP-7; Hazak

研究表明, 基质金属蛋白酶家族(matrix metalloproteinases, MMPs) 在肿瘤的侵袭、转移、血管生成和肿瘤发生过程中起重要作用, 转录水平调节是其关键步骤^[1]。其中基质金属蛋白酶 1(MMP-1) 是该家族中主要的蛋白水解酶, 可在多种恶性肿瘤中过表达, 并预示更差的预后^[2]。基质金属蛋白酶 7(MMP-7) 则具有强大的基质降解活性和广泛的底物特异性, 其区别于其他 MMP 家族成员的另一特点是在基质细胞中不表达, 而仅表达于肿瘤细胞内和肿瘤细胞邻近的血管内皮细胞中^[3]。新疆哈萨克族食管癌发病率和病死率均较高^[4]。为了解新疆哈萨克族食管癌发生发展中, MMP-1 与 MMP-7 所起的作用及其与病理特征之间的关系, 探讨该民族高发肿瘤发病机制及有效的防治手段, 本研究选取 2008 年 1 月—2009 年 6 月新疆医科大学附属肿瘤医院哈萨克族食管癌患者胸外科手术切除的新鲜组织标本, 检测 MMP-1 与 MMP-7 在食管癌组织及其远端无癌正常组织中的表达, 并分析其相关性。现将结果报告如下。

1 对象与方法

1.1 对象 选取 2008 年 1 月—2009 年 6 月新疆医科大学附属肿瘤医院哈萨克族食管癌患者 45 例, 均为鳞癌, 术前均未做任何放疗和化疗。收集其胸外科手术切除的新鲜组织标本, 包括癌组织及远端正常组织, 其中男性 31 例, 女性 14 例, 年龄 37~67 岁。临床分期按照国际食管癌会议制定的 tumor-regional lymph node metastasis 分期(TNM 分期), 其中 I 期 1 例, II 期 15 例, III 期 29 例; 淋巴结转移 29 例, 无淋巴结转移 16 例, 高、中分化 35 例, 低分化 10 例。

1.2 方法

1.2.1 总 RNA 提取、cDNA 合成及引物 (1) 总 RNA 提取: 采用 Trizol 一步法提取总 RNA, 测定其浓度及纯度, 并经琼脂糖凝胶电泳鉴定。(2) cDNA 合成: 按逆转录试剂盒(美国 Promega 公司)说明书进行操作。终止反应后, 加入 80 μ L 双蒸水, 得到 100 μ L 逆转录产物。(3) 引物: MMP-1、MMP-7 及内参 GAPDH 基因引物序列、片段大小如下, ① MMP-1: F 5'-GAGCAAACACATCTGATACAGGA-3', R 5'-TTGTCCCGATGATCTCCCCTGACA-3', 185 bp; ② MMP-7: F 5'-ATGTTAAACTCCCGCGTCATA-3', R 5'-CAGCATACAGGAAGTAAATCC-3', 418 bp; ③ GAPDH: F 5'-GGGCTCTC-CAGAATCAT-3', R 5'-CCAGCCCCAGCGTCAAAGGTG-3', 298 bp。

1.2.2 MMP-1 与 MMP-7 基因扩增 PCR 扩增 MMP-1 与 MMP-7 基因片段反应体系均为 20 μ L, 其中 cDNA 1 μ L, 上下

* 基金项目: 国家自然科学基金(30950012)

作者单位: 1. 新疆医科大学基础医学院生物化学与分子生物学教研室, 新疆乌鲁木齐 830011; 2. 新疆医科大学附属肿瘤医院胸外科; 3. 新疆医科大学基础医学院科研中心; 4. 新疆医科大学基础医学院形态中心

作者简介: 陈艳(1978-), 女, 陕西人, 讲师, 博士在读, 研究方向: 哈萨克族食管癌发病机理。

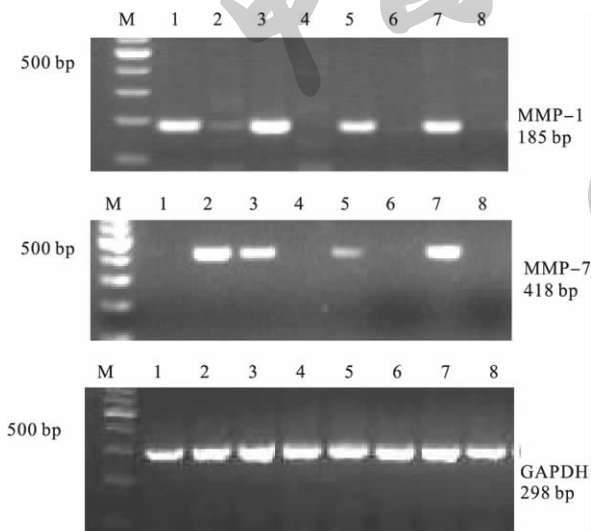
通讯作者: 李惠武, E-mail: huiwuli1234@163.com

游引物(10 μmol/L)各 1 μL,即用 PCR 反应试剂盒(北京金式金公司)反应溶液(2 倍浓度)10 μL,双蒸水 7 μL。扩增参数:①MMP-1:95℃ 5 min,95℃ 30 s,61℃ 30 s,72℃ 30 s,30 个循环;72℃ 7 min。②MMP-7:95℃ 5 min,95℃ 30 s,53℃ 30 s,72℃ 30 s,30 个循环;72℃ 7 min。③GADPH:95℃ 5 min,94℃ 30 s,59℃ 30 s,72℃ 60 s,30 个循环;72℃ 7 min。取 5 μL 扩增产物经 2% 的琼脂糖凝胶电泳鉴定,凝胶成像仪拍照。

1.3 统计分析 采用 SPSS 16.0 软件进行统计分析,各基因表达差异、基因表达与病理资料关系采用 χ^2 检验,基因间表达的相关性分析采用 spearman 相关,检验水准为 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 MMP-1 与 MMP-7 基因在食管癌组织和正常组织表达(图 1 表 1) MMP-1 与 MMP-7 基因在正常组织扩增片段亮度均明显低于癌组织。在 45 例食管癌组织中,MMP-1 mRNA 表达阳性 34 例,阳性率为 75.56%,而其对应正常组织中表达阳性 7 例,阳性率为 15.56%,差异有统计学意义($P < 0.05$)。MMP-7 mRNA 在癌组织中表达阳性 33 例,阳性率为 73.33%,在对应正常组织中表达阳性 14 例,阳性率为 31.11%,差异有统计学意义($P < 0.05$)。



注:M: DNA marker; 1、3、5、7: 癌组织; 2、4、6、8: 正常组织。

图 1 MMP-1、MMP-7 及 GAPDH 扩增产物 2% 琼脂糖凝胶电泳图

表 1 哈萨克族食管癌 MMP-1、MMP-7 mRNA 阳性表达率

组别	阳性	阴性	%	χ^2 值	P 值
MMP-1 mRNA					
癌组织	34	11	75.56	32.658	0.001
远端正常组织	7	38	15.56		
MMP-7 mRNA					
癌组织	33	12	73.33	16.076	0.001
远端正常组织	14	31	31.11		

2.2 MMP-1 和 MMP-7 mRNA 表达与病理因素关系(表 2)

MMP-1 mRNA 的表达与 TNM 分期相关,与分化程度及淋巴结转移无关。MMP-7 mRNA 的表达与 TNM 分期及淋巴结转移相关,而与分化程度无关。

2.3 MMP-1 和 MMP-7 mRNA 表达相关性 在 MMP-1 mRNA 阳性表达 34 例中,MMP-7 mRNA 表达的有 29 例,占 85.29%;在 MMP-1 mRNA 阴性表达的 11 例中,MMP-7 mRNA 表达的

为 4 例,占 36.36% ($\chi^2 = 10.175, P < 0.05$),二者呈正相关性, $r = 0.476 (P < 0.05)$ 。

表 2 哈萨克族食管癌组织中 MMP-1、MMP-7 的表达与临床病理因素关系

病理因素	例数	MMP-1			MMP-7		
		阳性	%	P 值	阳性	%	P 值
分化程度							
低分化	10	6	60.00	0.194	7	70.00	0.787
高、中分化	35	28	80.00		26	74.29	
TNM 分期							
I + II	16	9	56.25	0.010	9	56.25	0.025
III + IV	29	26	89.66		25	86.21	
淋巴结转移							
无	16	12	75.00	0.949	9	56.25	0.025
有	29	22	75.86		25	86.21	

3 讨论

研究表明,瘤细胞侵袭转移能力与其诱导产生蛋白酶降解细胞外基质(extracellular matrix, ECM)和基底膜的能力密切相关^[5]。MMPs 为一组锌离子依赖性内肽酶,几乎能降解 ECM 的所有成分,而在肿瘤侵袭转移中发挥重要作用。本研究结果显示,MMP-1 基因在食管癌组织中的表达阳性率为 75.56%,MMP-7 基因的表达阳性率为 73.33%,与苏书娟等^[6]观察 MMP-2、MMP-9 在乳腺导管癌中表达率分别为 75%、80% 的结果接近。并且 MMP-1 表达与临床分期有关。提示 MMP-1 基因在食管癌的发生及其浸润进展中起一定作用。目前,国内关于 MMP-1 在食管癌组织中表达的研究较少,其与食管癌发病机理的关系尚不明确,本研究将在此基础上继续探讨 MMP-1 在食管癌发病中的分子机制。MMP-7 基因表达与临床分期及淋巴结转移有关。此结果与刘江惠^[5]、苏书娟^[6]及王亚莉等^[7]应用免疫组织化学 SP 法检测结果一致,提示 MMP-7 参与了哈萨克族食管癌的发生发展,其高表达可以作为哈萨克族食管癌肿瘤浸润及转移的分子标志。

本研究结果还表明,MMP-1 与 MMP-7 基因的表达呈正相关,提示二者在哈萨克族食管癌发生发展过程中具有协同效应,两者的表达随着浸润深度的加深愈来愈强,联合检测可能提示哈萨克族食管癌的早期发生。

参考文献

- Arakaki PA, Marques MR, Santos MC, et al. MMP-1 polymorphism and its relationship to pathological processes [J]. J Biosci 2009, 34 (2): 313-20.
- 吕晓智, 邹亚光, 殷学民, 等. MMP-1 mRNA 在口腔鳞癌与正常黏膜中的表达及临床意义 [J]. 南方医科大学学报, 2008, 28(8): 1362-1364.
- 饶雪峰, 刘伟中, 廖传文, 等. MMP-7 在肝细胞癌组织中的表达及临床意义 [J]. 世界华人消化杂志, 2009, 17(28): 2903-2907.
- 侯浚, 陈志峰, 贺宇彤. 食管癌的流行病学 [J]. 河北职工医学院学报, 2000, 17(4): 27-29.
- 刘江惠, 李金梅, 左连富, 等. 食管鳞癌中 PPAR γ 和 MMP-7 的表达及其意义 [J]. 河北医科大学学报, 2009, 30(1): 22-25.
- 苏书娟, 邢鲁奇, 陈登庭, 等. MMP-2、MMP-9 在乳腺导管癌中表达及意义 [J]. 中国公共卫生, 2011, 27(3): 268-270.
- 王亚莉, 王建刚, 刘琳. 食管鳞癌 nm23-H1 及基质金属蛋白酶-7 蛋白表达的临床病理意义 [J]. 新乡医学院学报, 2008, 25(1): 23-26.

收稿日期: 2011-03-30

(孔繁学编辑 宋艳萍校对)