

[文章编号] 1000-2200(2007)06-0666-03

。临床医学。

胃癌患者 MMP-2、CEA 的表达及其临床意义

汪强武¹, 周 蕾², 王启之¹, 于东红², 胡永全³

[摘要]目的: 探讨胃癌患者基质金属蛋白酶 2(MMP-2)、癌胚抗原(CEA)的表达及其临床意义。方法: 采用免疫组化 S-P 法测定胃癌患者活检或手术标本中的 MMP-2 表达, 采用免疫放射分析法(IRMA)检测空腹血清 CEA 水平, 并分析其与分化程度、TNM 分期、淋巴结、肝、胰转移和腹膜、脉管受侵犯的关系。结果: CEA 血清水平与淋巴结、肝脏、腹腔转移均有一定关系($P < 0.01 \sim P < 0.005$), 而与胃癌分化程度、胰腺转移、脉管转移、临床分期均无关系($P > 0.05$)。MMP-2 表达强度与淋巴结、肝脏、胰腺、脉管和腹腔转移与否差异均有统计学意义($P < 0.005$), 与胃癌分化程度、临床分期均无明显关系($P > 0.05$)。结论: MMP-2、CEA 在胃癌的发生和侵袭转移中可能起着重要作用, 联合检测 MMP-2、CEA 的表达有望成为判断胃癌病变发展、预测肿瘤转移潜能的客观指标。

[关键词] 胃肿瘤; 基质金属蛋白酶 2 癌胚抗原; 免疫组织化学; 免疫放射分析法

[中国图书资料分类法分类号] R 725.2 [文献标识码] A

Expression and significance of MMP-2 and CEA in patients with gastric carcinoma

WANG Qiangwu, ZHOU Lei, WANG Qizhi, YU Donghong, HU Yongquan

(1 Department of Gastroenterology, 3 Department of Nuclear Medicine, The First Affiliated Hospital of

Bengbu Medical College, Bengbu 233004, 2 Department of Pathology, Bengbu Medical College, Bengbu 233030, China)

[Abstract] Objective: To investigate the expression and clinical significance of matrix metalloproteinase 2 (MMP-2) and carcinoembryonic antigen (CEA) in patients with gastric carcinoma. Methods: Biopsy and resective specimens were examined by SP immunohistochemical method for MMP-2, the content of serum CEA was detected by immunoradiometric assay and their relations with the differentiation degree of gastric carcinoma, TNM stage, lymph node metastasis, liver metastasis, pancreas metastasis, degree of peritoneum and vascular system involvement were analyzed. Results: Expression of CEA was positively related to the lymph node metastasis, liver metastasis and peritoneum metastasis ($P < 0.01 \sim P < 0.005$), but was not related to the differentiation of gastric carcinoma, pancreas metastasis, vascular system metastasis or TNM stage ($P > 0.05$). Expression of MMP-2 protein was positively related to the lymph node metastasis, liver metastasis, pancreas metastasis, vascular system metastasis and peritoneum metastasis ($P < 0.005$), but was not related to the differentiation degree of gastric carcinoma or TNM stage ($P > 0.05$). Conclusion: CEA and MMP-2 may play an important role in the formation, invasion and metastasis of gastric carcinoma. Expression of them might serve as an objective indicator for estimating tumor progress and predicting the metastasis of cancer cells.

[Key words] gastric neoplasms; matrix metalloproteinase 2; carcinoembryonic antigen; immunohistochemistry; radioimmunoassay

胃癌是我国常见的恶性肿瘤之一, 预后较差, 即使采用广泛淋巴结清扫的根治术, 5 年生存率仍不超过 35%。治疗失败的相当一部分是肿瘤转移。一旦发现有远处转移包括淋巴结、肝脏、胰腺、脉管及腹膜转移肯定已失去最佳治疗时机。有效筛检转移的高危病例并予以及时治疗是提高胃癌治疗效果和提高生存率的关键。传统的腹腔脱落细胞学(PLC)检查和远处淋巴结穿刺活检以及影像学检查难以发现早期转移征象, 且 PLC 检查由于灵敏性较低, 难以早期发现腹腔内脱落的游离癌细胞(ECC)^[1]。胃癌预后的改观有赖于早期诊断、远处

转移的早期发现及合理选择治疗方案。本研究通过检测胃癌患者基质金属蛋白酶 2(MMP-2)和癌胚抗原(CEA), 探讨两者在胃癌诊断和转移的早期预测价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 胃癌患者 82 例, 男 43 例, 女 39 例; 年龄 34~78 岁。为我院 2004~2006 年消化内科和肿瘤外科住院患者。82 例均经胃镜活检或手术病理证实。分化较差组为低分化腺癌、印戒细胞癌和未分化癌, 分化较好组为高分化乳头状腺癌和中分化管状腺癌。TNM 分期: I 期 8 例, II 期 10 例, III 期 21 例, IV 期 43 例。通过 B 超、彩超、CT 增强 CT、MRI 肝穿刺、淋巴结穿刺、腹腔积液找脱落细胞、腹膜穿刺送病理活检等确定其是否有胰腺、肝脏、淋巴结、腹膜、脉管转移。

1.2 方法 于患者肘静脉采血, 静置 1 h 分离血清

[收稿日期] 2007-07-26

[作者单位] 蚌埠医学院第一附属医院 1 消化科, 3 核医学科, 安徽蚌埠 233004; 2 蚌埠医学院病理学教研室, 安徽蚌埠 233030

[作者简介] 汪强武(1968—), 男, 硕士, 主治医师。

放置 -20°C 贮存备用待查。血清 CEA 测定采用免疫放射分析法 (IRMA), IRMA 试剂盒购自北京北方生物技术研究所。试验步骤严格按照试剂盒说明书进行。MMP-2 采用免疫组织化学 S-P 法。将制好的组织切片经二甲苯脱蜡, 梯度乙醇脱水后行免疫组化染色。按试剂盒说明书步骤进行操作。PBS 代替一抗作为阴性对照。一抗为鼠抗人 MMP-2 单克隆抗体, 为即用型试剂, SP 免疫组化试剂盒购自福州迈新生物技术公司。

1.3 结果判断 CEA 血清标本由专人按说明书操作。血清正常值 $< 15 \text{ ng/ml}$ $> 20 \text{ ng/ml}$ 为阳性。MMP-2 定位于胞质, 有棕黄色颗粒沉着。采用双盲法, 每张切片由两位病理医师独立观察, 在高倍镜 ($\times 400$) 下计数 10 个视野, 根据细胞质的染色程度及染色细胞百分率进行评分, 基本不着色者为 0 分, 着色淡者为 1 分, 着色深者为 2 分; 着色细胞占计数细胞百分率 $< 5\%$ 为 0 分, $5\% \sim 25\%$ 为 1 分, $26\% \sim 50\%$ 为 2 分, $> 50\%$ 为 3 分。将每张切片着色程度得分与着色细胞百分率得分各自相乘, 为其最后得分。0~1 分为阴性 (-), 2~3 分为低度阳性 (+), 4 分及以上为高度阳性 (++)。

1.4 统计学方法 采用 χ^2 检验和四格表确切概率法。

2 结果

CEA 血清浓度与淋巴结、肝脏、腹腔转移均有一定关系 ($P < 0.01 \sim P < 0.005$), 但与胃癌分化程度、胰腺转移、脉管转移、临床分期均无明显关系 ($P > 0.05$)。MMP-2 表达强度与淋巴结、肝脏、胰腺、脉管、腹腔转移与否差异均有统计学意义 ($P < 0.005$), 而与胃癌分化程度、临床分期均无明显关系 ($P > 0.05$) (见表 1)。

3 讨论

胃癌是常见的消化道恶性肿瘤, 居全球肿瘤发病率和癌症死亡率的第二位。部分胃癌患者治疗时在淋巴系统、血循环、骨髓、肝、肺等组织和器官中已发现微转移, 而目前常规检查如 CT、MR 及普通病理检查等方法都难以发现, 肿瘤标志物的发现提高了胃癌患者微转移的检出率。

3.1 CEA 及临床意义 CEA 最早从结肠癌组织中检测到, 是一种相对分子量为 18×10^4 的糖蛋白, 胚胎表达, 正常成人不表达, 伴有肿瘤如胃癌、大肠癌等发生时重新表达, 是较早被临床应用的肿瘤标志物。CEA 在多种消化系统肿瘤中都有不同程度的升高, 其阳性率与肿瘤分期及转移等因素相关, 应用

表 1 胃癌患者病理和临床因素与血清 CEA、MMP-2 表达之间的关系 [χ^2 表达阳性率 (%)]

病理特征	n	CEA	χ^2	P	MMP-2	χ^2	P
分化							
高+中	28	17(60.7)	0.85	> 0.05	16(57.1)	0.09	> 0.05
低	54	27(50.0)			29(53.7)		
TNM 分期							
I+II	18	6(33.3)	0.50	> 0.05	7(38.9)	1.14	> 0.05
III+IV	64	36(56.3)			34(53.1)		
淋巴结转移							
无	58	18(31.0)	10.99	< 0.005	17(29.3)	17.13	< 0.005
有	24	17(70.8)			19(79.2)		
腹膜转移							
无	60	19(31.7)	16.35	< 0.005	15(25.0)	28.58	< 0.005
有	22	18(81.8)			20(90.9)		
肝脏转移							
无	66	18(27.3)	7.10	< 0.01	16(24.2)	11.55	< 0.005
有	16	10(62.5)			11(68.8)		
胰腺转移							
无	70	13(18.6)	3.19	> 0.05	13(18.6)	8.78	< 0.005
有	12	5(41.7)			7(58.3)		
脉管侵犯							
无	73	5(6.8)	—	0.168 Δ	5(6.8)	13.49	< 0.005
有	9	2(22.2)			5(55.6)		

Δ 示四格表确切概率法

RT-PCR 方法检测外周血 CEA mRNA 表达对监测肿瘤复发有一定意义^[2]。CEA mRNA 主要存在于肿瘤细胞内, 因此以其作为肿瘤标志物进行微转移检测, 可以在骨髓、外周血、淋巴结及腹腔灌洗液等进行^[3,4]。胃癌细胞侵犯浆膜或腹腔淋巴结并脱落入腹腔, 称之为腹膜亚临床转移。PLC 是检测脱落癌细胞最常用的方法, 但其缺点是检测敏感性低^[5], 由于肿瘤细胞少和肿瘤细胞的蜕变, 靠形态学检查有较高的漏诊率。因此 CEA 便成为胃肠道肿瘤检测的一项常用指标。

本研究结果显示, CEA 血清浓度测定与淋巴结转移、肝脏、腹腔转移均有一定关系 ($P < 0.01 \sim P < 0.005$), 因此 CEA 从一定程度上可以预测胃癌发生远处转移的风险和概率。当然也不排除 CEA 阳性, 无明确远处转移发现, 但体内已发生微转移, 目前的技术手段还无法检测。另有一部分病例 CEA 阴性, 但已有明确远处转移, 这种转移很可能和其它肿瘤标志物的表达有关。检测胃癌患者外周血 CEA 的表达情况对及早发现患者转移的倾向有很重要的价值, 以指导诊断治疗。对于 CEA 表达阳性者可作为高危人群加强随访和术后检测, 提高胃癌患者 5 年生存率。

3.2 MMP-2及临床意义 肿瘤的浸润和转移是决定其预后的最重要因素^[6]。细胞外基质 (ECM)和基底膜是肿瘤侵袭和转移的屏障^[7]。研究表明^[8],肿瘤细胞必须具备降解 ECM及基底膜的能力,通过与 ECM结合,溶解 ECM向外扩散、侵袭和转移至邻近组织及远处器官。许多酶类可以降解 ECM中的大分子蛋白,其中最重要的蛋白酶是 MMPs^[9]。MMPs通过降解 ECM破坏基底膜以及促进肿瘤血管新生而促进肿瘤浸润和转移。

MMP-2是一种锌离子依赖的蛋白酶,分子量为72 kDa,以酶原形式分泌,不具有酶活性,型膜型MMP可将其激活,被激活后的 MMP-2能水解细胞基底膜及外基质中的IV型、V型胶原和纤维连接蛋白成分,导致基底膜破坏,肿瘤细胞遂浸润结缔组织基质,侵犯小血管和淋巴管而发生转移^[10,11]。正常情况下,组织合成分泌 MMP-2量少,在炎症、肠化、增生、损伤等刺激下,合成分泌 MMP-2量增多,基底膜破坏,导致肿瘤发生侵袭。在增生、损伤等刺激下,有转移倾向的癌细胞及其间质内有大量的 MMP-2分泌,对基底膜中的 IV型胶原有破坏作用,也能促进其浸润型生长。

本研究发现,胃癌患者伴淋巴结、肝脏、胰腺、脉管及腹腔转移, MMP-2表达有增高的趋势 ($P < 0.005$),而 MMP-2表达与癌组织分化程度及临床分期均无明显关系 ($P > 0.05$)。说明 MMP-2在胃癌的发展过程及肿瘤的浸润和转移过程中发挥了重要作用。本实验示胃癌患者 MMP-2表达阳性从一定程度上可以预测患者发生浸润、转移的潜能和风险,而 CEA与淋巴结、肝脏、腹腔转移均有一定关系, MMP-2在胃癌中的表达预测胃癌临床生物学特性和胃癌中 CEA表达有共性,它们联合检测对早期预测、及时发现胃癌患者具备转移倾向或发生微转移

有重要意义。

[参 考 文 献]

- [1] 吴 晴,李 达,彭志海,等.检测胃癌患者腹腔冲洗液 CK19 mRNA和 CEA mRNA用于预测腹膜微转移 [J]. 第二军医大学学报, 2005, 26(5): 492-495.
- [2] Miyazono F, Natsugoe S, Takao S, et al. Surgical maneuvers enhance molecular detection of circulating tumor cells during gastric cancer surgery [J]. *Ann Surg* 2001, 233(2): 189-194.
- [3] Lee CC, Lo SS, Wu CW, et al. Peritoneal recurrence of gastric adenocarcinoma after curative resection [J]. *HepatoGastroenterology* 2003, 50(53): 1720-1722.
- [4] Benevolò M, Motolese M, Cosimelli M, et al. Diagnostic and prognostic value of Peritoneal immunocytology in gastric cancer [J]. *J Clin Oncol* 1998, 16(10): 3406-3411.
- [5] Abe S, Yoshimura H, Tabara H, et al. Curative resection of gastric cancer: limitation of peritoneal lavage cytology in predicting the outcome [J]. *J Surg Oncol* 1995, 59(4): 226-229.
- [6] Ljotta LA, Rao CN, Barsky SH. Tumor invasion and the extracellular matrix [J]. *Lab Invest* 1983, 49(6): 636-649.
- [7] Yang H, Briggs WH, Libby P, et al. Small mechanical strains selectively suppress matrix metalloproteinase 1 expression by human vascular smooth muscle cells [J]. *J Biol Chem* 2003, 278(11): 6550-6555.
- [8] 陈永胜,潘留兰,金珍婧,等. MMP-2、MMP-9和 TIMP-1在胃癌组织中的表达及其与临床病理特点和预后的关系 [J]. 吉林大学学报(医学版), 2005, 31(6): 927-930.
- [9] Ljao L, Crawford HC. Functions of the extracellular matrix and matrix degrading proteases during tumor progression [J]. *Braz J Med Biol Res* 2002, 32(7): 805-812.
- [10] Okada E, Murai Y, Matsui K, et al. Survivin expression in tumor cell nuclei is predictive of a favorable prognosis in gastric cancer patients [J]. *Cancer Lett* 2001, 163(1): 109-116.
- [11] Lu Z, Ghosh S, Wang Z, et al. Downregulation of caveolin-1 function by EGF leads to the loss of E-cadherin, increased transcriptional activity of beta-catenin, and enhanced tumor cell invasion [J]. *Cancer Cell* 2003, 4(6): 499-515.

《蚌埠医学院学报》征订启事

《蚌埠医学院学报》为国内外公开发行的医学综合性学术期刊,主要刊登实验医学论文和应用医学论文;是中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊),被美国《化学文摘》(CA)、俄罗斯《文摘杂志》(DK)和中国科技论文统计与分析刊源数据库等国内多家数据库收录期刊。全文入编《中国学术期刊(光盘版)》、“中国期刊网”、“万方数据——数字化期刊群”。2004年获“全国高等学校优秀科技期刊二等奖”、“安徽省高校优秀学报二等奖”。

本学报为双月刊,128页,逢单月15日出版,国际标准A4开本,铜版纸印刷,标准刊号:ISSN 1000-2200 CN34-1067/R 每册定价8.00元,全年48.00元。邮发代号26-37,欢迎广大读者及时向当地邮局订阅,也可直接向本刊编辑部订阅,免收邮费。

邮购地址:安徽省蚌埠市东海大道2600号 邮政编码:233030

电话:(0552)3175456; E-mail: bang@chinajournal.net.cn; byxk@163.com

《蚌埠医学院学报》编辑部