

论著·临床研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2021.23.014

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20210712.1747.008.html\(2021-07-13\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20210712.1747.008.html(2021-07-13))

MMP3 在非小细胞肺癌中的表达及其临床意义*

戎银芳^{1,2}, 赵玲娜¹, 宗刚军³, 赵海滨^{1△}

(1. 中国人民解放军联勤保障部队第 904 医院病理科, 江苏无锡 214044; 2. 苏州市中西医结合医院病理科, 江苏苏州 215101; 3. 中国人民解放军联勤保障部队第 904 医院心内科, 江苏无锡 214044)

[摘要] **目的** 探讨基质金属蛋白酶 3(MMP3)在非小细胞肺癌(NSCLC)中的表达及对患者预后的影响。**方法** 采用免疫组织化学(IHC)染色法检测 MMP3 在 76 份 NSCLC 组织及癌旁组织中的表达,并分析 MMP3 表达与组织病理分级、淋巴结转移、TNM 分期、年龄及患者预后的关联性;利用基因表达综合(GEO)数据库分析 MMP3 mRNA 在 NSCLC 组织中的表达情况;利用基因表达谱表达分析(GEPIA)数据库分析 MMP3 mRNA 表达与患者预后的关系。**结果** 与癌旁组织比较,MMP3 mRNA 和蛋白在 NSCLC 组织中的表达均明显升高($P < 0.05$),且其表达水平与患者肿瘤直径、淋巴结转移和 TNM 分期呈明显正相关($P < 0.05$)。生存分析显示,MMP3 阳性表达、MMP3 mRNA 高表达与 NSCLC 患者的不良预后相关($P < 0.05$)。**结论** MMP3 在 NSCLC 组织中高表达,可作为 NSCLC 治疗的潜在靶点和预后标志物。

[关键词] 癌,非小细胞肺;基质金属蛋白酶 3;预后;腺癌**[中图分类号]** R734.2**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2021)23-4024-04

Expression and clinical significance of MMP3 in non-small cell lung cancer*

RONG Yinfang^{1,2}, ZHAO Lingna¹, ZONG Gangjun³, ZHAO Haibin^{1△}

(1. Department of Pathology, the 904th Hospital of Joint Logistic Support Force of PLA, Wuxi, Jiangsu 214044, China; 2. Department of Pathology, Suzhou Municipal Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Suzhou, Jiangsu 215101, China; 3. Department of Cardiology, the 904th Hospital of Joint Logistic Support Force of PLA, Wuxi, Jiangsu 214044, China)

[Abstract] **Objective** To explore the expression of matrix metalloproteinase 3 (MMP3) in non-small cell lung cancer (NSCLC) and its effect on the prognosis of the patients. **Methods** The MMP3 protein expression in 76 samples of NSCLC tissue and paracancerous tissue was detected by immunohistochemistry (IHC), and the relationships between MMP3 expression with the histopathological grading, lymph node metastasis, TNM stage, age and the prognosis of the patients were analyzed. The expression of MMP3 mRNA in NSCLC tissues was analyzed by using the GEO database. The relationship between the MMP3 mRNA expression and the prognosis of NSCLC patients was analyzed by using the GEPIA database. **Results** Compared with paracancerous tissues, the expression of MMP3 mRNA and protein in NSCLC tissues was significantly increased ($P < 0.05$), moreover its expression level was positively correlated with the tumor diameter, lymph node metastasis and TNM stage ($P < 0.05$). The survival analysis showed that the positive expression of MMP3 protein and high expression of MMP3 mRNA were related to the poor prognosis of NSCLC patients ($P < 0.05$). **Conclusion** MMP3 is highly expressed in NSCLC tissue, which can serve as a potential target and prognostic biomarker for NSCLC therapy.

[Key words] carcinoma, non-small cell lung; matrix metalloproteinase 3; prognosis; adenocarcinoma

肺癌是呼吸系统常见的恶性肿瘤,发病率和病死率均位居世界前列,其中约 85% 为非小细胞肺癌(NSCLC)。大多数肺癌患者确诊时已是中晚期,其 5 年生存率不到 20%,即使经过手术治疗仍容易转移和复发^[1-3]。肿瘤转移是一个复杂的多步骤、多环节的级联反应过程,包括局部侵袭、肿瘤细胞渗入血管和

肿瘤细胞黏附等^[4]。肿瘤细胞在此过程中破坏基底膜并降解细胞外基质(ECM),从而实现肿瘤的侵袭和转移^[5-6]。基质金属蛋白酶 3(MMP3)是 ECM 合成和调节降解代谢平衡过程中存在的关键性酶之一,与肿瘤细胞的侵袭和转移密切相关^[7-8]。目前关于 MMP3 在 NSCLC 中作用的研究甚少,其在 NSCLC 中的功

* 基金项目:江苏省无锡市“双百”拔尖人才基金项目(BJ2020119)。作者简介:戎银芳(1985—),主治医师,本科,主要从事呼吸系统肿瘤诊治研究。△ 通信作者,E-mail:wxhb365@163.com。

能尚未阐明。本研究旨在探讨 MMP3 在 NSCLC 的表达及其可能的临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集 2011 年 1 月至 2016 年 12 月中国人民解放军联勤保障部队第 904 医院 NSCLC 患者手术切除的肿瘤标本 76 份(NSCLC 组)及癌旁正常组织 76 份(癌旁对照组)。经两位有经验的病理医师确诊为 NSCLC,其中男 47 例,女 29 例;年龄 25~76 岁,平均(60.00±12.70)岁;肿瘤直径小于或等于 3 cm 者 27 例,>3 cm 者 49 例;低分化者 25 例,中分化者 49 例;高分化者 2 例;按 AJCC 第七版临床分期分为 I~II 期 41 例,III~IV 期 35 例;伴有淋巴结转移者 42 例,无淋巴结转移者 34 例。随访主要采用门诊复查及电话回访等形式,随访时间 1~91 个月,失访者随访时间按照截尾数据处理。患者术前均未接受任何辅助治疗。

1.2 方法

1.2.1 主要试剂

sc-21732 MMP3 抗体购自美国 Santa Cruz 生物科技公司。

1.2.2 IHC 检测和结果判读

IHC 采用 Envision 两步法,MMP3 鼠抗人单克隆抗体工作浓度为 1:100。由两位病理医师对切片进行盲式阅片,从染色细胞的比例(<5%为 0 分,5%~25%为 1 分,>25%~50%为 2 分,>50%~75%为 3 分,>75%为 4 分)及染色的深度(无染色为 0 分,弱染色为 1 分,中度染色为 2 分,强染色为 3 分)来评定每一个肿瘤组织切片 MMP3 表达水平。两项评分相乘得到综合评分,并分为 4 个等级:阴性(-,0~1 分),弱阳性(+,>1~4 分),中度阳性(++,>4~8 分),强阳性(+++,>8 分)。

1.2.3 基因表达综合(GEO)数据库分析

从开放的 GEO(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)下载 NSCLC 患者 mRNA 表达谱的数据集 GSE18842、GSE19804 和 GSE31552,分别包括 45 例肿瘤样本和 46 例癌旁样本、60 例肿瘤样本和 60 例癌旁样本、62 例肿瘤样本和 63 例癌旁样本。分析 MMP3 mRNA 在 NSCLC 和癌旁组织中的表达变化。

1.2.4 基因表达谱动态分析(GEPIA)数据库分析

GEPIA(<http://gepia.cancer-pku.cn/>)是一个用于分析癌症基因组图谱(TCGA)数据库(<https://portal.gdc.cancer.gov/>)中肿瘤和正常样本 RNA 表达数据的网站。GEPIA 被用来对 NSCLC 中的 MMP3 进行生存分析。根据中值将基因表达分层为高表达和低表达,用对数秩检验确定 MMP3 表达对 NSCLC 生存的意义。

1.3 统计学处理

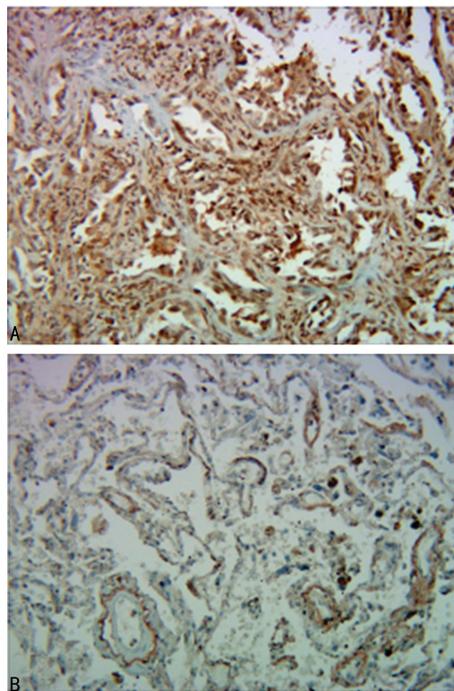
数据使用 SPSS22.0 软件进行统计学分析。计数资料以率表示,组间比较采用 χ^2 检验或 Fisher 概率

法。以 Kaplan-Meier 法建立生存分析模型,组间比较采用 Log-rank 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组标本组织中 MMP3 表达水平比较

MMP3 表达主要定位于细胞质或细胞膜。NSCLC 组中 MMP3 的阳性表达率为 80.26%,其中弱阳性 10 份(13.16%),中度阳性 32 份(42.11%),强阳性 19 份(25.00%)。癌旁对照组中 MMP3 的阳性表达率为 59.21%,明显低于 NSCLC 组($\chi^2 = 7.980, P = 0.008$),见图 1、表 1。



A: NSCLC 组织; B: 癌旁组织。

图 1 MMP3 在两组标本组织中的表达(IHC, ×200)

表 1 两组标本组织中 MMP3 表达水平比较
[n(%), n=76]

MMP3 表达	NSCLC 组	癌旁对照组
-	15(19.74)	31(40.79)
+	10(13.16)	9(11.84)
++	32(42.11)	24(31.58)
+++	19(25.00)	12(15.79)
总阳性	61(80.26)	45(59.21) ^a

^a: $P < 0.01$, 与 NSCLC 组比较。

2.2 两组标本组织中 MMP3 mRNA 表达水平比较

利用 GEO 数据库分析了 3 组不同数据集(GSE18842、GSE19804 和 GSE31552)NSCLC 组织和癌旁组织中 MMP3 mRNA 的表达情况,结果显示, MMP3 mRNA 在 NSCLC 组织中的表达水平明显高于癌旁组织($P < 0.05$),见图 2。

2.3 MMP3 表达与 NSCLC 临床病理的相关性分析

MMP3 在 NSCLC 中的表达与肿瘤直径、淋巴结转移和临床分期明显相关($\chi^2 = 4.887, 6.182, 5.106, P < 0.05$),而与患者的性别、年龄及肿瘤的病理分级

无关($\chi^2=0.573, 0.267, 1.408, P>0.05$), 见表 2。

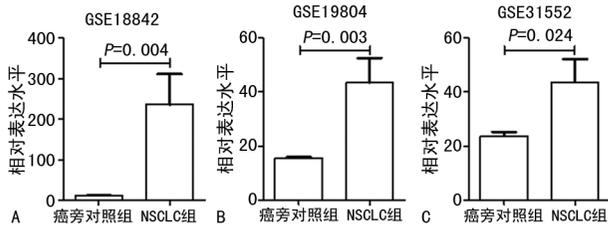


图 2 MMP3 mRNA 在两组标本组织中的表达

表 2 MMP3 表达与 NSCLC 患者临床病理特征的相关性分析[n(%)]

临床特征	n	MMP3 阴性	MMP3 阳性	χ^2	P
性别					
男	47	8(17.02)	39(82.98)	0.573	0.556
女	29	7(24.14)	22(75.86)		
年龄					
<60 岁	36	8(22.22)	28(77.78)	0.267	0.774
≥60 岁	40	7(17.50)	33(82.50)		
病理分级					
低分化	25	3(12.00)	22(88.00)	1.408	0.359
高/中分化	51	12(23.53)	39(76.47)		
肿瘤直径					
≤3 cm	27	9(33.33)	18(66.67)	4.887	0.037
>3 cm	49	6(12.24)	43(87.76)		
淋巴结转移					
无	34	11(32.35)	23(67.65)	6.182	0.019
有	42	4(9.52)	38(90.48)		
临床分期					
I~II 期	41	12(29.27)	29(70.73)	5.106	0.041
III~IV 期	35	3(8.57)	32(91.43)		

2.4 MMP3 表达与 NSCLC 患者预后的相关性分析

利用 Kaplan-Meier 生存分析 MMP3 表达与 NSCLC 患者预后的关系, 结果显示, 与 MMP3 阴性组相比, MMP3 阳性组患者的总生存率明显降低($P<0.05$), 见图 3。利用 GEPIA 数据对 MMP3 mRNA 表达与 NSCLC 患者预后的分析结果显示, MMP3 mRNA 高表达的患者总生存时间明显低于 MMP3 mRNA 低表达的患者($P<0.05$), 见图 4。

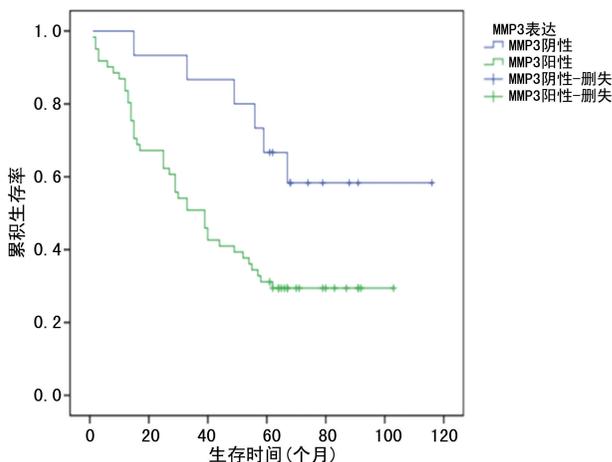


图 3 MMP3 表达水平与 NSCLC 患者预后的关系

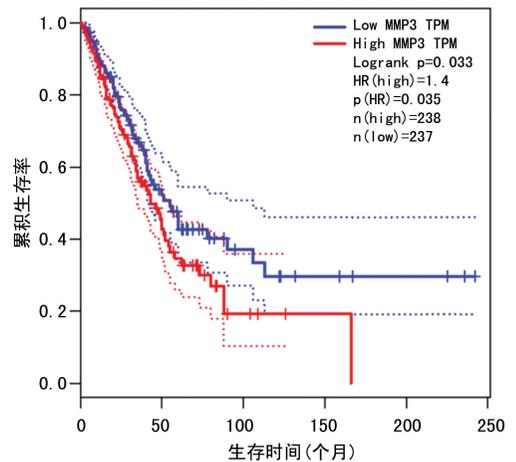


图 4 MMP3 mRNA 表达与 NSCLC 患者预后的关系

3 讨论

肺癌是最常见的恶性肿瘤之一, 分别占全球男性和女性新发恶性肿瘤的第一位和第二位, 其发病率和病死率一直居高不下。据统计, 全球每年约有 160 万新发肺癌患者^[9-11]。因此, 肺癌严重威胁着人类的健康。近年来, 虽然对肺癌的诊断和治疗都取得了一定的进展, 但是, 由于肺癌的发生、发展和转移的过程非常复杂, 有诸多基因和蛋白参与调控, 因此, 肺癌恶性进展和转移的具体机制尚未阐明。

组织的 ECM 和基底膜是阻止肿瘤入侵和转移的天然屏障。ECM 的退化和基底膜完整性的丧失会导致肿瘤的侵袭和转移。MMPs 是关键蛋白分解酶, 能够通过降解 ECM 和基底膜促进癌细胞侵入周围组织, 与恶性肿瘤的浸润和转移密切相关^[12]。MMP3 是 MMPs 超家族的主要成员之一, 主要由结缔间质细胞、成纤维细胞、毛细血管内皮细胞、巨噬细胞和肿瘤细胞产生, 能降解基底膜、蛋白多糖、层黏连蛋白、纤维蛋白和 II、III、IV、V、VI 型胶原蛋白等多种蛋白多糖或糖蛋白^[13-14]。MMP3 能通过剪切基质分子核心蛋白聚糖来释放转化生长因子 $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$), 释放的 TGF- $\beta 1$ 对肿瘤细胞的增殖、侵袭转移、分化及免疫功能都具有重要的调控作用, 从而产生广泛的生物学效应。与其他 MMPs 不同, MMP3 主要的功能是激活其他类型的 MMPs, 如 MMP2 和 MMP9^[15-16]。

对胃癌、乳腺癌、胰腺癌等肿瘤的研究结果表明, MMP3 在乳腺癌、胰腺癌和胃癌中高表达, 且其表达可以作为预测肿瘤患者生存时间的生物标志物^[8, 17]。既往研究发现, 肿瘤中的 MMP3 水平与 MMP9 活性密切相关, 脂肪细胞外泌体上的 MMP3 能够激活 MMP9 的活性, 并促进恶性肿瘤的侵袭和转移^[18]。本研究结果表明, 与癌旁组织相比, MMP3 mRNA 和蛋白在 NSCLC 中的表达明显升高, 且 NSCLC 中 MMP3 表达与肿瘤直径、淋巴结转移和临床分期呈明显的正相关性。此外, IHC 检测结果显示, MMP3 阳性的 NSCLC 患者总生存率明显低于 MMP3 阴性的患者。来源于 TCGA 的数据也表明, MMP3 mRNA

高表达的患者总生存时间明显低于 MMP3 mRNA 低表达的患者。以上的结果表明, MMP3 与 NSCLC 的发生、发展、分化程度、转移及预后密切相关。检测 NSCLC 组织中 MMP3 的表达, 在预测 NSCLC 的发展、转移和复发风险等具有重要的临床意义。因此, MMP3 有望成为 NSCLC 治疗的潜在靶标。

综上所述, NSCLC 组织中 MMP3 表达上调与 NSCLC 患者的预后以及多个临床特征如肿瘤直径、淋巴结转移和临床分期密切相关, 可能促进 NSCLC 的恶性进展和转移, 其表达水平可能作为 NSCLC 预后预测的重要指标。然而, 关于 MMP3 在 NSCLC 中具体的生物学机制尚不清楚, 有待于进一步研究。

参考文献

- [1] WU S, PAN Y, MAO Y, et al. Current progress and mechanisms of bone metastasis in lung cancer: a narrative review [J]. *Transl Lung Cancer Res*, 2021, 10(1): 439-451.
- [2] XIE S, WU Z, QI Y, et al. The metastasizing mechanisms of lung cancer: recent advances and therapeutic challenges [J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 138(4): 111450.
- [3] 梁平, 邓淇均. 奥希替尼对非小细胞肺癌脑转移疗效及安全性的 meta 分析 [J]. *重庆医学*, 2020, 49(14): 2383-2389.
- [4] HANAHAN D, WEINBERG R A. Hallmarks of cancer: the next generation [J]. *Cell*, 2011, 144(5): 646-674.
- [5] COX T R. The matrix in cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2021, 21(4): 217-238.
- [6] 马国明, 贾纯亮. miRNA-133b 在胃癌组织中的表达及其对 MMP-9 的影响 [J]. *重庆医学*, 2020, 49(21): 3624-3629.
- [7] HUANG J F, DU W X, CHEN J J. Elevated expression of matrix metalloproteinase-3 in human osteosarcoma and its association with tumor metastasis [J]. *J BUON*, 2016, 21(5): 1279-1286.
- [8] LIU H Q, SONG S, WANG J H, et al. Expression of MMP-3 and TIMP-3 in gastric cancer tissue and its clinical significance [J]. *Oncol Lett*, 2011, 2(6): 1319-1322.
- [9] Shi J, LI D, LIANG D, et al. Epidemiology and prognosis in young lung cancer patients aged under 45 years old in northern China [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 6817.
- [10] MEDEROS N, FRIEDLAENDER A, PETERS S, et al. Gender-specific aspects of epidemiology, molecular genetics and outcome: lung cancer [J]. *ESMO Open*, 2020, 5(Suppl 4): e000796.
- [11] 林艳苹, 张强, 陆彦霓, 等. 云南省肿瘤医院 2005—2014 年肺癌流行病学特征变化趋势分析 [J]. *中国肺癌杂志*, 2020, 23(3): 142-149.
- [12] 张艳胜. 应用组织芯片技术探讨乳腺癌 TIMPs 表达与激素受体及临床病理的关系 [J]. *重庆医学*, 2020, 49(14): 2317-2320, 2325.
- [13] ZHU G, KANG L, WEI Q, et al. Expression and regulation of MMP1, MMP3, and MMP9 in the chicken ovary in response to gonadotropins, sex hormones, and TGFB1 [J]. *Biol Reprod*, 2014, 90(3): 57.
- [14] KOLLAR B, UFFING A, BORGES T J, et al. MMP3 is a non-invasive biomarker of rejection in skin-bearing vascularized composite allotransplantation: a multicenter validation study [J]. *Front Immunol*, 2019, 10(2): 2771.
- [15] MENEZES-SILVA R, KHALIQ S, DEELEY K, et al. Genetic susceptibility to periapical disease: conditional contribution of MMP2 and MMP3 genes to the development of periapical lesions and healing response [J]. *J Endod*, 2012, 38(5): 604-607.
- [16] WOLF M, CLAY S M, OLDENBURG C E, et al. Overexpression of MMPs in corneas requiring penetrating and deep anterior lamellar keratoplasty [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2019, 60(5): 1734-1747.
- [17] MEHNER C, MILLER E, NASSAR A, et al. Tumor cell expression of MMP3 as a prognostic factor for poor survival in pancreatic, pulmonary, and mammary carcinoma [J]. *Genes Cancer*, 2015, 6(11/12): 480-489.
- [18] WANG J, WU Y, GUO J, et al. Adipocyte-derived exosomes promote lung cancer metastasis by increasing MMP9 activity via transferring MMP3 to lung cancer cells [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(47): 81880-81891.

(收稿日期: 2021-02-18 修回日期: 2021-07-07)