

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.33.024

COX-2、MMP-9 与 PTEN 在结肠腺癌组织中的表达及意义

李志锋,刘进忠,石荣亚,霍 曼,赵小利
(河北省保定市第一医院普外科 071000)

[摘要] **目的** 探讨环氧合酶-2(COX-2)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)和 PTEN 在结肠腺癌组织中的表达及意义。**方法** 收集该院 2014 年 3 月至 2016 年 5 月结肠腺癌根治术后病理存档的石蜡标本 72 例,30 例结肠腺瘤组织及 30 例正常结肠黏膜组织为对照。采用免疫组化 SP 法检测 COX-2、MMP-9 和 PTEN 的表达情况,分析 COX-2、MMP-9 和 PTEN 与结肠腺癌临床病理特征的相关性。**结果** COX-2、MMP-9 在结肠腺癌组织中表达阳性率明显高于结肠腺瘤组织、正常结肠黏膜组织($P<0.05$),PTEN 的表达阳性率明显低于结肠腺瘤组织、正常结肠黏膜组织($P<0.05$)。COX-2、MMP-9 和 PTEN 在结肠腺癌的表达与肿瘤浸润深度、有无淋巴结转移及 TNM 分期相关($P<0.05$),与性别、年龄、肿瘤形态、肿瘤直径、分化程度无关($P>0.05$)。COX-2、MMP-9 与 PTEN 表达均呈负相关($r=-0.260,-0.282,P<0.05$),COX-2 与 MMP-9 表达呈正相关($r=0.335,P<0.05$)。**结论** COX-2、MMP-9 与 PTEN 的异常表达和相互作用与结肠腺癌的发生、侵袭转移密切相关,联合检测对结肠腺癌早期诊断、预后评估具有重要意义。

[关键词] 基质金属蛋白酶-9;结肠腺癌;淋巴结转移;环氧合酶-2;PTEN
[中图分类号] R735.3+5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2017)33-4676-04

Expression and significance of COX-2, MMP-9 and PTEN in colonic adenocarcinoma tissues

Li Zhifeng, Liu Jinzhong, Shi Rongya, Huo Man, Zhao Xiaoli

(Department of General Surgery, Baoding Municipal First Hospital, Baoding, Hebei 071000, China)

[Abstract] **Objective** To explore the expression and significance of COX-2, MMP-9 and PTEN in colonic adenocarcinoma tissues. **Methods** Seventy-two cases of pathologically archived paraffin specimens after colonic adenocarcinoma radical operation in the hospital from March 2014 to May 2016 were collected, 30 cases of colonic adenoma tissues and 30 cases of normal mucosal membrane tissues served as the controls. The expressions of COX-2, MMP-9 and PTEN were detected by adopting the immunohistochemical SP method. Then the correlation between COX-2, MMP-9 and PTEN with clinicopathological features of colonic adenocarcinoma was analyzed. **Results** The positive expression rate of COX-2 and MMP-9 in colonic adenocarcinoma tissues was significantly higher than that in colonic adenoma tissues and normal colon mucosal membrane tissues($P<0.05$); the positive expression rate of PTEN was significantly lower than that in colonic adenoma tissues and normal colon mucosal membrane tissues($P<0.05$). The expression of COX-2, MMP-9 and PTEN in colonic adenocarcinoma was correlated with the tumor invasive depth, lymph node metastasis and TNM staging($P<0.05$), while had no correlation with sex, age, tumor morphology, tumor size and differentiation degree($P>0.05$). COX-2, MMP-9 and PTEN expressions showed negative correlation($r=-0.260,-0.282,P<0.05$), COX-2 and MMP-9 expression showed a positive correlation($r=0.335,P=0.004$). **Conclusion** The abnormal expression and interaction of COX-2, MMP-9 and PTEN are closely correlated with the occurrence, invasion and metastasis of colonic adenocarcinoma. Their combined detection has an important significance for early diagnosis and prognosis assessment of colonic adenocarcinoma.

[Key words] matrix metalloproteinase 9; colonic adenocarcinoma; lymph node metastasis; COX-2; PTEN

结肠癌是常见的消化道恶性肿瘤之一,发病率呈逐年递增趋势,其晚期疗效不佳,发生腹腔、肝脏、肺等处转移则预后极差。结肠癌的病理类型以腺癌为主,占结肠癌的 85%~90%^[1]。探讨结肠腺癌的分子标志物与临床病理资料的关系,有助于更好地了解结肠腺癌的生物行为。环氧合酶-2(COX-2)是花生四烯酸代谢过程中的限速酶之一,研究发现,COX-2 在胃癌、乳腺癌、前列腺癌等多种恶性肿瘤组织高表达,参与肿瘤发生、侵袭和转移等多个环节^[2-3]。基质金属蛋白酶-9(MMP-9)是降解Ⅳ型胶原及弹性蛋白等细胞外基质的主要成分,可促进肿瘤细胞的侵袭、转移。PTEN 是一种抑癌基因,该基因可调控细胞的增殖与凋亡,并影响肿瘤细胞的侵袭和转移,它的表达缺失与多种肿瘤密切相关。本文通过免疫组化检测 COX-2、MMP-9 和 PTEN 在结肠腺癌组织中表达情况,探讨其与结肠腺癌发生、发展的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集本院 2014 年 3 月至 2016 年 5 月结肠腺癌根治术后病理存档的石蜡标本 72 例,男 39 例,女 33 例;年龄 34~82 岁,中位年龄 64.5 岁;肿块型 22 例,浸润型 31 例,溃疡型 19 例;≥5 cm 40 例,<5 cm 32 例;高分化腺癌 26 例,中分化腺癌 29 例,低分化腺癌 17 例;T₁~T₂ 27 例,T₃~T₄ 45 例;有淋巴结转移 38 例,无淋巴结转移 34 例;Ⅰ期 14 例,Ⅱ期 26 例,Ⅲ期 22 例,Ⅳ期 10 例。同时选取结肠腺瘤组织和正常结肠黏膜组织各 30 例作为对照。所有病例术前未行化、放疗,近期均未使用非甾体抗炎药物和糖皮质激素药物。

1.2 方法 组织标本经中性福尔马林固定,常规石蜡包埋,4 μm 厚连续切片。石蜡切片经脱蜡、水化,按免疫组化 SP 法染色,显微镜下观察切片染色。COX-2 兔抗人单克隆抗体、MMP-9 鼠抗人单克隆抗体、PTEN 鼠抗人单克隆抗体、免疫组

化试剂盒及 DAB 显色试剂盒均购自福州迈新生物技术公司。

1.3 结果判断 COX-2、MMP-9 阳性染色定位于细胞质，PTEN 阳性染色定位于细胞核，以出现黄色、棕黄色或褐色颗粒为表达阳性。根据染色强度、阳性细胞数所占比例综合评分，由两位高年资病理医师盲法判读。着色强度：无着色为 0 分，浅黄色为 1 分，棕黄色为 2 分，褐色为 3 分；阳性细胞百分率： $\leq 5\%$ 为 0 分， $> 5\% \sim 25\%$ 为 1 分， $> 25\% \sim 50\%$ 为 2 分， $> 50\%$ 为 3 分；两项得分相加，0~2 分为阴性（-）， ≥ 3 分为阳性（+）。

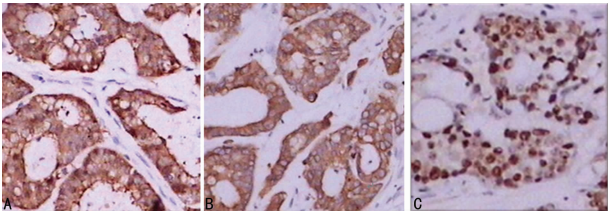
1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行分析。计数资料以率表示，采用 χ^2 检验，当某一个理论数 $1 < T \leq 5$ 时，须对 χ^2 进行连续性校正，相关性分析采用 Spearman 检验，以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 COX-2、MMP-9 和 PTEN 在各组织中表达情况 COX-2、MMP-9 在结肠腺癌组织中表达阳性率明显高于结肠腺瘤组织、正常结肠黏膜组织（ $P < 0.05$ ），PTEN 的表达阳性率明显低于结肠腺瘤组织、正常结肠黏膜组织（ $P < 0.05$ ）。见表 1、图 1。

2.2 COX-2、MMP-9 和 PTEN 在结肠腺癌表达情况与临床病理特征的关系 COX-2、MMP-9 和 PTEN 在结肠腺癌的表达

与患者性别、年龄、肿瘤形态、肿瘤直径、分化程度无相关性（ $P > 0.05$ ），而与肿瘤浸润深度、有无淋巴结转移及 TNM 分期相关（ $P < 0.05$ ）。见表 2。



A:COX-2;B:MMP-9;C:PTEN

图 1 COX-2、MMP-9 和 PTEN 在结肠腺癌组织中的阳性表达(Elivision 法×200)

表 1 COX-2、MMP-9 和 PTEN 在各组织中的表达情况[n(%)]

组别	n	COX-2	MMP-9	PTEN
结肠腺癌组织	72	51(70.8)	54(75.0)	28(38.9)
结肠腺瘤组织	30	11(36.7)	10(33.3)	20(66.7)
正常结肠黏膜组织	30	7(23.3)	8(26.7)	28(93.3)

表 2 COX-2、MMP-9 和 PTEN 在结肠腺癌的表达与临床病理特征的关系

临床病理特征	n	COX-2			MMP-9			PTEN		
		阳性	阴性	P	阳性	阴性	P	阳性	阴性	P
性别										
男	39	28	11	0.845	29	10	0.891	14	25	0.760
女	33	23	10		25	8		13	20	
年龄(岁)										
≥60	37	25	12	0.531	27	10	0.683	15	22	0.585
<60	35	26	9		27	8		12	23	
肿瘤形态										
肿块型	22	13	9	0.398	14	8	0.332	10	12	0.619
浸润型	31	24	7		25	6		10	21	
溃疡型	19	14	5		15	4		7	12	
肿瘤直径(cm)										
≥5	40	29	11	0.728	31	9	0.584	14	26	0.624
<5	32	22	10		23	9		13	19	
分化程度										
高分化	26	16	10	0.427	17	9	0.357	12	14	0.492
中分化	29	22	7		23	6		10	19	
低分化	17	13	4		14	3		5	12	
浸润深度										
T ₁ ~T ₂	27	15	12	0.027	16	11	0.017	15	12	0.015
T ₃ ~T ₄	45	36	9		38	7		12	33	
淋巴结转移										
有	38	32	6	0.008	33	5	0.029	9	29	0.010
无	34	19	15		21	13		18	16	

续表 2 COX-2、MMP-9 和 PTEN 在结肠腺癌的表达与临床病理特征的关系

临床病理特征	<i>n</i>	COX-2			MMP-9			PTEN		
		阳性	阴性	<i>P</i>	阳性	阴性	<i>P</i>	阳性	阴性	<i>P</i>
TNM 分期										
I ~ II 期	40	24	16	0.045	25	15	0.014	20	20	0.015
III ~ IV 期	32	27	5		29	3		7	25	

2.3 COX-2、MMP-9 和 PTEN 在结肠腺癌组织中表达的相关性分析 COX-2、MMP-9 与 PTEN 表达均呈负相关($r=-0.260、-0.282,P<0.05$),见表 3;COX-2 与 MMP-9 表达呈正相关($r=0.335,P<0.05$),见表 4。

表 3 结肠腺癌组织中 COX-2、MMP-9 与 PTEN 表达相关性

PTEN	COX-2			MMP-9		
	阳性	阴性	P	阳性	阴性	P
阳性	15	12	<0.05	16	11	<0.05
阴性	36	9		38	7	

表 4 结肠腺癌组织中 COX-2 与 MMP-9 表达相关性

COX-2	MMP-9		
	阳性	阴性	P
阳性	43	8	<0.05
阴性	11	10	

3 讨 论

COX 是一种膜结合蛋白,是前列腺素(PGs)生物合成过程中的关键限速酶。COX-1 和 COX-2 是其两种同工酶,COX-1 属于结构基因产物,能够恒定表达,参与稳定内环境和维持细胞正常生理功能;COX-2 属于诱导基因产物,正常状态下,除在中枢神经系统、肾脏组织少量表达,其他多数组织几乎不表达,但在细胞内外广泛的刺激因素如生长因子、炎症因子、癌基因及促肿瘤剂等诱导下可迅速产生,参与炎症反应等过程。研究发现,COX-2 在多种肿瘤组织中参与肿瘤细胞的发生、浸润转移等过程,其作用包括:促进肿瘤细胞增殖,抑制肿瘤细胞凋亡,促进肿瘤细胞迁移,增加肿瘤细胞黏附和侵袭能力,参与致癌物的活化、肿瘤血管及淋巴管的形成,抑制机体抗肿瘤的免疫反应等^[4-6]。而有学者研究证实,COX-2 表达下调可使肿瘤细胞的增殖、侵袭能力明显降低^[7-8]。本研究中 COX-2 在结肠腺癌组织中高表达,表达水平与肿瘤浸润深度、有无淋巴结转移及临床分期关系密切,COX-2 在结肠腺癌发生、发展过程中发挥重要作用。

MMP-9 又称明胶酶 B,是 MMPs 家族的重要成员,主要来源于巨噬细胞,以酶原形式分泌,经活化后发挥作用,其主要功能是降解Ⅳ型、V 型胶原和明胶。MMP-9 通过降解细胞外间质和基底膜而促进肿瘤侵袭和转移,被认为是肿瘤侵袭和转移的重要分子标记之一^[9-10]。MMP-9 在肿瘤细胞浸润及转移中的作用机制包括:降解细胞外基质的分子物质,调节细胞的黏附性,协助降解血管基底膜和血管周围基质。体外实验发现,通过上调 MMP-9 的表达能够明显增强细胞的迁移、侵袭能力^[11]。王玲等^[12]通过检测 MMP-9 与血管内皮生长因子(VEGF)在肺腺癌组织中的表达证实,MMP-9 可通过调节

VEGF 来参与肿瘤血管的生成。本研究中 MMP-9 在结肠腺癌组织中的表达与肿瘤浸润深度、有无淋巴结转移及临床分期密切相关,因此认为,MMP-9 在结肠腺癌的侵袭、转移过程中具有促进作用。

PTEN 是一个抑癌基因,定位于人类染色体的 10q23,含 8 个内含子和 9 个外显子。PTEN 基因编码的蛋白具有脂质磷酸酶和蛋白磷酸酶双重特异性磷酸酶活性的多功能蛋白质,可通过多种途径调控细胞周期,调节细胞粘连、迁移和分化,抑制血管的生成,从而抑制肿瘤细胞生长、侵袭转移,并诱导肿瘤细胞凋亡。任荣等^[13]研究发现,通过上调 PTEN 蛋白的表达,可将人肝癌细胞株 HepG2 细胞阻滞于 G₀/G₁ 期,进而抑制肿瘤细胞的增殖。有学者通过实验将结肠癌细胞转染过表达 PTEN 的质粒后,细胞活性、侵袭和迁移能力减弱,而抑制 PTEN 蛋白的表达结肠癌细胞的增殖、侵袭和迁移明显增强^[14-15]。本研究中 PTEN 在结肠腺癌组织中表达明显降低,与肿瘤浸润深度、有无淋巴结转移及临床分期相关,提示 PTEN 的低表达可能促进结肠癌的进展,检测 PTEN 的表达可能有助于结肠腺癌的预后评估。

结肠腺癌的发生、发展是多个基因异常调控的复杂过程。本试验 Spearman 相关分析发现,COX-2、MMP-9 与 PTEN 表达呈负相关,COX-2 与 MMP-9 表达呈正相关。PTEN 可通过调控核因子-κB(NF-κB)和 AP-1 基因下调 MMP-9 的表达,并增加 MMP-9 的抑制物金属蛋白酶组织抑制剂 1(TIMPI)的分泌,PTEN 表达水平降低促使 MMP-9 的高表达^[16]。PTEN 的低表达通过调控 AKT/PKB 信号通路,上调了 COX-2 蛋白的表达,抑制肿瘤细胞凋亡,促进肿瘤细胞增殖和侵袭转移^[17]。COX-2 可诱导 MMP-9 的表达水平上调,增强细胞的侵袭能力;应用 COX-2 抑制剂可同时抑制 MMP-9 的表达,同时升高 PTEN 蛋白表达,降低癌细胞的增殖能力^[18]。因此认为,COX-2 与 MMP-9 协同表达,并下调 PTEN 蛋白的表达水平,促进了结肠腺癌的发生、侵袭转移。

综上所述,COX-2、MMP-9 与 PTEN 的异常表达和相互作用促进了结肠腺癌的发生、浸润及转移等过程。COX-2、MMP-9、PTEN 与结肠腺癌的发生、发展密切相关,可作为结肠腺癌重要的生物学参考指标,联合检测对于结肠腺癌诊断、鉴别及预后评估具有重要指导意义。

参考文献

[1] 李洲宇,梁启廉,周圆,等.1 290 例大肠癌临床流行病学特征的比较分析[J].医学研究杂志,2012,41(8):73-76.
[2] 屈海燕,乔文.环氧合酶-2、血管内皮细胞生长因子和血管内皮生长因子 C 在胃癌中的表达及意义[J].中国医药导报,2015,12(17):16-19.
[3] Majumder M,Xin X,Liu L,et al.COX-2 induces breast cancer stem cells via EP4/PI3K/AKT/NOTCH/WNT Axis[J].Stem Cells,2016,34(9):2290-2305.

[4] 辛华栋,张莉华,田芬,等. 环氧合酶-2 在宫颈癌组织中的表达及对预后的影响[J]. 中国医药导报,2015,12(24):30-34,169.

[5] 谷倬宇,李思源,李军,等. MMP-14 和 COX-2 蛋白在胃癌侵袭转移过程中的表达和关系[J]. 世界华人消化杂志,2014,22(16):2300-2305.

[6] 石小燕,毛晓露,彭彩霞,等. COX-2 在 VEGF-C 介导的人宫颈癌细胞生物学行为中的作用研究[J]. 华中科技大学学报(医学版),2015,44(2):171-175.

[7] 张志强,杨艳荣,马海英,等. miRNA-101 通过下调 COX-2 的表达影响肺癌细胞的生物学功能[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志,2015,22(5):584-589.

[8] 丰安,周青山. 熊果酸通过下调 COX-2 表达降低人胃癌 HGC-27 细胞侵袭能力研究[J]. 胃肠病学和肝病学杂志,2016,25(2):184-187.

[9] Grünwald B, Vandooren J, Gerg M, et al. Systemic ablation of MMP-9 triggers invasive growth and metastasis of pancreatic cancer via deregulation of IL6 expression in the bone marrow[J]. Mol Cancer Res, 2016, 14(11):1147-1158.

[10] 欧小波,王章奇,王海青,等. 乳腺癌组织 ADAM15 与 MMP-9 表达临床意义探讨[J]. 中华肿瘤防治杂志,2015,22(9):670-673.

[11] 杨眉,蒋春樊,哈春芳. 雌激素介导骨桥蛋白/基质金属蛋白酶 9 通路调节子宫内膜异位症腺上皮细胞侵袭性的研究[J]. 中国全科医学,2016,19(5):554-559.

[12] 王玲,王开金,黎联,等. 基质金属蛋白酶-9 与血管内皮细胞生长因子在肺腺癌中的表达[J]. 检验医学与临床,2015,12(2):161-163.

[13] 任荣,崔晓东,王转花. rBTI 通过上调 PTEN 的表达抑制 Hep G2 细胞增殖[J]. 中国生物化学与分子生物学报,2016,32(2):170-177.

[14] 任妮丽,胡俊华,吴方毅. miR-17-5p 通过靶定 PTEN 调节结肠癌细胞增殖、侵袭和迁移能力的研究[J]. 解放军医药杂志,2015,27(7):56-62.

[15] 李渊,马家驰,李一平,等. PTEN siRNARN 对结肠癌细胞增殖和侵袭的影响[J]. 中国普外基础与临床杂志,2015,22(5):544-548.

[16] 李霆. PTEN 和 MMP-9 在胃癌组织中的表达及意义[J]. 山东医药,2008,48(5):70-72.

[17] 陈廷玉,卢春风,苗智,等. 宫颈癌组织中 PTEN 和 COX-2 的表达与侵袭转移的关系[J]. 解剖学研究,2014,36(6):430-432.

[18] Meng Z, Gan YH. Activating PTEN by COX-2 inhibitors antagonizes radiation-induced AKT activation contributing to radiosensitization [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2015, 460(2):198-204.

(收稿日期:2017-05-18 修回日期:2017-08-06)

(上接第 4675 页)

Mol,2012,31(4):233-235.

[12] Krug S,Portig I,Librizzi D,et al. A 79-year-old man with B symptoms and jaw claudication[J]. Internist (Berl), 2013,54(2):249-253.

[13] Altini C, Niccoli Asabella A, Rubini D, et al. 18F-FDG PET/CT in a patient with clinical suspicion of giant cell arteritis[J]. Recenti Prog Med,2013,104(7/8):446-449.

[14] 刘岩,张伟,朱朝晖,等. PET-CT 对长期不明原因发热为首发症状的巨细胞动脉炎的辅助诊断价值[J]. 中华内科杂志,2014,53(10):701-705.

[15] Stengl KL, Buchert R, Bauknecht H, et al. A hidden giant: Wallenberg syndrome and aortal wall thickening as an atypical presentation of a giant cell arteritis[J]. BMJ Case Rep,2013,2013:bcr2012006994.

[16] Foley J, Mullan D, Mohan H, et al. Abdominal aortitis on PET CT: a case report and review of the literature[J]. Int J Surg Case Rep,2015,10(2):104-106.

[17] Czihal M, Tato F, Forster S, et al. Fever of unknown origin as initial manifestation of large vessel giant cell arteritis: diagnosis by colour-coded sonography and 18-FDG-PET[J]. Clin Exp Rheumatol,2010,28(6):549-552.

[18] Meller J, Grabbe E, Becker W, et al. Value of F-18FDG hybrid camera PET and MRI in early takayasu aortitis [J]. Eur Radiol,2003,13(2):400-405.

[19] Henes JC, Müller M, Krieger J, et al. ¹⁸F-FDG-PET/CT as a new and sensitive imaging method for the diagnosis of large vessel vasculitis[J]. Clin Exp Rheumatol,2008,26(3 Suppl 49):S47-52.

[20] Prieto-González S, Depetris M, García-Martínez A, et al. Positron emission tomography assessment of large vessel inflammation in patients with newly diagnosed, biopsy-proven giant cell arteritis: a prospective, case-control study[J]. Ann Rheum Dis,2014,73(7):1388-1392.

[21] Hautzel H, Sander O, Heinzel A, et al. Assessment of large vessel involvement in giant cell arteritis with ¹⁸F-FDG PET: introducing an ROC-analysis-based cutoff ratio[J]. J Nucl Med,2008,49(20):1107-1113.

[22] Papathanasiou ND, Du Y, Menezes LJ, et al. ¹⁸F-Fludeoxyglucose PET-CT in the evaluation of large-vessel vasculitis: diagnostic performance and correlation with clinical and laboratory parameters[J]. Br J Radiol,2012,85(2):e188-194.

[23] Blockmans D, de Ceuninck L, Vanderschueren S, et al. Repetitive ¹⁸F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography in giant cell arteritis: a prospective study of 35 patients[J]. Arthritis Rheum,2006,55(1):131-137.

[24] Treglia G, Mattoli MV, Leccisotti L, et al. Usefulness of wholebody fluorine-18-fluorodeoxyglucose positron emission tomography in patients with large-vessel vasculitis: a systematic review [J]. Clin Rheumatol, 2011, 30(15):1265-1275.

(收稿日期:2017-05-18 修回日期:2017-07-16)