

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.10.008

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2017.10.008>

乳腺癌中EZH2, MMP-2和MMP-9蛋白表达及其临床意义

嵇晓辉, 闫琛, 刘红伟, 杨金花

(郑州人民医院病理科, 郑州 450003)

[摘要] 目的: 探讨组蛋白甲基转移酶(enhancer of zeste homolog 2, EZH2), MMP-2和MMP-9在乳腺癌组织中的表达, 并分析三者的表达与乳腺癌临床病理特征的关系。方法: 采用免疫组织化学SP法检测147例乳腺癌、58例正常乳腺组织和58例乳腺良性肿瘤组织中EZH2, MMP-2和MMP-9蛋白表达, 分析三者间的关系。并将三者的表达与乳腺癌的临床病理特征进行相关性分析。结果: EZH2, MMP-2和MMP-9蛋白在乳腺癌组织中的表达显著高于正常乳腺组织及乳腺良性肿瘤组织(P 均 <0.001)。EZH2, MMP-2和MMP-9蛋白表达与乳腺癌患者年龄、绝经状态、肿瘤直径及组织学分类均无关, 而与患者淋巴结转移有关($P<0.001$)。结论: EZH2, MMP-2和MMP-9可能与乳腺癌的发生发展密切相关, 三者联合检测可为乳腺癌的诊疗分析研究提供新的参考指标。

[关键词] 乳腺癌; 组蛋白甲基转移酶; MMP-2; MMP-9

Expression of EZH2, MMP-2 and MMP-9 in breast cancer and their clinical significance

Ji Xiaohui, Yan Chen, Liu Hongwei, Yang Jinhua

(Department of Pathology, People's Hospital of Zhengzhou, Zhengzhou 450003, China)

Abstract **Objective:** To explore the expression of enhancer of zeste homolog 2 (EZH2), MMP-2 and MMP-9 in breast cancer and to analyze their relationship with the clinical pathologic characteristics. **Methods:** The expression of EZH2, MMP-2 and MMP-9 protein were detected by SP immunohistochemical method in 147 breast cancer tissues, 58 normal breast tissues and 58 benign breast tumor tissues, and the relationship among the three groups were analysed. The correlation of the EZH2, MMP-2 and MMP-9 protein expression with the clinicopathological features were also analyzed. **Results:** Positive intensity of EZH2, MMP-2 and MMP-9 in breast cancer were significantly higher than that in normal breast tissues and benign breast tumor ($P<0.001$). In breast cancer the expression of EZH2, MMP-2 and MMP-9 were not correlated with patient age, menopausal status, the tumor size and histological types, but were correlated with the lymph node metastasis ($P<0.001$). **Conclusion:** EZH2, MMP-2 and MMP-9 may be closely related to the pathogenesis and progression of breast cancer. The joint detection of the 3 indicators of EZH2, MMP-2 and MMP-9 in human breast cancer tissue may contribute to cancer diagnosis and treatment, and provide a reference to the study of breast cancer.

Keywords breast cancer; enhancer of zeste homolog 2; MMP-2; MMP-9

收稿日期 (Date of reception): 2017-07-17

通信作者 (Corresponding author): 杨金花, Email: 13837108837@163.com

乳腺癌是严重威胁女性健康的恶性肿瘤, 其发病率和病死率逐年上升。组蛋白甲基转移酶 (enhancer of zeste homolog 2, EZH2) 定位于人类染色体7q35.7q36上, 是PcG基因家族的重要成员之一^[1]。研究^[2-4]发现: EZH2在多种肿瘤中高表达, 具有促进细胞增殖、肿瘤细胞扩散的恶性表现。MMPs是一组锌离子依赖性内肽酶, 其中MMP-2和MMP-9在癌症侵袭转移中发挥重要作用^[5-7]。本研究采用免疫组织化学SP法检测EZH2, MMP-2和MMP-9在乳腺癌组织中的表达, 并分析三者与乳腺癌临床病理特征的关系, 探讨三者对乳腺癌发生、发展的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

收集郑州人民医院病理科2015年6月至2016年12月存档的活检标本, 包括147例乳腺癌、58例正常乳腺组织和58例乳腺良性肿瘤, 所有标本经病理科确诊, 患者均无远处转移, 术前均未行放射、化学治疗。本研究已获郑州人民医院医学伦理委员会批准。

1.2 方法

兔抗人EZH2多克隆抗体和鼠抗人MMP-2, MMP-9单克隆抗体(即用型)、二抗及DAB均购自福州迈新公司。免疫组织化学采用SP法, 常规石蜡

制片后, 进行抗原修复, 一抗37℃孵育2h, 二抗37℃孵育20~30min, DAB显色5~10min, PBS代替一抗作为阴性对照。

1.3 结果判断

EZH2蛋白以细胞核MMP-2, MMP-9蛋白以胞质出现清晰的棕黄色颗粒为阳性, 每张选取5个高倍视野。计分标准如下: 1)按细胞阳性率计分, 阳性细胞数<5%为0分, 6%~25%为1分, 26%~50%为2分, 51%~75%为3分, >75%为4分。2)按细胞染色强度计分, 细胞未染色为0分, 淡黄色为1分, 棕黄色为2分, 棕褐色为3分。两项得分相乘>2分为阳性。

1.4 统计学处理

应用SPSS 17.0软件进行统计学分析。各组间表达采用 χ^2 检验, 相关性采用Pearson相关性分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 EZH2, MMP-2 和 MMP-9 在正常乳腺组织、乳腺良性肿瘤及乳腺癌组织中的表达

EZH2, MMP-2和MMP-9在乳腺癌组织中的表达均高于正常乳腺组织和乳腺良性肿瘤组织, 差异有统计学意义($P<0.001$); 三者正常乳腺组织和乳腺良性肿瘤组织中的表达差异无统计学意义($P>0.05$, 表1, 图1~3)。

表1 EZH2, MMP-2和MMP-9在正常乳腺组织、乳腺良性肿瘤和乳腺癌组织中的表达

Table 1 Expression of EZH2, MMP-2, and MMP-9 in normal breast tissues, benign breast tumor, and breast cancer tissues

组别	n	EZH2阳性			MMP-2阳性			MMP-9阳性		
		表达量/ [例(%)]	χ^2	P	表达量/ [例(%)]	χ^2	P	表达量/ [例(%)]	χ^2	P
正常乳腺组织	58	20 (34.5)	1.301	0.522	22 (37.9)	1.749	0.417	17 (29.3)	1.827	0.401
乳腺良性肿瘤	58	26 (44.8)	10.64	0.005*	29 (50.0)	11.685	0.003*	24 (41.4)	8.336	0.015*
乳腺癌组织	147	102 (69.3)	21.006	<0.001**	110 (74.8)	24.718	<0.001**	87 (59.2)	14.837	<0.001**

与乳腺良性肿瘤比较, * $P<0.05$; 与正常乳腺组织比较, ** $P<0.001$ 。

Compared with benign breast cancer, * $P<0.05$; compared with the normal tissue, ** $P<0.001$.

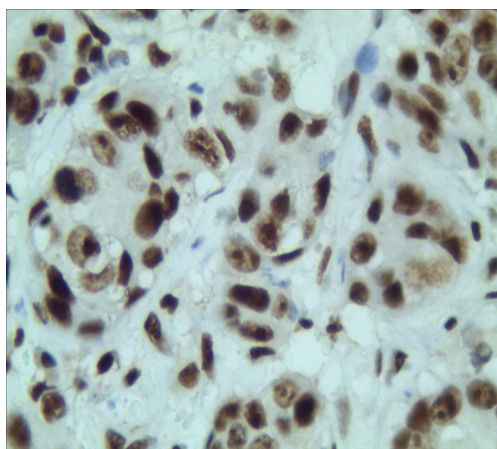


图1 EZH2在乳腺癌细胞核中的表达(SP, ×400)
Figure 1 Expression of EZH2 protein in breast cancer cell nucleus (SP, ×400)

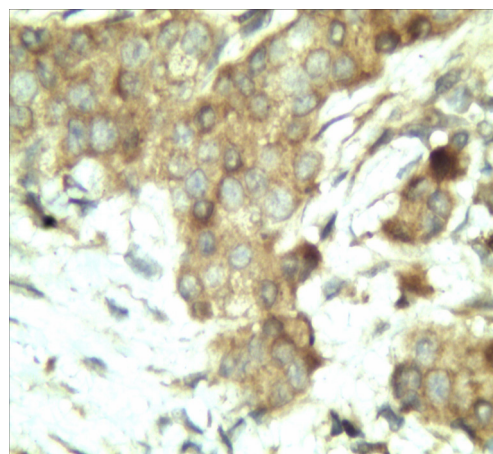


图3 MMP-9在乳腺癌细胞质中的表达(SP, ×400)
Figure 3 Expression of MMP-9 protein in breast cancer cytoplasm (SP, ×400)

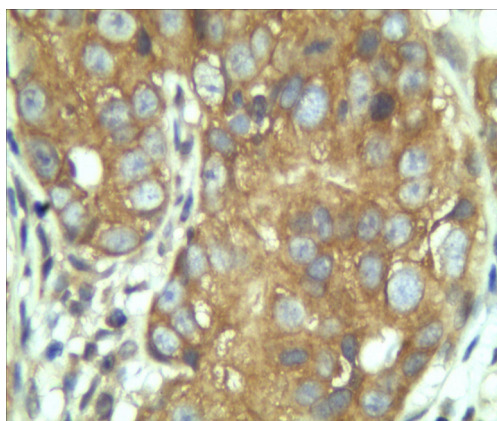


图2 MMP-2在乳腺癌细胞质中的表达(SP, ×400)
Figure 2 Expression of MMP-2 protein in breast cancer cytoplasm (SP, ×400)

2.2 EZH2, MMP-2, MMP-9 表达与乳腺癌临床病理特征的关系

EZH2, MMP-2, MMP-9在乳腺癌伴淋巴结转移原发灶中的表达高于不伴有淋巴结转移的原发灶, 差异有统计学意义($P < 0.001$)。EZH2, MMP-2, MMP-9与患者年龄、绝经状态、肿瘤直径、组织学类型、TNM分期均无关($P > 0.05$, 表2)。

2.3 EZH2 与 MMP-2 及 MMP-9 表达的相关性

经 Pearson 相关性分析, 147 例乳腺癌中 EZH2 蛋白表达和 MMP-2 蛋白表达呈显著正相关 ($P < 0.001$, 表3), EZH2 蛋白表达和 MMP-9 蛋白表达呈显著正相关 ($P < 0.001$, 表3)。

表2 EZH2, MMP-2和MMP-9表达与乳腺癌临床病理特征的关系($n=147$)

Table 2 Expression of EZH2, MMP-2, and MMP-9 protein in breast cancer tissues and their relationship with the clinical pathologic characteristics ($n=147$)

临床病理参数	n	EZH2阳性			MMP-2阳性			MMP-9阳性		
		表达量/[例(%)]	χ^2	P	表达量/[例(%)]	χ^2	P	表达量/[例(%)]	χ^2	P
年龄/岁			0.169	0.681		0.353	0.552		0.168	0.682
≤50	78	53 (67.9)			60 (76.9)			47 (60.2)		
>50	69	49 (71.0)			50 (72.4)			40 (57.8)		
绝经状态			0.056	0.813		0.463	0.496		0.049	0.825
否	75	52 (69.3)			58 (77.3)			45 (60.0)		
是	72	50 (69.4)			52 (72.2)			42 (58.3)		

续表2

临床病理参数	n	EZH2阳性			MMP-2阳性			MMP-9阳性		
		表达量/[例(%)]	χ^2	P	表达量/[例(%)]	χ^2	P	表达量/[例(%)]	χ^2	P
肿瘤直径/cm			1.031	0.309		1.008	0.315		0.915	0.339
≤2	50	32 (64.0)			35 (70.0)			27 (54.0)		
>2	97	70 (72.2)			75 (77.3)			60 (61.9)		
淋巴结转移			17.368	<0.001		7.619	<0.001		24.516	<0.001
无	87	49 (56.3)			58 (66.7)			37 (42.5)		
有	60	53 (88.3)			52 (86.7)			50 (83.3)		
组织学类型										
ILC	35	18 (51.4)			25 (71.4)			16 (45.7)		
IDC			1.398	0.497		1.896	0.388		1.747	0.417
I	28	19 (67.9)			20 (71.4)			16 (57.1)		
II	50	40 (80.0)			41 (82.0)			35 (70.0)		
III~IV	34	25 (73.5)			24 (70.6)			20 (58.8)		

表3 乳腺癌组织中EZH2蛋白表达与MMP-2及MMP-9蛋白表达的关系

Table 3 Relationship of the expression of EZH2 and MMP-2, MMP-9 protein in breast cancer tissues

EZH2	MMP-2				MMP-9				
	+	-	χ^2	P	+	-	χ^2	P	
+	89	13	27.311	<0.001	68	34	7.724	<0.001	
-	21	24			19	26			

3 讨论

EZH2是人们近来发现的与肿瘤发生密切相关的基因之一, 它对于干细胞表型的维持是必不可少的。既往研究^[8]发现: EZH2通过对核小体组蛋白进行甲基化修饰来抑制抑癌基因转录而发挥功能, 其高表达提示预后不良。近年来研究^[9]发现: EZH2可通过下调下游*casz1*, *CLU*等抑癌基因表达促进神经母细胞瘤增殖。通过乳腺癌中EZH2与PS3蛋白表达相关性研究^[10]证实EZH2与乳腺癌患者预后明显相关。本试验显示: 与正常乳腺组织及乳腺良性肿瘤组织相比, EZH2在乳腺癌组织内呈高表达; 同时本次实验中60例乳腺癌伴淋巴结转移患者, 其中EZH2阳性者53例(8.3%), 明显高于无淋巴结转移者。因此, EZH2的表达与乳腺癌淋巴结转移有重要影响。

作为MMPs家族的重要成员, MMP-2及MMP-9主要通过降解基底膜的IV型胶原成分、促进血管

生成和调节细胞黏附, 在乳腺癌从原位癌发展为浸润性癌的过程中起重要作用^[11]。此外, 通过研究发现乳腺癌组织中MMP-2和MMP-9均有过度表达, 并与癌转移密切相关。本研究中60例乳腺癌伴淋巴结转移患者中MMP-2, MMP-9的阳性率分别为86.7%和83.3%, 明显高于无淋巴结转移者, 说明MMP-2, MMP-9是乳腺癌侵袭转移过程中的重要因子, 且随着肿瘤进展和淋巴结转移其阳性表达越高。

综上所述, EZH2, MMP-2及MMP-9在人乳腺癌组织中过表达, 且与乳腺癌伴有淋巴结转移者呈正相关; 三者的高表达可能提示三者与乳腺癌转移关系密切, 三者联合检测可作为乳腺癌恶性程度和判断预后的重要指标。此外, 本研究显示在EZH2表达阳性的病例中MMP-2及MMP-9的表达阳性率相应升高, 提示EZH2在乳腺癌中的表达可能与MMP-2及MMP-9有相似的调节通路, 其机制有待进一步研究。

参考文献

1. Bae WK, Hennighausen L. Canonical and non-canonical roles of the histone methyltransferase EZH2 in mammary development and cancer[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2014, 382(1): 593-597.
2. Wan L, Li X, Shen H, et al. Quantitative analysis of EZH2 expression and its correlations with lung cancer patients' clinical pathological characteristics[J]. *Clin Transl Oncol*, 2013, 15(2): 132-138.
3. Chang CJ, Yang JY, Xia W, et al. EZH2 promotes expansion of breast tumor initiating cells through activation of RAF1-beta-catenin signaling[J]. *Cancer Cell*, 2011, 19(1): 86-100.
4. Geng J, Li X, Zhou Z, et al. EZH2 promotes tumor progression via regulating VEGF-A/AKT signaling in non-small cell lung cancer[J]. *Cancer Lett*, 2015, 359(2): 275-287.
5. Qin Y, Liu XJ, Li L, et al. MMP-2/9-oriented combinations enhance antitumor efficacy of EGFR/HER2-targeting fusion proteins and gemcitabine[J]. *Oncol Rep*, 2014, 32(1): 121-130.
6. Lotfi A, Mohammadi G, Tavassoli A, et al. Serum levels of MMP9 and MMP2 in patients with oral squamous cell carcinoma[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2015, 16(4): 1327-1330.
7. Jaafar H, Sharif SE, Murtey MD. Pattern of collagen fibers and localization of matrix metalloproteinase 2 and 9 during breast cancer invasion[J]. *Tumori*, 2014, 100(5): e204-e211.
8. Boros J, Arnoult N, Stroobant V, et al. Polycomb repressive complex 2 and H3K27me3 cooperate with H3K9 methylation to maintain heterochromatin protein 1 at chromatin[J]. *Mol Cell Biol*, 2014, 34(19): 3662-3674.
9. Wang C, Liu Z, Woo CW, et al. EZH2 mediates epigenetic silencing of neuroblastoma suppressor genes CASZ1, CLU, RUNX3, and NGFR[J]. *Cancer Res*, 2012, 72(1): 315-324.
10. 汪小霞, 孟刚, 李丽, 等. 乳腺癌中EZH2和P53蛋白表达及其临床意义[J]. *临床与实验病理学杂志*, 2015, 31(3): 273-276.
WANG Xiaoxia, MENG Gang, LI Li, et al. Expression of EZH2 and P53 in breast cancer and their clinical significance[J]. *Chinese Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 2015, 31(3): 273-276.
11. Puzovic V, Brcic I, Ranogajec I, et al. Prognostic values of ETS-1, MMP-2 and MMP-9 expression and co-expression in breast cancer patients[J]. *Neoplasma*, 2014, 61(4): 439-446.

本文引用: 嵇晓辉, 闫琛, 刘红伟, 杨金花. 乳腺癌中EZH2, MMP-2和MMP-9蛋白表达及其临床意义[J]. *临床与病理杂志*, 2017, 37(10): 2067-2071. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.10.008

Cite this article as: JI Xiaohui, YAN Chen, LIU Hongwei, YANG Jinhua. Expression of EZH2, MMP-2 and MMP-9 in breast cancer and their clinical significance[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2017, 37(10): 2067-2071. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.10.008