

MMP-9、Ki-67 的表达与骨肉瘤侵袭、转移、复发的相关性研究

邓必勇, 邱冰

(贵州省骨科医院骨科, 贵州 贵阳 550007)

【摘要】 目的 探讨骨肉瘤患者血清基质金属蛋白酶-9 (MMP-9) 和 Ki-67 的表达及与肿瘤侵袭、转移、复发的相关性。方法 选取 2011 年 1 月至 2014 年 5 月本院骨科收治骨肉瘤患者 65 例, 同期纳入 50 例体检健康者为健康对照组; 比较骨肉瘤患者和对照组患者的血清 MMP-9 和 Ki-67 水平; 分析血清 MMP-9 和 Ki-67 的水平与骨肉瘤临床病理特征的相关性; 比较随访期间未复发与复发患者间血清 MMP-9 和 Ki-67 水平。结果 骨肉瘤患者血清 MMP-9 和 Ki-67 水平分别为 $(2.78 \pm 0.29) \mu\text{g/ml}$ 和 $(52.33 \pm 5.46) \text{ng/ml}$, 均显著高于对照组 [$(1.31 \pm 0.16) \mu\text{g/ml}$, $(20.57 \pm 2.39) \text{ng/ml}$] ($P < 0.01$); 骨肉瘤患者血清 MMP-9 和 Ki-67 水平与其年龄、性别、瘤灶大小、肿瘤部位及 Dahlin's 分型无显著相关性 ($P > 0.05$), 而与 GTM 分期及转移存在显著相关 ($P < 0.01$); 1 年期随访结果显示, 35 例复发, 30 例未复发; 复发组患者入院时血清 MMP-9 和 Ki-67 的水平分别为 $(2.93 \pm 0.34) \mu\text{g/ml}$ 和 $(54.73 \pm 5.86) \text{ng/ml}$, 明显高于非复发组同期水平 [$(2.72 \pm 0.32) \mu\text{g/ml}$, $(50.12 \pm 5.35) \text{ng/ml}$], 差异均有显著统计学意义 ($P < 0.01$)。结论 骨肉瘤患者的血清 MMP-9 和 Ki-67 水平显著增高, 与骨肉瘤的侵袭、转移、复发密切相关, 是临床评价该病患者治疗效果的重要指标。

【关键词】 骨肉瘤; 基质金属蛋白酶-9; Ki-67; 相关性

【中图分类号】 R738 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2016)06-0895-03

Correlation analysis of expression of MMP-9, Ki-67 and invasion, metastasis, recurrence of osteosarcoma. DENG Bi-yong, QIU Bin. Department of Orthopedics, the Orthopaedic Hospital in Guizhou, Guiyang 550007, Guizhou, CHINA

【Abstract】 Objective To investigate serum levels of matrix metalloproteinases 9 (MMP-9) and Ki-67, and its correlation with the invasion, metastasis and recurrence of osteosarcoma. **Methods** Sixty-five patients of osteosarcoma were chosen in our hospital from January 2011 to May 2014. During the same period, 50 patients of routine physical examination in our hospital were enrolled as the control group. Serum levels of MMP-9 and Ki-67 between two groups were compared. Correlation of serum levels of MMP-9 and Ki-67 and clinicopathological features of osteosarcoma was analyzed. Serum levels of MMP-9 and Ki-67 in the patients with and without recurrence group were compared. **Results** Compared with control group, serum levels of MMP-9 and Ki-67 in osteosarcoma patients were $(2.78 \pm 0.29) \mu\text{g/ml}$ and $(52.33 \pm 5.46) \text{ng/ml}$ respectively, which were significantly higher than those in the control group [$(1.31 \pm 0.16) \mu\text{g/ml}$, $(20.57 \pm 2.39) \text{ng/ml}$] ($P < 0.01$). Serum levels of MMP-9 and Ki-67 of osteosarcoma patients were irrelevant to age, gender, the size of tumor, tumor site and type of Dahlin's ($P > 0.05$), and were relevant to GTM grade and metastasis ($P < 0.01$). All patients were followed up for one year with 35 cases of recurrence and 30 cases without recurrence. Serum levels of MMP-9 and Ki-67 of the recurrence group were $(2.93 \pm 0.34) \mu\text{g/ml}$ and $(54.73 \pm 5.86) \text{ng/ml}$, which were significantly higher than those in non-recurrence group [$(2.72 \pm 0.32) \mu\text{g/ml}$, $(50.12 \pm 5.35) \text{ng/ml}$] ($P < 0.01$). **Conclusion** Serum levels of MMP-9 and Ki-67 of osteosarcoma patients are significantly increased, and they are closely related with invasion, metastasis and recurrence of osteosarcoma, which is an important indicator for evaluating the clinical therapeutic effect.

【Key words】 Osteosarcoma; Matrix metalloproteinases-9; Ki-67; Correlation

骨肉瘤为骨组织最常见恶性肿瘤, 以青少年多见, 具有恶性程度高、转移率高等特点^[1]。调查显示, 20% 的患者在确诊时已存在肺部转移, 预后较差^[2]。目前, 临床治疗骨肉瘤以新手术和辅助化疗为主, 资料显示该病患者的 5 年生存率维持在 20% 左右, 近年仍无显著提高^[3-4]。而早期肿瘤转移和术后复发是影响其临床治疗和患者生存的关键因素^[5]; 因此, 探讨骨肉瘤的侵袭、转移以及复发相关因素具有重要临床意义。

基质金属蛋白酶(MMP)-9 为人的蛋白水解酶,

可降解细胞外基质。Ki-67 为核内蛋白质的一种, 是细胞增殖的主要标记指标。研究证实, MMP-9 和 Ki-67 在骨肉瘤组织中呈高表达, 与该病的发生、发展以及预后密切相关^[6-7]; 近年, 应用血清生物学指标方法已成为一种辅助临床诊疗方式。然而, 关于骨肉瘤患者血清中 MMP-9 和 Ki-67 水平及其临床意义鲜见报道。本研究对 65 例骨肉瘤患者血清 MMP-9 和 Ki-67 水平进行了测定, 并对 MMP-9 和 Ki-67 与该病临床病理特征的相关性进行了分析。

基金项目: 贵州省卫生计生委科学技术基金(编号: gzwjw2015-1-008)

通讯作者: 邓必勇。E-mail: dengbiyong541@126.com

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取本院骨科 2011 年 1 月至 2014 年 5 月收治的骨肉瘤患者 65 例,其中男性 40 例,女性 25 例;年龄 18~40 岁,平均(33.27±4.98)岁;其中软骨母细胞型 11 例,骨母细胞型 31 例,纤维母细胞型 7 例,其他类型 16 例;就诊时已发生转移者 5 例,未发生转移者 60 例;胫骨上段 24 例,股骨下段肿瘤 29 例,其他部位 12 例;其中 II a 期 13 例,II b 期 23 例,III 期 24 例,IV 期 5 例。同期纳入 50 例我院体检健康者为健康对照组,男性 30 例,女性 20 例;年龄 20~45 岁,平均(34.96±4.16)岁。所有健康者经心电图、生化指标、影像学等检测均提示正常。本研究获得本院医学伦理委员会批准。

1.2 诊断标准 骨肉瘤诊断标准参照临床表现、病理以及 X 线片检查确诊;骨肉瘤 GTM 分期诊断参照 2010 年美国癌症联合委员会(ACJJ)^[8]制定的相关标准;骨肉瘤的组织学分型参照 Dahlin's 分型标准。

1.3 纳入标准 ①符合上述诊断标准者;②年龄 18~50 岁;③检测前均未进行化疗及其他治疗者;④所有患者知情,且签署协议书。

1.4 排除标准 ①妊娠或哺乳期女性;②精神病患者;③合并其他脏器或系统严重疾病者;④不配合随访者。

1.5 方法

1.5.1 指标检测 ①所有受试者晨起空腹采集静脉血约 3 ml,血样静置 30 min,离心取血清,置于-80℃保存待测;均采取免疫酶联吸附(ELISA)法检

测血清 MMP-9 和 Ki-67 水平,试剂盒均由武汉华美生物工程技术有限公司提供,所有样本由同一批号试剂测定。②测定患者瘤灶体积。

1.5.2 指标分析 ①比较两组受试者的血清 MMP-9 和 Ki-67 水平;②分析血清 MMP-9 和 Ki-67 的水平与骨肉瘤患者的年龄、性别、肿瘤大小、肿瘤部位、Dahlin's 分型、GTM 分期及转移等骨肉瘤临床病理特征间的相关性;③对所有患者进行 1 年期随访,记录复发病例。

1.6 统计学方法 应用 SPSS19.0 统计软件包进行数据分析,计量数据以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较应用 *t* 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组受试者血清 MMP-9 和 Ki-67 水平比较 与对照组比较,骨肉瘤组患者血清 MMP-9 和 Ki-67 均显著高于对照组,差异均有显著统计学意义($P<0.01$),见表 1。

表 1 两组受试者血清 MMP-9 和 Ki-67 水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	MMP-9 (μg/ml)	Ki-67 (ng/ml)
对照组	50	1.31±0.16	20.57±2.39
骨肉瘤组	65	2.78±0.29	52.33±5.46
<i>t</i> 值		34.65	41.97
<i>P</i> 值		<0.01	<0.01

2.2 血清 MMP-9 和 Ki-67 水平与骨肉瘤临床病理特征间的相关性 骨肉瘤患者血清 MMP-9 和 Ki-67 的水平与其年龄、性别、瘤灶大小、肿瘤部位以及 Dahlin's 分型无显著相关性($P>0.05$),与 GTM 分期以及转移存在显著相关($P<0.01$),见表 2。

表 2 血清 MMP-9 和 Ki-67 水平与骨肉瘤临床病理特征间的相关性($\bar{x}\pm s$)

因素	分类	例数	MMP-9 (μg/ml)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	Ki-67 (ng/ml)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
年龄(岁)	<25	36	2.74±0.44	0.70	>0.05	52.09±6.94	0.25	>0.05
	≥25	29	2.82±0.48			52.52±6.68		
性别	男	40	2.88±0.37	1.23	>0.05	52.47±6.91	0.07	>0.05
	女	25	2.76±0.39			52.28±6.55		
瘤灶大小(cm)	<8	34	2.72±0.34	1.18	>0.05	52.25±6.76	0.07	>0.05
	≥8	31	2.83±0.40			52.37±6.87		
肿瘤部位	胫骨上段	24	2.75±0.35	0.7	>0.05	52.30±6.44	0.05	>0.05
	股骨下段	29	2.82±0.38			52.37±6.48		
	其他部位	12	2.80±0.34			52.32±6.58		
Dahlin's 分型	软骨母细胞型	11	2.73±0.31	0.82	>0.05	52.29±6.91	0.04	>0.05
	骨母细胞型	31	2.82±0.34			52.36±6.81		
	纤维母细胞型	7	2.81±0.37			52.38±6.83		
	其他类型	16	2.75±0.32			52.27±6.94		
GTM 分期	II a~II b 期	36	2.67±0.29	3.14	<0.01	50.15±5.42	3.58	<0.01
	III~IV 期	29	2.92±0.34			55.03±5.76		
转移	阳性	5	3.09±0.30	3.41	<0.01	57.25±5.88	2.93	<0.01
	阴性	60	2.62±0.27			49.31±5.24		

2.3 未复发组和复发组患者血清 MMP-9 和 Ki-67 表达比较 1 年后随访结果显示,35 例复发,30 例未复

发;复发组患者入院血清 MMP-9 和 Ki-67 的表达明显高于非复发组,差异有统计学意义($P<0.01$),见表 3。

表 3 两组患者血清 MMP-9 和 Ki-67 表达比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	MMP-9 ($\mu\text{g/ml}$)	Ki-67 (ng/ml)
复发组	35	2.93 \pm 0.34	54.73 \pm 5.86
未复发组	30	2.72 \pm 0.32	50.12 \pm 5.35
<i>t</i> 值		2.57	3.31
<i>P</i> 值		<0.05	<0.01

3 讨论

侵袭、转移以及复发是骨肉瘤的重要恶性生物学行为。上述病理过程极为复杂,既往资料认为与其密切相关的主要发病机制包括:大量原发瘤组织细胞增殖,肿瘤新血管的形成,肿瘤细胞脱落并侵入细胞基质或周围组织、部分进入脉管系统继续转移等^[9]。以上发生机制的每个步骤,均涉及了大量细胞因子和多种细胞信号通路的调控,其中一些因子虽已被阐明,但精确评价骨肉瘤的生物学行为及为临床治疗该病提供更多有效资料,仍是目前急需解决的医学难题。

MMP-9 为基质金属蛋白酶家族成员,定位于染色体 20q12-q13,作用主要底物为细胞外基质 IV 型胶原酶,也可降解 V、VII、X 型明胶和纤维连接蛋白等。在组织生长发育、创口恢复愈合以及肿瘤侵袭过程中常被激活表达^[10]。研究发现,多种恶性肿瘤机体的 MMP9 含量呈高表达,且其水平与该肿瘤的血管新生、侵袭、转移以及复发等密切相关^[11]。近年发现,骨肉瘤患者组织中 MMP-9 表达显著升高,且与骨肉瘤的病情发展、浸润、转移复发有关^[12]。本研究结果显示,骨肉瘤组患者血清 MMP-9 水平显著高于对照组 ($P<0.01$);骨肉瘤患者血清 MMP-9 的水平与其年龄、性别、瘤灶大小、肿瘤部位及 Dahlin's 分型无显著相关性 ($P>0.05$),而与 GTM 分期及转移存在显著相关 ($P<0.01$);复发组患者入院血清 MMP-9 的水平明显高于非复发组 ($P<0.01$)。以上发现与以往报道基本一致^[13],均提示血清 MMP-9 的高水平可能与骨肉瘤的发生发展、浸润、远处转移及患者的预后密切相关。

Ki-67 是一种核蛋白,参与细胞周期的调控,是反映肿瘤细胞增殖活性的重要指标,与恶性肿瘤的发生发展、浸润、转移复发及预后密切相关^[14]。研究表明,测定 Ki-67 水平能较好评估骨肉瘤组织细胞的增殖活性,也是骨肉瘤发生发展、恶性程度的重要标志物^[15]。本研究结果显示,骨肉瘤组患者血清 Ki-67 水平显著高于对照组 ($P<0.01$);骨肉瘤患者血清 Ki-67 的水平与其年龄、性别、瘤灶大小、肿瘤部位及 Dahlin's 分型无显著相关性 ($P>0.05$),而与 GTM 分期及转移存在显著相关 ($P<0.01$);复发组患者入院时血清 Ki-67 水平明显高于非复发组 ($P<0.01$)。以上发现与以往报道基本一致^[16],均提示血清 Ki-67 高水平可能与骨肉瘤的发生发展、浸润、远处转移及患者的预后密切相关。

综上所述,骨肉瘤患者血清 MMP-9 和 Ki-67 水平均

显著增高,与骨肉瘤的恶性程度、转移及复发呈高度相关性,血清 MMP-9 和 Ki-67 水平可能是一种新的骨肉瘤诊断标记物,也为骨肉瘤临床诊疗提供了新的方法。

参考文献

- [1] 李秋萍,盖亚男. 五味子乙素对 MDR1 介导的人骨肉瘤细胞 U-2 OS/ADR 所致多药耐药性的逆转研究[J]. 安徽医药, 2014, 18(9): 1642-1645.
- [2] 林金鑫,林建华,吴朝阳,等. 骨肉瘤 CD133 CD117 Ki-67 的表达及与临床病理因素和危险度的相关性研究[J]. 中国肿瘤临床, 2014, 41(5): 305-310.
- [3] Ferrarri S, Meazza C, Palmerini E, et al. Nonmetastatic osteosarcoma of the extremity. Neoadjuvant chemotherapy with methotrexate, cisplatin, doxorubicin and ifosfamide. An Italian Sarcoma Group study (ISG/OS-Oss) [J]. Tumori, 2014, 100(6): 612-619.
- [4] 黄承夸,韦文,陆吉利,等. 骨肉瘤治疗研究新进展[J]. 海南医学, 2014, 25(21): 3198-3200.
- [5] Xu L, Ding X, Tan H, et al. B7-H3 expression and matrix metalloproteinases 2 expression in pancreatic cancer [J]. Cancer Cell Int, 2013, 13(1): 81.
- [6] Xu X, Wang B, Xu Y. Expression of lysyl oxidase in human osteosarcoma and its clinical significance: a tumor suppressive role of LOX in human osteosarcoma cells [J]. Int J Oncol, 2013, 43(5): 1578-1586.
- [7] Ren XF, Zhao H, Gong XC, et al. RLN2 regulates in vitro invasion and viability of osteosarcoma MG-63 cells via S100A4/MMP-9 signal [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2015, 19(6): 1030-1036.
- [8] Rice TW, Blackstone EH, Rusch VW. 7th edition of the AJCC Cancer Staging Manual: esophagus and esophagogastric junction [J]. Ann Surg Oncol, 2010, 17(7): 1721-1724.
- [9] Miao J, Wu S, Peng Z, et al. MicroRNAs in osteosarcoma: diagnostic and therapeutic aspects [J]. Tumour Biol, 2013, 34(4): 2093-2098.
- [10] Bauvois B. New facets of matrix metalloproteinases MMP-2 and MMP-9 as cell surface transducers: outside-in signaling and relationship to tumor progression [J]. Biochim Biophys Acta, 2012, 1825(1): 29-36.
- [11] Vandooren J, Van den Steen PE, Opendakker G. Biochemistry and molecular biology of gelatinase B or matrix metalloproteinase-9 (MMP-9): the next decade [J]. Crit Rev Biochem Mol Biol, 2013, 48(3): 222-272.
- [12] Li H, Zhang K, Liu LH, et al. A systematic review of matrix metalloproteinase 9 as a biomarker of survival in patients with osteosarcoma [J]. Tumour Biol, 2014, 35(6): 5487-5491.
- [13] Han J, Yong B, Luo C, et al. High serum alkaline phosphatase cooperating with MMP-9 predicts metastasis and poor prognosis in patients with primary osteosarcoma in Southern China [J]. World J Surg Oncol, 2012, 10: 37.
- [14] Chalkidou A, Landau DB, Odell EW, et al. Correlation between Ki-67 immunohistochemistry and 18F-fluorothymidine uptake in patients with cancer: A systematic review and meta-analysis [J]. Eur J Cancer, 2012, 48(18): 3499-3513.
- [15] 高飞,李伟,于明克. 细胞间隙连接蛋白 43、增殖细胞核抗原在骨肉瘤组织中的表达及临床意义[J]. 海南医学, 2013, 24(23): 3443-3445.
- [16] 李永昊,肖玉周,汪万英,等. COX2、Ki267 在骨肉瘤中的表达及临床意义[J]. 中华全科医学, 2010, 8(3): 274-276.

(收稿日期:2015-09-29)