



[DOI] 10.3969/j.issn.1001-9057.2023.05.012

http://www.lcnkzz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2023.05.012

· 论著 ·

基质金属蛋白酶-9、CD44 在食管鳞癌组织中的表达及其临床意义

徐梦娇 廖应英 马娟 孙泽群

【摘要】 目的 探讨基质金属蛋白酶(MMP)-9、CD44 在食管鳞癌组织及对应癌旁组织中的表达情况及其临床意义。**方法** 选取 2013 年 1 月~2017 年 12 月于十堰市人民医院行食管癌根治性切除术的完整癌组织及对应癌旁组织各 60 例,采用免疫组化方法检测 CD44、MMP-9 蛋白在食管鳞癌及对应的癌旁组织中的表达水平。根据食管鳞癌组织中 MMP-9 的综合阳性评分结果,将其分为高表达组(A 组,36 例)和低表达/不表达组(B 组,24 例);根据食管鳞癌组织中 CD44 的综合阳性评分结果,再将其分为高表达组(C 组,33 例)和低表达/不表达组(D 组,27 例)。收集所有组织来源患者的临床资料[性别、年龄、肿瘤直径、分化程度、肿瘤 TNM 分期(I 期~IV 期)、淋巴转移及预后情况]并分组进行比较。采用 Spearman 相关性分析评价 MMP-9 与 CD44 表达的相关性,采用单因素 Log-rank 检验对不同 CD44、MMP-9 表达患者进行生存分析。**结果** CD44、MMP-9 在癌组织中阳性率均高于癌旁组织($P < 0.05$)。A 组肿瘤低分化、肿瘤 TNM 分期 III~IV 期及淋巴转移患者比例均高于 B 组($P < 0.05$);C 组肿瘤 TNM 分期 III~IV 期及淋巴转移患者比例均高于 D 组($P < 0.05$)。Spearman 相关分析结果显示,食管鳞癌组织中 MMP-9 与 CD44 的蛋白表达水平呈正相关($P < 0.05$)。Log-rank 检验分析结果显示,CD44、MMP-9 低表达或不表达的食管鳞癌患者 3 年生存率均明显高于 CD44、MMP-9 高表达患者($P < 0.05$)。**结论** CD44、MMP-9 在食管鳞癌中高表达,检测其表达水平可预测食管鳞癌患者病情进展。

【关键词】 食管鳞癌; 基质金属蛋白酶-9; CD44 蛋白; 临床意义

【中图分类号】 R735.1 **【文献标识码】** A

食管癌作为一种侵袭性极强的恶性肿瘤,在全世界的发病率正迅速上升,其发病率在消化系统肿瘤中居于第 3 位,致死率居于第 6 位,通常确诊即为中晚期且预后不良^[1-3],故探究食管癌的分子机制具有重要临床意义。食管癌的演变是一个多基因参与的过程,其中基质金属蛋白酶(MMP)-9 可通过降解细胞外基质(ECM)参与肿瘤侵袭和转移,其过表达和失调也与多种疾病相关^[4-5];CD44 属 I 型跨膜糖蛋白的多功能跨膜分子,不仅在透明质酸(HA)的重塑和降解中起主要作用,也能作为 HA 表面受体,与其结合并激活后会增强细胞信号通路,介导上皮-间充质转化(EMT)^[6],EMT 现已成为参与恶性肿瘤侵袭、细胞迁移和转移的关键调控因子^[7]。在一些实体瘤中 CD44 也被广泛认为是恶性肿瘤预后不良的标志^[8],同时也作为恶性肿

瘤治疗的分子靶点。本文通过研究 MMP-9、CD44 在食管鳞癌组织中的表达及其临床意义,旨在探究食管鳞癌侵袭与转移的重要机制,寻找用于判断预后的有效检测指标,以期对食管癌的早期诊断和个体化治疗提供参考依据。

对象与方法

1. 对象:选取 2013 年 1 月~2017 年 12 月于我院行食管癌根治性切除术(简称根治术)的完整癌组织(癌组织组)及对应癌旁组织(癌旁组织组)各 60 例。组织来源患者纳入标准:(1)食管鳞癌的诊断符合第八版美国癌症联合会(AJCC)分期标准^[9];(2)具备完整的临床病理资料;(3)均行单纯根治术,术后组织病理检查明确诊断为鳞癌。组织来源患者排除标准:(1)术前或术后接受过放疗、化疗等其他抗肿瘤治疗;(2)肿瘤发生远处转移。本研究已通过本院伦理委员会审核批准(2022-001)。

2. 方法:收集组织来源患者的临床资料,包括性

基金项目:湖北省十堰市科技局 2021 年度引导性科研项目(21Y62)

作者单位:442000 湖北十堰,湖北医药学院附属十堰市人民医院消化内科

通讯作者:孙泽群, E-mail: symyy@126.com

别、年龄、肿瘤直径、分化程度、肿瘤 TNM 分期(Ⅰ期 ~ Ⅳ期)、淋巴转移及预后情况。采用免疫组化(SP 法)同时对食管鳞癌组织及对应癌旁组织切片进行染色,显微镜下可观察到细胞膜和细胞质显色,极少见于细胞核,当镜下呈现棕黄色或褐色视为 MMP-9、CD44 阳性。选择两位经验丰富的病理医师采用双盲法在显微镜下阅片判别,每张切片于镜下(×400)随机观察 10 个视野后采用半定量法赋分。定性:取阳性细胞百分比与着色强度值进行综合阳性评分。阳性细胞百分比:阴性为 0 分,≤25% 为 1 分,26% ~ 50% 为 2 分,51% ~ 75% 为 3 分, >75% 为 4 分;着色强度值:无着色为 0 分,淡黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分。综合阳性评分(分) = 着色强度值分值(分) × 阳性细胞百分比分值(分)。判定标准:0 ~ 2 分为不表达,3 ~ 4 分为低表达,≥5 分为高表达。根据食管鳞癌组织中 MMP-9 的综合阳性评分结果,将其分为高表达组(A 组,36 例)和低表达/不表达组(B 组,24 例);根据食管鳞癌组织中 CD44 的综合阳性评分结果,再将其分为高表达组(C 组,33 例)和低表达/不表达组(D 组,27 例)。

3. 统计学处理:采用 SPSS 25.0 软件进行统计分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验;计数资料以例数和百分比表示,组间比较采用 χ^2 检验。采用 Spearman 相关分析评价 MMP-9

与 CD44 表达的相关性,采用单因素 Log-rank 检验进行生存分析。以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1. 癌组织组及癌旁组织组 MMP-9、CD44 免疫组化染色结果及其表达阳性率比较:MMP-9、CD44 在癌组织组中均呈阳性表达(高表达或低表达),在癌旁组织组中均呈阴性表达(未表达),见图 1。癌组织组 MMP-9 及 CD44 的阳性率分别为 68.33% (41/60)、61.67% (37/60),癌旁组织组 MMP-9 及 CD44 的阳性率分别为 11.67% (7/60)、15.0% (9/60);癌组织组 MMP-9 及 CD44 的阳性率均明显高于癌旁组织组(*P* < 0.05)。

2. 食管鳞癌组织不同 MMP-9 及 CD44 表达情况组别患者的临床资料比较:A 组肿瘤低分化、肿瘤 TNM 分期 Ⅲ ~ Ⅳ期及淋巴转移患者比例均高于 B 组(*P* < 0.05);两组患者其余指标比较差异均无统计学意义(*P* > 0.05)。见表 1。C 组肿瘤 TNM 分期 Ⅲ ~ Ⅳ期及淋巴转移患者比例均高于 D 组(*P* < 0.05);两组患者其余指标比较差异均无统计学意义(*P* > 0.05)。见表 2。

3. 不同组别食管鳞癌患者预后情况比较:所有患者均随访 36 个月,随访截至 2020 年 12 月。随访结束,

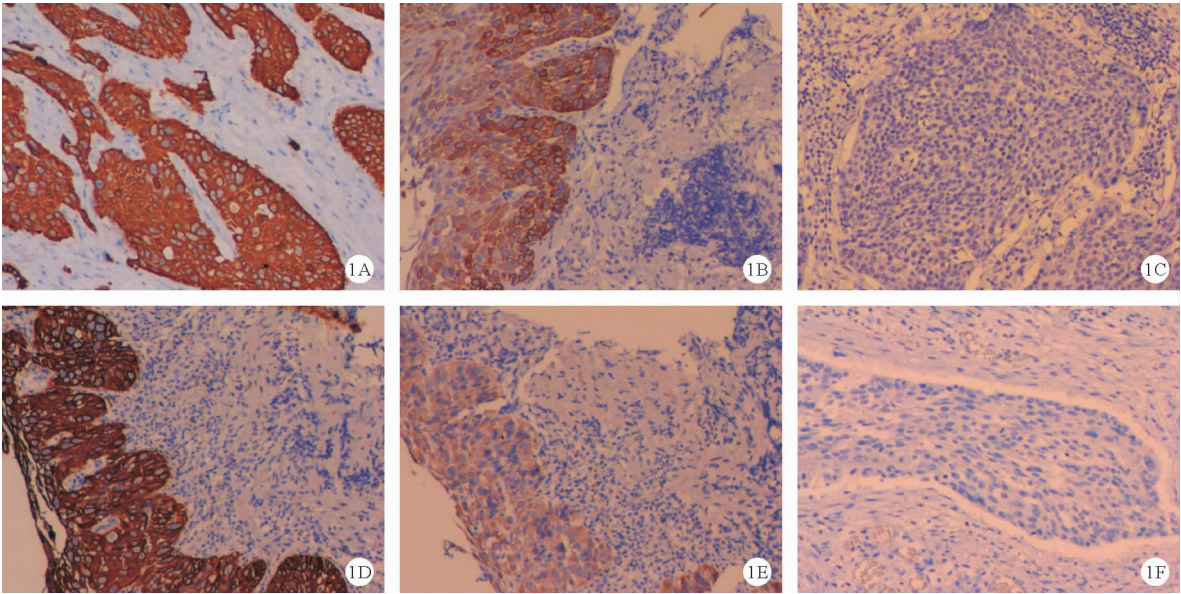


图 1 癌组织组及癌旁组织组 MMP-9 及 CD44 的表达情况(A、B、D、E:癌组织,C、F:癌旁组织; A、B、C:MMP-9 高、低及未表达,D、E、F:CD44 高、低及未表达;SP 法,×400)

表 1 食管鳞癌组织中不同 MMP-9 表达情况组别患者临床资料比较[例,(%)]

组别	例数	性别(男/女)	年龄(岁, $\bar{x} \pm s$)	肿瘤 TNM 分期 Ⅲ ~ Ⅳ期	淋巴转移	肿瘤直径(cm, $\bar{x} \pm s$)	肿瘤低分化
A 组	36	25/11	55.2 ± 7.1	27(75.0)	18(50.0)	2.6 ± 0.5	12(33.3)
B 组	24	17/7	58.8 ± 4.9	5(20.8)	3(12.5)	1.9 ± 0.3	3(12.5)
χ^2/t 值		0.013	0.811	11.315	9.965	0.041	13.605
<i>P</i> 值		0.908	0.368	0.001	0.002	0.840	0.001

表 2 食管鳞癌组织中不同 CD44 表达情况组别患者临床资料比较 [例, (%)]

组别	例数	性别(男/女)	年龄(岁, $\bar{x} \pm s$)	肿瘤 TNM 分期 III ~ IV 期	淋巴转移	肿瘤直径(cm, $\bar{x} \pm s$)	肿瘤低分化
C 组	33	23/10	53.2 $\pm$ 5.0	30(90.9)	17(51.5)	2.4 $\pm$ 0.3	9(27.2)
D 组	27	19/8	59.2 $\pm$ 6.2	2(7.4)	4(14.8)	2.0 $\pm$ 0.2	6(22.2)
χ^2/t 值		0.003	0.032	12.857	5.083	2.318	0.576
<i>P</i> 值		0.955	0.859	<0.001	0.024	0.128	0.750

60 例患者中失访 29 例。MMP-9 阴性患者 3 年生存率高于 MMP-9 阳性患者 [73.86% (14/19) 比 41.46% (17/41), $P < 0.05$], CD44 阴性患者 3 年生存率高于 CD44 阳性患者 [73.91% (17/23) 比 37.84% (14/37), $P < 0.05$]。Log-rank 检验分析结果显示, CD44、MMP-9 低表达或不表达的食管鳞癌患者 3 年生存率均高于 CD44、MMP-9 高表达患者 ($P < 0.05$)。

4. MMP-9 与 CD44 表达的相关性分析: Spearman 相关分析结果显示, 食管鳞癌组织中 MMP-9 与 CD44 表达水平呈正相关 ($r = 0.613$, $P = 0.003$)。

讨 论

作为 MMP 家族 (MMPs) 中最复杂的形式之一, MMP-9 能直接降解 ECM, 在伤口愈合、骨吸收和血管生成过程中很重要。其主要机制是分解 ECM 中的弹性纤维和明胶, ECM 受损利于肿瘤进一步转移, ECM 降解过程与肿瘤的浸润和转移密切相关, 肿瘤转移过程中原癌基因激活会导致转录 MMP-9 蛋白的产生, MMP-9 有助于癌细胞的侵袭^[10]。肿瘤转移各阶段均与 MMPs 活性相关^[11], 过表达 MMPs 可加快肿瘤的转移^[12-13], 导致预后差。Zeng 等^[5]的 Meta 分析结果发现, MMP-9 蛋白在乳腺癌、胃癌、结直肠癌、非小细胞肺癌中均异常表达。既往 Xia 等^[14]的研究显示 MMP-9 能侵犯血管内皮细胞, 从而使肿瘤向血管内浸润, 还能够活化与肿瘤转移相关的信号通路。MMP-9 抑制剂可作为抗肿瘤药物^[11]。Gu 等^[15]的研究报道了 MMP-9 表达与食管鳞癌相关性, MMP-9 在食管鳞癌中作为疾病结局和复发的独立预测因子, 与肿瘤细胞分化、淋巴转移有关, 与本研究结果一致。

CD44 在非小细胞肺癌、肾癌中过表达, 与预后差相关^[16-17]。CD44 对配体的特异性与细胞的迁移和生长有关, HA 作为 CD44 常见的配体, HA 与 CD44 的相互作用受到 E-cadherin 负向调节, CD44 的上调与食管癌中 E-cadherin 的缺失相关, 机制为 CD44 与 HA 结合促进肿瘤细胞的生长和转移, 还能促进肿瘤血管的增殖^[18-19]。CD44 有望成为预测食管癌预后的工具^[20]。

CD44 促进 MMP-9 介导的肿瘤侵袭, 和 MMP-9 蛋白水解形式的相互作用还参与了前列腺癌骨转移的侵袭, CD44 相关的细胞表面 MMP-9 促进细胞介导的 IV

胶原降解。总之, MMP-9 在细胞表面的定位是靠 CD44 提供的细胞表面受体, 这有助于介导肿瘤的侵袭^[4]。在结肠癌的 SW480 细胞株里, 转染 MMP-9 后肿瘤侵袭和转移能力提升, 介导结肠癌中 EMT^[21], 还可通过激活 Wnt 信号通路提高肿瘤干细胞标志物表达, 使癌细胞更易获得干细胞特性。研究发现 CD44 激活可直接提高结肠癌细胞中 MMP-9 水平, 导致细胞侵袭性增加^[22]。本研究中 CD44、MMP-9 之间存在协同关系, 在探究食管癌的机制方面提出了更多的可能, 试验结果也支持其作为生物标志物的进一步研究。本研究 Spearman 相关分析结果显示, CD44、MMP-9 在食管鳞癌组织中过表达且二者呈正相关, 故可作为重要的生物标记物用于食管鳞癌的诊断和预后的预测。然而本研究仅限于 CD44、MMP-9 协同关系方面机制的研究和分析, 食管癌的信号调节机制是一个非常复杂的过程, 由此推测 CD44 可能通过某些信号通路或基因调控 MMP-9 的表达。

参 考 文 献

- [1] DiSiena M, Perelman A, Birk J, et al. Esophageal Cancer: An Updated Review[J]. South Med J, 2021, 114(3): 161-168.
- [2] 杜无双, 焦顺昌. 早期食管鳞癌患者预后因素分析[J]. 中华保健医学杂志, 2021, 23(3): 234-235.
- [3] 皮国良, 李明, 严龙君, 等. 核因子红蛋白 2 相关因子 2、低氧诱导因子-1 α 在食管鳞癌组织中的表达水平、临床意义及相关作用机制探讨[J]. 临床内科杂志, 2022, 39(10): 675-678.
- [4] Yu Q, Stamenkovic I. Localization of matrix metalloproteinase 9 to the cell surface provides a mechanism for CD44-mediated tumor invasion[J]. Genes Dev, 1999, 13(1): 35-48.
- [5] Zeng R, Duan L, Kong Y, et al. Clinicopathological and prognostic role of MMP-9 in esophageal squamous cell carcinoma: a meta-analysis[J]. Chin J Cancer Res, 2013, 25(6): 637-645.
- [6] Okamoto K, Ninomiya I, Ohbatake Y, et al. Expression status of CD44 and CD133 as a prognostic marker in esophageal squamous cell carcinoma treated with neoadjuvant chemotherapy followed by radical esophagectomy[J]. Oncol Rep, 2016, 36(6): 3333-3342.
- [7] Schizas D, Moris D, Kanavidis P, et al. The Prognostic Value of CD44 Expression in Epithelial-Mesenchymal Transition: Preliminary Data from Patients with Gastric and Esophageal Cancer[J]. In Vivo, 2016, 30(6): 939-944.
- [8] Zhao S, He JL, Qiu ZX, et al. Prognostic value of CD44 variant exon 6 expression in non-small cell lung cancer: a meta-analysis[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2014, 15(16): 6761-6766.
- [9] Yuan Y, Chen LQ. Interpretation of update on The AJCC Esophageal Cancer Staging System, Eighth Edition[J]. Zhonghua Wai Ke Za Zhi, 2017, 55(2): 109-113.
- [10] Zhang GJ, Zhao J, Jiang ML, et al. ING5 inhibits cell proliferation and invasion in esophageal squamous cell carcinoma through regulation of the Akt/NF- κ B/MMP-9 signaling pathway[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 496(2): 387-393.
- [11] Winer A, Adams S, Mignatti P. Matrix Metalloproteinase Inhibitors in Cancer Therapy: Turning Past Failures Into Future Successes[J]. Mol Cancer Ther, 2018, 17(6): 1147-1155.
- [12] Fu X, Zeng L, Liu Z, et al. MicroRNA-206 regulates the secretion of in-

flammatory cytokines and MMP9 expression by targeting TIMP3 in Mycobacterium tuberculosis-infected THP-1 human macrophages[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2016, 477(2):167-173.

- [13] Kang L, Hao X, Tang Y, et al. RABEX-5 overexpression in gastric cancer is correlated with elevated MMP-9 level[J]. Am J Transl Res, 2016, 8(5):2365-2374.
- [14] Xia T, Tong S, Fan K, et al. XBP1 induces MMP-9 expression to promote proliferation and invasion in human esophageal squamous cell carcinoma[J]. Am J Cancer Res, 2016, 6(9):2031-2040.
- [15] Gu ZD, Li JY, Li M, et al. Matrix metalloproteinases expression correlates with survival in patients with esophageal squamous cell carcinoma[J]. Am J Gastroenterol, 2005, 100(8):1835-1843.
- [16] Zanjani LS, Madjd Z, Abolhasani M, et al. Increased expression of CD44 is associated with more aggressive behavior in clear cell renal cell carcinoma[J]. Biomark Med, 2018, 12(1):45-61.
- [17] Shinohara S, Hanagiri T, Taira A, et al. Immunohistochemical Expression and Serum Levels of CD44 as Prognostic Indicators in Patients with

Non-Small Cell Lung Cancer[J]. Oncology, 2016, 90(6):327-338.

- [18] 王涛, 宋东, 马牧原, 等. 食管癌组织中 β -catenin、E-cadherin 及 MMP-9 的表达及其临床意义[J]. 现代生物医学进展, 2020, 20(23):4510-4514.
- [19] 刘胜利, 路新伟, 李萍. 非小细胞肺癌组织中 MMP-12 和 E-cadherin 的表达变化及其临床意义[J]. 锦州医科大学学报, 2020, 41(3):102-106.
- [20] 王琪, 梁晓东, 邱静, 等. 食管鳞状细胞癌组织中 B7-H3 和 CD44 的表达及其临床意义[J]. 临床与实验病理学杂志, 2021, 37(8):976-979.
- [21] 蔚帅帅, 马晓娟, 林碧华, 等. 上皮间充质转化促进肿瘤细胞干性获得的研究进展[J]. 生物化学与生物物理进展, 2014, 41(7):632-639.
- [22] Lee YJ, Huh JW, Shin JK, et al. Risk factors for lymph node metastasis in early colon cancer[J]. Int J Colorectal Dis, 2020, 35(8):1607-1613.

(收稿日期:2022-11-06)

(本文编辑:高婷)



[DOI]10.3969/j.issn.1001-9057.2023.05.013

http://www.lcnkzz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2023.05.013

· 病例报告 ·

胰肾联合移植术后感染耶氏肺孢子菌肺炎一例

赵金鑫 王峰 王新 蔡金贞

[关键词] 胰腺移植; 肾移植; 肺孢子菌肺炎; 诊断
[中图分类号] R563.1 [文献标识码] B

患者,男,61岁,因“胰肾联合移植术后4个月,低热、咳嗽、咳黑色痰3日”于2020年8月24日来我科就诊。患者4个月前于我院行胰肾联合移植术,恢复良好,3日前出现间断低热,最高体温37.5℃,伴咳嗽、咳黑色痰,自行口服退烧药无好转,门诊以“胰肾联合移植术后发热”收入院。既往史:糖尿病肾病16年,移植术前规律透析3个月;高血压病史10年,自服硝苯地平、阿托伐他汀治疗,血压控制可;2011、2013年分别行冠状动脉造影及介入治疗,共植入支架4枚,自服阿司匹林抗血小板聚集治疗;2020年4月12日行胰肾联合移植术,围手术期输血;其他无特殊。体格检查:T 36.2℃,HR 85次/分,R 19次/分,Bp 109/74 mmHg,呼吸运动增加,肋间隙无增宽、无变窄,呼吸加深加快,语颤增强,无胸膜摩擦感,无皮下捻发感。叩诊浊音,双肺呼吸可闻及干、湿啰音,语音传导增强,无胸膜摩擦音。腹部稍膨隆,对称,可见胰肾移植术后瘢痕,愈合良好。无腹壁静脉曲张,无胃肠型和蠕动波,腹部柔软,无压痛及反跳痛,未触及异常包块。肝肋下未触及,右侧肋缘下可触及脾脏,质韧,Murphy氏征(-),无移动性浊音。肠鸣音正常,4次/分。未闻及血管杂音。实验室及辅助检查:尿素氮13.67 mmol/L(3.10~8.00 mmol/L,括号内为正常参考值范围,以下相同),血肌酐133.00 μ mol/L(31.00~132.00 μ mol/L),胱抑素C 2.12 mg/L(0.51~1.09 mg/L),尿酸453.00 μ mol/L(89.20~416.00 μ mol/L);WBC计数11.26 $\times 10^9$ /L(3.50~9.50 $\times 10^9$ /L),中性粒细胞计数9.50 $\times 10^9$ /L(1.80~6.30 $\times 10^9$ /L),中性粒细胞百分比84.30%

(40.00%~75.00%),淋巴细胞百分比8.80%(20.00%~50.00%),淋巴细胞计数0.99 $\times 10^9$ /L(1.10~3.20 $\times 10^9$ /L),血红蛋白129.00 g/L(130.00~175.00 g/L),全血C反应蛋白74.80 mg/L(0~5.00 mg/L),RBC及PLT计数均正常;pH值、PaCO₂正常,PaO₂ 59.00 mmHg(83.00~108.00 mmHg),氧饱和度(SaO₂) 91.00%(95.00%~98.00%),红细胞压积(Hct) 56.00%(35.00%~51.00%),实际碱剩余(ABE) 3.40 mmol/L(-3.00~3.00 mmol/L),碳酸氢根离(HCO₃⁻) 27.90 mmol/L(22.00~27.00 mmol/L);降钙素原(PCT) 0.15 ng/ml(<0.05 ng/ml);2020年8月27日痰培养(痰培养+念珠菌培养+鉴定+一般细菌涂片+真菌涂片)结果:肺炎克雷伯菌肺炎亚种。真菌G(D-葡聚糖)试验结果:620.80 pg/ml(<100.50 pg/ml)。胸部CT结果:双肺内多发斑片状磨玻璃、实变密度影,边界模糊;所示气管、主要支气管未见明显异常(图1)。初步诊断:1.肺部感染;2.胰肾移植术后;3.冠状动脉支架植入术后。予亚胺培南、伏立康唑、盐酸缬更昔洛韦经验性抗感染治疗(亚胺培南、伏立康唑、盐酸缬更昔洛韦每次1g、每日3次静脉滴注,伏立康唑每次200mg、每日2次静脉滴注,盐酸缬更昔洛韦每次2片、每日1次口服)。2020年8月26日高通量基因检测结果考虑为肺孢子菌感染。最后确诊为耶氏肺孢子菌肺炎,随即调整用药,开始使用磺胺甲恶唑-甲氧苄啶每次3片、每日3次口服,亚胺培南、伏立康唑、盐酸缬更昔洛韦每次0.5g、每日3次静脉滴注,醋酸卡泊芬净每次50mg、每日1次静脉滴注,盐酸缬更昔洛韦每次2片、每日1次口服,同时予吸氧、适当补液、碱化尿液、监测他克莫司血药浓度等对症治疗。8月27日血气分析结果:pH值、PaCO₂、PaO₂、