

MMP-13在胶质母细胞瘤中的表达及对患者术后生存期的影响

杨 波¹,唐伏秋²

(广州军区武汉总医院肿瘤科¹、干部病房二科²,湖北 武汉 430070)

【摘要】 目的 探讨基质金属蛋白酶13(Matrix metalloproteinase 13, MMP-13)的表达对胶质母细胞瘤患者术后生存期的影响。方法 免疫组化法检测31例胶质母细胞瘤患者肿瘤组织标本中MMP-13的表达, Kaplan-Meier生存曲线和Log-rank检验比较MMP-13强表达组与弱表达组患者术后生存期之间的差异。结果 MMP-13在胶质母细胞瘤中总表达率为77.4%,强表达组术后生存期明显短于弱表达组($P < 0.0001$, $\chi^2 = 18.275$)。结论 MMP-13有潜力作为胶质母细胞瘤患者预后的影响因素。

【关键词】 胶质母细胞瘤;基质金属蛋白酶13;术后生存期

【中图分类号】 R730.264 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2012)02-001-03

MMP-13 expression in glioblastoma and its relationship with postoperative survival. YANG Bo¹, TANG Fu-qiu². Department of Oncology¹, Department of Second Cadre Ward², Wuhan General Hospital of Guangzhou Command of PLA, Wuhan 430070, Hubei, CHINA

【Abstract】 Objective To investigate the expression of Matrix metalloproteinase 13 (MMP-13) in glioblastoma tissue and its relationship with postoperative survival. **Methods** The expression of MMP-13 in 31 patients with glioblastoma was detected by immunohistochemical staining method. The postoperative survival was analyzed by Kaplan-Meier survival curve and Log-rank test. **Results** The total rate of MMP-13 expression in glioblastoma tissues was 73.3%. The postoperative survival in the group of patients with strong MMP-13 expression was shorter than that in the group of patients with weak MMP-13 expression ($P = 0.008$, $\chi^2 = 7.043$). **Conclusion** The expression of MMP-13 might be act as an important factor associated with postoperative survival in glioblastoma.

【Key words】 Glioblastoma; Matrix metalloproteinase 13 (MMP-13); Postoperative survival

胶质母细胞瘤是颅内最常见的原发性恶性肿瘤,来源于神经上皮组织,病理学分级属WHO IV级星形细胞瘤。常见的发病年龄为45~65岁,老年男性多见,多以颅内高压症状或神经功能障碍症状起病、病程短、进展快、死亡率高。虽然目前临床上采用了手术为主,辅以术后放疗、化疗、免疫治疗的综合治疗措施,但胶质母细胞瘤的疗效仍然不理想,患者生存期短,预后差。为了改善胶质母细胞瘤患者的预后,延长生存期,必须深入研究胶质母细胞瘤的增殖、侵袭的机制,寻找新的治疗靶点。基质金属蛋白酶是一种锌离子依赖的蛋白水解酶家族,可以降解细胞外基质中的胶原、明胶、蛋白多糖、层粘连蛋白等多种成份,与结肠癌、肺癌、骨肉瘤等多种恶性肿瘤的增殖、侵袭密切相关^[1-2]。为了解胶质母细胞瘤中基质金属蛋白酶13(Matrix metalloproteinase-13, MMP-13)的表达及其与患者术后生存期之间的相关性,我们采用免疫组化学法检测了31例胶质母细胞瘤患者组织标本中MMP-13的表达,比较MMP-13强表达组与弱表达组患者术后生存期的差异,报道如下:

1 资料与方法

1.1 标本来源 选取广州军区武汉总医院2008年1月至2010年6月首次手术切除并经病理学证实的胶质母细胞瘤患者的石蜡组织标本31例,所有病例均系广州军区武汉总医院神经外科住院患者,经过影像学及术后病理确诊为胶质母细胞瘤,术前均未行放疗、化疗和免疫治疗等抗肿瘤治疗。其中男20例,女11例,年龄33~65岁,平均51.6岁。电话随访患者的生存期,随访日期截止至2011年6月1日。

1.2 主要试剂 小鼠抗人MMP-13单克隆抗体购自美国Abnova公司,即用型快捷免疫组化MaxVision™试剂盒、DAB显色试剂盒等试剂均购自福州迈新生物技术开发公司。

1.3 方法 采用免疫组化两步法:以PBS代替一抗作阴性对照,已知阳性切片作为阳性对照。石蜡切片脱蜡和水化后,用PBS冲洗3次,每次3 min。高压锅煮沸对组织抗原进行修复,每张切片加1滴或50 μ l 3%过氧化氢,室温下孵育10 min,以阻断内源性过氧化物酶的活性。PBS冲洗3次,每次3 min。除去PBS液,每张切片加1滴或50 μ l的小鼠抗人

MMP-13单克隆抗体,4℃过夜。PBS液洗3遍,每次3 min,每张切片加1滴或50 μl即用型MaxVision™试剂,室温下孵育15 min。PBS冲洗3次,每次3 min。除去PBS液,每张切片加2滴或100 μl新鲜配制的DAB溶液,显微镜下观察1~3 min掌握显色程度。自来水冲洗,苏木素复染。之后切片经过梯度酒精脱水干燥,二甲苯透明,中性树胶封固。

1.4 MMP-13染色结果判定 MMP-13阳性表达的细胞中,胞浆呈程度不同、基本均匀的棕黄色颗粒反应,强表达者呈黄褐色。由两名独立的病理科医师根据组织切片的染色强度和染色面积进行半定量染色评分,染色强度的评分标准是:0=阴性,1=弱阳性,2=阳性,3=强阳性;染色面积的评分标准是:0=阴性, I <10%, II 10~50%, III >50%。

1.5 统计学处理 采用SPSS 13.0软件进行统计学处理,术后生存期的比较用Kaplan-Meier曲线和Log-rank检验。

2 结果

2.1 MMP-13在胶质母细胞瘤组织中的表达 如图1所示,MMP-13在胶质母细胞瘤标本组织中的表达主要集中在肿瘤细胞的细胞浆,显微镜观察呈程度不同的黄色、黄褐色染色。31例胶质母细胞瘤标本按照 Tirapelli 等^[3]报道的胶质母细胞瘤免疫组化评分方法(详见材料与方法1.4)判定染色评分,将染色强度与染色面积评分相加,总评分0分为阴性,1~2分为弱阳性,3~4分为阳性,5~6分为强阳性。其中MMP-7阴性表达7例,弱阳性表达8例,阳性和强阳性表达16例,总表达率(弱阳性表达组+阳性表达组+强阳性表达组)达77.4%。强表达组(阳性表达组+强阳性表达组)16例,占51.6%。弱表达组(阴性表达组+弱阳性表达组)15例,占48.4%。

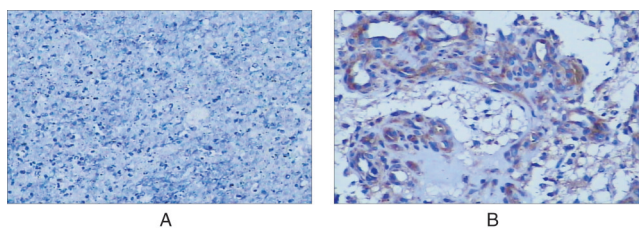


图1 免疫组化检测胶质母细胞瘤组织MMP-13的表达(×200)
注:A:胶质母细胞瘤组织中阴性表达;B:胶质母细胞瘤组织中阳性表达。

2.2 MMP-13表达的强弱与患者术后生存期的关系 31例胶质母细胞瘤患者中,MMP-13强表达组16例,删除1例(患者仍生存)。MMP-13弱表达组15例,删除3例(患者仍生存)。如图2所示,MMP-13强表达组生存期明显短于MMP7弱表达组($P < 0.0001, \chi^2 = 18.275$)。

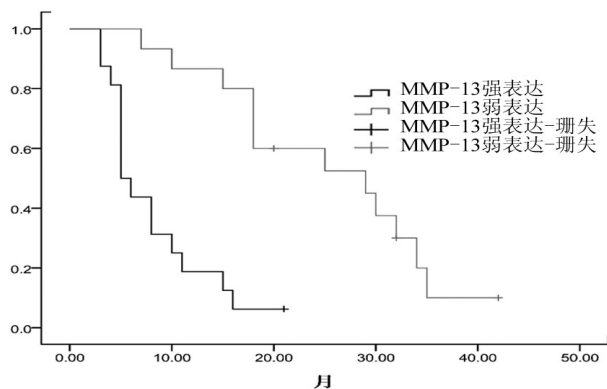


图2 31例胶质母细胞瘤患者Kaplan-Meier生存曲线

3 讨论

胶质母细胞瘤是高度恶性的IV级星形胶质细胞瘤,可以是颅内原发,也可以由间变性星形细胞瘤进一步恶变而来,病理学又分为多形性胶质母细胞瘤和巨细胞型胶质母细胞瘤。胶质母细胞瘤镜下可见瘤细胞密集,有明显异型性,常常伴出血、坏死,血管内皮细胞明显增生。肿瘤发展迅速,预后差,患者多在两年内死亡^[4]。恶性肿瘤的侵袭和转移通常包括以下三个步骤:①肿瘤细胞粘附基底膜和细胞外基质,通过各种蛋白水解酶降解基底膜和细胞外基质成份;②肿瘤细胞在各种趋化因子的作用下聚集和移行;③肿瘤细胞随血管和淋巴管转移至他处继续增殖。其中,细胞外基质的降解是恶性肿瘤侵袭的重要步骤,而基质金属蛋白酶在这一过程中发挥着重要作用。

基质金属蛋白酶可以分为5个亚类:胶原酶、明胶酶、间质溶解素、膜型基质金属蛋白酶和其他类^[5]。MMP-13与MMP-1、MMP-8同属于胶原酶亚类,是基质金属蛋白酶家族中一个重要的成员,它主要由肿瘤细胞和肿瘤间质细胞分泌,可以降解细胞外基质中的I、II、III、IV型胶原等成份。特别是II、IV型胶原,是MMP-13的主要作用底物^[6-7]。近年来研究发现,MMP-13的高表达与乳腺癌、结肠癌、软骨肉瘤的不良预后密切相关。Zhang等^[8]用免疫组化法检测了263例乳腺癌石蜡包埋组织标本,发现MMP-13蛋白主要表达于肿瘤细胞的胞质和肿瘤间质细胞,MMP-13在肿瘤细胞的表达($P < 0.001$)和肿瘤间质成纤维细胞的表达($P < 0.001$)都与肿瘤的淋巴结转移有关。MMP-13在肿瘤细胞的表达与Her-2($P = 0.015$)和TIMP-1($P < 0.010$)的表达也密切相关。MMP-13在肿瘤细胞的表达还与肿瘤的侵袭性表型密切相关。高水平表达的MMP-13与患者的不良预后有关,MMP-13是决定乳腺癌患者预后和生存的独立因素。Elke等^[9]用半定量RT-PCR法检测了30例结肠癌组织和远端正常肠黏膜组织中MMP-13表达,发现MMP-13 mRNA在肿瘤组织中的表达远远高于在正

血液透析患者促红素敏感性与胰岛素抵抗相关性研究

朱昭章, 邹凡, 方如美*

(中国人民解放军第303医院肾病科, 广西 南宁 530021)

【摘要】 目的 探讨维持血液透析(MHD)患者促红素敏感性与胰岛素抵抗的相关性。方法 检测12例糖尿病肾病MHD患者、66例非糖尿病肾病MHD患者及12例健康对照者临床及生化指标,以rHuEPO用量/Hb比值(rHuEPO/Hb)作为促红素反应性指标、计算胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)。结果 糖尿病肾病组及非糖尿病肾病组均存在促红素低反应,分别为56.6%和32.4%。糖尿病肾病组维持血液透析患者甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白(LDL)、甲状旁腺激素(iPTH)、脂蛋白a(Lpa)、超敏C-反应蛋白(hs-CRP)、HOMA-IR均较非糖尿病肾病组及正常组增高($P<0.05$),糖尿病肾病组增高更为明显,此外糖尿病肾病组血清白蛋白下降更为明显($P<0.05$);相关分析提示rHuEPO/Hb比值与Alb($r=-0.166, P<0.05$)、HDL($r=-0.233, P<0.05$)呈负相关,与iPTH($r=0.382, P<0.05$)、TG($r=0.258, P<0.05$)、hs-CRP($r=0.399, P<0.05$)和HOMA-IR($r=0.416, P<0.05$)呈正相关,进一步行偏相关分析,结果提示rHuEPO/Hb与HOMA-IR呈正相关($r=0.461, P<0.05$)。结论 维持血液透析患者促红素反应性与胰岛素抵抗密切相关。

【关键词】 血液透析;肾性贫血;促红细胞生成素;胰岛素抵抗

【中图分类号】 R459.54 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2012)02-003-04

Relationship between insulin resistance and erythropoietin sensitivity in patients with maintenance hemodialysis. ZHU Zhao-zhang, ZOU Fan, FANG Ru-mei. Department of Nephrology, the 303th Hospital of the Chinese People's Liberation Army, Nanning 530021, Guangxi, CHINA

【Abstract】 Objective To investigate the relevance between erythropoietin sensitivity and insulin resistance

作者简介:朱昭章(1981—),男,广西南宁市人,住院医师,硕士。

*通讯作者:方如美。E-mail:ahui.cheng@163.com

常肠黏膜组织中的表达($P=0.023$)。Curran等^[10]用免疫组化法检测了90例Dukes'C结肠癌患者肿瘤组织中MMP-13的表达,发现MMP-13的表达强弱与患者的术后生存期呈反比,MMP-13是决定结肠癌患者预后和生存的独立因素。

虽然MMP-13在乳腺癌、结肠癌、软骨肉瘤中的表达与患者预后和生存密切相关,但其在胶质瘤中的表达研究资料尚不多。本研究结果显示,MMP-13在胶质母细胞瘤组织中总表达率为77.4%,Kaplan-Meier生存曲线分析和Log-rank检验比较,MMP-13强表达组术后生存期明显低于弱表达组,这表明MMP-13在胶质母细胞瘤中的表达可能与肿瘤的恶性增殖、侵袭等生物学行为密切相关,并影响胶质母细胞瘤患者的预后和术后生存。对于其通过影响哪些靶分子或靶基因来促进胶质母细胞瘤的增殖和侵袭,还有待于进一步的实验研究。

参考文献

- [1] Klinge U, Rosch R, Junge K, et al. Different matrix micro-environments in colon cancer and diverticular disease [J]. Int J Colorectal Dis, 2007, 22(5): 515-520.
- [2] Morrison CJ, Butler GS, Rodríguez D. Matrix metalloproteinase proteomics: substrates, targets, and therapy [J]. Curr Opin Cell Biol,

2009, 21(5): 645-653.

- [3] Tirapelli LF, Bolini PH, Tirapelli DP, et al. Caspase-3 and Bcl-2 expression in glioblastoma: an immunohistochemical study [J]. Arq Neuropsiquiatr, 2010, 68(4): 603-607.
- [4] Clarke J, Butowski N, Chang S. Recent advances in therapy for glioblastoma [J]. Arch Neurol, 2010, 67(3): 279-283.
- [5] Sternlicht MD, Werb Z. How matrix metalloproteinases regulate cell behavior [J]. Annu Rev Cell Dev Biol, 2001, 17(1): 463-516.
- [6] Knauper V, Lopez-Otin C, Smith B, et al. Biochemical characterization of human collagenase-3 [J]. J Biol Chem, 1996, 271(3): 1544-1550.
- [7] Deng SJ, Bickett DM, Mitchell JL, et al. Substrate specificity of human collagenase 3 assessed using a phage-displayed peptide library [J]. J Biol Chem, 2000, 275 (40): 31422-31427.
- [8] Zhang B, Cao XC, Liu YX, et al. Tumor-derived matrix metalloproteinase-13 (MMP-13) correlates with poor prognoses of invasive breast cancer [J]. BMC Cancer, 2008, 8 (8): 83-92.
- [9] Roeb E, Arndt M, Jansen B, et al. Simultaneous determination of matrix metalloproteinase (MMP)-7, MMP-1, -3, and -13 gene expression by multiplex PCR in colorectal carcinomas [J]. Int J Colorectal Dis, 2004, 19 (10): 518-524.
- [10] Curran s, Dundas SR, Buxton J, et al. Matrix metalloproteinase/tissue inhibitors of matrix metalloproteinase phenotype identifies poor prognosis colorectal Cancers [J]. Clinical Cancer Research, 2004, 10 (24): 8229-8234.

(收稿日期:2011-08-29)