

宫颈鳞癌组织中 Ki-67 和 MMP9 蛋白的表达及其与临床病理特征的关系

薛丽¹, 王刚¹, 王常利²

(1. 空军 986 医院检验病理科; 2. 解放军 987 医院检验科, 陕西 西安 710000)

【摘要】目的: 探讨宫颈鳞癌组织中 Ki-67 和 MMP9 蛋白的表达及其与临床病理特征的关系。**方法:** 选取 100 份宫颈鳞癌组织标本和 60 份经病理检查证实为正常宫颈组织的癌旁标本, 采用免疫组织化学法检测 Ki-67 和 MMP9 蛋白表达, 比较二者在宫颈鳞癌组织和癌旁组织中的表达差异性及与临床病理特征的关系, 并分析二者在癌组织中表达水平的相关性。**结果:** Ki-67 定位于细胞核内, 主要表现为黄色或棕褐色颗粒, 在癌组织中呈弱阳性至强阳性表达, 在癌旁组织中不表达。MMP9 定位于胞浆内, 主要表现为棕褐色或褐色颗粒, 在癌组织中呈弱阳性至强阳性表达, 在癌旁组织中不表达。不同 FIGO 分期、浸润深度及有无淋巴结转移的宫颈鳞癌患者组织中 Ki-67、MMP9 表达情况存在明显差异 ($P < 0.05$), 宫颈鳞癌组织中 Ki-67 与 MMP9 的相表达水平呈正相关 ($r = 0.610, P = 0.036$)。**结论:** 宫颈鳞癌组织中 Ki-67 和 MMP9 蛋白表达水平增加, 并与宫颈鳞癌的侵袭转移及恶性程度有关。

【关键词】 宫颈鳞癌; Ki-67; MMP9; 免疫组织化学法; 临床病理特征

【中图分类号】 R737.33 **【文献标志码】** A

Expression of Ki-67 and MMP9 in cervical squamous cell carcinoma and their relationship with clinicopathological features

XUE Li¹, WANG Gang¹, WANG Chang-li²

(1. Department of Pathology, 986 Hospital of Air Force; 2. Department of Laboratory Medicine, 987 Hospital of Chinese PLA, Xi'an 710000, Shaanxi, China)

【Abstract】Objective: To investigate the expression of Ki-67 and MMP9 in cervical squamous cell carcinoma and their relationship with clinicopathological features. **Methods:** 100 specimens of cervical squamous cell carcinoma and 60 specimens of normal cervical tissue confirmed by pathology were collected. The expression of Ki-67 and MMP9 in cervical squamous cell carcinoma and paracancerous tissues was detected by immunohistochemistry. The relationship between the expression of Ki-67 and MMP9 in cervical squamous cell carcinoma and adjacent tissues was compared, and the correlation between the expression levels of Ki-67 and MMP9 was analyzed. **Results:** Ki-67 was localized in the nucleus and mainly expressed as yellow or brown granules. It was weakly positive to strongly positive in cancer tissues, but not in paracancerous tissues. MMP9 was localized in cytoplasm and mainly manifested as brown or brown granules. It was weakly positive to strongly positive in cancer tissues, but not in paracancerous tissues. There were significant differences in the expression of Ki-67 and MMP9 in different FIGO stages, depth of invasion and lymph node metastasis ($P < 0.05$). There was a positive correlation between Ki-67 and MMP9 expression in cervical squamous cell carcinoma ($r = 0.610, P = 0.036$). **Conclusion:** The expression levels of Ki-67 and MMP9 are increased in cervical squamous cell carcinoma, which are related to the invasion, metastasis and malignancy of cervical squamous cell carcinoma.

【Key words】 Cervical squamous cell carcinoma; Ki-67; MMP9; Immunohistochemical method; Clinicopathological features

鳞状细胞癌是宫颈癌最常见的组织学类型^[1]。近年宫颈癌及癌前病变的早期诊断和治疗已得到显著提高, 但浸润、转移和分化不良仍是宫颈癌患者术后复发和死亡的重要原因^[2-3]。Ki-67 是一种与细胞增殖相关的蛋白质, 能反映肿瘤细胞的增殖能力^[4]。MMP9 是 MMP 家族的重要成员之一, 与多种

肿瘤转移密切相关^[5]。本研究拟对宫颈鳞癌组织中 Ki-67 和 MMP9 蛋白的表达进行分析, 并探讨其与患者临床病理特征的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集 2015 年 1 月至 2020 年 6 月在空军 986 医院病理科存档并经两名病理专家确诊的 100 份宫颈鳞癌组织标本和 60 份经病理检查证实为正常宫颈组织的癌旁标本。所有病例均有完整的临床病理资料。根据 FIGO 分期标准, Ib-IIa 期 33 例, IIb 期 46 例, III 期 21 例, 低分化 39 例, 中高分化 61 例, 淋巴结转移 66 例。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学法检测 Ki-67 和 MMP9 蛋白表达 所有组织标本均采用多聚甲醛固定, 石蜡包埋, 切片厚度 $2\ \mu\text{m}$ 。染色步骤如下: 组织切片用梯度二甲苯和乙醇脱蜡脱水, 放入 $100\ ^\circ\text{C}$ 柠檬酸盐缓冲液加热 $20\ \text{min}$, 待抗原冷却至室温后用 3% 过氧化氢封闭 $8\ \text{min}$, 然后按照 SP 组织化学试剂盒(北京中山金桥生物科技有限公司)说明书进行操作, 5% 正常血清室温孵育 $15\ \text{min}$, 弃去血清, 勿洗, 加一抗 $4\ ^\circ\text{C}$ 孵育过夜(Ki-67 稀释比例 $1:100$, MMP9 稀释比例 $1:50$, 抗体购自美国 Cell Signaling Technology 公司), 次日使用磷酸盐缓冲溶液冲洗 3 次, 加入生物素标记的二抗, $37\ ^\circ\text{C}$ 孵育 $60\ \text{min}$, 再经磷酸盐缓冲溶液冲洗 3 次, 分别用二氨基联苯胺和苏木精染色, 最后, 经梯度二甲苯和乙醇水合透明后用树脂封闭切片, 于显微镜下观察染色结果。

1.2.2 免疫组织化学结果评价标准 Ki-67 蛋白阳性表达为肿瘤细胞核内有黄色和棕黄色颗粒, MMP9 蛋白阳性表达为肿瘤胞浆内有黄色和棕黄色颗粒。随机选取每个节段的 3 个高倍视野($\times 400$), 每个视野再选取 100 个 CSCC 细胞。首先根据染色强度评分, 即无色、淡黄色、棕黄色和黑褐色分别用 0 分、1 分、2 分、3 分表示, 再根据阳性细胞百分率评分, 即 0 分、1 分、2 分、3 分、4 分分别代表阴性, 阳性细胞百分率 $\leq 10\%$, $11\% \sim 40\%$, $41\% \sim 75\%$, $\geq 76\%$ 。两项得分之积为最终得分, 即 $0 \sim 1$ 分为阴性(-), $2 \sim 3$ 分为弱阳性(+), $4 \sim 7$ 分为阳性(++), ≥ 8 分为强阳性(+++)^[6]。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 20.00 处理数据。计数资料以 $[n(\%)]$ 表示, 组间比较使用 χ^2 检验或 Fisher 精确检验, Ki-67、MMP9 表达与临床病理特征的关系采用 χ^2 检验分析, Ki-67 和 MMP9 相关性采用非参数 Spearman 秩相关分析法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Ki-67 和 MMP9 在宫颈鳞癌组织及癌旁组织中的表达

Ki-67 定位于细胞核内, 主要表现为黄色或棕褐色颗粒, 在癌组织中呈弱阳性至强阳性表达, 阳性率达 100.0% , 在癌旁组织中不表达; MMP9 定位于胞浆内, 主要表现为棕褐色或褐色颗粒, 在癌组织中呈弱阳性至强阳性表达, 阳性率达 100.0% , 在癌旁组织中不表达。见图 1。

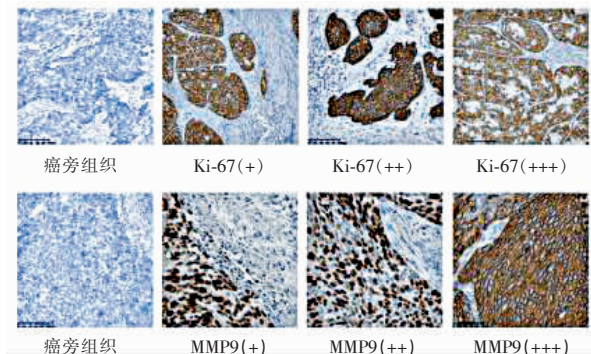


图 1 Ki-67 和 MMP9 在宫颈鳞癌组织及癌旁组织中的表达

2.2 宫颈鳞癌组织中 Ki-67 和 MMP9 的表达与患者临床病理特征的关系

不同 FIGO 分期、浸润深度及有无淋巴结转移的宫颈鳞癌患者组织中 Ki-67、MMP9 表达情况存在明显差异($P < 0.05$), 但不同年龄、组织分级的患者组织中 Ki-67、MMP9 表达情况无明显差异($P > 0.05$)。见表 1 和表 2。

表 1 宫颈鳞癌组织中 Ki-67 的表达与患者临床病理特征的关系 $[n(\%)]$

项目	Ki-67 表达			Z 值	P 值
	+	++	+++		
年龄(岁)				0.786	0.924
≤45(n=53)	19(35.85)	10(18.87)	24(45.28)		
>45(n=47)	17(36.17)	8(17.02)	22(46.81)		
FIGO 分期				10.183	<0.001
Ib-IIa 期(n=33)	26(78.79)	7(21.21)	0(0)		
IIb 期(n=46)	7(15.22)	9(19.57)	30(65.22)		
III 期(n=21)	3(14.29)	2(9.52)	16(76.19)		
组织分级				0.674	0.733
中高分化(n=61)	22(36.07)	6(9.84)	33(54.10)		
低分化(n=39)	14(35.90)	12(30.77)	13(33.33)		
淋巴结转移				8.205	<0.001
有(n=66)	13(19.70)	8(12.12)	45(68.18)		
无(n=34)	23(67.65)	10(29.41)	1(2.94)		
浸润深度				7.632	<0.001
<1/2(n=47)	31(65.96)	14(29.79)	2(4.25)		
≥1/2(n=53)	5(9.43)	4(7.55)	44(83.02)		

表 2 宫颈鳞癌组织中 MMP9 的表达与患者临床病理特征的关系 [n(%)]

项目	MMP9 表达			Z 值	P 值
	+	++	+++		
年龄(岁)				0.537	0.211
≤45 (n=53)	15(28.30)	21(39.62)	17(32.08)		
>45 (n=47)	10(21.28)	16(34.04)	21(44.68)		
FIGO 分期				11.025	<0.001
Ib-IIa 期 (n=33)	12(36.36)	17(51.52)	4(12.12)		
IIb 期 (n=46)	11(23.91)	15(32.61)	20(43.48)		
III 期 (n=21)	2(9.52)	5(23.81)	14(66.67)		
组织分级				7.163	<0.001
低分化 (n=39)	6(15.38)	9(23.08)	24(61.54)		
中高分化 (n=61)	19(31.14)	28(45.90)	14(22.95)		
淋巴结转移				8.104	<0.001
有 (n=66)	6(9.09)	29(43.94)	31(45.45)		
无 (n=34)	19(55.88)	8(23.53)	7(20.59)		
浸润深度				10.527	<0.001
<1/2 (n=47)	17(36.17)	22(46.81)	8(17.02)		
≥1/2 (n=53)	8(15.09)	15(28.30)	30(56.61)		

2.3 宫颈鳞癌组织中 Ki-67 和 MMP9 的关系

宫颈鳞癌组织中 Ki-67 与 MMP9 表达水平呈正相关 ($r=0.610, P=0.036$)。见表 3。

表 3 宫颈鳞癌组织中 Ki-67 和 MMP9 的关系 (例)

	Ki-67 蛋白			R 值	P 值
	+	++	+++		
MMP9 蛋白 (+)	13	8	4		
MMP9 蛋白 (++)	16	9	12	0.610	0.036
MMP9 蛋白 (+++)	7	1	30		

3 讨论

宫颈鳞癌约占宫颈癌患者总数的 80%^[7]。早期宫颈癌患者的生存率高达 90%，但浸润、转移和分化不良仍是宫颈癌患者术后复发和死亡的重要原因^[8-9]，故早期预防和治疗可有效降低宫颈癌的发生率和死亡率。

Ki-67 是一种与细胞增殖有关的核蛋白，其由两条多肽链组成，具有非组蛋白特性，其能准确反映细胞增殖的阶段^[10-11]。Ki-67 被认为是反映细胞增殖活性最可靠的标志物之一^[12]。大量研究^[13-15]表明，Ki-67 在多种妇科恶性肿瘤中高表达，与肿瘤的发生、发展密切相关。本研究结果显示 Ki-67 在宫

颈鳞癌组织中呈弱阳性至强阳性表达，阳性率达 100.0%。同时发现不同 FIGO 分期、浸润深度及有无淋巴结转移的宫颈鳞癌患者组织中 Ki-67 表达情况存在明显差异 ($P<0.05$)，提示 Ki-67 的表达增加与宫颈鳞癌的侵袭转移及恶性程度密切相关。周成美等^[16]研究发现，Ki-67 水平可影响乳腺癌细胞增殖及迁移水平，而宫颈癌患者体内 Ki-6 水平较高可能也与此相关。MMP9 在肿瘤细胞局部浸润与转移中起到重要作用，其可以通过降解细胞外基质中的胶原蛋白，帮助肿瘤细胞穿越基底膜，进而发生浸润和转移^[17-18]。最近有研究^[19]报道，MMP9 还可通过促进血管形成及调控细胞黏附而参与肿瘤细胞的浸润和转移。本研究结果显示，MMP9 定位于胞浆内，在宫颈鳞癌组织中呈弱阳性至强阳性表达，阳性率达 100.0%，而在癌旁组织中不表达，且不同 FIGO 分期、组织分级、浸润深度及有无淋巴结转移的宫颈鳞癌患者组织中 MMP9 表达情况存在明显差异 ($P<0.05$)，提示宫颈鳞癌组织中 MMP9 蛋白表达水平增加与宫颈鳞癌的侵袭转移及恶性程度有关。李勇军等^[20]研究发现，MMP9 与宫颈癌的发展有关，其可促进淋巴结转移，这与本研究结论相一致。

本研究进一步分析了宫颈鳞癌组织中 Ki-67 与 MMP9 的关系，结果发现 Ki-67 与 MMP9 表达水平呈正相关，推测宫颈鳞癌组织中 Ki-67 与 MMP9 表达水平越高，患者的预后可能也越差。

综上所述，宫颈鳞癌组织中 Ki-67 和 MMP9 蛋白表达水平增加，并与宫颈鳞癌的侵袭转移及恶性程度有关。

参考文献

- [1] Baik SH, Seo JW, Kim JH, et al. Prognostic Value of Cervical Nodal Necrosis Observed in Preoperative CT and MRI of Patients With Tongue Squamous Cell Carcinoma and Cervical Node Metastases: A Retrospective Study [J]. AJR Am J Roentgenol, 2019, 213 (2): 437-443.
- [2] 林海蓓, 赵家艺, 蒋重阳. 4 种癌前病变筛查技术对宫颈癌筛查价值的 Meta 分析 [J]. 中国妇幼保健, 2020, 35 (8): 196-200.
- [3] 赵宇倩, 戴毅, 党乐, 等. 适合中国人群的宫颈癌筛查技术和效果评价的真实世界研究 [J]. 中华肿瘤杂志, 2018, 40 (10): 764.
- [4] 夏良兵. 子宫内膜癌组织中的 p53 及 Ki-67 蛋白的表达及与临床病理特征的关系分析 [J]. 中国实验诊断学, 2019, 23 (5): 857-859.
- [5] Klassen LMB, Chequin A, Manica GCM, et al. MMP9 gene expression regulation by intragenic epigenetic modifications in breast cancer [J]. Gene, 2018, 642 (5): 461-466.

(下转第 572 页)