

HSP90 α 、MMP-9 在胆管癌组织中的表达及其临床意义

张晶锐, 高峰, 李荣江

深圳市宝安区中心医院普通外科, 广东 深圳 518102

摘要: **目的** 探讨热休克蛋白 90 α (HSP90 α)、基质金属蛋白酶 9 (MMP-9) 在胆管癌组织中的表达及其临床意义。**方法** 选取 2014 年 4 月至 2016 年 4 月收治的 50 例胆管癌行手术切除患者的存档组织蜡块, 根据胆管癌临床病理资料将胆管癌组织分为有浸润转移组 ($n=35$) 和无浸润转移 ($n=15$), 采用免疫组化 PV 二步法研究检测 MMP-9 及 HSP90 α 蛋白质在两组组织中的表达情况。分析 HSP90 α 与 MMP-9 的相关性, 并比较 HSP90 α 与 MMP-9 诊断胆管癌的效能。**结果** MMP-9 在有浸润转移组中阳性表达率为 77.14% (27/35), 明显高于在无浸润转移组中的阳性表达率 33.33% (5/15) ($P<0.05$); HSP90 α 在有浸润转移组中的阳性表达率为 82.86% (29/35), 明显高于在无浸润转移组中的阳性表达率 26.67% (4/15) ($P<0.05$); MMP-9 的表达与胆管癌临床分期 (TNM)、组织分化程度及门静脉浸润和淋巴结转移呈正相关 (P 均 <0.05), 与肿瘤大小无关 ($P>0.05$); HSP90 α 在胆管癌组织中随着癌组织的分化程度的降低、门静脉浸润和淋巴结转移的发生及 TNM 分期的增加, 阳性表达率升高 (P 均 <0.05), 与肿瘤大小无关 ($P>0.05$)。**结论** HSP90 α 、MMP-9 表达水平与胆管癌的发生、侵袭以及转移有关, 且两者之间起相互协同促进作用, 检测其在胆管癌组织中的表达具有一定临床诊断价值。

关键词: 热休克蛋白 90 α ; 基质金属蛋白酶 9; 胆管癌; 浸润; 转移

中图分类号: R 735.8 **文献标识码:** B **文章编号:** 1674-8182(2017)08-1067-03

胆管癌是一种常见的胆道恶性肿瘤, 其临床症状出现晚, 早期较难诊断, 且预后差, 近年来, 胆管癌的发病率及死亡率呈逐年升高趋势, 因此, 对胆管癌的发病机制进行深入研究, 对优化临床治疗方案及提高治疗效果均具有重要意义^[1]。基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMPs) 是一种形成和影响肿瘤微环境的蛋白水解酶家族, 对于 MMPs 中分子量最大的成员 MMP-9, 已有多项研究表明肿瘤的发展过程中其起着重要作用^[2]。而近年来, 热休克蛋白 (heat shock protein, HSP) 与肿瘤细胞凋亡、免疫及预后的关系是医学领域关注的焦点, 其中热休克蛋白 90 α (heat shock protein 90 α , HSP90 α) 与肿瘤预后关系紧密^[3]。但关于 MMP-9 与 HSP90 α 二者在胆管癌组织中的表达与临床意义, 目前国内尚无报道。因此, 本研究通过探讨 MMP-9 与 HSP90 α 在胆管癌组织中的表达与临床意义, 以进一步了解 MMP-9 与 HSP90 α 在胆管癌组织中的发生和发展的作用。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2014 年 4 月至 2016 年 4 月收治的 50 例胆管癌行手术切除患者的存档组织蜡块, 根据胆管癌临床病理资料将胆管癌组织分为有浸润转移组 ($n=35$) 和无浸润转移 ($n=15$), 均经病理检查确诊为胆管腺癌, 且术前均未进行中医中药、化疗及放疗治疗。男 32 例, 女 18 例, 年龄 35~82 (51.35 \pm 3.28) 岁。

1.2 方法 将组织蜡块连续切成 4~5 μm 厚度的切片, 采用免疫组化 PV 二步法研究检测 MMP-9 及 HSP90 α 蛋白质在两组组织中的表达情况。MMP-9 检测: 采用购自武汉博士德生物工程有限公司的兔抗人 MMP-9 多克隆抗体及 PV-9000 试剂盒, 以及购自沈阳博尔美公司 DAB 显色试剂盒, 均按试剂盒说明书严格进行实验操作, 显微镜下观察蛋白质在不同组织中的表达情况。HSP90 α 检测: 采用购自美国 Santa Cruz 公司的 HSP90 α 抗体, 购自沈阳博尔美公司 DAB 显色试剂盒, 按试剂盒说明书严格操作, 显微镜下观察蛋白质在不同组织中的表达情况。

1.3 阳性判断^[4-5] 在组织切片中查找阳性细胞, HSP90 α 和 MMP-9 的阳性细胞均为镜下组织结构完整、清晰、定位明确、细胞浆内出现棕黄色、染色明显

高于背景者。根据染色强度及显色癌细胞比例将染色分为“-、+”两级。(1)按切片细胞染色强度评分:无显色记0分,浅黄色记1分,棕黄色记2分,棕褐色记3分。(2)按显色阳性细胞的百分数记分:0分为显色细胞<10%;1分为10%~30%显色;2分为31%~60%显色;3分为60%以上显色。每例积分=(1)×(2)。按积分的高低可分为:积分0分为阴性(-);积分≥1分为阳性(+)。阴性对照采用PBS代替一抗,阳性对照采用已知的阳性切片。

1.4 统计学方法 采用SPSS 19.0软件分析本研究的所有数据,相关性采用Spearman等级相关分析,计数资料采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

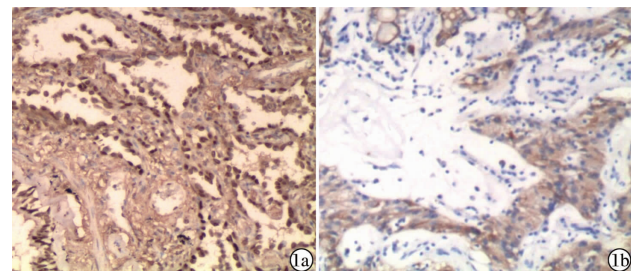
2 结果

2.1 两组患者MMP-9及HSP90 α 表达的阳性率比较 HSP90 α 在有浸润转移组中的阳性表达率为82.86%(29/35),明显高于在无浸润转移组中的阳性表达率26.67%(4/15)($P < 0.01$);MMP-9在有浸润转移组中的阳性表达率为77.14%(27/35),明显高于在无浸润转移组中的阳性表达率33.33%(5/15)($P < 0.01$)。见表1、图1。

2.2 胆管癌组织中MMP-9和HSP90 α 表达与临床病理学特征的相关性 MMP-9的表达与胆管癌TNM分期、组织分化程度及门静脉浸润和淋巴结转移相关(P 均<0.05),与肿瘤大小无关($P > 0.05$);HSP90 α 在胆管癌组织中随着癌组织的分化程度的降低、门静脉浸润和淋巴结转移的发生及TNM分期的增加,阳性表达率升高(P 均<0.05),与肿瘤大小无关($P > 0.05$)。见表2。

表1 两组患者MMP-9及HSP90 α 表达的阳性率比较 例(%)

组别	例数	MMP-9		HSP90 α	
		阳性表达率	阴性表达率	阳性表达率	阴性表达率
有浸润转移组	35	27(77.14)	8(22.86)	29(82.86)	6(17.14)
无浸润转移	15	5(33.33)	10(66.67)	4(26.67)	11(73.33)
χ^2 值		8.74		14.77	
P 值		<0.01		<0.01	



注:1a:HSP90 α ;1b:MMP-9。

图1 HSP90 α 和MMP-9在有浸润转移组胆管癌组织中性表达情况(免疫组化,×400)

表2 胆管癌组织中MMP-9和HSP90 α 表达与临床病理学特征的相关性 例(%)

临床病理学特征	例数	MMP-9 阳性表达率	P 值	HSP90 α 阳性表达率	P 值
肿瘤大小					
≥2 cm	18	12(66.67)	>0.05	11(61.11)	>0.05
<2 cm	32	20(62.50)		21(65.62)	
门静脉浸润					
有	22	19(86.36)	<0.05	18(81.81)	<0.05
无	28	11(39.28)		12(42.86)	
淋巴结转移					
有	20	17(85.00)	<0.05	18(90.00)	<0.05
无	30	17(56.67)		18(60.00)	
临床TNM分期					
I+II	29	16(55.17)	<0.05	17(58.62)	<0.05
III+IV	21	17(80.95)		18(85.71)	
组织学分级					
高分化	17	9(52.94)	<0.05	10(58.82)	<0.05
中分化	23	18(78.26)		20(86.96)	
低分化	10	8(80.00)		9(90.00)	

2.3 胆管癌组织中MMP-9与HSP90 α 表达的关系 经Spearman相关性检验分析,胆管癌组织中HSP90 α 与MMP-9的表达呈正相关($r = 0.846, P < 0.05$)。

3 讨论

恶性肿瘤的发生、发展、侵袭与转移是由多种相关因子进行共同调控的复杂的生物学过程,近年来,随着分子生物学在肿瘤研究领域的不断发展,医学研究者们开始对胆道肿瘤的发生发展有进一步的了解,认识到胆道肿瘤与其他肿瘤同样与抑癌基因、染色体及癌基因的突变而导致改变活性息息相关^[6]。本研究组采用显微结合蛋白质组学技术,分析MMP-9及HSP90 α 在胆管癌情况及临床意义,为早期诊断胆管癌及预后评估等提供参考数据。

MMP-9是MMPs家族中重要的一员,又名明胶酶、IV型胶原酶,于1974年由Dancewicz与Sopata将其从中性粒细胞中提纯的一种蛋白酶,并正式命名于1989年。本研究发现MMP-9在有浸润转移组中表达的阳性率高达77.14%,明显高于在无浸润转移组中表达的阳性率33.33%,且MMP-9在胆管癌组织中与肿瘤的浸润及淋巴转移呈正相关,有肿瘤的浸润的MMP-9阳性表达率高达86.36%,有淋巴转移的MMP-9阳性表达率高达85.00%。这是由于MMP-9最初以酶原形式分泌而产生,被激活后形成IV型胶原酶,使基底膜和肿瘤表面细胞外基质降解、破坏,还能使IV、V、VII、X型胶原降解,使肿瘤细胞沿着缺失的基膜浸润周围,导致肿瘤细胞的侵袭和转移,最终促进演变恶性肿瘤^[7]。有报道称,MMP-9的阳性表

达与胆管癌的 TNM、组织分化程度呈正相关性,分化程度越低的胆管癌组织中 MMP-9 分泌越强,同时发现发生淋巴系统的转移的胆管癌 MMP-9 阳性表达较高,影响患者预后^[8]。MMP-9 的表达可作为胆管癌的预后指标,通过检测 MMP-9 在胆管癌组织中的表达情况,可提高临床胆管癌侵袭及转移情况的筛选,并采取合理措施,使患者术后生存率提高^[9]。有研究表明,在多种肿瘤中 MMP-9 的表达升高,并与胃癌、乳腺癌、结肠癌等肿瘤的侵袭转移密切相关^[10]。而肿瘤的形成与转移是多因子、多基因共同作用导致的结果,因而在肿瘤的浸润和转移中 MMP-9 的作用也受到其他因素的影响^[11]。关于胆管癌与 MMP-9 的关系的研究报道较少,本研究经 Spearman 相关性检验分析发现,HSP90 α 与 MMP-9 的表达呈正相关。HSP 是一类结构高度保守,并参与蛋白的转运、折叠及维持其自身及免疫应答的蛋白质,HSP90 在 HSP 家族种类中是一种抗细胞凋亡的分子伴侣,可调控凋亡^[12]。HSP90 可与蛋白激酶、细胞周期蛋白以及甾体激素受体等相互作用并维持蛋白的结构与功能正常,HSP90 结合受体相互作用蛋白形成复合物从而使核因子 κ B 相互作用得以促进,而对肿瘤坏死因子 (TNF) 进行调节诱导细胞凋亡,HSP90 分为 HSP90 α 和 HSP90 β 两种,且 HSP90 α 在化学诱导与病毒转化的肿瘤细胞中表达水平升高,但 HSP90 β 基本不变^[13]。本研究结果显示,HSP90 α 在胆管癌组织中随着癌组织的分化程度的降低、肿瘤浸润和转移的发生及 TNM 分期的增加,阳性表达率升高,分别升高为 90.00%、81.81%、90.00%、85.71%。提示 HSP90 α 可能参与胆管癌发生发展的调控,在胆管癌中检测 HSP90 α 的表达有助于判定胆管癌的生物行为,有可能成为判断其预后不良的标志。这与国、内外众多研究揭示肿瘤组织 HSP 增高结果一致^[14]。有研究表明,HSP90 α 表达水平肝癌组织中较正常肝组织增高,且 HSP90 α 的阳性表达与临床分期、分化程度、肿瘤浸润转移有关^[15]。因此,探讨在胆管癌肿瘤发生后是否诱导 HSP90 α 及其临床意义,可为攻克胆管癌提供思路。因此,在胆管癌中对 MMP-9 和 HSP90 α 的表达进行联合检测有助于对胆管癌的诊断和预后。

综上所述,HSP90 α 、MMP-9 表达水平与胆管癌的发生、侵袭以及转移有关,且两者之间起相互协同促进作用,检测其在胆管癌组织中的表达具有一定临床诊断价值。

参考文献

- [1] 周亮. 肝内胆管癌的临床研究[J]. 中国现代药物应用, 2016, 10(3): 72-73.
- [2] 李超, 陈力, 沈学远. Hsp70 与肿瘤转移相关蛋白 MMP-9, VEGF, E-cadherin 和 CD44v6 对非小细胞肺癌转移的诊断价值分析[J]. 中国现代医学杂志, 2014, 24(15): 30-34.
- [3] 营巧玲, 李前文, 杜云翔. 热休克蛋白 90 α 在肿瘤、食管癌中的研究[J]. 现代肿瘤医学, 2015, 23(12): 1750-1752.
- [4] 雷艳, 张志伟, 刘重元, 等. HSP90 α / β 蛋白在胃癌组织中的表达及临床意义[J]. 中南医学科学杂志, 2015, 43(6): 610-613.
- [5] 李志锋, 刘进忠, 石荣亚, 等. OPN 和 MMP-9 在胆管癌细胞侵袭转移中的作用[J]. 现代中西医结合杂志, 2016, 25(33): 3733-3735.
- [6] 徐辉雄, 刘琳娜, 孙丽萍, 等. 肝内胆道肿瘤的重新认识及超声表现: 从 WHO 最新分类说起[J]. 中华医学超声杂志(电子版), 2014, 11(2): 94-98.
- [7] 张同军, 薛栋, 曲国香, 等. 滋养层细胞表面抗原 2 与 MMP-9 在胆管癌中的表达和临床意义[J]. 国际外科学杂志, 2015, 42(2): 101-105, 封 3.
- [8] 解芳, 刘鸿梅. 血清和胆汁 MMP-9、TIMP-1 检测在胆管癌诊断中的价值[J]. 山东医药, 2016, 56(25): 56-58.
- [9] 鄢义云. Survivin、MMP-9 与胆管癌的相关性研究进展[J]. 实用临床医学, 2014, 15(7): 130-133.
- [10] 姚旭, 刘源. Gab1 与 MMP-9 在胆管癌中的表达及意义[J]. 现代肿瘤医学, 2013, 21(1): 118-121.
- [11] 董茂盛, 李振凯, 许小亚, 等. 肝门部胆管癌神经浸润的病理学分析及临床意义探讨[J]. 中国普外基础与临床杂志, 2015, 22(2): 212-215.
- [12] 江倩, 金蒙蒙, 黄锐, 等. 肺癌患者血浆热休克蛋白 90 α 的表达及意义[J]. 实用医学杂志, 2016, 32(13): 2129-2132.
- [13] 杨婧, 曹凯悦, 孙立新, 等. HSP90 α 和 HSP90 β 在肝癌中共同上调表达[J]. 中国肿瘤, 2016, 25(5): 391-394.
- [14] Tian WL, He F, Fu X, et al. High expression of heat shock protein 90 alpha and its significance in human acute leukemia cells[J]. Gene, 2014, 542(2): 122-128.
- [15] 周斌, 潘超, 杨士勇, 等. 胰腺癌组织 HSP90 α 、VEGF-C 蛋白表达及其临床意义[J]. 中华胰腺病杂志, 2015, 15(2): 129-131.

收稿日期: 2017-02-20 修回日期: 2017-03-10 编辑: 王国品