

EMMPRIN 在非小细胞肺癌组织中的表达及意义

戴磊, 冼磊, 陈铭伍

基金项目: 广西回国基金资助项目(编号:桂科回0832011); 广西壮族自治区卫生厅自筹经费科研课题(编号:Z2008131)

作者单位: 530021 南宁, 广西医科大学第一附属医院胸心外科

作者简介: 戴磊(1984-), 男, 在读研究生, 研究方向: 心胸外科基础研究。E-mail: 283454065@qq.com

通讯作者: 陈铭伍(1959-), 男, 医学硕士, 教授, 研究方向: 心胸外科的基础与临床研究。E-mail: chen535@126.com

[摘要] **目的** 研究肿瘤转移基因 EMMPRIN 在非小细胞肺癌组织和癌旁组织中的表达及意义。**方法** 采用 RT-PCR 检测 80 例非小细胞肺癌组织和 40 例癌旁正常组织中 EMMPRIN 的表达。**结果** EMMPRIN 在肺癌细胞中表达阳性率高于癌旁组织, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 在 NSCLC 中, EMMPRIN 表达随着肿瘤病理分级和 TNM 分期增加而有增高趋势。EMMPRIN 的表达与有淋巴结转移呈正相关($P < 0.05$)。**结论** EMMPRIN 参与了 NSCLC 的发生发展过程, EMMPRIN 的表达可作为判断 NSCLC 病理分级及转移和预后的指标, 为临床诊断和治疗提供依据。

[关键词] 非小细胞肺癌; RT-PCR; EMMPRIN

[中图分类号] R 734.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2011)03-0202-03

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2011.03.03

Expression and clinical significance of EMMPRIN in tissues of non-small cell lung cancer DAI Lei, XIAN Lei, CHEN Ming-wu. Department of Cardiothoracic Surgery, the First Affiliated Hospital, Guangxi Medical University, Nan-ning 530021, China

[Abstract] **Objective** To evaluate the expression and significance of EMMPRIN in tissues of non-small cell lung cancer (NSCLC). **Methods** Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) was used for measuring the expression level of EMMPRIN in tissues from 80 patients with NSCLC and in tumor adjacent tissues from 40 patients with NSCLC. Then the sequence of PCR products of EMMPRIN gene was analysed. **Results** The positive expression rate of EMMPRIN in tissues of non-small cell lung cancer was significantly higher than that in tumor adjacent tissues ($P < 0.05$). EMMPRIN expression was positively correlated with lymph node metastasis ($P < 0.05$). **Conclusion** EMMPRIN may take part in the progress of NSCLC, and may be used as good indicator for judging metastasis, clinical stage, and prognosis of lung cancer.

[Key words] Non-small cell lung cancer; RT-PCR; EMMPRIN

近年来的研究表明,肺癌细胞侵袭转移能力与其诱导产生蛋白酶降解细胞外基质(extra-cell matrix, ECM)基底膜有关,基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)是其中最为重要的一组蛋白酶,是专一性降解基膜的酶,在肺癌的侵袭和转移中具有重要作用^[1]。EMMPRIN 是 MMP 的诱导因子,它与肿瘤的演进密切相关,它可通过上调透明质酸的产量来促进肿瘤的生长,通过刺激间质细胞及肿瘤细胞本身产生多种基质金属蛋白酶来降解基底膜和细胞外基质,从而促进肿瘤的浸润、转移^[2]。我们采用 RT-PCR 检测 80 例广西非小细胞肺癌患者的肿瘤组织及 40 例癌旁正常组织,探讨 EMMPRIN 的表达在非小细胞肺癌的发生发展中的作用,

为临床诊断和治疗提供依据,报告如下。

1 材料与方法

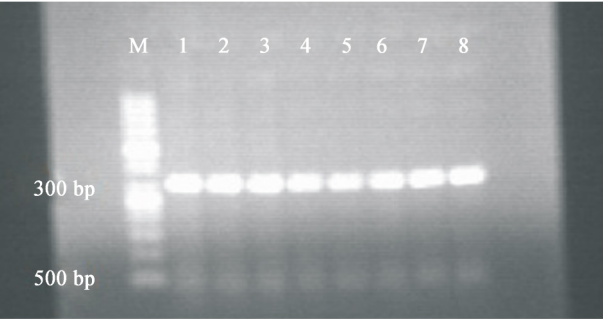
1.1 标本来源 收集广西医科大学第一附属医院 2007-09 ~ 2010-05 手术切除的 NSCLC 新鲜标本 80 份,术前未经化疗或放疗,术后均经病理证实。其中男 51 例,女 29 例;年龄 < 60 岁 38 例, ≥ 60 岁 42 例;按照 1997 年 UICC 的肺癌国际分期,较早期(I ~ II 期)48 例,较晚期(III ~ IV 期)32 例;病理类型:鳞癌 29 例,腺癌 51 例;肿瘤细胞分化程度:高、中分化 49 例,低分化 31 例;有淋巴结转移 33 例,无淋巴结转移 47 例;有吸烟史 47 例(29 例吸烟指数 ≥ 400 , 18 例吸烟指数 ≤ 200),无吸烟史 33 例。同期取其中 40 例距肿瘤边缘 5 cm 以外并经术后病理检查证

实无癌细胞浸润的正常肺组织作对照。

1.2 实验方法 采用 RT-PCR。

1.2.1 总 RNA 的提取及逆转录 按照 Trizol 试剂说明书,分别提取实验组和对照组的总 RNA。参照 M-MLV 逆转录盒说明书进行逆转录反应,合成的 cDNA 放置于 -20 ℃ 贮存备用。

1.2.2 PCR 反应 以 cDNA 为模板,按相应的引物及反应条件进行扩增。EMMPRIN 的上游引物为 5'-GAGAGCAGGTTCTTCGTGAGTTC-3',下游引物为 5'-GCCTTTGTCATTCTGCTGCTG-3',扩增产物为 318 bp。反应条件 95 ℃ 3 min,94 ℃ 30 s,60 ℃ 30 s,72 ℃ 30 s,72 ℃ 5 min,40 个循环。β-actin 的上游引物为 5'-CTCGCGTACTCTCTCTTTCTGG-3',下游引物为 5'-GCTTACATGTCTCGATCCCACTTAA-3',扩增产物为 334 bp。反应体系为 25 μl,反应的产物在 2% 的琼脂糖凝胶上电泳,在凝胶成像系统下观察目的条带(图 1)。经北京诺赛基因组研究中心有限公司对反应产物进行测序,测出的序列在 PUB MED 上比对后证明为目的产物(图 2)。



注:M 为标志物;1,2 为非小细胞肺癌组织阳性表达

图 1 肺癌组织 EMMPRIN RT-PCR 琼脂糖电泳图

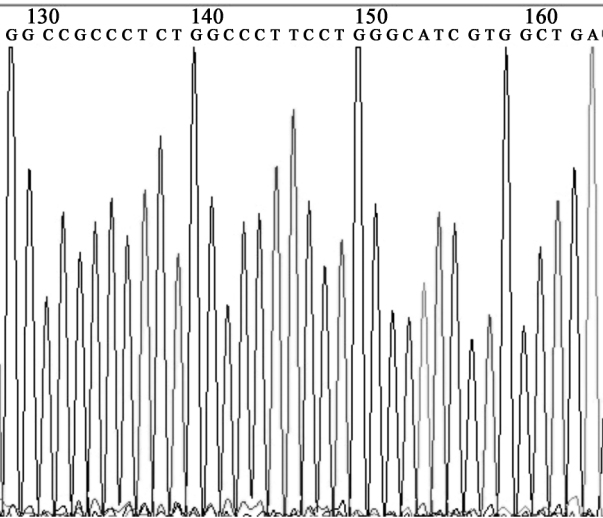


图 2 EMMPRIN 基因测序图

1.3 统计学方法 应用 SPSS13.0 统计软件进行统计学分析,组间比较和各因素相关性分析采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 EMMPRIN 的表达 肺癌及癌旁肺组织中 EMMPRIN 基因的表达水平分别为 68.7% (53/80)、42.5% (17/40)。肺癌组织中 EMMPRIN 表达水平高于癌旁肺组织($\chi^2 = 6.19, P < 0.05$)。

2.2 EMMPRIN 表达与非小细胞肺癌各因素的关系 EMMPRIN 基因在非小细胞肺癌组织中的表达与患者年龄、性别、有无吸烟史、病理类型无关 ($P > 0.05$),与肿瘤分化程度、淋巴结转移、临床分期有相关性 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。见表 1。

表 1 EMMPRIN 表达与非小细胞肺癌各因素的关系

因 素	例数	EMMPRIN(+)	χ^2	<i>P</i>
年龄(岁)				
<60	38	25	0.070	>0.05
>60	42	28		
性别				
男	51	34	0.011	>0.05
女	29	19		
吸烟				
吸烟	46	29	0.498	>0.05
非吸烟	34	24		
淋巴结转移				
阴性	33	14	14.261	<0.01
阳性	47	39		
病理类型				
鳞癌	29	18	0.356	>0.05
腺癌	51	35		
临床分期				
I、Ⅱ期	48	27	5.367	<0.05
Ⅲ、Ⅳ期	32	26		
分化程度				
高中分化组	49	27	7.028	<0.01
低分化组	31	26		

3 讨论

3.1 侵袭与转移是恶性肿瘤最重要的生物学特性,也是患者治疗失败和死亡的主要原因。肺癌的侵袭与转移是一个多阶段、多步骤、多因素参与的序贯过程,包括侵袭、循环扩散、远处克隆和血管生成。基质金属蛋白酶家族(MMPs)是一种重要的蛋白水解酶类,通过参与肿瘤细胞降解 ECM,突破基底膜屏

障的过程而在肿瘤侵袭转移中起重要作用^[3]。EMMPRIN 属 IgSF 成员,是一种分子量约 58 kD 的跨膜糖蛋白,也是一种广泛存在于细胞表面的粘附分子,参与细胞间及细胞与基质间的粘附^[4]。EMMPRIN 可显著诱导 MMPs 的产生,从而参与破坏天然组织机械屏障,促使癌细胞浸润转移和肿瘤新生血管生成^[5]。Tang 等^[6]发现双调蛋白和表皮生长因子诱导乳腺癌细胞表达 EMMPRIN、MMP-2 和 MMP-9,表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂 ZD1839 可下调 EMMPRIN 蛋白的表达,共表达双调蛋白和表皮生长因子受体反义 cDNA 可下调 EMMPRIN、MMP-2 和 MMP-9 的表达,从而证实了表皮生长因子受体信号通路参与介导调控 EMMPRIN 表达。此外,已有研究表明 EMMPRIN 还可以与整合素家族 $\alpha_3\beta_1$ 、 $\alpha_6\beta_1$ 形成蛋白复合物,与整合素胞质区相关的信号分子主要是蛋白激酶和接头分子,其中最重要的是黏着斑激酶,它在细胞骨架变化及细胞增殖、存活的调控中均起重要作用,而黏着斑激酶在 MMPs 的分泌中起中枢作用,从而使 EMMPRIN 和基质蛋白相互作用,降解基质成分,促进癌细胞的扩散转移^[7]。

3.2 本研究发现 EMMPRIN 肺癌阳性表达率为 68.7% (53/80)。在肺癌癌组织中 EMMPRIN 水平表达高于癌旁组织 ($P < 0.05$),考虑由于肺癌细胞与成纤维细胞相互作用,导致 EMMPRIN 分泌增加。EMMPRIN 的阳性表达在年龄、性别、吸烟与否之间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。EMMPRIN 在不同病理类型的非小细胞肺癌中的表达,国内外尚无统一论,本研究结果提示腺癌中 EMMPRIN 表达率稍高于其在鳞癌中的表达率,可能与肿瘤的细胞形态有关;腺癌组织中多腺管样结构,与实质性的鳞癌组织相比更有利于降解 ECM 及新生血管形成,促进肿瘤转移,但本研究结果其表达率差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。在肺癌组织分化程度间比较,分化越差,EMMPRIN 表达越强,EMMPRIN 在低分化组的中表达高于高分化组 ($P < 0.01$),提示 EMMPRIN 与肺癌的恶性程度、侵袭转移能力相关。本实验还发现 EMMPRIN 阳性表达率随 TNM 分期增高和淋巴结转移而增高,Ⅲ ~ Ⅳ期肺癌患者 EMMPRIN 阳性表达率明显高于 I ~ II 期患者 ($P < 0.05$);有淋巴结转移的患者 EMMPRIN 阳性表达率明显高于无淋巴结转移者 ($P < 0.01$)。提示在非小细胞肺癌组织中,通过 EMMPRIN 的高表达诱导 MMPs 的产

生,导致 ECM 的降解,从而促进癌细胞的侵袭与转移。以上结果提示 EMMPRIN 可能与肺癌的侵袭和转移密切相关,可作为评价肺癌的分期、恶性程度及预后的重要指标之一。

3.3 肿瘤的侵袭是目前研究的热点和难点之一。在肺癌的研究中,多数研究表明 EMMPRIN 在肺癌中有过度表达,是肺癌侵袭转移的促进因素,其表达水平可以作为肺癌的预后指标。EMMPRIN 在各种恶性肿瘤的侵袭转移中的重要作用,已被众多的研究所证实。还有研究发现 EMMPRIN 和肿瘤细胞对抗肿瘤药物的敏感性和产生抗药性关系密切^[8]。因此,EMMPRIN 或许能成为非小细胞肺癌基因靶向治疗的一个靶点。进一步研究 EMMPRIN 的结构、功能及其与肺癌关系,能更好地控制肿瘤的侵袭,提高侵袭性肿瘤的治疗效果和改善预后是我们今后工作的重点。

参考文献

- 1 肖宁,宋长兴,许绍发. 基质金属蛋白酶 9 与肺癌的侵袭和转移[J]. 国际呼吸杂志,2008,28(10):610-613.
- 2 Zhang W, Erkan M, Abiatari I, et al. Expression of extracellular matrix metalloproteinase inducer (EMMPRIN/CD147) in pancreatic neoplasm and pancreatic stellate cells[J]. Cancer Biol Ther, 2007, 6(2): 218-227.
- 3 Jinga DC, Blidaru A, Condrea I, et al. MMP-9 and MMP-2 gelatinases and TIMP-1 and TIMP-2 inhibitors in breast cancer: correlations with prognostic factors[J]. J Cell Mol Med, 2006,10(2):499-510.
- 4 Reimers N, Zafrakas K, Assmann V, et al. Expression of extracellular matrix metalloproteinases inducer on micrometastatic and primary mammary carcinoma cells[J]. Clin Cancer Res, 2004, 10(10): 3422-3428.
- 5 Wang L, Wu G, Yu L, et al. Inhibition of CD147 expression reduces tumor cell invasion in human prostate cancer cell line via RNA interference[J]. Cancer Biol Ther, 2006, 5(6): 608-614.
- 6 Tang W, Hemler ME. Caveolin-1 regulates matrix metalloproteinases-1 induction and CD147/EMMPRIN cell surface clustering[J]. J Biol Chem, 2004, 279(12): 11112-11118.
- 7 Jia L, Wang S, Zhou H, et al. Caveolin-1 up-regulates CD147 glycosylation and the invasive capability of murine hepatocarcinoma cell lines[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2006, 38(9): 1584-1593.
- 8 Als AB, Dyrskjøt L, von der Maase H, et al. Emmpirin and survivin predict response and survival following cisplatin-containing chemotherapy in patients with advanced bladder cancer[J]. Clin Cancer Res, 2007, 13(15 Pt 1): 4407-4414.

[收稿日期 2010-12-31][本文编辑 刘京虹 韦颖]