

# MIF、MMP-9 在胃癌组织中的表达及临床意义

包 泱<sup>1</sup>, 常家聪<sup>1</sup>, 王道斌<sup>2</sup>

**摘要** 目的 探讨人胃癌组织及其癌旁正常组织中巨噬细胞移动抑制因子(MIF)和基质金属蛋白酶9(MMP-9)的表达及临床意义。方法 选取手术切除并经病理证实的胃癌标本80例作为实验组,另取80例相应癌旁组织作为对照组。应用免疫组化SP法检测癌组织及其癌旁正常组织标本中MIF、MMP-9的表达。结果 ①胃癌组织中MIF、MMP-9有不同程度的表达,MIF、MMP-9二者的阳性率分别为68.8%和67.5%,均高于癌旁正常组织中的32.5%和37.5%,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );②MIF的表达与肿瘤浸润深度、分化程度、淋巴结转移及TNM分期呈正相关( $P < 0.05$ )与其他临床病理参数无关;MMP-9与肿瘤浸润深度、淋巴结转移及TNM分期呈正相关( $P < 0.05$ ),与其他临床病理参数无关;③MIF与MMP-9的表达存在关联( $\chi^2 = 9.154, P < 0.01, r = 0.338$ )。结论 胃癌组织中MIF与MMP-9均呈阳性表达,且二者的表达呈正相关;二者在胃癌组织中不同程度的表达与胃癌的发生、发展密切相关,并可能指导胃癌的诊断、治疗及预后。

**关键词** 胃癌; MIF; MMP-9; 免疫组织化学

中图分类号 R 735.2; R 392.112

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2014)03-0363-04

胃癌是最常见的恶性肿瘤之一,其发生和发展是多阶段进行性的过程,但具体发生机制至今尚未完全明确。巨噬细胞移动抑制因子(macrophage migration inhibitory factor, MIF)是由活化T淋巴细胞分泌,并可抑制单核巨噬细胞移动的细胞因子,由Bloom et al<sup>[1]</sup>首次发现并命名。MIF在多种肿瘤中过度表达,且MIF促进肿瘤的侵袭及转移,影响肿瘤严重程度及预后。基质金属蛋白酶9(matrix metalloproteinase 9, MMP-9)作为基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMPs)家族中的一员,在肿瘤的发生和转移过程中所发挥的作用已在多种肿瘤中得到证实。Li et al<sup>[2]</sup>研究表明MIF可能在肿瘤早期阶段通过诱导MMP-9和白细胞介素8(interleu-

kin-8, IL-8)的表达来促进肿瘤细胞的侵袭浸润和转移。MIF诱导MMP-9的表达上调在大鼠骨母细胞中已经得到证实<sup>[3]</sup>,但二者在胃癌组织中的表达情况及关系近年来国内外未见报道。该研究检测MIF和MMP-9在胃癌及其癌旁组织中的表达情况,回顾性分析其临床病理特点,探讨MIF及MMP-9在胃癌发生和发展中的关系,为胃癌的诊断、治疗及预后的判断提供依据。

## 1 材料与方法

**1.1 标本来源** 收集2007年6月~2008年6月安徽医科大学第一附属医院普通外科收治的80例胃癌患者的术后组织蜡块标本,患者术前均未接受放化疗治疗,术后均经病理证实,均无同时患有其他恶性肿瘤。选取同组病例癌旁正常组织(距肿瘤边缘约5 cm)标本80例作对照组,所有病例临床及病理资料完整,见表1。

**1.2 主要试剂** 浓缩型兔抗人MIF多克隆抗体、浓缩型兔抗人MMP-9多克隆抗体均购自北京博奥森生物技术有限公司;SP试剂盒、PBS缓冲液、枸橼酸缓冲液和DAB显色液等均购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

**1.3 免疫组化SP法检测组织中MIF和MMP-9的表达** 标本石蜡包埋行约4  $\mu\text{m}$ 厚切片,具体操作步骤参照SP试剂盒说明书进行。用已知阳性胃癌组织切片作为阳性对照,以PBS缓冲液代替一抗作为阴性对照。

**1.4 免疫组化阳性判断及数据统计** MIF阳性染色标准为细胞质或细胞膜呈棕黄色颗粒为阳性, MMP-9阳性染色标准为细胞质或细胞膜呈棕黄色颗粒为阳性。选择合适部位选取5个高倍视野( $\times 400$ ),每个高倍镜视野计数100个细胞,高倍镜下计数阳性细胞比例,以 $> 20\%$ 为阳性表达。

**1.5 统计学处理** 应用SPSS 13.0软件分析。各组之间比较相关性检验和 $\chi^2$ 检验,并计算Pearson列联系数 $r$ 。

## 2 结果

### 2.1 MIF和MMP-9在胃癌和癌旁组织中的表达

2013-10-21 接收

基金项目:安徽省教育厅自然科学基金项目(编号:KJ2010A181)

作者单位:安徽医科大学第一附属医院<sup>1</sup>普通外科二病区、<sup>2</sup>中心实验室,合肥 230022

作者简介:包泱,男,硕士研究生;

常家聪,男,教授,主任医师,硕士生导师,责任作者, E-mail: changjiacong03@aliyun.com

MIF 和 MMP-9 在胃癌和癌旁组织中均可见阳性表达。MIF 在胃癌组织中的阳性表达率(68.8%) 高于癌旁正常组织的阳性表达率(32.5%) ( $\chi^2 = 21.028, P < 0.01$ ) ,MMP-9 在癌组织中的阳性表达率(67.5%) 高于癌旁正常组织的阳性表达率(37.5%) ( $\chi^2 = 14.436, P < 0.01$ )。见图1、表1。

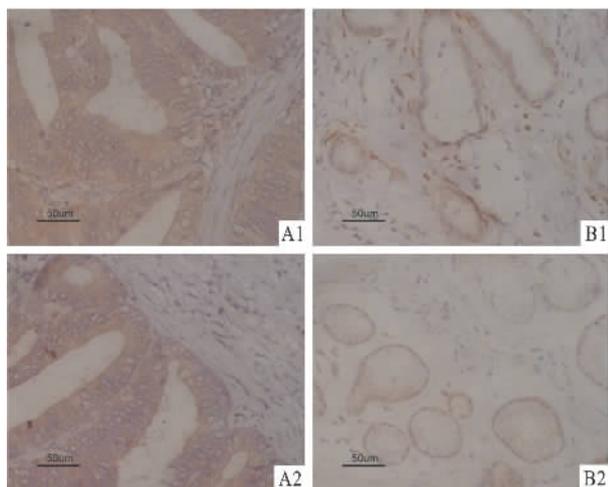


图1 胃癌及癌旁正常组织中 MIF 及 MMP-9 的表达 SP×400  
A: 胃癌组织; B: 癌旁组织; 1: MIF; 2: MMP-9

**2.2 MIF 和 MMP-9 的表达与胃癌临床病理参数间的关系** MIF 阳性表达与肿瘤浸润深度、分化程度、淋巴结转移及 TNM 分期有关 ( $P < 0.05$ ) ,与其他因素无明显相关; MMP-9 阳性表达与肿瘤浸润深度、淋巴结转移及 TNM 分期有关 ( $P < 0.05$ ) ,与其他因素无明显相关性,见表1。

**2.3 MIF 和 MMP-9 的表达关系** 在 80 例胃癌组织中,有 55 例 MIF 阳性表达,其中同时合并 MMP-9 阳性表达的有 43 例;有 25 例 MIF 阴性表达,其中同时合并 MMP-9 阴性表达的有 14 例。MIF 和 MMP-9 的表达存在关联 ( $\chi^2 = 9.154, P < 0.01, r = 0.338$ )。

### 3 讨论

MIF 最初被认为是充当固有性免疫的重要调节因子,现发现 MIF 在其他方面也起作用。研究<sup>[4]</sup>表明 MIF 涉及免疫、炎症、肿瘤和血管等方面疾病的发病。MIF 作为一种独特的促进恶性肿瘤发生的细胞因子在其发展中可能起双重作用,既可通过自分泌途径调节炎细胞的杀瘤活性,又可通过旁分泌途径促进瘤细胞的增殖、分化转移等。MIF 通过抑制 p53 基因直接促进肿瘤的形成,激活丝裂原活化蛋白激酶(MAPKs) 家族成员和促进肿瘤血管生成方

表1 胃癌组织中 MIF 和 MMP-9 的表达与临床病理参数的关系

项目	n	MIF 表达			MMP-9 表达		
		阳性	$\chi^2$ 值	P 值	阳性	$\chi^2$ 值	P 值
组织来源							
胃癌组织	80	55	21.028	<0.01	54	14.436	<0.01
癌旁组织	80	26			30		
性别							
男	52	37	0.400	0.527	38	2.110	0.147
女	28	18			16		
年龄(岁)							
≤60	31	21	0.024	0.877	22	0.277	0.598
>60	49	34			32		
肿瘤大小(cm)							
≤5	53	36	0.050	0.823	37	0.282	0.536
>5	27	19			17		
肿瘤部位							
贲门胃底	41	25	2.366	0.124	28	0.024	0.877
胃体胃窦	39	30			26		
浸润程度							
黏膜及肌层	23	10	9.600	0.002	11	5.696	0.017
浆膜及浆膜外	57	45			43		
分化程度							
中、高分化	48	28	6.061	0.014	30	1.525	0.217
低分化	32	27			24		
淋巴转移							
阴性	33	17	7.766	0.005	19	6.542	0.011
阳性	47	38			35		
TNM 分期							
I + II	42	23	8.052	0.005	22	9.213	0.002
III + IV	38	32			32		

式促进肿瘤的增殖和转移<sup>[5]</sup>,还可以通过提高低氧介导缺氧诱导转录因子1(HIF-1) 稳定性使肿瘤适应低氧环境,利于肿瘤的侵袭与转移<sup>[6-7]</sup>。到目前为止,已发现多种肿瘤细胞株如肺非小细胞癌、膀胱癌、神经母细胞瘤、结肠癌等细胞上有 MIF 表达,提示 MIF 可能与肿瘤细胞分化、增殖有关<sup>[8]</sup>。本研究结果表明,胃癌组织中 MIF 阳性表达明显高于癌旁正常组织,同时结合患者的临床病理资料,MIF 阳性表达与胃癌的临床分期、分化程度、浸润程度及有无淋巴结转移有关,这与 MIF 在其他肿瘤演进中的作用相吻合<sup>[9-10]</sup>。MIF 的表达与胃癌的生物学行为密切相关,胃癌的临床分期越晚分化程度越低,其阳性表达率越高,在伴有淋巴结转移和远处转移的胃癌组织中其阳性表达率高。MIF 的表达在一定程度上反映胃癌细胞的增殖转移情况,在胃癌的发生发展中有重要的促进作用,可作为判断胃癌预后指标之一。

MMP-9 是 MMPs 家族中分子量最大的酶,又称明胶酶 B,主要由结缔组织细胞、内皮细胞、巨噬细胞、粒细胞及肿瘤细胞等合成和分泌<sup>[11]</sup>。其主要作

用是降解细胞外基质 (ECM) 中的 IV 型胶原,使肿瘤突破原发部位正常基底膜,同时降解血管和淋巴管基底膜,使肿瘤细胞直接浸润并进入血管淋巴管,参与肿瘤的侵袭与转移<sup>[12]</sup>。本研究显示 MMP-9 在癌组织和癌旁组织中均有阳性表达,且癌组织中的表达明显高于癌旁组织,这与相关研究<sup>[13-14]</sup> 结果一致,提示 MMP-9 参与胃癌的发生过程。浸出胃浆膜及有淋巴结转移的胃癌患者的癌组织中 MMP-9 显著高于浆膜内癌及无淋巴结转移的胃癌患者,提示其表达与肿瘤的浸润深度、有无淋巴结转移及 TNM 分期有关。MMP-9 与胃癌的易感性、转移和侵袭及患者的预后存在密切关系,进一步研究 MMP-9 的作用机制,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将成为今后研究工作的重点。

相关研究<sup>[15]</sup> 显示,巨噬细胞及成纤维细胞等细胞中 MIF 可能通过激活 MEK-ERK MAP 激酶途径诱导 MMP-9 的产生参与相关炎症性疾病的发展过程, MIF 也可通过促进 MMP-9 与 IL-8 的表达促进早期阶段肿瘤细胞的浸润和转移<sup>[2]</sup>。本研究结果表明 MIF 和 MMP-9 在胃癌组织中呈正相关,与上述研究结果相吻合,二者在胃癌的发生发展过程中有相互协同作用,但二者的这种作用的具体机制尚不完全明确,有待进一步研究。

综上所述, MIF 及 MMP-9 在胃癌中的阳性表达及联合检测可作为评价胃癌的发生发展、恶性程度及转移与否的重要指标,对胃癌的早期诊断治疗及预后等具有重要指导意义。

### 参考文献

- [1] Bloom B R, Bennett B. Mechanism of a reaction *in vitro* associated with delayed-type hypersensitivity [J]. *Science*, 1966, 153 (731): 80-2.
- [2] Li Z, Ren Y, Wu Q C et al. Macrophage migration inhibitory factor enhances neo-plastic cell invasion by inducing the expression of matrix metalloproteinase 9 and interleukin in nasopharyngeal carcinoma cell lines [J]. *Chin Med J (Engl)* 2004, 117(1): 107-14.
- [3] Kleemann R, Hausser A, Geiger G et al. Intracellular action of the cytokine MIF to modulate AP-1 activity and the cell cycle through Jab-1 [J]. *Nature* 2000, 408(6809): 211-6.
- [4] Leaver S K, MacCallum N S, Pingle V et al. Increased plasma thioredoxin levels in patients with sepsis: positive association with macrophage migration inhibitory factor [J]. *Intensive Care Med*, 2010, 36(2): 336-41.
- [5] Michel M, Michael P, Pia Z et al. Macrophage migration inhibitory factor expression in human malignant gliomas contributes to immune escape and tumour progression [J]. *Acta Neuropathol* 2011, 122(3): 353-65.
- [6] Troeger J S, Schwabe R F. Hypoxia and hypoxia-inducible factor 1 alpha: potential links between angiogenesis and fibrogenesis in hepatic stellate cells [J]. *Liver International* 2011, 31(2): 143-5.
- [7] 史冠男, 戴夫, 夏阳等. 低氧诱导对胃癌细胞发生上皮间质转化的影响 [J]. *安徽医科大学学报* 2012, 47(12): 1397-400.
- [8] He X X, Yang J, Ding Y W. Increased epithelial and serum expression of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in gastric cancer: potential role of MIF in gastric carcinogenesis [J]. *GUT*, 2006, 55(6): 797-802.
- [9] 赵劲松, 廖克龙. MIF 在食管鳞癌组织和癌旁组织中的表达 [J]. *第三军医大学学报* 2007, 29(8): 740-2.
- [10] 刘倩, 杨红, 张尚福. MIF 和 CD147 在非小细胞肺癌中的表达及意义 [J]. *四川大学学报(医学版)* 2010, 41(1): 85-90.
- [11] Foda H D, Zucker S. Matrix metalloproteinases in cancer invasion, metastasis and angiogenesis [J]. *Drug Discov Today* 2001, 6(9): 478-82.
- [12] 李艳. MMP-2、MMP-9 与皮肤鳞癌相关性的研究进展 [J]. *徐州医学院学报*, 2007, 27(9): 627-30.
- [13] 李道成, 梁立治, 邓高丕. MMP-9 在上皮性卵巢癌组织中的表达及临床意义 [J]. *实用癌症杂志* 2008, 23(1): 1-2.
- [14] Zhang J F, Zhang Y P, Hao F Y et al. DNA ploidy analysis and expression of MMP-9, TIMP-2, and E-cadherin in gastric carcinoma [J]. *World J Gastroenterol* 2005, 11(36): 5592-600.
- [15] Yu X Y, Lin S G, Xiao R et al. Macrophage migration inhibitory factor induces MMP-9 expression in macrophages via the MEK-ERK MAP kinase pathway [J]. *J Interferon Cytokine Res* 2007, 27(2): 103-9.

## Expression and clinical significance of MIF and MMP-9 in gastric cancer

Bao Yang<sup>1</sup>, Chang Jiacong<sup>1</sup>, Wang Daobin<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>Dept of General Surgery, <sup>2</sup>Dept of Central Laboratory, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

**Abstract Objective** To investigate the expression and clinical significance of migration inhibitory factor (MIF) and matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) in human gastric cancer tissue and corresponding adjacent normal tissue. **Methods** Selected surgery and pathologically confirmed 80 cases of gastric cancer as the experimental group, took

# 低氧血症对血浆氨基末端 B 型利钠肽的影响

张 炯<sup>1</sup>, 黄向阳<sup>2</sup>, 王 苒<sup>1</sup>, 孙耕耘<sup>1</sup>

**摘要** 目的 探讨血浆氨基末端 B 型利钠肽前体(NT-proBNP)与低氧血症之间的关系。方法 回顾性分析 453 例同时行 NT-proBNP、血气分析及超声心动图检查的住院患者临床资料 根据氧合指数分为低氧血症组和无低氧血症组 比较两组患者血浆 NT-proBNP 浓度变化 并分别比较在左心室收缩功能不全、肺动脉高压、左心室收缩功能不全合并肺动脉高压及心功能正常情况下两组血浆 NT-proBNP 浓度的变化。将心功能正常条件下的低氧血症组患者根据氧合指数分为 I (301 ~ 400 mmHg)、II (201 ~ 300 mmHg)、III (≤ 200 mmHg) 3 个亚组 分析低氧程度与血浆 NT-proBNP 浓度的关系。结果 ① 低氧血症组患者血浆 NT-proBNP 浓度高于无低氧血症组 ( $P < 0.01$ )。在左心室收缩功能不全、肺动脉高压、心功能正常 3 种情况下低氧血症组患者 NT-proBNP 浓度均高于无低氧血症组 ( $P < 0.05$ )。② 在心功能正常条件下的低氧血症组中 III 组患者的血浆 NT-proBNP 水平高于 I 和 II 组 ( $P < 0.05$ )。③ 血浆 NT-proBNP 浓度与氧合指数呈负相关; 与 PaCO<sub>2</sub> 不相关。结论 低氧血症可能是血浆 NT-proBNP 浓度升高的一个独立影响因素 并且与缺氧程度呈正相关。

**关键词** 脑利钠肽 N 端前体肽; 低氧血症

中图分类号 R 563.9

文献标志码 A 文章编号 1000 - 1492(2014)03 - 0366 - 04

B 型利钠肽(B-type natriuretic peptide, BNP)是在心室容量负荷和(或)室壁压力增加时,由心肌细胞合成和分泌的一种多肽类激素,临床常用于心力衰竭的诊断、危险分层、预后评价及治疗效果的判断<sup>[1]</sup>。氨基末端 B 型利钠肽前体(N-terminal pro-B-type natriuretic peptide, NT-proBNP)与 BNP 共同来源于 BNP 前体(proBNP)在血液中的分解。与 BNP 相比,NT-proBNP 的半衰期长,在血液中浓度高,并且不受生理节律、标本采集条件的影响和限制,利于临床检测<sup>[2]</sup>,因而 NT-proBNP 作为一项新型指标受到越来越多的关注。同时,BNP 和 NT-proBNP 浓度的升高也见于一些常见肺部疾病如慢性阻塞性肺疾病、肺动脉高压、肺源性心脏病、肺间质性疾病、肺栓塞、急性呼吸窘迫综合征等,但其原因尚不十分明确。该研究旨在分析低氧血症对血浆 NT-proBNP 浓度变化的影响及影响程度。

## 1 材料与方法

**1.1 病例资料** 回顾性分析 2012 年 1 月 ~ 2013 年 6 月入住安徽医科大学附属省立医院患者中同时行血浆 NT-proBNP 浓度检测、血气分析及超声心动

2013 - 12 - 20 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 81300041)

作者单位: <sup>1</sup>安徽医科大学第一附属医院呼吸内科, 合肥 230022

<sup>2</sup>安徽医科大学附属省立医院心脏超声室, 合肥 230001

作者简介: 张 炯, 女, 硕士研究生;

孙耕耘, 男, 教授, 主任医师, 博士生导师, 责任作者, E-mail: sungengyun@tom.com

another 80 cases of corresponding adjacent tissues as a control group. The expressions of MIF and MMP-9 were detected in 80 cases of gastric cancer patients cancer tissue and corresponding adjacent normal tissue by immunohistochemical SP method. **Results** ① The expression of MIF and MMP-9 of gastric cancer in varying degrees: The positive rates of MIF and MMP-9 were 68.8% and 67.5%, which were higher than that in adjacent normal tissues, 32.5% and 37.5% ( $P < 0.05$ ); ② The expression of MIF was significantly associated with the clinical stage, depth of invasion, degree of differentiation, lymph node metastasis and TNM staging ( $P < 0.05$ ), nothing to do with other clinicopathological parameters; the expression of MMP-9 was significantly associated with the depth of invasion, degree of differentiation, lymph node metastasis and TNM staging ( $P < 0.05$ ), nothing to do with other clinicopathological parameters; ③ There was positive correlation between the expression of MIF and MMP-9 in gastric cancer tissue ( $\chi^2 = 9.154, P < 0.01, r = 0.338$ ). **Conclusion** The expressions of MIF and MMP-9 show a positive expression in gastric carcinoma, there maybe have a positive correlation between MIF and MMP-9. Their expressions of varying degrees are closely related with the occurrence and development of gastric cancer, guidance gastric diagnosis, treatment and prognosis.

**Key words** gastric cancer; MIF; MMP-9; immunohistochemistry