

C-erbB-2、*MMP-1*、*MMP-2*、*MMP-7* 和 *MTA1* 在哈萨克族食管癌中的 表达及其临床意义

李秀梅¹, 王洪江², 陈艳¹, 庞作良², 李卉¹, 姜孝芳¹, 古丽努尔·木哈依¹, 谌宏鸣¹, 李惠武¹

1. 新疆医科大学基础医学院, 乌鲁木齐 830011
2. 新疆医科大学肿瘤附属医院, 乌鲁木齐 830011

摘要 通过观察 *C-erbB-2*、*MMP-1*、*MMP-2*、*MMP-7* 和 *MTA1* 5 个基因在哈萨克族食管癌组织中的表达, 探讨其侵袭转移相关因子在新疆哈萨克族食管癌组织的表达和临床意义。采用 RT-PCR 方法检测 75 例哈萨克族食管癌标本中这 5 个基因的 mRNA 表达水平, 分析它们与临床病理特征的关系。结果显示, 5 个基因在哈萨克族食管癌组织中表达较正常组织增高, 达到差异显著 ($P < 0.05$); *MMP-2*、*MMP-7*、*MTA1* 基因的表达与淋巴结转移相关 ($P < 0.05$), *MMP-1*、*MMP-7* 基因的表达与临床分期正相关 ($P < 0.05$); *C-erbB-2* 与 *MTA1*、*MMP-2* 与 *MTA1*、*MMP-7* 与 *MTA1*、*MMP-7* 与 *MMP-1*、*MMP-1* 与 *MTA1* 基因的表达差异高度一致 ($P < 0.01$)。由此得出, 这 5 个基因表达上调在哈萨克族食管癌的发生发展过程中协同发挥作用; *MMP-2*、*MMP-7*、*MTA1* 可能是哈萨克族食管癌发生侵袭、转移的主导因素。

关键词 食管癌; *C-erbB-2*; *MMPs*; *MTA1*

中图分类号 Q354

文献标识码 A

doi 10.3981/j.issn.1000-7857.2011.09.010

The Expression and Clinical Significance of *C-erbB-2*, *MMP-1*, *MMP-2*, *MMP-7* and *MTA1* in Esophageal Cancer of the Kazak

LI Xiumei¹, WANG Hongjiang², CHEN Yan¹, PANG Zuoliang², LI Hui¹, JIANG Xiaofang¹, GU Linuer¹,
CHEN Hongming¹, LI Huiwu¹

1. School of Basic Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China
2. The Affiliated Tumor Hospital, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China

Abstract The expressions of *C-erbB-2*, *MMP-1*, *MMP-2*, *MMP-7* and *MTA1* in esophageal cancer tissue and normal tissue among the Kazak are studied and the relationship between their expressions and clinical pathological feature is investigated. The expression of *C-erbB-2*, *MMP-1*, *MMP-2*, *MMP-7* and *MTA1* gene mRNA were detected by using RT-PCR method in 75 esophageal cancer specimens of the Kazak. The results show that the positive rates of *C-erbB-2*, *MMP-1*, *MMP-2*, *MMP-7* and *MTA1* in cancer tissue are higher than that of normal tissues ($P < 0.05$). While the expression mRNA level of *MMP-2*, *MMP-7* and *MTA1* is significantly related to the lymphnode metastasis, And the expression mRNA level of *MMP-1*, *MMP-7* is significantly related to the TNM stages ($P < 0.05$). Kappa analysis indicates that the expressions between *C-erbB-2* and *MTA1*, *MMP-2* and *MTA1*, *MMP-7* and *MTA1*, *MMP-7* and *MMP-1*, *MMP-1* and *MTA1* in the Kazak's esophageal cancer are positively related ($\kappa = 0.624, 0.367, 0.564, 0.275, 0.384, P < 0.01$) with each other. The conclusion shows that the over expression of *C-erbB-2*, *MMP-1*, *MMP-2*, *MMP-7* and *MTA1* gene could play the important roles in the carcinogenesis of esophageal cancer in the Kazaks. Their synergistic effect could promote carcinogenesis and development of

收稿日期: 2011-02-12; 修回日期: 2011-03-05

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30950012)

作者简介: 李秀梅, 博士研究生, 研究方向为肿瘤分子生物学, 电子信箱: dr.lxm@163.com; 李惠武 (通信作者), 教授, 研究方向为新疆哈萨克族食管癌发病机制, 电子信箱: huiwuli1234@163.com

esophageal cancer. The expressions of *MMP-2*, *MMP-7*, and *MTA1* might be related to the progression and metastasis of esophageal cancer among the Kazak.

Keywords esophageal cancer; *C-erbB-2*; *MMPs*; *MTA1*

0 引言

食管癌是人类最常见的恶性肿瘤之一^[1],食管癌患病率具有地域和民族差异性,在中国新疆哈萨克族食管癌发病率高达 155.9/10 万,远高于同地区其他民族的 22.3/10 万;其病死率比其他少数民族地区高 2—31 倍,比全国平均病死率高 2.3 倍^[2]。食管癌患者手术切除病灶后的 5 年生存率较低,侵袭、转移是造成食管癌患者死亡的主要原因。肿瘤的浸润、转移是多步骤、多阶段进行的,涉及多种基因及其产物的极复杂的过程,是恶性肿瘤的生物学特征之一。近年来研究发现,*C-erbB-2*、*MMP-1*、*MMP-2*、*MMP-7* 和 *MTA1* 与肿瘤的侵袭、转移和预后不良密切相关,但有关哈萨克族食管癌侵袭转移的相关报道较少,本文采用 RT-PCR 方法技术检测 75 例新疆哈萨克族食管癌组织及其对应远端无癌组织中 *C-erbB-2*、*MMP-1*、*MMP-2*、*MMP-7* 和 *MTA1* 基因的表达,探讨其与新疆哈萨克族食管癌发生及转移的可能关系和临床意义。

1 材料和方法

1.1 临床资料

75 例新疆哈萨克族食管癌患者的食管癌组织及远端正常组织标本均取自 2008—2009 年新疆医科大学附属肿瘤医院手术切除术,患者术前均未接受放化疗,手术中取材后将标本迅速置于液氮中,然后置于-80℃超低温冰箱中贮存备用。病理切片均诊断为鳞状上皮细胞癌。肿瘤临床分期:按国际 TNM 分期 (UICC, 2009 年, I 期 12 例, II 期 23 例, III 期 40 例;有淋巴结转移 48 例,无淋巴结转移 27 例)。

1.2 引物与试剂

PCR 试剂盒、PCR 扩增引物均由上海生物工程有限公司合成;RNA 提取试剂 Trizol (Invitrogen 公司);逆转录试剂盒 (Promega 公司);引物的设计根据 Genbank 的基因序列、用 Primer 5.0 软件设计。引物序列、片段大小如下:

GAPDH	上游 5'-CCACCCATGGCAAATTCATGGCA-3'	300bp
	下游 5'-TCTAGACGGCAGGTCAGGTCCACC-3'	
<i>C-erbB-2</i>	上游 5'-AGGACTGCCTGGAGGAA-3'	288bp
	下游 5'-AGGAGTGGGTGCAGTTGAT-3'	
<i>MMP-1</i>	上游 5'-GAGCAAACACATCTGAFFTAC-3'	185bp
	下游 5'-TTGTCCCGATGATCTCCCTG-3'	
<i>MMP-2</i>	上游 5'-AGATCTTCTTCTCAAGGACC-3'	225bp
	下游 5'-GGCTGGTCAGTGGCTTGGGG-3'	
<i>MMP-7</i>	上游 5'-ATGTTAAACTCCCGCTCATA-3'	418bp
	下游 5'-CAGCATAAGAAAGTTAATCC-3'	
<i>MTA1</i>	上游 5'-AGCTACGAGCAGCACACGGG-3'	298bp
	下游 5'-CACGCTTGGTTCCGAGGAT-3'	

1.3 组织总 RNA 提取、逆转录和 RT-PCR

采用 Trizol 试剂一步法提取总 RNA,紫外分光光度计测定其纯度。以提取的总 RNA 为模板,按逆转录试剂盒说明书进行逆转录。以得到的 cDNA 为模板进行 PCR 扩增。PCR 扩增反应体积为 20μL,其中 cDNA 模板 2μL,待扩增基因上下引物各 1μL,PCR 反应试剂盒反应溶液(2 倍浓度)10μL,双蒸水 6μL。反应条件:94℃ 5min 预变性;94℃ 30s, 55℃ 30s, 72℃ 1min, 35 个循环;72℃ 5min,扩增反应结束后进行 2%琼脂糖凝胶电泳,凝胶成像仪成像分析。

1.4 统计学分析

采用 SPSS 16.0 统计软件包进行统计学分析,基因在哈萨克族食管癌食管癌组织和远端无癌组织中表达量的比较采用配对 *t* 检验;各基因与哈萨克族食管癌临床病理因素关系的比较采用 χ^2 检验,各基因相关性分析采用 κ 一致性检验, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 *C-erbB-2*、*MMP-1*、*MMP-2*、*MMP-7* 和 *MTA1* 的 mRNA 表达

75 例哈萨克族食管癌中, *C-erbB-2*、*MMP-1*、*MMP-2*、*MMP-7* 和 *MTA1* 的 mRNA 的表达阳性率分别为 80% (60/75)、56% (42/75)、85.3% (64/75)、63.9% (52/75)、78.7% (59/75)、90.7% (68/75), 在正常组织中的表达阳性率分别为 57.3% (43/75)、12% (9/75)、70.7% (53/75)、22.7% (17/75)、58.7% (44/75)、74.7% (56/75), 经光密度分析, *C-erbB-2*、*MMP-1*、*MMP-2*、*MMP-7*、*MTA1* mRNA 在癌组织与相应的正常组织表达有差异 ($P < 0.05$), 在癌组织中表达增高(图 1)。

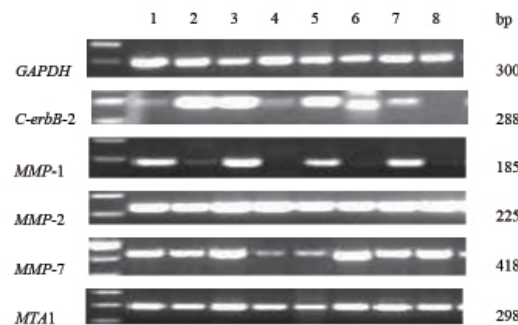


图 1 RT-PCR 检测 *C-erbB-2*、*MMP-1*、*MMP-2*、*MMP-7* 和 *MTA1* mRNA 基因表达

Fig. 1 Electrophoregram of *C-erbB-2*, *MMP-1*, *MMP-2*, *MMP-7*, *MTA1*

注:1、3、5、7 为肿瘤组织;2、4、6、8 为远端无癌组织;GAPDH 为内部参照。
Notes: 1, 3, 5, 7 indicate tumor tissues; 2, 4, 6, 8 indicate adjacent non-cancerous; GAPDH is used as the internal reference.

2.2 哈萨克族食管癌组织中 *C-erbB-2*、*MMP-1*、*MMP-2*、*MMP-7* 和 *MTA1* 表达与病理因素的关系

在新疆哈萨克族食管癌组织中, *C-erbB-2* mRNA 的表达与分化程度、淋巴结转移、TNM 分期均无显著相关 ($P>0.05$),

MMP-2、*MMP-7*、*MTA1* 的 mRNA 表达与淋巴结转移显著相关 ($P<0.05$), *MMP-1*、*MMP-7* mRNA 的表达与肿瘤 TNM 分期显著相关 ($P<0.05$)。表 1 给出了食管癌组织中 *C-erbB-2*、*MMP-1*、*MMP-2*、*MMP-7*、*MTA1* 的表达与病理因素的关系。

表 1 食管癌组织中 *C-erbB-2*、*MMP-1*、*MMP-2*、*MMP-7*、*MTA1* 的表达与病理因素的关系
Table 1 Correlation of *C-erbB-2*, *MMP-1*, *MMP-2*, *MMP-7*, *MTA1* expression with clinicopathologic features of esophageal cancer tissues in the Kazaks

检测项目	例数	<i>C-erbB-2</i>		<i>MMP-1</i>		<i>MMP-2</i>		<i>MMP-7</i>		<i>MTA1</i>	
		阳性率/%	<i>P</i>	阳性率/%	<i>P</i>	阳性率/%	<i>P</i>	阳性率/%	<i>P</i>	阳性率/%	<i>P</i>
分化程度	低分化	16	75.0	50.0	>0.05	87.5	>0.05	62.5	>0.05	75.0	>0.05
	中高分	59	76.2	57.6	>0.05	84.7	>0.05	72.8	>0.05	79.6	>0.05
临床分期	I-II	35	74.2	42.8	>0.05	77.1	>0.05	60.0	<0.05	71.4	>0.05
	III-IV	40	77.5	67.5	<0.05	92.5	>0.05	80	<0.05	85.0	>0.05
淋巴结转移	有	41	82.9	63.4	>0.05	92.7	<0.05	82.9	<0.05	90.2	<0.05
	无	34	67.6	47.1	>0.05	76.4	<0.05	55.8	<0.05	35.2	<0.05

2.3 基因相关性分析

κ 相关检测结果显示, 在 75 例哈萨克族食管癌组织中, *C-erbB-2* 与 *MTA1* 的表达差异呈高度一致的有 61 例 ($\kappa=0.624, P<0.01$), *MMP-2* 与 *MTA1* 的表达差异呈高度一致性的有 52 例 ($\kappa=0.367, P<0.01$), *MMP-7* 与 *MTA1* 的表达差异呈高度一致性的有 59 例 ($\kappa=0.564, P<0.01$), *MMP-7* 与 *MMP-1* 的表达差异呈高度一致性的有 48 例 ($\kappa=0.275, P<0.01$), *MMP-1* 与 *MTA1* 的表达差异呈高度一致性的有 52 例 ($\kappa=0.384, P<0.01$) (表 2), 提示 *C-erbB-2*、*MMP-1*、*MMP-2*、*MMP-7* 与 *MTA1* 表达具有相关性。

表 2 *C-erbB-2*、*MMP-1*、*MMP-2*、*MMP-7* 和 *MTA1* 在食管癌组织中表达的相关性

Table 2 Relationship between expression of *C-erbB-2*, *MMP-1*, *MMP-2*, *MMP-7* and *MTA1* in esophageal cancer tissues in the Kazaks

基因	<i>MTA1</i>			<i>MMP-1</i>			
	+	-	<i>P</i>	+	-	<i>P</i>	
<i>MMP-1</i>	+	29	10	0.001	+	26	21
	-	13	23		-	13	15
<i>MMP-2</i>	+	33	14	0.001	+	26	21
	-	9	19		-	13	15
<i>MMP-7</i>	+	35	9	0	+	28	16
	-	7	24		-	11	20
<i>C-erbB-2</i>	+	34	6	0	+	24	16
	-	8	27		-	15	20

3 讨论

食管癌转移是一个多步骤、多因素相互作用的复杂过程, 在这一复杂过程中发生了许多重要改变, 如肿瘤细胞黏

附、细胞外基质降解、细胞迁移、细胞增殖、肿瘤血管形成等, 促使肿瘤细胞完成侵袭转移。*C-erbB-2* 基因亦称 *HER2* 基因, 是 EGFR 表皮生长因子受体家族成员, 具有酪氨酸蛋白激酶活性 (Tyrosine Protein Kinase, TPK), 在人类大部分肿瘤组织中, 出现 *HER2* 癌基因扩增或蛋白过量表达, 如乳腺癌、卵巢癌、膀胱癌、非小细胞肺癌、胃癌、食道癌等^[3-4], 其过表达与肿瘤的侵袭、转移、化疗耐药及预后不良有明显的相关性^[5-6]。基质金属蛋白酶 (Matrix Metalloprotease, MMP) 是一类结构具有同源性、活性依赖锌离子的蛋白水解酶, 目前在人类已发现有 19 种。MMPs 在肿瘤的发生发展过程中具有重要作用, 主要生理功能是降解细胞外基质成分, 调控肿瘤新生血管形成, 影响细胞黏附分子的功能以及肿瘤细胞的生长。研究证明 *MMP-1*、*MMP-2*、*MMP-7* 在肿瘤浸润转移中起着重要作用^[7], *MMP-1* 能降解间质 I、II 和 III 型胶原等间质成分, *MMP-2* 表达的增加与侵袭性、转移有关, 在原发性肿瘤的生长、血管生成、肿瘤细胞的侵袭和继发性肿瘤的发生发展都具有重要意义^[8]。*MMP-7* 只表达于肿瘤细胞, 能激活 MMPs 家族中其他成员, 对基底膜有广谱降解作用^[9]。*MTA1* 是新近发现的一个肿瘤浸润转移候选基因, 它通过促进组蛋白乙酰基, 影响基因的转录和复制, 与多种肿瘤组织, 尤其是上皮源性恶性肿瘤组织的侵袭转移能力密切相关。*MTA1* 表达的增高与多种上皮性恶性肿瘤的侵袭和转移能力呈正相关^[10]。

本研究应用半定量 RT-PCR 方法检测 75 例哈萨克族食管癌患者组织中 *C-erbB-2*、*MMP-1*、*MMP-2*、*MMP-7*、*MTA1* mRNA 的表达情况, 结果显示 *C-erbB-2*、*MMP-1*、*MMP-2*、*MMP-7* 和 *MTA1* 在癌组织中的表达显著高于正常组织, 差异有统计学意义 ($P<0.05$), 提示 *C-erbB-2*、*MMP-1*、*MMP-2*、*MMP-7*、*MTA1* mRNA 表达上调共同参与了哈萨克族食管癌的发生发展过程。在 75 例癌组织中, *MMP-2*、*MMP-7*、*MTA1* mRNA 的表达与淋巴结转移显著相关 ($P<0.05$), *MMP-1*、

MMP-7 mRNA 的表达与临床分期显著相关 ($P < 0.05$), 提示 MMP-2、MMP-7、MTA1 可能是哈萨克族食管癌发生侵袭、转移的主导因素, MMP-2、MMP-7、MTA1 表达上调可能共同促进了食管癌发生转移。MMP-2 过度表达分解细胞外基质, 使肿瘤向深层浸润并突破血管和淋巴管, 促进血管生成, 造成血行和淋巴转移。MMP-7 在肿瘤细胞高表达, 不仅可以激活 MMPs 家族中其他成员, 而且降解基底膜。MTA1 参与肿瘤侵袭转移的机制仍不清楚, 有研究表明, MTA1 蛋白能与组蛋白去乙酰化酶 (HDACs) 结合, 募集 HDACs 到目标基因的启动子区域, 可以直接或者间接作用于某些抑制肿瘤浸润转移的基因, 下调其转录^[11-12]。Hofer 等^[13]的研究发现, MTA1 可以显著改变细胞角蛋白丝系统组装和细胞骨架蛋白定位, 并使细胞获得更具有浸润性和转移性的表型。相关性分析显示, *C-erbB-2*、MMP-1、MMP-2、MMP-7 的表达与 MTA1 mRNA 的均相关, 在癌组织和正常组织中 *C-erbB-2*、MMP-1、MMP-2、MMP-7 与 MTA1 mRNA 的表达差异呈高度一致性, 提示 *C-erbB-2*、MMP-1、MMP-2、MMP-7 和 MTA1 mRNA 表达上调可能具有关联性, 在哈萨克族食管癌的发生发展过程中协同发挥作用。这一结果为下一步工作奠定基础。本文研究 *C-erbB-2*、MMP-1、MMP-2、MMP-7 和 MTA1 mRNA 表达之间的关系, 有助于从基因调控的角度探讨哈萨克族食管癌发生的分子机制, 为食管癌诊断和治疗提供新的思路。

4 结论

本研究结果提示, *C-erbB-2*、MMP-1、MMP-2、MMP-7 和 MTA1 基因表达上调在哈萨克族食管癌的发生发展过程中协同发挥作用, MMP-2、MMP-7、MTA1 可能是哈萨克族食管癌发生侵袭、转移的主导因素。

参考文献 (References)

[1] Smith F M, Gallagher W M, Fox E, *et al.* Combination of SELDI-TOFMS and data mining provides early-stage response prediction for rectal tumors undergoing multimodal neoadjuvant therapy [J]. *Ann Surg*, 2007, 45

(2): 259-266.

- [2] 张月明. 新疆食管癌的分布[J]. 新疆医学院学报, 1988, 11(2): 139-144. Zhang Yueming. *Acta Academiae Medicinae Xinjiang*, 1988, 11 (2): 139-144.
- [3] Pellikainen J, Naukkarinen A, Ropponen K, *et al.* Expression of HER2 and its association with AP-2 in breast cancer [J]. *Eur J Cancer*, 2004, 40(10): 1485-1495.
- [4] Dent R, Trudeau M, Pritchard K I, *et al.* Triple-negative breast cancer: Clinical features and patterns of recurrence [J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13 (15): 4429-4434.
- [5] Brabender J, Danenberg D, Metzger R, *et al.* Epidermal growth factor receptor and HER-2/neu mRNA expression in non-small cell lung cancer is correlated with survival[J]. *Clin Cancer Res*, 2001, 7(7): 1850-1851.
- [6] Demonty G, Bernard-Marty C, Puglisi F, *et al.* Progress and new standards of care in the management of HER-2 positive breast cancer [J]. *Eur J Cancer*, 2007, 43(3): 497-509.
- [7] Overall C M, Dean R A. Degradomics systems biology of the protease web pleiotropic roles of MMPs in cancer[J]. *Cancer Met Rev*, 2006, 25(1): 69-75.
- [8] 杨栋, 戎彪学, 蔡曦光. 基质金属蛋白酶 MMP-2 与肺癌关系的研究进展[J]. 国外医学: 老年医学分册, 2006, 27(2): 89-96. Yang Dong, Rong Biaoxue, Cai Xiguang. *Foreign Medical Sciences: Geriatrics*, 2006, 27(2): 89-96.
- [9] 缪文强, 李惠武, 王洪江. MMP-7、MMP-2 在新疆维吾尔族食管癌中的表达及其相关性研究[J]. 新疆医科大学学报, 2009, 32(12): 1674-1675. Miao Wenqiang, Li Huiwu, Wang Hongjiang. *Journal of Xinjiang Medical University*, 2009, 32(12): 1674-1675.
- [10] Nicolson G L, Nawa A, Toh Y, *et al.* Tumor metastasis-associated human MTA1 gene and its MTA1 protein product role in epithelial cancer cell invasion, proliferation and nuclear regulation [J]. *Clin Exp Metastasis*, 2003, 20(1): 19-24.
- [11] Kumar R, Wang R A, Bagheri Y R. Emerging roles of MTA family members in human cancers[J]. *Semin Oncol*, 2003, 30(16): 30-37.
- [12] Mazumdar A, Wang R, Sandip K, *et al.* Transcriptional repression of oestrogen receptor by metastasis-associated protein 1 corepressor [J]. *Nature Cell biology*, 2001, 3(1): 30-37.
- [13] Hofer MD, Menke A, Genze F, *et al.* Expression of MTA1 promotes motility and invasiveness of PANC-1 pancreatic carcinoma cells [J]. *Br J Cancer*, 2004, 90(2): 455-462.

(责任编辑 吴晓丽)

· 学术动态 ·

“第十届海峡两岸隧道与地下工程学术及技术研讨会”征稿



中国岩石力学与工程学会地下工程分会将于 2011 年 8 月在乌鲁木齐召开“第十届海峡两岸隧道与地下工程学术及技术研讨会”。会议以“隧道及地下工程的创新与技术进步”为主题。

会议征文内容: 隧道及地下工程中的新理论、新方法和新进展; 隧道及地下工程施工中的新设备、新材料、新技术和新工艺; 隧道及地下工程施工中的防灾减灾; 隧道及地下工程中的营运安全与节能; 隧道及地下工程的抗震; 水下隧道施工中的灾害控制关键技术; 水下隧道的修建关键技术; 隧道及地下工程施工中的不良地质超前预报; 隧道及地下工程的可持续发展研究; 既有隧道的健康诊断及病害维修; 盾构隧道建设对环境的影响和控制; 盾构和 TBM 施工技术的新进展; 城市地铁隧道规划、设计与施工新技术; 工程实例及其他。

全文截止时间: 2011 年 5 月 31 日。

通信地址: 中国岩石力学与工程学会地下工程分会; 电子信箱: dxgcfh@yahoo.com.cn; 联系电话: 0531-88395428; 传真: 0531-88395984。