

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.02.009

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2020.02.009>

## 直肠腺癌组织中骨桥蛋白与基质金属蛋白酶-3的表达及其临床意义

苗德芳

(秦皇岛市海港医院消化内科, 河北 秦皇岛 066000)

**[摘要]** 目的: 探讨骨桥蛋白(osteopontin, OPN)与基质金属蛋白酶-3(matrix metalloproteinase-3, MMP-3)在直肠腺癌组织中的表达及临床意义。方法: 采用免疫组织化学EnVision法检测OPN与MMP-3在64例直肠腺癌及癌旁组织中的表达及其相关性, 对比分析临床病理特征及随访。结果: OPN与MMP-3在直肠腺癌组织的表达均明显高于癌旁组织, 且OPN, MMP-3表达与临床分期、分化程度、淋巴结转移相关( $P < 0.05$ ); 与年龄、性别、浸润深度不相关( $P > 0.05$ )。Spearman等级相关分析显示: 直肠腺癌中OPN与MMP-3的表达呈正相关( $r = 0.461, P < 0.05$ )。直肠腺癌临床分期、分化程度及淋巴结转移与OPN, MMP-3阳性表达相关( $P < 0.05$ )。OPN与MMP-3阳性患者术后3年总体生存率低于阴性患者( $P < 0.05$ )。结论: 直肠腺癌OPN与MMP-3表达明显增高, 且表达呈正相关, 与临床分期、分化程度、淋巴结转移及预后密切相关, 有可能成为直肠腺癌重要的生物学标志物, 对直肠腺癌诊疗及预后具有重要意义。

**[关键词]** 直肠腺癌; 淋巴结转移; 骨桥蛋白; 基质金属蛋白酶-3

## Expression of osteopontin and matrix metalloproteinase-3 in rectal adenocarcinoma and its clinical significance

MIAO Defang

(Department of Gastroenterology, Qinhuangdao Harbor Hospital, Qinhuangdao Hebei 066000, China)

**Abstract** **Objective:** To investigate the expression and clinical significance of osteopontin (OPN) and matrix metalloproteinase-3 (MMP-3) in rectal adenocarcinoma. **Methods:** Immunohistochemical EnVision method was used to detect the expression and correlation of OPN and MMP-3 in 64 cases of rectal adenocarcinoma and adjacent tissues. The Clinical pathological features were compared and follow-up. **Results:** The expressions of OPN and MMP-3 in rectal adenocarcinoma were significantly higher than those in adjacent tissues, and the expressions of OPN and MMP-3 were correlated with clinical stage, differentiation and lymph node metastasis ( $P < 0.05$ ). There was no correlation with age, gender, and depth of invasion ( $P > 0.05$ ), and there was no significant difference. Spearman rank correlation analysis showed that OPN was positively correlated with MMP-3 expression in rectal adenocarcinoma ( $r = 0.461, P < 0.05$ ). The clinical stage, differentiation degree and lymph node metastasis

收稿日期 (Date of reception): 2019-05-16

通信作者 (Corresponding author): 苗德芳, Email: miaodefang2008@163.com

of rectal adenocarcinoma were correlated with the positive expression of OPN and MMP-3 ( $P<0.05$ ), and there were significant differences. The overall survival rate of OPN and MMP-3 positive patients was lower than that of negative patients ( $P<0.05$ ). There was a significant difference. **Conclusion:** The expressions of OPN and MMP-3 in rectal adenocarcinoma are significantly increased, and the expression is positively correlated. It is closely related to clinical stage, differentiation, lymph node metastasis and prognosis, and may be an important biomarker for rectal adenocarcinoma. OPN and MMP-3 are important for the diagnosis and treatment of rectal adenocarcinoma.

**Keywords** rectal carcinoma; lymph node metastasis; osteopontin; matrix metalloproteinase-3

直肠癌是我国常见的消化道恶性肿瘤之一，其中腺癌占75%~85%。直肠癌的治疗方式有手术、放射治疗、化学药物治疗、分子靶向治疗等。随着医疗水平发展，直肠癌疗效不断提高，但中晚期直肠癌效果仍欠佳。骨桥蛋白(osteopontin, OPN)广泛存在于多种细胞组织中，参与细胞黏附、肿瘤进展转移、机体免疫应答、信号调节等多种生物学作用。基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)家族中的MMP-3在恶性肿瘤发生发展转移中起重要的作用。本研究通过检测OPN与MMP-3在直肠腺癌中的表达，分析OPN, MMP-3表达与直肠腺癌患者临床病理特征及预后的相关性。

## 1 对象与方法

### 1.1 对象

收集秦皇岛市海港医院2014年3月至2016年1月行手术切除的直肠腺癌标本64例。其中男36例，女28例；年龄35~79(平均63.8)岁；临床分期I+II期30例，III期34例。所有患者术前未行放射治疗及化学药物治疗等。同时选取距直肠癌5 cm正常组织作为对照。本研究获得秦皇岛市海港医院医学伦理委员会批准。

### 1.2 方法

固定标本用10%的甲醛溶液，石蜡包埋标本后行连续切片。采用免疫组织化学EnVision法染色。OPN兔抗人多克隆抗体购于上海研晶生物技术公司；MMP-3兔单克隆抗体购于英国Abcam公司。

### 1.3 结果判断

OPN, MMP-3阳性着色为细胞质或胞膜出现黄色或者棕黄色颗粒，评分依据为阳性细胞百分率和细胞着色情况。阳性细胞百分率：0分为0，1分为 $\leq 30\%$ ，2分为 $>30\% \sim <65\%$ ，3分为阳性细胞比率 $\geq 65\%$ 。细胞着色：0分为不染色，1分为淡

黄色；2分为黄色；3分为棕黄色。最后得分为两项评分的乘积。阴性染色： $<3$ 分；阳性染色： $\geq 3$ 分<sup>[1]</sup>。结果由秦皇岛市海港医院2位高年资病理科医师采用双盲法判定。

### 1.4 统计学处理

用SPSS 20.0软件进行数据处理，计数资料比较用 $\chi^2$ 检验；OPN与MMP-3相关性采用Spearman等级相关性分析；采用logistic回归分析临床病理因素与OPN, MMP-3相关性；采用Kaplan-Meier法行生存分析，进行Log-rank检验。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 OPN与MMP-3在直肠腺癌组织、癌旁组织中的表达

直肠腺癌组织、癌旁组织的OPN阳性表达率分别为73.4%和18.8%，差异有统计学意义( $\chi^2=38.52, P<0.01$ )；MMP-3阳性表达率则分别为70.3%和12.5%，差异有统计学意义( $\chi^2=44.08, P<0.01$ ；图1, 图2)。

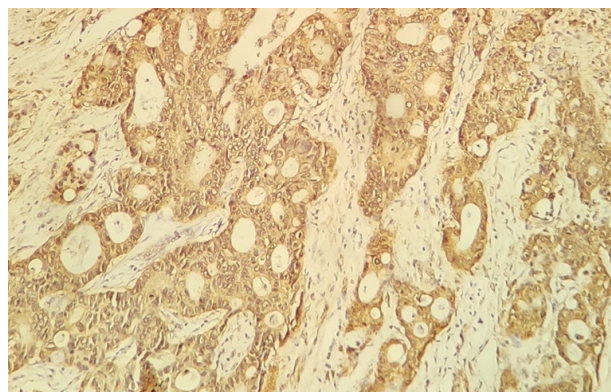


图1 OPN在直肠腺癌的表达(EnVision,  $\times 100$ )

Figure 1 Expression of OPN in rectal adenocarcinoma (EnVision,  $\times 100$ )

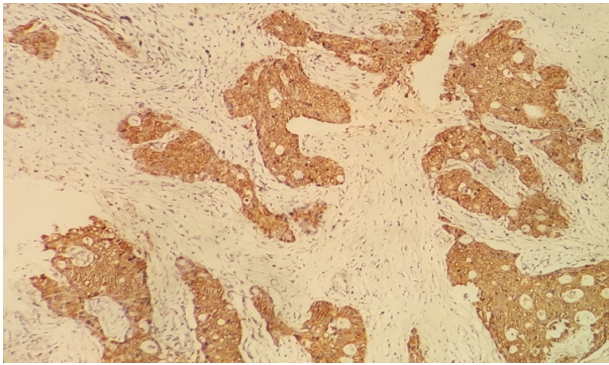


图2 MMP-3在直肠腺癌的表达(EnVision, ×100)

Figure 2 Expression of MMP-3 in rectal adenocarcinoma (EnVision, ×100)

## 2.2 OPN 与 MMP-3 在直肠腺癌中的表达与临床病理特征的关系

在直肠腺癌组织中, OPN, MMP-3 的表达与患者性别、年龄、肿瘤浸润深度无相关性 ( $P>0.05$ ), 而与肿瘤分期、分化程度、淋巴结转移相关 ( $P<0.05$ ); OPN 和 MMP-3 的表达在淋巴结转移组高于无淋巴结转移组, 中低分化组高于高分化

组, III 期高于 I~II 期(表 1)。

## 2.3 OPN 和 MMP-3 在直肠腺癌中的相互关系

OPN 和 MMP-3 在直肠腺癌组织中表达呈正相关 ( $r=0.461$ ,  $P<0.05$ )。

## 2.4 临床病理因素与 OPN, MMP-3 表达的相关性

性别、年龄、肿瘤浸润深度与 OPN, MMP-3 无相关性 ( $P>0.05$ ), 直肠腺癌分期、分化程度、淋巴结转移与 OPN, MMP-3 呈显著相关 ( $P<0.05$ ; 表 2)。

## 2.5 OPN, MMP-3 表达及预后

采用 Kaplan-Meier 法分析并进行 Log-rank 检验显示: 阳性与阴性 OPN 表达患者 3 年累积生存率分别为 59.6%, 82.4%, OPN 阳性术后 3 年生存时间较阴性患者显著缩短, 差别具有统计学意义 ( $\chi^2=5.710$ ,  $P=0.014$ ; 图 3)。阳性与阴性 MMP-3 表达患者 3 年累积生存率分别为 55.6%, 84.1%, MMP-3 阳性术后 3 年生存时间较阴性患者显著缩短, 差异有统计学意义 ( $\chi^2=4.184$ ,  $P=0.023$ ; 图 4)。

表 1 OPN, MMP-3 与临床病理特征的关系

Table 1 Relationship between expression of OPN and MMP-3 in rectal adenocarcinoma and clinical pathological features

临床病理特征	n	OPN			MMP-3		
		阳性/例	$\chi^2$	P	阳性/例	$\chi^2$	P
性别			0.673	0.412		0.524	0.469
男	36	25			24		
女	28	22			21		
年龄/岁			0.302	0.583		0.247	0.619
$\geq 60$	34	24			23		
$< 60$	30	23			22		
分化程度			6.395	0.011		6.591	0.010
高分化	25	14			13		
中低分化	39	33			32		
肿瘤浸润(T分期)			1.207	0.272		0.917	0.338
T1+T2	26	21			20		
T3+T4	38	26			25		
临床分期			5.227	0.022		5.038	0.025
I+II	30	18			17		
III	34	29			28		
淋巴结转移			8.142	0.004		7.799	0.005
有	34	30			29		
无	30	17			16		

表2 患者临床病理因素与OPN, MMP-3表达的相关性

Table 2 Correlation between clinical pathological factors and expression of OPN and MMP-3 in patients

项目	OPN			MMP-3		
	B	Wald	P	B	Wald	P
年龄	0.152	0.034	0.854	0.272	0.102	0.750
性别	0.101	0.015	0.902	0.046	0.003	0.955
浸润深度	1.177	1.502	0.820	1.252	1.743	0.617
分化程度	0.659	0.439	0.018	0.263	0.081	0.025
临床分期	1.260	1.371	0.028	1.504	2.114	0.016
淋巴结转移	1.942	3.293	0.007	1.734	2.937	0.030

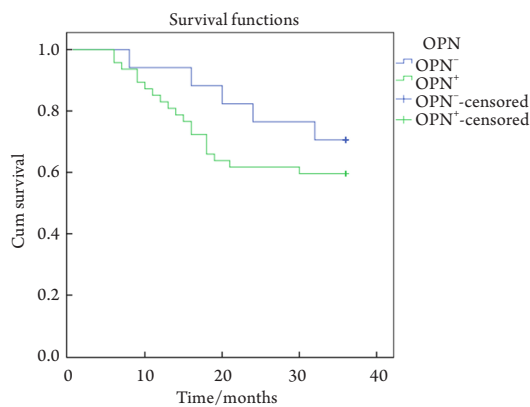


图3 OPN阳性和阴性表达患者的Kaplan-Meier存活曲线  
Figure 3 Kaplan-Meier survival curve of patients with positive and negative expression of OPN

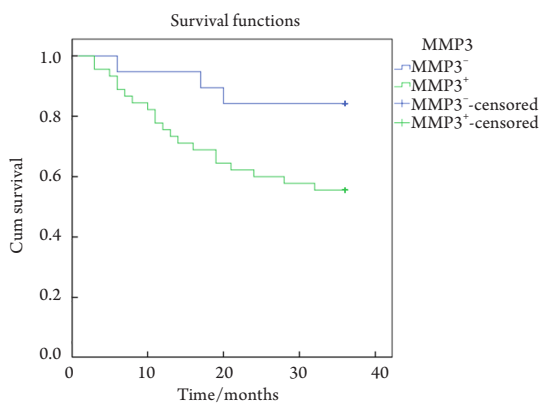


图4 MMP-3阳性和阴性表达患者的Kaplan-Meier存活曲线  
Figure 4 Kaplan-Meier survival curve of patients with positive and negative expression of MMP-3

### 3 讨论

我国直肠癌在恶性肿瘤中发病率和病死率均居前列，且持续的上升<sup>[2]</sup>。直肠癌早期以手术切除为主，治疗效果较好，中晚期直肠癌疗效仍不理想。如何早期诊断早期治疗取得更大收益、监测直肠癌进展和准确评估预后越来越得到人们的关注。

OPN属于细胞基质蛋白，作为一种多功能磷酸蛋白在多种细胞表达<sup>[3]</sup>。OPN与整合素异二聚体相互作用，参与炎症和恶性肿瘤发生进展<sup>[4]</sup>。OPN在乳腺癌、甲状腺癌、肺癌等多种恶性肿瘤中过表达<sup>[5-7]</sup>。研究<sup>[8]</sup>表明：OPN过表达促进人鼻咽癌细胞增殖和迁移，且与预后不良相关。肝癌患者OPN过表达，其生存期及无病生存期明显缩短<sup>[9-10]</sup>。研究<sup>[10]</sup>还发现：OPN缺乏可抑制Apc缺陷型小鼠肠肿瘤的发展。

OPN通过调控细胞凋亡、自噬、干细胞潜力、上皮细胞可塑性和相关细胞受体增强肿瘤化疗抗性和放射抗性<sup>[11]</sup>。有研究<sup>[12]</sup>显示：OPN通过与其受体整合素 $\alpha v\beta 3$ 结合并维持FoxO3a稳定性诱导自噬，其引发的自噬可以促进肝癌细胞存活和提高对化疗药物的抗性。

肿瘤进展常伴随MMPs家族失调，导致肿瘤细胞的侵袭迁移能力增强、增殖、免疫逃避、血管生成<sup>[13]</sup>。MMP-3定位于11q染色体，是一种多功能酶，可以降解多种基质蛋白，在组织生理与病理重塑中起重要作用。MMP-3的功能特性为肿瘤侵袭和迁移创造了条件。研究<sup>[14]</sup>显示：MMP-3在骨

肉瘤过表达有助于肿瘤转移, 有可能成为评估转移性骨肉瘤疗效和预后的生物学标志物。还有研究<sup>[15]</sup>发现: 抑制MMP-3可降低胆管细胞癌的侵袭迁移。

本研究显示: OPN, MMP-3在直肠腺癌组织明显高于癌旁组织。OPN, MMP-3表达III期明显高于I, II期, 淋巴结转移明显高于无转移组, 中分化明显高于高分化组, 但与肿瘤浸润深度无相关性。以上提示OPN和MMP-3与直肠腺癌发生发展相关, 促进肿瘤的迁移扩散。目前文献<sup>[16-18]</sup>报道的研究结果并不一致。有研究<sup>[16]</sup>显示: OPN在直肠癌中的表达与肿瘤浸润深度相关, 与肿瘤分化程度不相关; 还有研究<sup>[17]</sup>表明: OPN在直肠癌的表达与浸润深度、肿瘤分化均相关; 一项荟萃分析显示: OPN表达与直肠癌浸润深度之间无显著相关性<sup>[18]</sup>。考虑到本研究样本量小, 需要扩大样本量来进一步验证本研究的结果。

OPN, MMP-3作为分子靶标具有潜在的临床价值。MMP-3激活OPN蛋白, 进而激活信号转导, 通过丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)通路增强细胞活性和增殖能力<sup>[19]</sup>。此外, OPN是异常Wnt信号转导的转录靶标, Wnt信号转导诱导OPN通过MMP-3等的上调以及巨噬细胞和中性粒细胞的浸润来促进结肠肿瘤发展<sup>[10]</sup>。OPN是预测早期黑色素瘤有潜力的生物学标志物<sup>[20]</sup>。基于长期生存数据, 肝癌患者血清OPN水平被认为是预测肝切除患者预后的新型生物学标志物<sup>[21]</sup>。

本实验通过Spearman等级相关分析发现: OPN与MMP-3表达在直肠腺癌中呈正相关。OPN与MMP-3阳性术后3年总体生存率显著低于阴性患者。提示OPN和MMP-3与直肠腺癌的预后相关, 可能作为直肠腺癌进展和预后的预测标志物。

综上所述, 联合检测OPN和MMP-3对于直肠腺癌的诊疗及预后评估具有重要意义。OPN, MMP-3过表达是潜在的肿瘤检测及治疗靶点, 提示肿瘤发生转移的风险, 同时, 也可能作为监测肿瘤治疗效果和评估肿瘤预后的生物学标志物之一。

## 参考文献

1. 刘双立, 刘立根, 刘冬红, 等. 骨桥蛋白、神经性-钙粘附素和MMP-9在结肠直肠癌中的表达及意义[J]. 中华普外科手术学杂志(电子版), 2016, 10(3): 251-254.

- LIU Shuangli, LIU Ligen, LIU Donghong, et al. Expression and significance of osteopontin, neuro-cadherin and MMP-9 in colorectal cancer[J]. Chinese Journal of General Surgery. Electronic Edition, 2016, 10(3): 251-254.
2. 王锡山. 中美结肠直肠癌流行病学特征对比及防控策略分析[J]. 中华结肠直肠疾病电子杂志, 2019, 8(1): 1-5.
- WANG Xishan. Epidemiological characteristics and prevention and control strategies of colorectal cancer in China and American[J]. Chinese Journal of Colorectal Diseases, 2019, 8(1): 1-5.
3. Wei R, Wong JPC, Kwok HF. Osteopontin—a promising biomarker for cancer therapy[J]. J Cancer, 2017, 8(12): 2173-2183.
4. Maeda N, Maenaka K. The roles of matricellular proteins in oncogenic virus-induced cancers and their potential utilities as therapeutic targets[J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(10): E2198.
5. Anborgh PH, Lee DJ, Stam PF, et al. Role of osteopontin as a predictive biomarker for anti-EGFR therapy in triple-negative breast cancer[J]. Expert Opin Ther Targets, 2018, 22(8): 727-734.
6. Ferreira LB, Tavares C, Pestana A, et al. Osteopontin-a splice variant is overexpressed in papillary thyroid carcinoma and modulates invasive behavior[J]. Oncotarget, 2016, 7(32): 52003.
7. Hao C, Cui Y, Hu MU, et al. OPN-a splicing variant expression in non-small cell lung cancer and its effects on the bone metastatic abilities of lung cancer cells in vitro[J]. Anticancer Res, 2017, 37(5): 2245-2254.
8. Qin H, Wang R, Wei G, et al. Overexpression of osteopontin promotes cell proliferation and migration in human nasopharyngeal carcinoma and is associated with poor prognosis[J]. Eur Arch Otorhinolaryngol, 2018, 275(2): 525-534.
9. 张鑫, 袁琪, 高鹏程. 骨桥蛋白的表达与肝癌预后相关性的meta分析[J]. 中国普外基础与临床杂志, 2019, 26(6): 711-718.
- ZHANG Xin, YUAN Qi, GAO Pengcheng. The prognostic value of osteopontin expression in patients with liver cancer: a meta-analysis[J]. Chinese Journal of Bases and Clinics in General Surgery, 2019, 26(6): 711-718.
10. Ishigamori R, Komiya M, Takasu S, et al. Osteopontin deficiency suppresses intestinal tumor development in Apc-deficient min mice[J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(5): E1058.
11. Gimba ERP, Brum MCM, Nestal De Moraes G. Full-length osteopontin and its splice variants as modulators of chemoresistance and radioresistance[J]. Int J Oncol, 2019, 54(2): 420-430.
12. Liu G, Fan X, Tang M, et al. Osteopontin induces autophagy to promote chemo-resistance in human hepatocellular carcinoma cells[J]. Cancer Lett, 2016, 383(2): 171-182.
13. Che Y, Luo S, Li G, et al. The C3G/Rap1 pathway promotes secretion of MMP-2 and MMP-9 and is involved in serous ovarian cancer metastasis[J]. Cancer Lett, 2015, 359(2): 241-249.
14. Huang JF, Du WX, Chen JJ. Elevated expression of matrix

- metalloproteinase-3 in human osteosarcoma and its association with tumor metastasis[J]. J BUON, 2016, 21(1): 235-243.
15. Yang H, Liang J, Zhou J, et al. Knockdown of RHOC by shRNA suppresses invasion and migration of cholangiocellular carcinoma cells via inhibition of MMP2, MMP3, MMP9 and epithelial-mesenchymal transition[J]. Mol Med Rep, 2016, 13(6): 5255-5261.
  16. 翟雨佳. HIF-1 $\alpha$ 、OPN在直肠癌组织中的表达及其临床意义[J]. 药物生物技术, 2019, 26(1): 45-48.  
ZHAI Yujia. The expression of HIF-1 $\alpha$  and OPN in rectal cancer and its clinical significance[J]. Pharmacobiotics, 2019, 26(1): 45-48.
  17. 尹鹏飞, 常家聪. 骨桥蛋白表达与结直肠癌临床病理特征及预后的关系[J]. 安徽医科大学学报, 2015, 50(10): 1493-1496.  
YIN Pengfei, CHANG Jiacong. Expression of osteopontin in colorectal cancer with clinical pathological characteristics and prognosis[J]. Acta Universitatis Medicinalis Anhui, 2015, 50(10): 1493-1496.
  18. Zhao M, Liang F, Zhang B, et al. The impact of osteopontin on prognosis and clinicopathology of colorectal cancer patients: a systematic meta-analysis[J]. Sci Rep, 2015, 5(1): 12713.
  19. 戴焱, 范彦博, 甘宁. 青蛾丸含药血清对体外诱导成骨细胞MMP3/OPN通路蛋白水平以及骨重建的作用[J]. 中成药, 2016, 38(7): 1621-1625.  
DAI Yi, FAN Yanbo, GAN Ning. Effects of serum containing green moth pills on MMP3/OPN pathway protein levels and bone remodeling in osteoblasts in vitro[J]. Proprietary Chinese medicine, 2016, 38(7): 1621-1625.
  20. Treskova I, Topolcan O, Windrichova J, et al. OPG, OPN, EGF and VEGF levels at individual breslow score stages in malignant melanoma[J]. Anticancer Res, 2018, 38(8): 4907-4911.
  21. Byeon H, Lee SD, Hong E, et al. Long-term prognostic impact of osteopontin and Dickkopf-related protein 1 in patients with hepatocellular carcinoma after hepatectomy[J]. Pathol Res Pract, 2018, 214(6): 814-820.

**本文引用:** 苗德芳. 直肠腺癌组织中骨桥蛋白与基质金属蛋白酶-3的表达及其临床意义[J]. 临床与病理杂志, 2020, 40(2): 316-321. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.02.009

**Cite this article as:** MIAO Defang. Expression of osteopontin and matrix metalloproteinase-3 in rectal adenocarcinoma and its clinical significance[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2020, 40(2): 316-321. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.02.009