

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2019.10.006

文章编号: 1005-8982 (2019) 10-0033-05

CD15 抗原、CD44v6 蛋白及 MMP-3 在乳腺癌中的表达及相关性分析

戚利坤, 刘长春, 王巍

(青海省肿瘤医院 肿瘤外科, 青海 西宁 810007)

摘要: **目的** 探讨 CD15 抗原、CD44v6 蛋白及基质金属蛋白酶-3 (MMP-3) 在乳腺癌中的表达, 并对其进行相关性分析。 **方法** 选取 2014 年 7 月—2016 年 7 月青海省肿瘤医院收治的 80 例乳腺癌患者, 采用免疫组织化学 SP 法检测患者乳腺癌组织中及其癌旁组织中 CD15 抗原、CD44v6 蛋白及 MMP-3 的表达水平, 观察其在乳腺癌组织及癌旁组织的表达差异。 **结果** 乳腺癌组织中的 CD15 抗原、CD44v6 蛋白及 MMP-3 总阳性率较癌旁组织高 ($P < 0.05$)。乳腺癌组织中 CD15 抗原、CD44v6 蛋白及 MMP-3 的表达与淋巴结转移情况和组织学分级呈正相关 ($P < 0.05$), 而与患者的年龄、绝经情况无相关性 ($P > 0.05$); CD15 抗原、CD44v6 蛋白及 MMP-3 在乳腺癌组织中的表达呈正相关 ($P < 0.05$)。 **结论** CD15 抗原、CD44v6 蛋白及 MMP-3 在乳腺癌组织中的表达具有一定的相关性, 临床上联合检测 CD15 抗原、CD44v6 蛋白及 MMP-3 的表达水平, 对鉴别诊断乳腺肿瘤良恶性病变程度具有重要参考价值。

关键词: 乳腺肿瘤; 抗原, CD15; CD44v6 蛋白/蛋白; 基质金属蛋白酶 3; 免疫组织化学

中图分类号: R737.9

文献标识码: A

Study on the expression of CD15, CD44v6 and MMP-3 in breast cancer

Li-kun Qi, Chang-chun Liu, Wei Wang

(Department of Surgical Oncology, Qinghai Province Cancer Hospital, Qinghai, Xining 810007, China)

Abstract: **Objective** To observe the expression of CD15 antigen, CD44v6 protein and matrix metalloproteinase-3 (MMP-3) in breast cancer and analyze their correlation. **Methods** Totally 80 cases of breast cancer patients from July 2014 to July 2016 admitted to our hospital diagnosis and treatment were selected as the research object, and the expression level and difference of CD15 antigen, CD44v6 protein and MMP-3 were detected by immunohistochemistry in tumor tissues and adjacent tissues. **Results** The total positive rate of CD15 antigen, CD44v6 protein and MMP-3 in tumor tissues was higher than those in adjacent tissues, and the difference between the two groups was statistically significant ($P < 0.05$). The expression of CD15 antigen, CD44v6 protein and MMP-3 in breast cancer tissues were positively correlated with lymph node metastasis and histological grade ($P < 0.05$), but had no significant correlation with the age and menopause ($P > 0.05$). The expression of CD15 antigen, CD44v6 protein and MMP-3 in breast cancer tissues were positively correlated ($P < 0.05$). **Conclusions** The expression of CD15 antigen, CD44v6 and MMP-3 protein in breast tumor tissue has a certain relevance. The expression of CD15 antigen, CD44v6 and MMP-3 protein has important reference value to degree of invasion and malignant lesions in the differential diagnosis of breast tumor.

Keywords: breast neoplasms; antigens CD15; CD44v6 protein/proteins; matrix metalloproteinase 3; immunohistochemistry

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤,严重威胁生命健康和生活质量。乳腺癌相关基因及蛋白可分为:①与侵袭和转移相关因子;②增殖与凋亡相关标志物;③原癌基因和抑癌基因;④激素受体;⑤特异性蛋白。CD15 抗原是一种具有中性金属内肽酶活性的细胞表面酶,具有降解基底膜及基质的作用,表达于间质细胞时参与多种肿瘤细胞的侵袭、转移。基质金属蛋白酶 3 (matrix metalloproteinase 3, MMP-3) 又称基质分解素,是基质金属蛋白酶家族中功能最活跃的成员之一,不仅与肿瘤生长有关,还可破坏周围正常组织的基质结构,便于肿瘤细胞增殖,导致周围纤维结缔组织结构松弛,使肿瘤细胞发生侵袭、转移。CD44 是一种跨膜糖蛋白,CD44v6 是最早发现的 CD44 变异体,因此 CD15、CD44v6 及 MMP-3 在乳腺癌中具有特异性表达。本文旨在观察 CD15、CD44v6 及 MMP-3 在乳腺癌组织及乳腺癌旁组织中的相关性表达,为临床治疗乳腺癌提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2014 年 7 月—2016 年 7 月青海省肿瘤医院收治的乳腺癌患者 80 例,采集患者的乳腺组织石蜡标本。患者年龄 26 ~ 83 岁,中位年龄 52 岁;绝经 47 例,未绝经 33 例;浸润性导管癌 59 例,其他类别癌 21 例;伴腋窝淋巴结转移 62 例,不伴腋窝淋巴结转移 18 例;按组织学分级 I 级 37 例,II 级 23 例、III 级 20 例;患者均无其他肿瘤病史,且术前均未进行化疗。取患者同样数量的癌旁正常组织作为对照。患者对研究内容知悉并签署知情同意书,研究方案经本院伦理学委员会批准。

1.2 试剂

鼠抗人 CD15 单克隆抗体、鼠抗人 CD44v6 单克隆抗体、鼠抗人 MMP-3 单克隆抗体及链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶法 (streptavidin-peroxidase, SP) 相关检测试剂盒均购自美国 MAXIM 公司。

1.3 方法

所有组织标本经 4% 中性甲醛固定,石蜡包埋,采用免疫组织化学 SP 法,具体操作过程严格按照说

明书进行。其中阳性对照为已知阳性切片,阴性对照用磷酸盐缓冲液代替一抗。

1.4 结果判定

CD15 抗原和 CD44v6 蛋白在细胞膜、细胞质及腺腔边缘着棕黄色;MMP-3 为细胞核着棕黄色。均为同一名检验医师在相同的操作条件下采用盲法检测完成。每份病理切片计数 1000 个肿瘤细胞,无阳性染色细胞为阴性 (-);阳性细胞率 $\leq 25\%$ 为弱阳性 (+);阳性细胞数在 $>25\% \sim <50\%$ 为阳性 (++) ; 阳性细胞数 $\geq 50\%$ 为强阳性 (+++)。细胞的总阳性率 = 弱阳性率 + 阳性率 + 强阳性率。

1.5 统计学方法

数据分析采用 SPSS 17.0 统计学软件,计数资料以率 (%) 表示,比较用 χ^2 检验,相关分析用 Spearman 法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 乳腺癌组织及癌旁组织中 CD15 抗原、CD44v6 蛋白及 MMP-3 的比较

患者乳腺癌组织中 CD15 总阳性率为 76.25% (61/80)、癌旁组织中 CD15 总阳性率为 8.75% (7/80),两者比较,差异有统计学意义 ($\chi^2=74.578$, $P=0.000$),乳腺癌组织高于癌旁组织。患者乳腺癌组织中 CD44v6 总阳性率为 73.75% (59/80)、癌旁组织中总阳性率为 11.25% (9/80),两者比较,差异有统计学意义 ($\chi^2=63.939$, $P=0.000$),乳腺癌组织高于癌旁组织。患者乳腺癌组织中 MMP-3 总阳性率为 78.75% (63/80)、癌旁组织中总阳性率为 7.50% (6/80),两者比较,差异有统计学意义 ($\chi^2=82.790$, $P=0.000$),乳腺癌组织高于癌旁组织。见图 1。

2.2 CD15 抗原、CD44v6 蛋白及 MMP-3 在不同临床特征乳腺癌组织中总阳性率的比较

不同岁数患者 CD15、CD44v6 及 MMP-3 总阳性率比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。是否绝经患者 CD15、CD44v6 及 MMP-3 阳性率比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。是否淋巴结转移患者 CD15、CD44v6、MMP-3 阳性率比较,差异有统计学意义

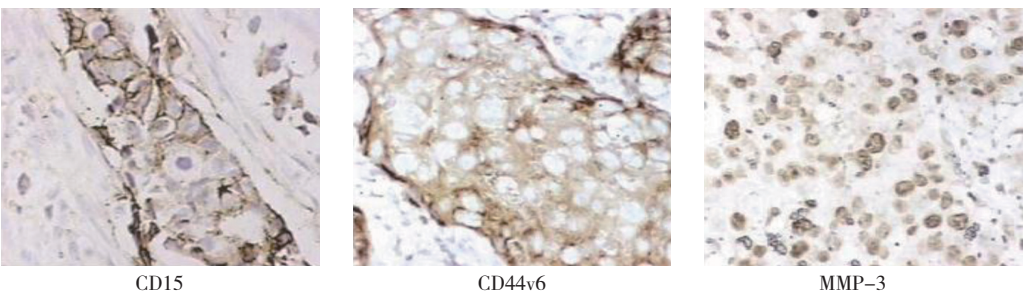


图 1 乳腺组织 CD15、CD44v6、MMP-3 阳性表达 (× 400)

($P < 0.05$), 有淋巴结转移患者阳性率较高。不同组织分级患者的 CD15、CD44v6 及 MMP-3 阳性率比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), II、III 级阳性率高于 I 级。见表 1。

表 1 不同临床特征乳腺癌组织中 CD15 抗原、CD44v6 蛋白及 MMP-3 阳性率的比较 例 (%)

临床特征	<i>n</i>	CD15 抗原阳性	χ^2 值	<i>P</i> 值	CD44v6 蛋白 阳性	χ^2 值	<i>P</i> 值	MMP-3 阳性	χ^2 值	<i>P</i> 值
年龄										
≥ 50 岁	41	33 (80.49)	0.834	0.361	27 (65.85)	1.196	0.274	35 (85.37)	0.478	0.489
<50 岁	39	28 (71.79)			30 (76.92)			31 (79.49)		
绝经										
是	47	40 (85.11)	0.001	0.974	44 (93.62)	0.003	0.953	41 (87.23)	0.007	0.932
否	33	28 (84.85)			31 (93.94)			29 (87.88)		
淋巴结转移										
是	57	50 (87.72)	19.985	0.000	55 (96.49)	11.900	0.001	54 (94.74)	12.041	0.001
否	23	9 (39.13)			16 (69.57)			15 (65.22)		
组织分级										
I 级	27	18 (66.67)	7.077	0.008	16 (59.26)	7.776	0.005	14 (51.85)	8.715	0.004
Ⅱ、Ⅲ级	53	48 (90.57)			46 (86.79)			44 (83.02)		

2.3 CD15 抗原、CD44v6 蛋白及 MMP-3 与临床病理指标的相关性

乳腺癌组织中 CD15 抗原与淋巴结转移情况呈正相关 ($r_s = 0.487, P = 0.000$), 与组织学分级呈正相关 ($r_s = 0.561, P = 0.000$), 与患者的年龄无相关性 ($r_s = 0.187, P = 0.189$), 与绝经无相关性 ($r_s = 0.207, P = 0.134$)。CD44v6 蛋白与淋巴结转移情况呈正相关 ($r_s = 0.417, P = 0.000$), 与组织学分级呈正相关 ($r_s = 0.508, P = 0.000$), 与患者的年龄无相关性 ($r_s = 0.203, P = 0.135$), 与绝经无相关性 ($r_s = 0.156, P = 0.231$)。MMP-3 与淋巴结转移情况呈正相关 ($r_s = 0.412, P = 0.000$), 与组织学分级呈正相关 ($r_s = 0.524, P = 0.000$), 与患者的年龄无相关性 ($r_s = 0.203, P = 0.114$), 与绝经无相关性 ($r_s = 0.179, P = 0.264$)。

2.4 乳腺癌组织中 CD15 抗原、CD44v6 蛋白及 MMP-3 表达的相关性

2.4.1 CD15 抗原与 CD44v6 蛋白表达的相关性 在 61 例 CD15 抗原阳性表达患者中, CD44v6 蛋白总阳性率为 91.80% (56/61), 阴性率为 8.20% (5/61); 在 19 例 CD15 抗原阴性表达患者中, CD44v6 蛋白总阳性率为 3.28% (2/19), 阴性率为 96.72% (17/19)。乳腺癌组织中 CD15 与 CD44v6 呈正相关 ($r_s = 0.453, P = 0.005$)。

2.4.2 CD15 抗原与 MMP-3 在表达的相关性 在 61 例 CD15 抗原阳性表达患者中, MMP-3 总阳性率为 96.72% (59/61) 5, 阴性率为 3.28% (2/61); 在 19 例 CD15 抗原阴性表达患者中, MMP-3 蛋白总阳性率为 8.20% (5/19), 阴性率为 73.68% (14/19), 乳腺癌组织

中 CD15 与 MMP-3 呈正相关 ($r_s=0.778$, $P=0.001$)

2.4.3 CD44v6 蛋白与 MMP-3 在乳腺癌组织中的表达的相关性 在 59 例 CD44v6 蛋白阳性表达患者中, MMP-3 总阳性率为 94.92% (56/59), 阴性率为 5.08% (3/59); 在 21 例 CD44v6 蛋白阴性表达患者中 MMP-3 总阳性率为 10.17% (7/22), 阴性率为 71.42% (15/22), CD44v6 与 MMP-3 在乳腺癌组织中呈正相关 ($r_s=0.675$, $P=0.001$)。

3 讨论

乳腺癌恶性肿瘤的浸润与转移是个多步骤且复杂的过程, 涉及到肿瘤细胞与细胞间质及肿瘤细胞之间错综复杂的关系。而黏附分子及其配体在恶性肿瘤的浸润、转移过程发挥着重要作用^[1-2]。目前黏附分子可分为 5 类, 其中 CD15 属于选择素家族中重要的成员, 又被称为粒细胞相关抗原, 是上皮细胞更新分裂以及分化的重要标志物。CD15 不同程度的广泛表达于不同组织的上皮细胞中, 当发生恶性肿瘤时, 组织结构紊乱, 正常组织中具有极性分布的 CD15 随之发生明显的异质变化, 在正常乳腺组织中 CD15 则呈弱阳性表达, 而在乳腺癌组织中则呈异常高表达^[3-4]。CD15 通常以混合形式存在于腺腔缘、细胞膜或者细胞浆, 但其阳性物质主要分布在细胞浆内。ZHANG 等^[5]研究发现 CD15 可做为脑瘤诊断鉴别的重要指标。JEEP^[6]和 NIU 等^[7]对结肠癌中 CD15 表达的研究亦支持上述结论。

CD44 分子又被称为 Hermes 抗原, 是一种广泛分布于细胞表面的跨膜蛋白, 主要增强肿瘤细胞的黏附性和运动能力, 影响肿瘤细胞的发生、发展, 以及浸润、转移, 近年来越来越受到人们的重视。CD44v6 是目前研究较多的变异体之一, 其参与到激活淋巴细胞、信号传导及促进细胞间黏附等生物学过程^[8]。国内外新近研究均显示 CD44v6 参与乳腺癌细胞的迁徙与移动, 加速病情的恶化^[9-11]。基质金属蛋白酶家族的成员几乎能降解所有细胞外基质成分^[12]。而其中 MMP-3 主要在基因转录水平、酶原激活条及 MMP 抑制剂的调节起活性作用^[13-14]。在正常的乳腺组织中, MMP-3 的表达处于低水平, 但受外界刺激或内环境改变后可引起其表达水平的变化。LOH 等^[15]研究发现大鼠乳腺癌组织中 MMP-3 表达量显著增加, 给予蒙药乳腺-1 号治疗后, MMP-3 表达量显著下降。

在本研究中乳腺癌患者的 CD15 抗原、CD44v6

蛋白及 MMP-3 在肿瘤组织中的表达高于癌旁组织, 表明检测 CD15 抗原、CD44v6 蛋白及 MMP-3 水平能反映乳腺癌病情的轻重程度, 但与患者的年龄或者是否绝经无关; 也有研究表明乳腺癌的发病率与是否生育、第一次生育年龄、生育次数及生育间隔都有密切的联系, 后期研究可以从这些方面加以考虑^[16-17]。从研究中还发现 CD15 抗原、CD44v6 蛋白及 MMP-3 在乳腺癌组织中的表达呈正相关。

综上所述, CD15 抗原、CD44v6 蛋白及 MMP-3 在乳腺癌组织中的表达具有一定的相关性, 临床上联合检测 CD15 抗原、CD44v6 蛋白及 MMP-3 的表达水平, 对鉴别诊断乳腺肿瘤良恶性病变程度具有重要参考价值。

参考文献:

- [1] 张佳楠. 乳腺癌患者 CD44、CD44v6 及 CD44~+/CD24~- 表达对生存预后影响的 Meta 分析 [D]. 苏州: 苏州大学, 2016: 1-8
- [2] BARGOSTAVAN M H, ESLAMI G, ESFANDIARI N, et al. MMP9 promoter polymorphism (-1562 C/T) does not affect the serum levels of soluble MICB and MICA in breast cancer[J]. Iranian Journal of Immunology, 2016, 13(1): 45-53.
- [3] CEPEDA M A, PELLING J J H, EVERED C L, et al. Less is more: low expression of MT1-MMP is optimal to promote migration and tumorigenesis of breast cancer cells:[J]. Molecular Cancer, 2016, 15(1): 65-72.
- [4] BRUGNOLI F, GRASSILLI S, LANUTI P, et al. Up-modulation of PLC- β 2 reduces the number and malignancy of triple-negative breast tumor cells with a CD133+/EpCAM+phenotype: a promising target for preventing progression of TNBC[J]. Bmc Cancer, 2017, 17(1): 617-623.
- [5] ZHANG H F, HU P, FANG S Q. Understanding the role of CD44V6 in ovarian cancer[J]. Oncology Letters, 2017, 14(2): 1989-1992.
- [6] JEEP K S, SEOK K Y, DUOK J E, et al. Prognostic impact and clinicopathological correlation of CD133 and ALDH1 expression in invasive breast cancer[J]. Journal of Breast Cancer, 2015, 18(4): 347-355.
- [7] NIU M, SUN S, ZHANG G, et al. Elevated expression of HABP1 is correlated with metastasis and poor survival in breast cancer patients[J]. American Journal of Cancer Research, 2015, 5(3): 1190-1197.
- [8] GIGANTI M G, TRESOLDI I, SORGE R, et al. Physical exercise modulates the level of serum MMP-2 and MMP-9 in patients with breast cancer[J]. Oncology Letters, 2016, 12(3): 2119-2129.
- [9] WU X J, LI X D, ZHANG H, et al. Clinical significance of CD44s, CD44v3 and CD44v6 in breast cancer[J]. Journal of International Medical Research, 2015, 43(2): 173-179.
- [10] ZHENG Z, SHAO N, WENG H, et al. Correlation between epidermal growth factor receptor and tumor stem cell markers

- CD44/CD24 and their relationship with prognosis in breast invasive ductal carcinoma[J]. *Medical Oncology*, 2015, 32(1): 1-11.
- [11] GAO Y L, XING L Q, REN T J, et al. The expression of osteopontin in breast cancer tissue and its relationship with p21ras and CD44V6 expression[J]. *European Journal of Gynaecological Oncology*, 2016, 37(1): 41-48.
- [12] KUNTE M, DESAI K. The protein extract of chlorella minutissima inhibits the expression of MMP-1, MMP-2 and MMP-9 in cancer cells through upregulation of TIMP-3 and down regulation of c-Jun.[J]. *Cell Journal*, 2018, 20(2): 211-219.
- [13] LEE H J, KIM J Y, SONG I H, et al. Expression of NY-ESO-1 in triple-negative breast cancer is associated with tumor-infiltrating lymphocytes and a good prognosis[J]. *Oncology*, 2015, 89(6): 337-344.
- [14] 于静, 张晓莹, 房爱菊, 等. 乳腺癌组织 CD10、MMP-3 蛋白表达及其临床意义 [J]. *山东医药*, 2016, 56(44): 12-15.
- [15] LOH T J, MOON H, CHO S, et al. CD44 alternative splicing and hnRNP A1 expression are associated with the metastasis of breast cancer[J]. *Oncology Reports*, 2015, 34(3): 1231-1239.
- [16] ŁAWICKI S, ZAJKOWSKA M, GŁAŻEWSKA E K, et al. Plasma levels and diagnostic utility of VEGF, MMP-2 and TIMP-2 in the diagnostics of breast cancer patients[J]. *Biomarkers*, 2017, 22(2): 157-164.
- [17] 于静, 张晓莹, 房爱菊, 等. 乳腺癌组织 CD10、MMP-3 蛋白表达及其临床意义 [J]. *山东医药*, 2016, 56(44): 12-15.

(李科 编辑)