

# CD147、MMP-2 与 MMP-9 在 NHL 中的表达及临床病理意义

申志华<sup>1</sup>, 揭伟<sup>2\*</sup>, 姜汉国<sup>2</sup>, 李飞虹<sup>2</sup>, 蔡琼珍<sup>2</sup>, 陈小毅<sup>2</sup>

Study on the Expression of CD147, MMP-2, MMP-9 and Its Clinicopathology in Non-Hodgkin's Lymphoma

SHEN Zhi-hua<sup>1</sup>, JIE Wei<sup>2\*</sup>, JIANG Han-guo<sup>2</sup>, LI Fei-hong<sup>2</sup>, CAI Qiong-zhen<sup>2</sup>, CHEN Xiao-yi<sup>2</sup>

1. Department of Pathophysiology, Guangdong Medical College, Zhanjiang 524023, China; 2. Department of Pathology (\* Corresponding Author)

**Abstract:** **Objective** To investigate the expression of CD147, MMP-2, MMP-9 and its clinicopathology in non-Hodgkin's lymphoma. **Methods** Immunohistochemical S-P method was used to detect the expression of CD147, MMP-2 and MMP-9 in formalin-fixed, paraffin-embedded 100 non-Hodgkin's lymphomas (NHL) and 10 benign lymph node pathological changes. The relationship between CD147 and MMP-2, MMP-9 expression, together with the relationship between these proteins and biological activity of NHL was further investigated. **Results** The expression of CD147 and MMP-2 were high in NHL group while low in the control group ( $P = 0.018, 0.023$ , respectively). As for MMP-9, the case had no significance. There were correlation between expression of CD147 and MMP-2, MMP-9 ( $P = 0.016, 0.034$ , respectively). And there were no correlation between the expression of three proteins and NHL patient sex, lesions and Ann Arbor stages. Only CD147 expression in B-cell lymphoma and T-cell lymphoma, MMP-2 expression in T-cell lymphoma had signification versus to the control group ( $P = 0.045, 0.015$  and  $0.001$ , respectively). **Conclusion** Overexpression of CD147 in NHL induces the expression of MMP-2 and MMP-9, especially, the expression of MMP-2, affecting the biological progression of NHL with the whole clinical stages.

**Key words:** non-Hodgkin's lymphoma; CD147; Matrix metalloproteinase-2; Matrix metalloproteinase-9

**摘要:** **目的** 探讨 CD147 和其下游基因 MMP-2、MMP-9 在非霍奇金淋巴瘤(NHL)中的表达及临床病理意义。**方法** 应用免疫组化 S-P 法检测石蜡包埋 100 例 NHL 和 10 例淋巴结良性病变组织中 CD147、MMP-2 和 MMP-9 的表达情况,分析两者之间的相互关系及其与 NHL 生物学行为的相关性。**结果** NHL 中 CD147、MMP-2 的表达均显著高于对照组( $P = 0.018, 0.023$ ),而 MMP-9 的表达差异无统计学意义。CD147 与 MMP-2 和 MMP-9 间均存在正相关关系( $P = 0.016, 0.034$ ),但三种抗原表达与 NHL 患者性别、发病部位、临床分期间均无统计学相关性;仅 BCL 中 CD147、TCL 中 CD147、MMP-2 的表达与对照组比较差异有统计学意义( $P = 0.045, 0.015, 0.001$ )。**结论** NHL 高表达 CD147 并通过诱导 MMP-2 和 MMP-9,尤以 MMP-2 的明显表达从而影响其生物学行为,这种影响贯穿 NHL 的整个临床进展过程。

**关键词:** 非霍奇金淋巴瘤; CD147; 基质金属蛋白酶-2; 基质金属蛋白酶-9

中图分类号: R730.2 文献标识码: A 文章编号: 1000-8578(2005)07-0420-03

## 0 引言

肿瘤间质中的纤维母细胞能分泌多种基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMP)在肿瘤细胞的生长、存活、侵袭、血管新生和转移中起重要作用。有关肿瘤组织合成 MMPs 的机制尚不清楚。最近研究发现, CD147(人体内的

CD147 又称为细胞外基质金属蛋白酶诱导者(extracellular matrix metalloproteinase inducer, EMMPRIN),可以诱导肿瘤细胞周围的纤维母细胞产生多种 MMP,从而影响肿瘤的生物学行为和临床进展过程<sup>[1-3]</sup>。本文检测非霍奇金淋巴瘤(NHL)组织中 CD147, MMPs 家族主要成员 MMP-2, MMP-9 的蛋白表达情况,来探讨 NHL 中 CD147 与 MMP-2、MMP-9 的相关性及与 NHL 的生物学与临床意义。

收稿日期: 2004-08-24; 修回日期: 2004-12-30

基金项目: 广东医学院青年基金资助项目(XQ0303)

作者单位: 1. 524023 湛江, 广东医学院病理生理教研室, 2. 病理教研室(\*通讯作者)

1 材料与方法

1.1 标本与试剂来源

随机选取 100 例资料较全的来自广东医学院附属医院病理科 1997 年 3 月~2003 年 4 月间存档的石蜡包埋 NHL 标本。其中男 71 例,女 29 例,男女=2.4 1;最大年龄 83 岁,最小年龄 3 岁,中位年龄 43.8 岁;结内 51 例,结外 49 例。组织学类型包括 B 细胞性淋巴瘤 (BCL) 58 例, T 细胞性淋巴瘤 (TCL) 32 例和 NK/ T 细胞性淋巴瘤 (NK/ T) 10 例。按照 Costwolds 修改的 Ann Arbor 临床分期方案,分为 期 26 例, 期 38 例, 期 19 例, 期 17 例。100 例 NHL 中,仅 3 例为标准化疗后复发,余病例就诊时均未经过治疗。另取同一时期的淋巴组织反应性增生 6 例和慢性淋巴结炎 4 例共 10 例淋巴结的良性病变作为对照组。

免疫组化选用的一抗包括单克隆鼠抗人 LCA , CD20 , CD79a , CD45RO , CD3 , CD56 , MMP-2 (Mab903) , MMP-9 (Mab911) 和多克隆兔抗人 CD147 (EMMPRIN) 。CD147 工作浓度 1 80 ,其余抗体工作浓度均为 1 100。免疫组化 S-P 试剂盒为 S-P 9000 ,采用 DAB 显色系统。以上试剂均为 Santa Cruz 公司产品。

1.2 方法

1.2.1 病例复习 全部标本经 10 %福尔马林固定,石蜡包埋,4 ~ 5μm 厚连续切片,常规 HE 染色,所有病例均根据 HE 特点并结合免疫组化结果来重新诊断。

1.2.2 免疫组织化学染色 免疫组化按 S-P 试剂盒说明书进行操作。所有切片均行高温高压热抗原修复。分别以已知 CD147 阳性的皮肤鳞状细胞癌和 MMP-2 ,MMP-9 阳性的胃腺癌作为阳性对照,以 PBS 代替一抗作为空白对照。CD147、MMP-2 和 MMP-9 均定位于细胞浆和细胞膜,抗原和抗体结合并经 DAB 显色后,抗原表达部位出现棕黄色颗粒为阳性细胞。阳性细胞 > 10 %定为阳性表达。

1.3 统计学处理 数据应用 SPSS 10.0 软件分析,统计学处理采用 <sup>2</sup> ,Fisher 确切概率法检验和 Spearman 等级相关分析。

2 结果

2.1 CD147 ,MMP-2 和 MMP-9 在 NHL 及对照组织中的表达

三种蛋白在 NHL 和对照组织中有不同程度的表达(见表 1)。组织类型上,侵袭性强的 TCL 中三种蛋白表达阳性率均强于侵袭弱的 BCL 组。在表达方式上,NHL 中 CD147 阳性细胞多呈弥漫性分

布,少数呈散在性分布,阳性信号位于肿瘤细胞的胞膜上或胞质中(见图 1、2),对照组中仅淋巴组织反应性增生者的中心母细胞散在性表达;NHL 中 MMP-2 ,MMP-9 不仅表达于肿瘤细胞,还表达于间质的纤维母细胞,巨噬细胞和新生血管内皮细胞(见图 3、4),对照组中 MMP-2 ,MMP-9 主要表达于组织中的纤维母细胞、巨噬细胞和血管内皮细胞上。

表 1 CD147,MMP-2 和 MMP-9 在 NHL 及对照组织中的表达

| 项目    | 例数  | 阳性表达例数   | 阳性率( %)        | <i>P</i>            |
|-------|-----|----------|----------------|---------------------|
| 组织类型  |     |          |                |                     |
| 对照组   | 10  | 3/3/2    | 30.0/30.0/20.0 | 0.018/0.023/0.585   |
| NHL   | 100 | 72/71/34 | 72.0/71.0/34.0 |                     |
| BCL   | 58  | 40/37/17 | 69.0/63.8/29.3 | 0.045/0.097/0.822 * |
| TCL   | 32  | 25/28/14 | 78.1/87.5/43.8 | 0.015/0.001/0.329 * |
| NK/ T | 10  | 7/6/3    | 70.0/60.0/30.0 | 0.179/0.370/1.000 * |
| 性 别   |     |          |                |                     |
| 男性    | 71  | 50/49/27 | 70.4/69.0/38.0 | 0.583/0.493/0.183   |
| 女性    | 29  | 22/22/7  | 75.9/75.9/24.1 |                     |
| 发病部位  |     |          |                |                     |
| 结内    | 51  | 33/34/18 | 64.7/66.7/35.3 | 0.097/0.330/0.780   |
| 结外    | 49  | 39/37/16 | 79.6/75.5/32.7 |                     |
| 分 期   |     |          |                |                     |
|       | 26  | 19/17/10 | 73.1/65.4/38.5 | 0.734/0.431/0.776   |
|       | 38  | 26/25/11 | 68.4/65.8/28.9 |                     |
|       | 19  | 13/16/6  | 68.4/84.2/31.6 |                     |
|       | 17  | 14/13/7  | 82.4/76.5/41.2 |                     |
| +     | 64  | 45/42/21 | 70.3/65.6/32.8 |                     |
| +     | 36  | 27/29/13 | 75.0/80.6/36.1 | 0.616/0.114/0.734   |

注:表中数据依次代表 CD147、MMP-2、MMP-9 的例数和结果,\*与对照组比较

2.2 NHL 中 CD147 表达与 MMP-2 ,MMP-9 表达的相关性分析

对 CD147 和 MMP-2、MMP-9 在 NHL 中表达情况采用 Spearman 相关分析,CD147 和 MMP-2 相关系数  $r_s = 0.240$  , $P = 0.016$  ,CD147 和 MMP-9 相关系数  $r_s = 0.213$  , $P = 0.034$ 。表明 NHL 中 CD147 和 MMP-2、MMP-9 的表达之间均存在相关性。

3 讨论

CD147 因其能诱导肿瘤组织中的纤维母细胞分泌多种基质金属蛋白酶(MMPs)而参与恶性肿瘤的浸润、转移受到人们的重视<sup>[2-5]</sup>。MMPs 是一个含锌离子的肽链内切酶家族,MMP-2 和 MMP-9 是主要成员,它们能分解基底膜中的纤维连接蛋白和层黏连蛋白,降解细胞外基质(ECM)。近年来的研究表明 MMP-2 或 MMP-9 的高表达与多种肿瘤的生物行为改变和临床进展有关。

本研究发现,NHL 中 CD147、MMP-2 蛋白的表达阳性率明显高于对照组织,而 MMP-9 表达却无统计学意义。进一步分析发现,上述两种蛋白与 NHL 发病部位、性别和临床分期相关性均不明显。对 NHL 中 CD147、MMP-2 和 MMP-9 表达相关性分析发现,CD147 与 MMP-2 和 MMP-9 之间均存在一定的正相关关系。在 NHL 组织学类型上,本组 NHL 中侵袭性强的 TCL 较侵袭性弱的 BCL 而言其 CD147 和 MMP-2 表达率更高。从阳性细胞分布情况看,NHL 中 CD147 阳性表达肿瘤细胞呈散在性或弥漫性分布,对照组织中仅有反应性增生的部分淋巴细胞散在性分布。整体上,NHL 中 CD147 表达强度要强于对照组。MMP-2 和 MMP-9 的阳性细胞分布在 NHL 中主要为肿瘤细胞、血管内皮细胞、纤维母细胞和巨噬细胞,而对照组织中多表达在血管内皮细胞和巨噬细胞。综合上述结果我们可以看出,在 NHL 中 CD147 的表达可能诱导 MMP-2、MMP-9,特别是 MMP-2 的表达来影响肿瘤的生物行为,这种影响伴随 NHL 临床进展全过程,在某些侵袭性强的 NHL 类型中上述作用更为明显。

本组 NHL 类型之一 NK/T 中的三种蛋白表达率与对照组比较,差异均无统计学意义。这可能是由于本组 NK/T 例数较少的原因。同时鉴于 NHL 的类型如 BCL 和 TCL 还包含了诸多的组织学亚型,是否 CD147、MMP-2 系统的表达与 NHL 的某

些组织学类型中的亚型关系更为密切,将有待于进一步研究。

(感谢:病理教研室胡新荣教授对本文撰写予以了指导,谨此感谢!)

(本文图见第 455 页)

#### 参考文献:

- [1] Ellis SM, Nabeshima K, Biswas C. Monoclonal antibody preparation and purification of a tumor cell collagenase stimulatory factor[J]. Cancer Res, 1989, 49(12): 3385-3391.
- [2] Kanekura T, Chen X, Kanekura T. Basigin (CD147) is expressed on melanoma cells and induces tumor cell invasion by stimulating production of matrix metalloproteinase by fibroblasts[J]. Int J Cancer, 2002, 99(4): 520-528.
- [3] Dalberg K, Eriksson E, Eaberg U, et al. Gelatinase A, membrane type 1 matrix metalloproteinase, and extracellular matrix metalloproteinase inducer mRNA expression: correlation with invasive growth of breast cancer[J]. World J Surg, 2000, 24(3): 334-340.
- [4] Thrans C, Feller AC, Merz H. EMMPRIN (CD147) is expressed in Hodgkin's lymphoma anaplastic large cell lymphoma. An immunohistochemical study of 60 cases[J]. Anticancer Res, 2002, 22(4): 1983-1986.
- [5] Zucker S, Hymowitz M, Rollo EE, et al. Tumorigenic potential of extracellular matrix metalloproteinase inducer[J]. Am J Pathol, 2001, 158(6): 1921-1928.
- [6] Maatta M, Soini Y, Liakka A, et al. Differential expression of matrix metalloproteinase MMP-2, MMP-9, and membrane type 1-MMP in human hepatocellular and pancreatic adenocarcinomas: implication for tumor progression and clinical prognosis[J]. Clin Cancer Res, 2000, 6(7): 2726-2734.

[编辑:周永红;校对:安凤]

MDR 逆转因子筛选技术 P-gp 细胞系的建立及其生物学特性评价

(正文见 389 页)

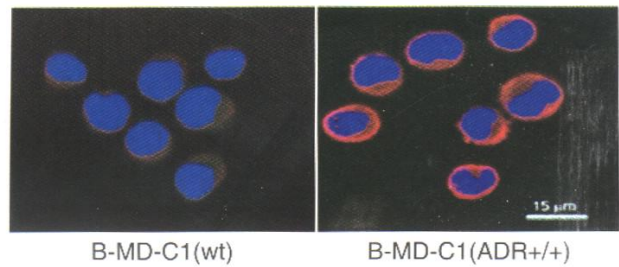


图3 B-MD-C1 细胞 P-gp 表达的免疫组化分析

窦组织细胞增生伴巨大淋巴结病 2 例及文献复习

(正文见 453 页)

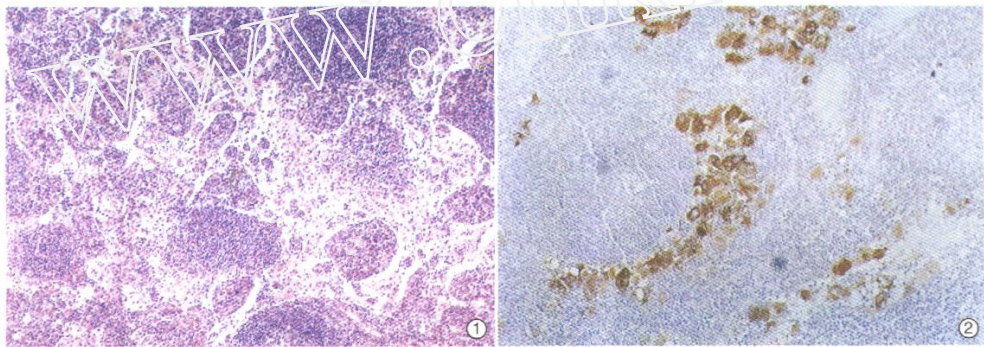


图1 淋巴窦明显扩张, 淋巴结实质萎缩, 窦内组织细胞吞噬大量淋巴细胞 (HE × 100)

图2 窦内组织细胞 S-100 阳性 (SP × 100)

CD147、MMP-2 与 MMP-9 在 NHL 中的表达及临床病理意义

(正文见 420 页)

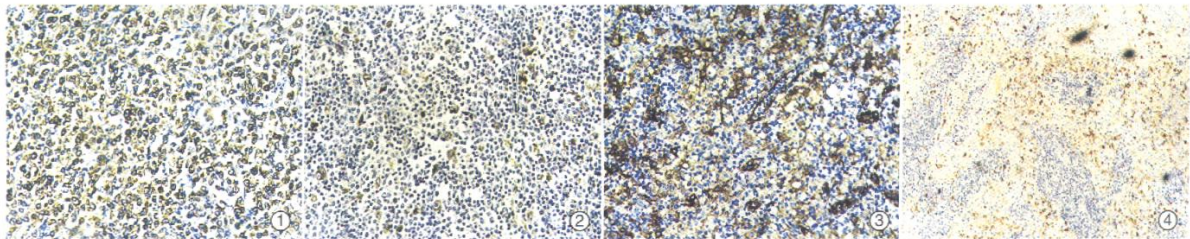


图1 NHL 中 CD147 弥漫性阳性 (SP × 200)

图2 NHL 中 CD147 散在性阳性 (SP × 200)

图3 NHL 中 MMP-2 弥漫性阳性 (SP × 200)

图4 NHL 中 MMP-9 弥漫性阳性 (SP × 200)