

· 论著 ·

胆管癌组织中HMGB1和MMP-9的表达情况及与临床病理特征、预后的关系*

尹治清* 陆 晓

安阳市肿瘤医院介入科 (河南 安阳 433000)

【摘要】目的 探讨胆管癌组织中高迁移率族蛋白1(HMGB1)和金属基质蛋白酶-9(MMP-9)的表达情况及与临床病理特征、预后的关系。**方法** 选取75例胆管癌患者,采集所有患者术中切除病理组织标本75例,另采集正常癌旁组织进行对照。免疫组化染色观察各组织标本中HMGB1和MMP-9蛋白表达情况,分析胆管癌组织中HMGB1、MMP-9与临床病理特征、预后的关系。**结果** 胆管癌组织中HMGB1、MMP-9蛋白阳性表达率分别为64.00%、72.00%,显著高于癌旁正常组织17.33%、13.33%($P<0.05$)。肝癌组织中HMGB1、MMP-9蛋白阳性表达呈正相关($P<0.05$)。有门静脉浸润、淋巴结转移及低分化程度的患者HMGB1、MMP-9蛋白阳性表达率高于无门静脉浸润、无淋巴结转移及中高分化程度的患者($P<0.05$)。与HMGB1阴性表达比较,阳性表达患者生存率均显著降低($P<0.05$)。与MMP-9阴性表达比较,阳性表达患者生存率均显著降低($P<0.05$)。**结论** 原发性胆管癌组织中存在HMGB1和MMP-9异常高表达,与患者不良预后有关,在疾病的发生及进展过程中起协同作用。

【关键词】 胆管癌; 高迁移率族蛋白1; 金属基质蛋白酶-9; 表达; 病理

【中图分类号】 R735.8

【文献标识码】 A

【基金项目】 河南省医学科技攻关计划项目 (LHGJ20191290)

DOI:10.3969/j.issn.1009-3257.2022.07.023

Expression of HMGB1 and MMP-9 in Cholangiocarcinoma and their Relationship with Clinicopathological Features and Prognosis*

YIN Zhi-qing*, LU Xiao.

Department of Interventional, Anyang Cancer Hospital, Anyang 433000, Henan Province, China

Abstract: Objective To investigate the expression of high mobility group box 1 (HMGB1) and metalloproteinase-9 (MMP-9) in cholangiocarcinoma tissues and their relationship with clinicopathological features and prognosis. **Methods** A total of 75 patients with cholangiocarcinoma were selected, and 75 cases of intraoperative pathological tissue samples were collected from all patients, and normal adjacent tissues were collected for control. Immunohistochemical staining was used to observe the protein expression of HMGB1 and MMP-9 in each tissue specimen, and the relationship between HMGB1 and MMP-9 in cholangiocarcinoma tissue with clinicopathological characteristics and prognosis was analyzed. **Results** The positive expression rates of HMGB1 and MMP-9 proteins in cholangiocarcinoma tissues were 64.00% and 72.00%, which were higher than adjacent normal tissues 17.33% and 13.33% ($P<0.05$). The positive expressions of HMGB1 and MMP-9 proteins in cholangiocarcinoma tissues were positively correlated ($P<0.05$). The positive expression rate of HMGB1 and MMP-9 protein in patients with portal vein infiltration, lymph node metastasis and poorly differentiated degree was higher than that in patients without portal vein infiltration, lymph node metastasis and moderately high degree of differentiation ($P<0.05$). Compared with patients with negative expression of HMGB1, the survival rate of patients with positive expression of HMGB1 was significantly lower ($P<0.05$). Compared with patients with negative expression of MMP-9, the survival rate of patients with positive expression of HMGB1 was significantly lower ($P<0.05$). **Conclusion** The abnormally high expression of HMGB1 and MMP-9 in primary cholangiocarcinoma is associated with poor prognosis of patients, and plays a synergistic role in the occurrence and progression of the disease.

Keywords: Cholangiocarcinoma; High Mobility Group Box 1; Metalloproteinase-9; Expression; Pathology

胆管癌是发生于左、右肝管至胆总管下端的恶性肿瘤,近年来发病率有所升高。目前临床对胆管癌的早期治疗仍以手术为首选治疗方案,但患者早期确诊率低,行根治性切除治疗的切除率也较低,大部分患者术后仍然出现复发及转移,预后不佳^[1-2]。浸润、转移、侵袭是恶性肿瘤的生物学表现^[3],近年来研究发现,高迁移率族蛋白1(HMGB1)与恶性肿瘤的发生及进展密切相关,在胃癌^[4]、非小细胞肺癌^[5]等多种恶性肿瘤中高表达。金属基质蛋白酶-9(MMP-9)与肿瘤细胞的侵袭、转移密切相关,可通过破坏细胞外基质,促进癌细胞突破组织学屏障^[6-7]。本研究检测并比较胆管癌组织中HMGB1和MMP-9的表达情况,并分析其临床意义,为患者的临床治疗及预后评估提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 标本来源 选取2015年6月至2018年9月于安阳市肿瘤医院治疗的75例胆管癌患者,采集所有患者术中切除病理组织标本75例,另采集距肿瘤组织至少6cm处的正常癌旁组织。

纳入标准: 均经病理学诊断确诊;行根治术治疗;手术情况及随访记录清晰;由同组医师完成手术;预计生存期1年以上;临床资料完整。排除标准:术前接受过任何抗肿瘤治疗;合并其他系统肿瘤;合并严重器官功能障碍者等。

1.2 研究方法

1.2.1 主要试剂及仪器 鼠抗人HMGB1、MMP-9多克隆抗体:英国Abcam公司。免疫组化试剂盒:北京中杉生物技术有限公司。

【第一作者】尹治清,男,主治医师,主要研究方向:肿瘤介入治疗。E-mail: hntyyzq@sina.com

【通讯作者】尹治清

司。CKX41-A32RC型倒置显微镜：日本Olympus公司等。

1.2.2 免疫组化方法 将切取的组织标本制备石蜡组织切片，并按照免疫组化的实验方法进行脱蜡，水化，过氧化氢封闭内源性过氧化物酶处理后，滴加鼠抗人HMGB1、MMP-9多克隆抗体，最后经苏木精复染封片后，于倒置显微镜下观察胆管癌组织及癌旁正常组织中HMGB1、MMP-9蛋白表达情况。

1.2.3 免疫组化判定标准 HMGB1、MMP-9蛋白阳性着色以细胞核或细胞质中出现棕黄色或棕褐色为准，以半定量积分法判定阳性细胞百分比评分(共4分)和染色强度评分(共3分)。染色总评分=阳性细胞数评分×阳性染色强度评分。阴性：染色总评分为0~4分；阳性：染色总评分≥4分^[8]。

1.2.4 随访 随访截止日期为2021年9月31日，以术后死亡作为终点事件，分析患者术后总体生存情况。

1.3 统计学方法 采用SPSS 23.0进行数据分析，HMGB1、MMP-9蛋白阳性表达率均以(%)表示，采用 χ^2 检验；以 $P<0.05$ 为差异显著，有统计学意义。

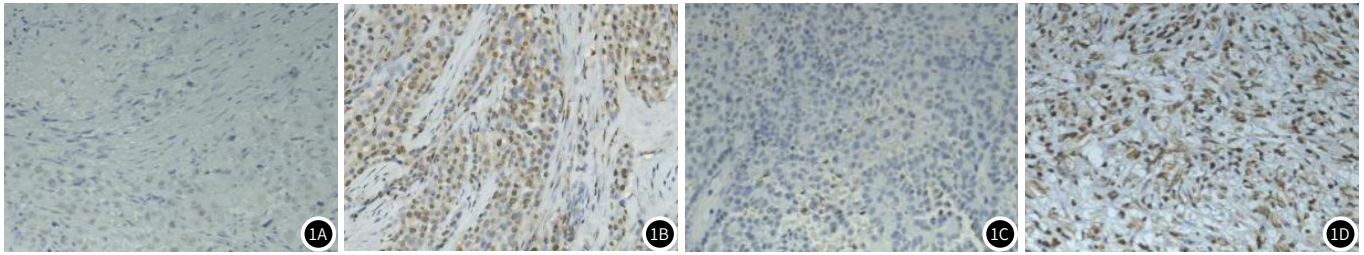


图1 免疫组化染色观察胆管癌组织及癌旁正常组织HMGB1、MMP-9蛋白表达(×200)。图1A: HMGB1蛋白阴性表达; 图1B: HMGB1蛋白阳性表达; 图1C: MMP-9蛋白阴性表达; 图1D: MMP-9蛋白阳性表达。

表1 胆管癌组织及癌旁正常组织中HMGB1、MMP-9蛋白阳性表达率比较[n(%)]

组别	HMGB1蛋白		MMP-9蛋白	
	阳性	阴性	阳性	阴性
胆管癌组织(n=75)	48(64.00)	27(36.00)	54(72.00)	21(28.00)
癌旁正常组织(n=75)	13(17.33)	62(82.67)	10(13.33)	65(86.67)
χ^2	33.846		52.762	
P	0.000		0.000	

2.3 胆管癌组织中HMGB1、MMP-9蛋白表达与临床病理特征的关系 胆管癌组织中HMGB1、MMP-9蛋白表达与临床病理特征的关系分析可见，有门静脉浸润、淋巴结转移及低分化程度的患者HMGB1、MMP-9蛋白阳性表达率高于无门静脉浸润、无淋巴结转移及中高分化程度的患者($P<0.05$)，胆管癌组织中HMGB1、MMP-9蛋白表达与患者的性别、年龄、肿瘤直径无明显相关性($P>0.05$)，见表3。

2.4 胆管癌组织中HMGB1、MMP-9蛋白表达与患者预后 随访结束后，经统计，死亡36例，存活39例，生存率为52.00%，与HMGB1阴性表达患者(74.07%)比较，HMGB1阳性表达患者生存率(39.58%)均显著降低($P<0.05$)。与MMP-9阴性表达(76.19%)患者比较，HMGB1阳性表达患者生存率(42.59%)均显著降低($P<0.05$)。

2 结果

2.1 胆管癌组织及癌旁正常组织HMGB1、MMP-9蛋白表达情况比较 HMGB1阳性表达主要分布于细胞核，MMP-9蛋白阳性表达主要分布于癌细胞胞浆和部分组织间质内，阳性着色呈现棕黄色或棕褐色，见图1。胆管癌组织中HMGB1、MMP-9蛋白阳性表达率分别为64.00%、72.00%，显著高于癌旁正常组织17.33%、13.33%($P<0.05$)，见表1。

2.2 胆管癌组织中HMGB1、MMP-9蛋白表达相关性分析 胆管癌组织中HMGB1、MMP-9蛋白表达双阳性的有42例，占比56.00%，双阴性的有15例，占比20.00%，HMGB1(+)MMP-9(-)有6例，占比8.00%，HMGB1(-)MMP-9(+)有12例，占比16.00%，肝癌组织中HMGB1、MMP-9蛋白阳性表达呈显著正相关($r=0.569$, $P=0.002$)，见表2。

表2 胆管癌组织中HMGB1、MMP-9蛋白表达相关性分析[n(%)]

HMGB1蛋白	MMP-9蛋白		合计
	阳性	阴性	
阳性	42(56.00)	6(8.00)	48(64.00)
阴性	12(16.00)	15(20.00)	27(36.00)
合计	54(72.00)	21(28.00)	75(100.00)

3 讨论

深入研究胆管癌发生恶性侵袭、转移的机制，可从分子水平上寻找到评估的标记基因，对疾病的基因和分子靶向治疗等提供新的策略和思路，对制定有效的肿瘤防治方案、延长生存期、降低复发率均具有临床意义^[9-10]。

侵袭及转移是促进恶性肿瘤病情进展，影响患者预后的主要因素。HMGB1可通过与其受体结合，通过促进细胞增殖分化、促进炎症反应等生物学效应，促进肿瘤形成，并加速恶性进展。HMGB1在多种恶性肿瘤细胞中过表达可以引起一些基因的表达失调，导致细胞肿瘤表型的改变，使获得肿瘤表型的细胞免疫凋亡，使肿瘤细胞无限制增殖，还可以促进周围小血管的生成，使肿瘤不断向周围浸润^[11-12]。肿瘤转移的主要屏障是细胞外基质，其基本骨架成分为IV型胶原，而MMP-9是主要降解IV型胶原的基质蛋白水解酶。MMP-9可破坏基质降解平衡，使癌细胞穿越组织学屏障，侵袭其邻近周围组织，并向远处正常组织转移，在多种恶性肿瘤组织中高表达^[13-14]。

表3 胆管癌组织中HMGB1、MMP-9蛋白表达与临床病理特征的关系[n(%)]

病理参数		HMGB1蛋白阳性(n=48)	χ^2	P	MMP-9蛋白阳性(n=54)	χ^2	P
性别	男(n=43)	25(52.08)	1.502	0.220	30(55.56)	0.249	0.618
	女(n=32)	23(47.92)			24(44.44)		
年龄	≤50岁(n=25)	15(31.25)	0.260	0.610	16(29.63)	1.190	0.275
	>50岁(n=50)	33(68.75)			38(70.37)		
肿瘤直径	≤2 cm(n=46)	30(62.50)	0.077	0.782	36(66.67)	2.313	0.128
	>2 cm(n=29)	18(37.50)			18(33.33)		
门静脉浸润	无(n=44)	29(60.42)	4.442	0.035	40(74.07)	5.942	0.015
	有(n=21)	19(39.58)			14(25.93)		
淋巴结转移	无(n=42)	20(41.67)	11.117	0.001	24(44.44)	10.451	0.001
	有(n=33)	28(58.33)			30(55.56)		
分化程度	高度(n=38)	17(35.42)	12.484	0.001	21(38.89)	10.994	0.004
	中度(n=21)	18(37.50)			18(33.33)		
	低度(n=16)	13(27.08)			15(27.78)		

本研究中,免疫组化结果显示,胆管癌组织中HMGB1、MMP-9蛋白阳性表达率分别为64.00%、72.00%,显著高于癌旁正常组织17.33%、13.33%。癌细胞的恶性生物学行为与肿瘤患者的临床病理参数、预后等之间的关系逐渐受到临床的广泛关注,本研究进一步Spearman秩相关检验结果显示,肝癌组织中HMGB1、MMP-9蛋白阳性表达呈显著正相关。有门静脉浸润、淋巴结转移及低分化程度的患者HMGB1、MMP-9蛋白阳性表达率高于无门静脉浸润、无淋巴结转移及中高分化程度的患者。提示HMGB1、MMP-9在胆管癌组织中的阳性表达与患者性别、年龄等均无显著相关性,而均与患者门静脉浸润、淋巴结转移及分化程度具有显著相关性。

肿瘤细胞浸润、转移过程中肿瘤细胞从原始组织局部脱离下来,穿过细胞外基膜和基质,并浸润周围其他组织、淋巴管和血管^[15]。该过程属于一个动态的、复杂的多阶段过程,其中组织浸润过程中的关键步骤是基底膜和细胞外基质的降解。张小艳等^[16]的一项关于MGB1与乳腺癌患者临床病理学特征及免疫指标的相关性研究结果显示, HMGB1水平与乳腺癌临床分期、淋巴结转移及细胞免疫功能相关,并有助于预测新辅助化疗的效果。MMPs是一组细胞外基质的内肽酶的总称,几乎能够水解绝大多数细胞外基质,目前至少发现MMPs有28种之多,且在结构上具有较高的同源性,具有广泛的生物学效应;MMP-9属于MMPs中明胶酶类,主要生理功能可以降解IV型胶原和明胶,如果能降低其表达,有可能会有效地抑制肿瘤的侵袭和转移^[17]。殷敏敏等^[18]的一项关于宫颈癌组织中血管内皮生长因子(VEGF)、MMP-9表达与微血管密度的关系的研究结果显示,宫颈癌组织中MMP-9表达与微血管密度存在密切关系,可用于宫颈良恶性肿瘤鉴别诊断中。本研究中,与HMGB1阴性表达患者(74.07%)比较, HMGB1阳性表达患者生存率(39.58%)均显著降低。与MMP-9阴性表达(76.19%)患者比较, HMGB1阳性表达患者生存率(42.59%)均显著降低,提示HMGB1和MMP-9的表达也与胆管癌患者生存周期密切相关,关系到患者预后。

综上所述,原发性胆管癌组织中存在HMGB1和MMP-9异常

高表达,与患者不良预后有关,在疾病的发生及进展过程中起协同作用,本文关于HMGB1和MMP-9在原发性胆管癌组织中的研究还不足以解释肿瘤细胞的发生发展机制,在促进肿瘤发生发展的具体机制还有待于进一步研究。

参考文献

- [1] 吴鹏飞,张凯,陆子鹏,等.胰十二指肠切除术治疗远端胆管癌和胰头癌的临床效果分析[J].中华外科杂志,2022,60(2):128-134.
- [2] 王全晖,袁守信,张元浩. circAGFG1靶向miR-4429对胆管癌QBC939细胞增殖、迁移侵袭的影响及其可能的机制[J].中国肿瘤生物治疗杂志,2021,28:87-93.
- [3] 许静,樊漪波,颜彬,等.甲状腺样滤泡性肾细胞癌的临床病理特征分析[J].罕少疾病杂志,2021,28(4):4-6.
- [4] 崔艳丽,李小亮,何利珍,等. miR-216a-5p通过抑制HMGB1降低胃癌细胞系MGC-803的增殖和迁移[J].基础医学与临床,2019,39(4):546-551.
- [5] 周薇,高丹丹,李军华.抑制高迁移率族蛋白1表达逆转肝癌细胞Bel-7402/ADM耐药机制研究[J].中华肿瘤防治杂志,2021,28(6):7.
- [6] 刘新承,陈焕杰,韦树建等.甲状腺乳头状癌MMP-2、MMP-9的表达与BRAFV600E基因突变的关系[J].中国现代普通外科进展,2020,23(7):518-522.
- [7] 陈如杰,潘利伟,夏杰,等.肺腺癌预后与中性粒细胞明胶酶相关载脂蛋白、基质金属蛋白酶-9的关系[J].中华实验外科杂志,2017,34(5):875-877.
- [8] 于鹏杰,戈锐,王焕丽,等.胃癌癌组织中肌成束蛋白和基质金属蛋白酶-9的表达及意义[J].中国老年学杂志,2017,37(4):899-901.
- [9] 杜坤,张懿娜. MRI、MSCT及血清学检查在诊断肝门部胆管癌中的应用比较[J].中国CT和MRI杂志,2020,18(8):86-89.
- [10] 孙选,杨翠丽.奥沙利铂、氟尿嘧啶联合表柔比星经肝动脉化疗栓塞术(TACE)治疗原发性肝癌合并HIV/AIDS的临床效果[J].罕少疾病杂志,2021,28(4):47-48.
- [11] 柏杨,余锋,赵海滨,等. HMGB1和NF- κ B在肝胆管结石相关胆管癌中的表达及意义[J].中国普通外科杂志,2015,24(7):7.
- [12] 徐晨,黄丽霞.血清E-cadherin、HMGB1水平在卵巢癌中的价值及其与化疗疗效的关系[J].国际检验医学杂志,2018,39(3):308-311,315.
- [13] 蒋文英,谈珂岚,吴丹,等.乳腺癌术后局部复发生存素、基质金属蛋白酶-9的表达[J].中国老年学杂志,2020,40(6):3.
- [14] 刘新承,陈焕杰,韦树建,等.甲状腺乳头状癌MMP-2、MMP-9的表达与BRAFV600E基因突变的关系[J].中国现代普通外科进展,2020,23(7):518-522.
- [15] 安杰,曾令瑞,宋婷婷,等.肿瘤间质比和肿瘤浸润淋巴细胞对淋巴结转移乳腺癌预后的影响[J].临床与实验病理学杂志,2020,36(3):6.
- [16] 张小艳,李清祥,刘勇,等. HMGB1与乳腺癌患者临床病理学特征及免疫指标的相关性研究[J].中国癌症杂志,2021,31(9):783-788.
- [17] 马驰原,李福丽,王海超.替吉奥胶囊治疗晚期消化道肿瘤的临床效果及对VEGF和MMP-9的影响[J].中国实用医药,2021,16(14):3.
- [18] 殷敏敏,罗英华.宫颈癌组织中VEGF、MMP-9表达与微血管密度的关系[J].解放军预防医学杂志,2017,35(5):461-464.

(收稿日期:2022-04-19)