

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2023.01.021
网络首发 https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.r.20221024.1908.023.html(2022-10-26)

SPOCK1、MMP11 与 MMP9 在结直肠癌中的表达及临床价值

史春桃¹,程 杰¹,刘 慧²,单永锋²,王昊楠^{2△}
(1. 无锡市锡山人民医院普外科,江苏无锡 214000;2. 无锡市第五人民医院肿瘤科,江苏无锡 214000)

[摘要] **目的** 分析 SPOCK1 与基质金属蛋白酶(MMPs)在结直肠癌组织中的表达及相关性。**方法** 利用 TIMER2.0 与 GEPIA 数据库挖掘与 SPOCK1 相关的 MMPs。收集 70 例患者结直肠癌组织及对应正常组织,免疫组织化学检测 SPOCK1 与相关 MMPs 在结直肠癌组织中的表达,分析相关性,评估临床病理学价值。**结果** SPOCK1 在结直肠癌组织中的表达明显高于正常组织($P<0.001$)。通过数据库确定 MMP11 和 MMP9 在结直肠癌组织中表达与 SPOCK1 最为密切。MMP11 与 MMP9 在癌组织中表达明显高于正常组织($P<0.001$),SPOCK1、MMP11 和 MMP9 三者之间相关($P<0.05$)。SPOCK1 表达与淋巴结转移、TNM 分期相关($P<0.05$);MMP11 表达与肿瘤直径、淋巴结转移及 TNM 分期相关($P<0.05$);MMP9 表达与淋巴结转移、TNM 分期及肿瘤分化程度相关($P<0.05$)。三者均阳性与结直肠癌肿瘤直径、分化程度、淋巴结转移及 TNM 分期相关($P<0.05$)。**结论** SPOCK1、MMP11 和 MMP9 联合检测对结直肠癌患者临床病理特征具有指导价值。

[关键词] 结直肠癌;SPOCK1;基质金属蛋白酶
[中图法分类号] R735 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2023)01-0102-06

Expression and clinical value of SPOCK1, MMP11 and MMP9 in colorectal carcinoma

SHI Chuntao¹, CHEN Jie¹, LIU Hui², SHAN Yongfeng², WANG Haonan^{2△}
(1. Department of General Surgery, Xishan People's Hospital, Wuxi, Jiangsu 214000, China; 2. Department of Oncology, Wuxi Municipal Fifth People's Hospital, Wuxi, Jiangsu 214000, China)

[Abstract] **Objective** To analyze the expression and correlation of SPOCK1 and MMPs in colorectal cancer tissues. **Methods** The SPOCK1 related MMPs was mined by using the TIMER2.0 and GEPIA databases. The 70 cases of colorectal carcinoma tissue and corresponding normal tissue were collected. The expressions of SPOCK1 and related MMPs in colorectal cancer tissues were detected by immunohistochemistry, the correlation was analyzed and their clinicopathological value was evaluated. **Results** The expression of SPOCK1 in colorectal cancer tissues was significantly higher than that in normal tissues ($P<0.001$). The database determined that the MMP11 and MMP9 expressions in colorectal carcinoma tissue were most closely related to SPOCK1. The expressions of MMP11 and MMP9 in cancer tissues were significantly higher than those in normal tissues ($P<0.001$), and there was a correlation among SPOCK1, MMP11 and MMP9. The expression of SPOCK1 was correlated with the lymph node metastasis and TNM stage ($P<0.05$). The MMP11 expression was correlated with the tumor diameter, lymph node metastasis and TNM stage ($P<0.05$). The MMP9 expression was correlated with lymph node metastasis, TNM stage and tumor differentiation ($P<0.05$). The three positive was correlated with the tumor diameter, differentiation degree, lymph node metastasis and TNM stage of colorectal cancer. **Conclusion** The combined detection of SPOCK1, MMP11 and MMP9 has the guiding values for clinicopathological features of the patients with colorectal cancer.

[Key words] colorectal cancer; SPOCK1; matrix metalloproteinase

结直肠癌是人类常见的恶性肿瘤之一,因其高死亡率严重危害人类的生命健康^[1]。新型生物标志物

的挖掘为预测和改善结直肠癌患者预后带来了可能^[2]。SPOCK1 是一种首次从人类睾丸中分离出来的蛋白多糖,属于一个新的 Ca^{2+} 结合蛋白多糖家族,其高表达在促进结直肠癌发生、发展中具有重要意义^[3-4]。有研究发现,SPOCK1 能通过调控基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase,MMP)水平在疾病的发生中发挥重要作用,其中包括促进恶性肿瘤的侵袭与转移^[5-6]。因此,本研究旨在分析 SPOCK1、MMP11 与 MMP9 在结直肠癌组织和正常组织中的表达及相关性,评估三者单独与联合检测在评估结直肠癌临床病理特征中的价值。

1 资料与方法

1.1 标本来源

选取 2012 年 1 月至 2019 年 12 月于无锡市锡山人民医院行结直肠癌根治术的 70 例患者,年龄(66.17 ± 12.29)岁,男女比例为 1 : 1.12。所有患者术前均未接受任何放化疗,术后病理结果经 2 名以上病理医师确认,并有完整的临床病例资料。

1.2 主要试剂

兔抗人 SPOCK1 多克隆抗体(ab229935)、兔抗人 MMP11 多克隆抗体(ab119284)及兔抗人 MMP9 单克隆抗体(ab76003)购自英国 Abcam 公司;SP 试剂盒购自北京康为世纪生物科技有限公司。

1.3 方法

1.3.1 数据库分析

本研究选取 TIMER2.0 和 GEPIA 数据库检测 SPOCK1 与 MMPs 在结直肠癌组织中的表达及相关性。利用 TIMER 数据库分析 SPOCK1 与 MMPs 表达在恶性肿瘤中的相关性,挑选出与 SPOCK1 表达呈正相关的 MMPs;运用 GEPIA 数据库分析 MMPs 在结直肠癌组织与正常组织中的表达差异,并分析 SPOCK1 与 MMPs 表达相关性。

1.3.2 免疫组织化学法检测 SPOCK1、MMP11 及 MMP9 表达

采用链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶连结法(SP 法)检测 SPOCK1、MMP11 及 MMP9 表达。将切片脱蜡水化、高温高压抗原修复。然后滴加 Solution A 液室温孵育 10 min,PBS 充分淋洗,再滴加 Solution B 液室温孵育 10 min 后甩干。配制一抗工作液,SPOCK1 与 MMP11 抗体稀释度为 1 : 100,MMP9 抗体稀释度为 1 : 1 000。滴加适量一抗工作液,孵育切片标本过夜后 PBS 淋洗。滴加 Solution C 液室温孵育 10 min,再滴加 Solution D 液室温孵育 10 min,PBS 充分淋洗。DAB 显色,镜下观察后复染、脱水、封片。

1.3.3 结果判定

免疫组织化学染色结果基于染色强度和阳性细胞数两项指标。染色强度分级评分:0 分,无着色;1 分,弱染色;2 分,中等染色;3 分,强染色。阳性细胞数比例评分:0 分,阳性细胞 0;1 分,阳性细胞 $< 25\%$;2 分,阳性细胞 $25\% \sim < 50\%$;3 分,阳性细胞 $50\% \sim 75\%$;4 分,阳性细胞 $> 75\%$ 。染色评分(immunoreactive score,IRS)=染色强度评分 $\times$ 阳性细胞数比例评分,总分 < 4 分为阴性, ≥ 4 分为阳性。

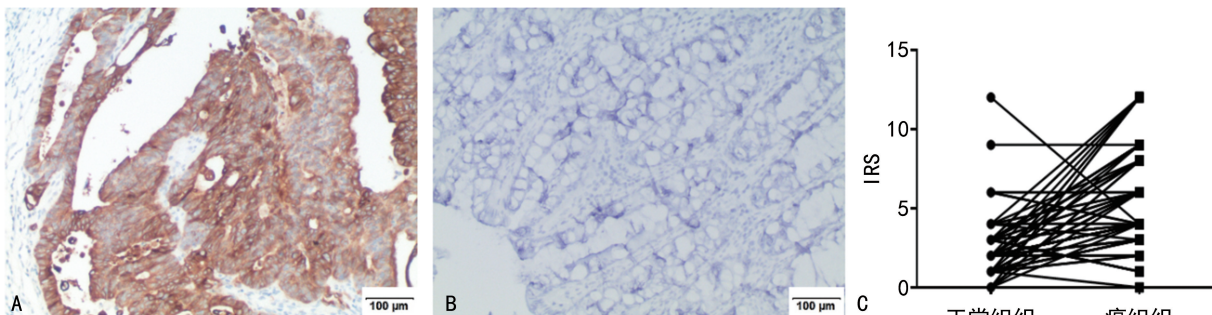
1.4 统计学处理

采用 SPSS20.0 统计软件进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验;计数资料以例数或率表示,采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床样本分析 SPOCK1 在结直肠癌组织与正常组织中的表达

SPOCK1 主要位于细胞质内,并且在结直肠癌组织中的表达明显高于正常组织($t = 7.319, P < 0.001$),见图 1。



A:SPOCK1 在结直肠癌组织中的表达;B:SPOCK1 在结直肠正常组织中的表达;C:SPOCK1 在结直肠癌组织与正常组织中的表达差异分析。

图 1 免疫组织化学检测 SPOCK1 在结直肠癌组织与正常组织中的表达

2.2 数据库挖掘结直肠癌组织中与 SPOCK1 表达相关的 MMPs

TIMER 2.0 数据库分析发现,包括 MMP1、MMP2、MMP9 等 13 种 MMPs 在结直肠癌中与

SPOCK1 表达呈正相关,见图 2。GEPIA 数据库分析发现,仅有 5 种 MMPs 在结直肠癌组织中表达明显高于正常组织,包括 MMP1、MMP7、MMP9、MMP11 和 MMP12,且与 SPOCK1 表达均呈正相关,见图 3。结

合 2 个数据库分析,最终确定 MMP11 和 MMP9 在结直肠癌组织中表达与 SPOCK1 最为密切。

2.3 临床样本分析 SPOCK1、MMP11 与 MMP9 表达相关性

MMP11 与 MMP9 均表达在细胞质内(图 4A),且在结直肠癌组织中的表达明显高于正常组织($P<0.001$,图 4B)。二者均与 SPOCK1 表达呈正相关,且二者之间也呈正相关(图 4C)。

2.4 SPOCK1、MMP11、MMP9 表达与结直肠癌临床病理学参数的关系

根据免疫组织化学结果将 70 例患者进行分组:SPOCK1 阳性组 54 例,阴性组 16 例;MMP11 阳性组 50 例,阴性组 20 例;MMP9 阳性组 49 例,阴性组 21 例。结合临床病理特征分析发现,SPOCK1 表达与淋巴结转移、TNM 分期相关($P<0.05$);MMP11 表达与肿瘤直径、淋巴结转移及 TNM 分期相关($P<0.05$);MMP9 表达与分化程度、淋巴结转移、TNM 分期相关($P<0.05$),见表 1。三者均阳性与结直肠癌肿瘤直径、分化程度、淋巴结转移及 TNM 分期相关($P<0.05$),见表 1。

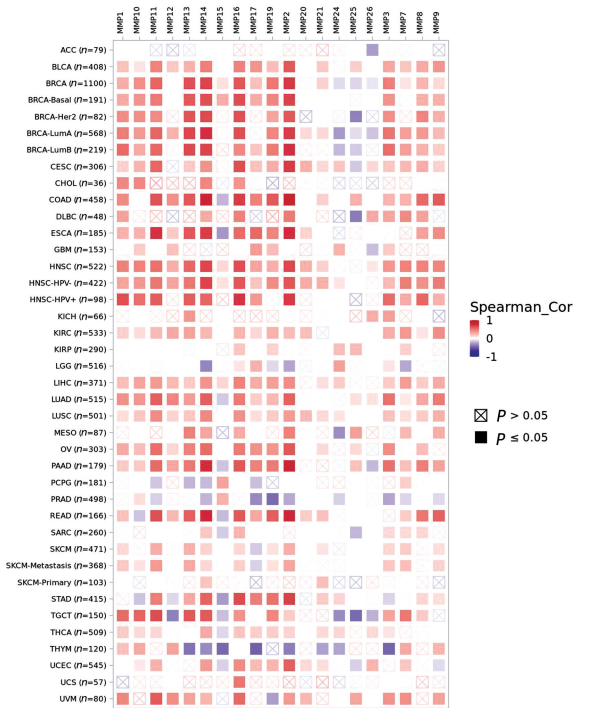


图 2 TIMER2.0 数据库分析 SPOCK1 与 MMPs 表达相关性

表 1 SPOCK1、MMP11 与 MMP9 在结直肠癌中表达与临床病理参数的关系

参数	n	SPOCK1			MMP11			MMP9			SPOCK1、 MMP11、 MMP9 均阳性		
		阳性	χ^2	P	阳性	χ^2	P	阳性	χ^2	P	阳性	χ^2	P
年龄			0.56	>0.05		0.97	>0.05		3.17	>0.05		1.79	>0.05
≤66 岁	32	26			21			19			16		
>66 岁	38	28			29			30			13		
性别			0.07	>0.05		0.69	>0.05		1.2	>0.05		0.42	>0.05
女	37	29			28			28			14		
男	33	25			22			21			15		
肿瘤直径			1.47	>0.05		5.88	0.015		0.94	>0.05		9.78	0.002
≤5 cm	44	36			27			29			12		
>5 cm	26	18			23			20			17		
分化程度			1.91	>0.05		0.55	>0.05		23.25	<0.001		6.27	0.044
高	10	8			8			2			1		
中	22	19			16			12			8		
低	38	27			26			35			20		
淋巴结转移			7.97	0.005		5.43	0.020		6.89	0.009		12.83	<0.001
无	27	16			15			14			4		
有	43	38			35			35			25		
TNM 分期			11.54	0.009		8.07	0.045		11.26	0.010		17.15	0.001
I	8	3			3			2			1		
II	19	13			12			12			2		
III	33	30			28			26			19		
IV	10	8			7			9			7		

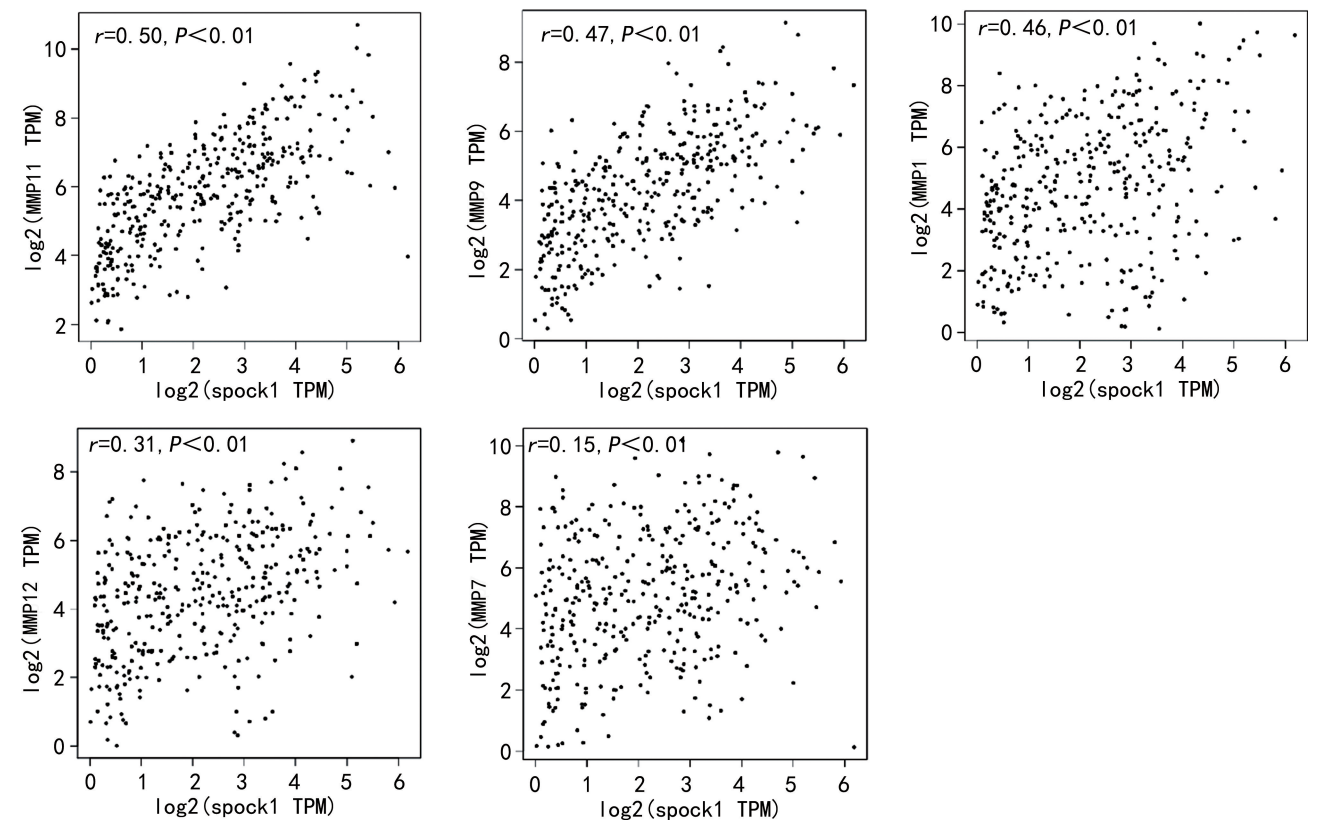
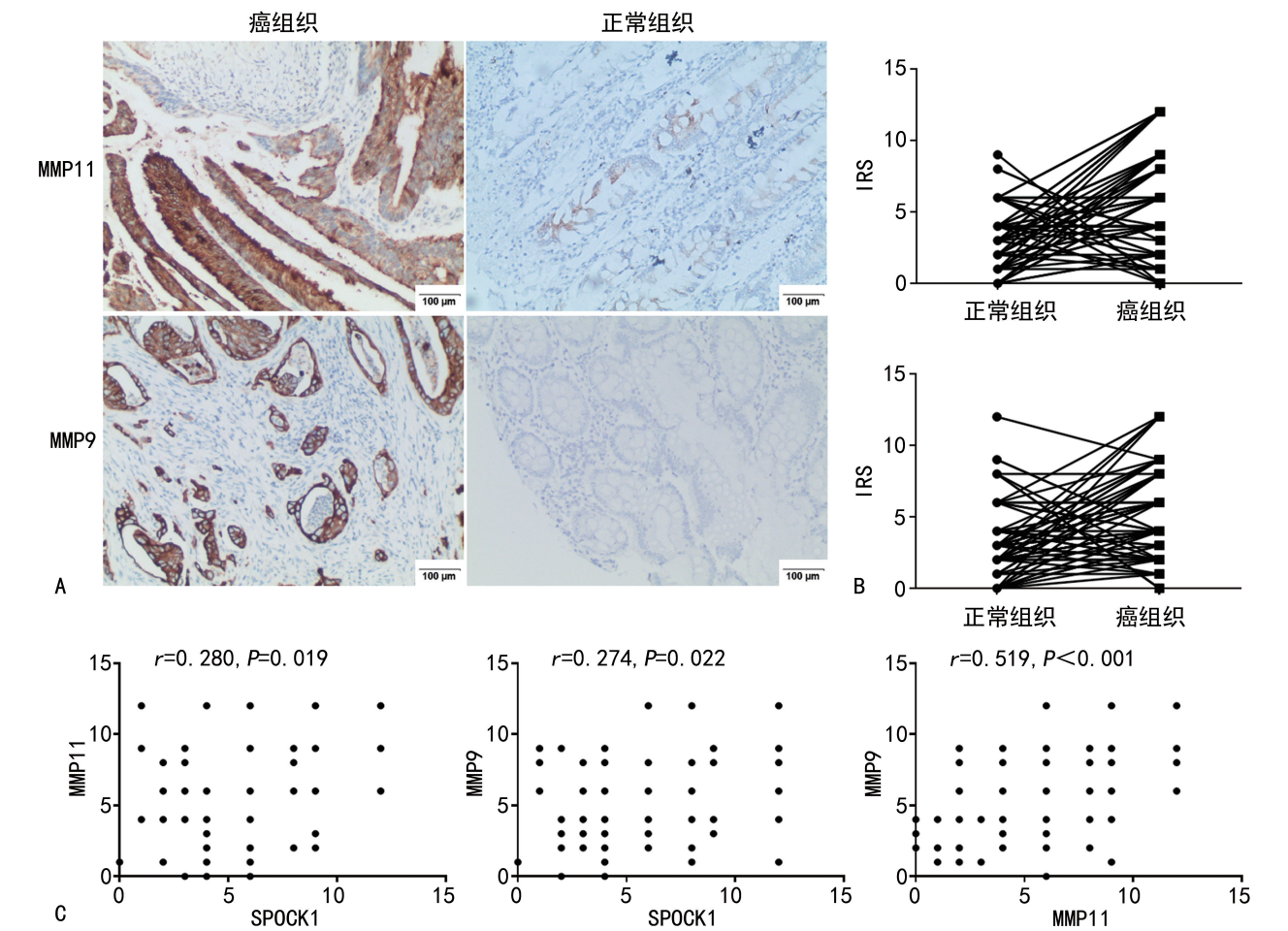


图3 GEPIA 数据库分析结直肠癌组织中 5 种 MMPs 与 SPOCK1 表达相关性



A:MMP11 和 MMP9 在结直肠癌组织与正常组织中的表达;B:MMP11 和 MMP9 在结直肠癌组织与正常组织中的表达差异分析;C:SPOCK1、MMP11、MMP9 相关性分析。

图4 MMP11 和 MMP9 在结直肠癌组织与正常组织中的表达及相关性

3 讨 论

由于结直肠癌具有高发生率和高死亡率,其一直以来都在威胁着人类生命健康^[7]。尽管除了手术,还有化疗、放疗、靶向治疗等多种治疗手段能够治疗结直肠癌,但许多患者在初诊时即有转移迹象,属于晚期阶段,5 年生存率较低^[8]。病理学的发展和生物标志物的挖掘,能够更好地分析结直肠癌等恶性肿瘤的习性和确认病理特征^[9]。常见的结肠癌相关肿瘤标志物有癌胚抗原、糖类抗原 CA199 和糖类抗原 CA724 等^[10]。然而,这些标志物特异性不强,灵敏度不高,对肿瘤早期病理诊断和预后评估作用并不明显^[11]。因此,挖掘新型生物标志物成为预测与改善结直肠癌患者预后的重要方向。

SPOCK1 属于新发现的 Ca^{2+} 结合蛋白多糖家族成员之一,此家族的共同特点是有相似的 N 端、C 端及含有卵泡素样结构的区域,参与细胞的增殖、黏附及转移等生理与病理过程^[4]。研究发现,该家族的多个成员,包括 SPARC、SPARCL1 等的异常表达通过调节肿瘤增殖、黏附及基质间互作在结直肠癌发生、发展过程中起到了重要作用^[12-13]。SPOCK1 与 SPARC 在结构上有极高的相似性^[14]。近年来文献表明,SPOCK1 还广泛参与肿瘤的发生与发展,在癌细胞间质重构中起到重要的调节作用,从而促进癌细胞生长、侵袭与转移^[15]。研究发现,SPOCK1 的功能受其分解的多糖片段影响,这些片段能够特异性地与生长因子、趋化因子和基质结构等结合,癌细胞则通过吸收这些片段获得生长优势,进一步增强侵袭作用^[16]。本研究发现,SPOCK1 在结直肠癌组织中的表达明显高于正常组织,且与淋巴结转移和 TNM 分期相关,表明异常高表达的 SPOCK1 在结直肠癌发生、发展与转移过程中发挥着关键作用。

上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)在肿瘤的侵袭和转移中发挥至关重要的作用,MMPs 则与 EMT 的发生密切相关^[17]。相关研究表明,SPOCK1 可通过调控 EMT 促进肿瘤侵袭与转移,而沉默 SPOCK1 不仅会使肿瘤细胞侵袭转移能力与 EMT 的发生明显受抑,还能明显下调 MMPs 表达^[5]。因此,异常高表达的 SPOCK1 可通过上调 MMPs 诱导 EMT 发生,进而促进结直肠癌的发生、发展与转移。本研究首先通过数据库确认与 SPOCK1 表达呈正相关的 MMPs,其中包括 MMP11、MMP9 在内的 13 种 MMPs,但仅 5 种在结直肠癌组织中表达明显高于正常组织。通过数据库分析,最终确定在结直肠癌中 MMP11 和 MMP9 是与 SPOCK1 最为密切的 MMPs。免疫组织化学检测同样发现,三

者在结直肠癌组织中的表达明显高于正常组织,且三者之间呈正相关。不仅如此,三者表达均与临床病理学参数相关,但各自存在差异,并且当三者均为阳性时,预示结直肠癌恶性程度更高、分期更晚。故三者联合检测对于临床病理学的诊断具有强化作用。这也为证明 SPOCK1 通过上调 MMPs 促进结直肠癌发生、发展的作用提供临床依据。

综上所述,SPOCK1、MMP11 和 MMP9 在结直肠癌组织中表达明显高于正常组织,三者间呈正相关;SPOCK1、MMP11 和 MMP9 联合检测对患者临床病理特征具有指导价值,并为寻找结直肠癌潜在的靶点提供良好的理论基础。

参考文献

[1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209-249.

[2] 张愉涵, 陈宏达, 卢明, 等. 结直肠癌筛查和早期诊断生物标志物研究进展[J]. 中华流行病学杂志, 2021, 42(1): 142-148.

[3] HAN J, RONG Y, GAO X. Multiomic analysis of the function of SPOCK1 across cancers: an integrated bioinformatics approach [J]. J Int Med Res, 2021, 49(6): 300060520962659.

[4] ZHANG J, ZHI X, SHI S, et al. SPOCK1 is up-regulated and promotes tumor growth via the PI3K/AKT signaling pathway in colorectal cancer [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2017, 482(4): 870-876.

[5] YAO L Y, MA J, ZENG X M, et al. MicroRNA-155-5p inhibits the invasion and migration of prostate cancer cells by targeting SPOCK1[J]. Oncol Lett, 2020, 20(6): 353.

[6] ALSHARGABI R, SANO T, YAMASHITA A, et al. SPOCK1 is a novel inducer of epithelial to mesenchymal transition in drug-induced gingival overgrowth[J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 9785.

[7] 王露尧, 张鹭鹭. 中国结直肠癌发病和死亡情况及防控策略[J]. 解放军医院管理杂志, 2021, 28(12): 1195-1197.

[8] 白芳. 腹腔镜结直肠癌手术的研究现状及进展[J]. 中国医疗器械信息, 2022, 28(2): 35-37.

- [9] 国家消化系统疾病临床医学研究中心(上海),中华医学会消化内镜学分会,中国抗癌协会肿瘤内镜专业委员会,等. 中国结直肠癌癌前病变和癌前状态处理策略专家共识[J]. 中华消化内镜杂志,2022,39(1):1-18.
- [10] 钟劭文,何惠平,许浩生. CEA、CA199、CA724 及 CA242 对结直肠癌的诊断价值[J]. 中国现代医药杂志,2022,24(1):6-9.
- [11] 夏寅寅. 血清 CEA、CA125、CA19-9、CYFRA-21 联合检测在结直肠癌中的诊断价值分析[J]. 当代医学,2021,27(35):73-75.
- [12] WANG J,ZHANG Y,SONG H,et al. The circular RNA circSPARC enhances the migration and proliferation of colorectal cancer by regulating the JAK/STAT pathway[J]. Mol Cancer,2021,20(1):81.
- [13] ZHANG H P,WU J,LIU Z F,et al. SPARCL1 is a novel prognostic biomarker and correlates with tumor microenvironment in colorectal cancer[J]. Biomed Res Int,2022,2022:1398268.
- [14] YAMAMOTO A,UCHIYAMA K,NARA T,

et al. Structural abnormalities of corpus callosum and cortical axonal tracts accompanied by decreased anxiety-like behavior and lowered sociability in spock3-mutant mice[J]. Dev Neurosci,2014,36(5):381-395.

- [15] CUI X,WANG Y,LAN W,et al. SPOCK1 promotes metastasis in pancreatic cancer via NF-kappaB-dependent epithelial-mesenchymal transition by interacting with IκB-α[J]. Cell Oncol (Dordr),2022,45(1):69-84.
- [16] CHEN D,ZHOU H,LIU G,et al. SPOCK1 promotes the invasion and metastasis of gastric cancer through Slug-induced epithelial-mesenchymal transition[J]. J Cell Mol Med,2018,22(2):797-807.
- [17] SHI A,WANG T,JIA M,et al. Effects of SDF-1/CXCR7 on the migration, invasion and epithelial-mesenchymal transition of gastric cancer cells[J]. Front Genet,2021,12:760048.

(收稿日期:2022-05-08 修回日期:2022-10-10)

(上接第 101 页)

- [13] KOIVUNEN P,LEE S,DUNCAN C G,et al. Transformation by the (R)-enantiomer of 2-hydroxyglutarate linked to EGLN activation[J]. Nature,2012,483(7390):484-488.
- [14] CHESNELONG C,CHAUMEIL M M,BLOUGH M D,et al. Lactate dehydrogenase a silencing in IDH mutant gliomas[J]. Neuro Oncol,2014,16(5):686-695.
- [15] XIONG J,TAN W L,PAN J W,et al. Detecting isocitrate dehydrogenase gene mutations in oligodendroglial tumors using diffusion tensor imaging metrics and their correlations with proliferation and microvascular density[J]. J Magn Reson Imaging,2016,43(1):45-54.
- [16] KIM M,JUNG S Y,PARK J E,et al. Diffusion- and perfusion-weighted MRI radiomics model may predict isocitrate dehydrogenase (IDH) mutation and tumor aggressiveness in diffuse lower grade glioma[J]. Eur Radiol,2020,30(4):2142-2151.
- [17] XIE Y,LI S,SHEN N,et al. Assessment of

isocitrate dehydrogenase 1 genotype and cell proliferation in gliomas using multiple diffusion magnetic resonance imaging[J]. Front Neurosci,2021,15:783361.

- [18] CUI D,REN J,SHI J,et al. R132H mutation in IDH1 gene reduces proliferation, cell survival and invasion of human glioma by downregulating Wnt/beta-catenin signaling[J]. Int J Biochem Cell Biol,2016,73:72-81.
- [19] XU Q,AHMED A K,ZHU Y,et al. Oncogenic microRNA-20a is downregulated by the HIF-1α/c-MYC pathway in IDH1 R132H-mutant glioma[J]. Biochem Biophys Res Commun,2018,499(4):882-888.
- [20] STADLBAUER A,ZIMMERMANN M,KITZ W ÖGERER M,et al. MR imaging-derived oxygen metabolism and neovascularization characterization for grading and IDH gene mutation detection of gliomas[J]. Radiology,2017,283(3):799-809.

(收稿日期:2022-04-22 修回日期:2022-09-08)