

宫颈癌组织中 DEK 与 MMP-7、N-cadherin 的表达及临床意义

曹 江¹, 杨麦青², 葛 莉², 乔海燕³, 高利利¹, 张庆军¹

(1.潍坊市中医医院妇产科, 山东 潍坊 261041;

2.潍坊市人民医院病理科, 山东 潍坊 261041;

3.潍坊市中医医院脑病科, 山东 潍坊 261041)

摘要:目的 观察宫颈癌组织中 DEK 与 MMP-7、N-cadherin 的表达情况,并探讨其在宫颈癌的临床意义。方法 收集 2016 年 1 月-2021 年 12 月在潍坊市中医医院手术切除,并经病理确诊为宫颈鳞状细胞癌组织 80 例,选取癌旁正常宫颈组织标本 50 例,采用免疫组化法检测两组中 DEK 与 MMP-7、N-cadherin 蛋白的表达情况,分析三者与宫颈癌临床病理特征的关系,并进一步分析三种蛋白在宫颈癌中表达的相关性。结果 DEK、MMP-7、N-cadherin 在宫颈癌组织中的表达高于癌旁正常宫颈组织 ($P<0.05$);DEK 与 MMP-7、N-cadherin 的高表达与宫颈癌分化程度、淋巴结转移及 TNM 分期相关 ($P<0.05$),与宫颈癌患者年龄、肿瘤大小均无关 ($P>0.05$)。宫颈癌中 DEK 的表达分别与 MMP-7 ($r=0.269, P=0.008$)、N-cadherin ($r=0.295, P=0.004$) 的表达呈正相关。结论 DEK 与宫颈癌的发生有关,且与宫颈癌的组织分化及浸润转移有关,其在宫颈癌中的作用机制可能与 MMP-7、N-cadherin 有关。

关键词:宫颈癌;DEK;MMP-7;N-cadherin

中图分类号:R737.33

文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2024.02.017

文章编号:1006-1959(2024)02-0095-04

The Expression and Clinical Significance of DEK, MMP-7 and N-cadherin in Cervical Carcinoma

CAO Jiang¹, YANG Mai-qing², GE Li², QIAO Hai-yan³, GAO Li-li¹, ZHANG Qing-jun¹

(1.Department of Obstetrics and Gynecology, Weifang Hospital of Traditional Chinese Medicine, Weifang 261041, Shandong, China;

2.Department of Pathology, Weifang People's Hospital, Weifang 261041, Shandong, China;

3.Department of Encephalopathy, Weifang Hospital of Traditional Chinese Medicine, Weifang 261041, Shandong, China)

Abstract: Objective To observe the expression of DEK, MMP-7 and N-cadherin in cervical carcinoma, and to explore their clinical significance.

Methods From January 2016 to December 2021, 80 cases of cervical squamous cell carcinoma tissues and 50 cases of adjacent normal cervical tissues were collected from Weifang Hospital of Traditional Chinese Medicine. The expression of DEK, MMP-7 and N-cadherin proteins in the two groups was detected by immunohistochemistry. The relationship between the three proteins and the clinicopathological characteristics of cervical cancer was analyzed, and the correlation between the expression of the three proteins in cervical cancer was further analyzed. **Results** The expression of DEK, MMP-7 and N-cadherin in cervical cancer tissues was higher than that in adjacent normal cervical tissues ($P<0.05$). The high expression of DEK, MMP-7 and N-cadherin was related to the degree of differentiation, lymph node metastasis and TNM stage of cervical cancer ($P<0.05$), but not to the age and tumor size of cervical cancer patients ($P>0.05$). The expression of DEK in cervical cancer was positively correlated with the expression of MMP-7 ($r=0.269, P=0.008$) and N-cadherin ($r=0.295, P=0.004$). **Conclusion** DEK is related to the occurrence of cervical cancer, and is related to the tissue differentiation, invasion and metastasis of cervical cancer. Its mechanism of action in cervical cancer may be related to MMP-7 and N-cadherin.

Key words: Cervical carcinoma; DEK; MMP-7; N-cadherin

宫颈癌是常见的妇科癌症之一,每年导致全球 311 000 人死亡^[1,2]。根据癌症统计数据,我国宫颈癌占全球子宫颈癌的 20.2%, 占我国女性肿瘤总发病

数的 5.2%,女性肿瘤总死亡数的 5%^[3-5]。尽管已有关于预防宫颈癌的疫苗及各种用于宫颈癌的诊断和筛查检测,包括 HPV 检测、细胞学检测和阴道镜检查,有效降低了宫颈癌的死亡率^[6-8]。然而,对宫颈癌前筛查和早期诊断仍需进一步的研究。DEK 原癌基因 (DEK) 是一种跨物种存在且广泛分布与多细胞生物的原癌基因。钙黏附蛋白 (cadherins) 是一类表达于细胞表面的糖蛋白类分子,与胞内不同的连环蛋白相连,介导细胞间的黏附功能。其中以上皮性钙黏附分子 (E-cadherin) 和神经性钙黏附分子 (N-cad-

基金项目:潍坊市卫生健康委科研项目(编号:WFWSJK-2022-091)

作者简介:曹江(1980.7-),男,山东潍坊人,本科,副主任医师,主要从事宫颈癌的发病机制研究

通讯作者:杨麦青(1979.11-),女,山东潍坊人,博士,主治医师,主要从事肿瘤临床及基础相关疾病的研究

herin)分布最广泛^[9,10]。在肿瘤形成的过程中,N-cadherin 的表达有助于血管形成及上皮细胞-间质细胞的迁移,从而使肿瘤细胞更加富于侵袭性,易于转移。神经上皮(N-E)钙黏素蛋白转换是细胞发生上皮间充质转换(Epithelial-mesenchymal transition,EMT)重要的分子标志^[11]。基质金属蛋白酶(MMP)是溶解基质的一组重要酶类,是一个钙依赖性、含锌蛋白水解酶家族,参与多种肿瘤相关过程,包括细胞凋亡、血管生成和上皮-间充质转化^[12,13]。而 MMP-7 基因是 MMP 家族中最小的成员(18 kDa),被认为是由肿瘤细胞直接分泌的,主要在上皮来源的细胞中表达,与许多上皮性肿瘤的转移能力有关^[14]。本研究采用免疫组化方法从蛋白质水平检测宫颈癌组织中 DEK、MMP-7 和 N-cadherin 的表达水平,进一步分析其与宫颈癌临床病理特征的关系,探讨其与子宫颈癌的发生发展及浸润转移的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2016 年 1 月-2021 年 12 月在潍坊市中医院行子宫广泛切除加盆腔淋巴结清扫术的宫颈癌患者 80 例,并选取癌旁正常宫颈组织标本 80 例作为对照,所有患者均经组织病理学检查确诊为鳞状细胞癌,术前未经放化疗及免疫治疗。患者年龄 26~73 岁,中位年龄 49 岁。年龄 ≥ 50 岁者 39 例,<50 岁者 41 例。根据 WHO 分类,高分化者 24 例,中、低分化者 56 例。根据国际抗癌联盟第八版 TNM 分期,I 期 48 例,II~III 期 32 例。伴有淋巴结转移 28 例,无淋巴结转移 52 例。按肿瘤大小分组,>4 cm 19 例, ≤ 4 cm 61 例。本研究经过潍坊市中医院医学伦理委员会审查通过,所有研究对象均签署知情同意书。

1.2 主要试剂 DEK、MMP-7、N-cadherin 兔抗人单克隆抗体,购买自武汉三鹰生物科技有限公司。EnVision 免疫组化染色试剂盒、DAB 显色试剂盒购自福州迈新生物技术开发有限公司。

1.3 免疫组化染色及判读 分别取无坏死癌灶及远端(距癌灶 2 cm 以上)正常宫颈组织,经 4%中性甲醛固定,常规脱水,石蜡包埋,连续切片,切片厚度 3~4 μm 。一抗工作浓度 1:100。染色方法严格参照 EnVision 免疫组化试剂盒说明书进行操作,DAB 显色增强剂显色,显微镜下观察。以磷酸盐缓冲液(PBS)液代替一抗作为阴性对照。根据美国临床肿瘤学会 ASCO 分级观察分析癌组织及正常宫颈鳞状上皮 DEK、MMP-7、N-cadherin 的染色。染色阳性的细胞数占百分比<5%、5%~25%、26%~50%、51%~75%、>75%,依次计分 0、1、2、3、4 分。-、+、++、+++ 标记着色强度,依次计分 0、1、2、3 分。染色阳性的细胞百分比计分和着色强度计分相乘,<6 分划入低表达组, ≥ 6 分划入高表达组。观察宫颈鳞状细胞癌组织中 DEK、MMP-7、N-cadherin 表达与宫颈癌临床病理参数的关系,并进一步分析在宫颈鳞状细胞癌中 DEK 与 MMP-7、N-cadherin 的关系。

1.4 统计学方法 所有数据采用 SPSS 19.0 软件进行统计学分析。以($\bar{x}\pm s$)表示计量资料,不同组间的差异采用 χ^2 检验,采用 Pearson 相关性分析, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 DEK、MMP-7、N-caherin 的表达水平及与临床病理参数的关系 DEK(45.00%)、MMP-7(45.00%)、N-caherin(47.50%)在宫颈鳞状细胞癌组织中表达高于正常宫颈鳞状上皮组织(12.00%、14.00%、16.00%)($P<0.05$);DEK、MMP-7、N-cadherin 的高表达与肿瘤的低分化、淋巴结转移、高 TNM 分期有关($P<0.05$),而与患者年龄、肿瘤的大小无关($P>0.05$),见表 1。

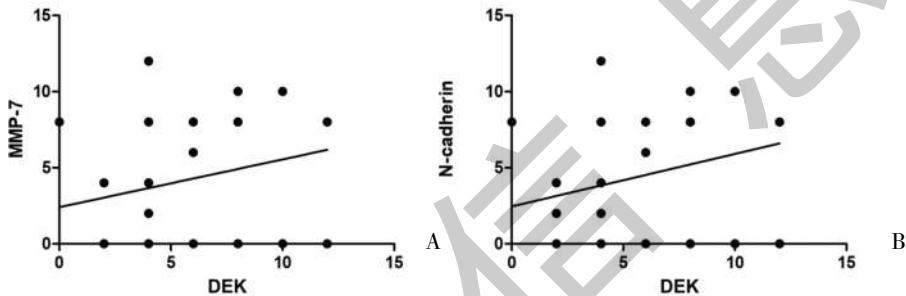
2.2 DEK 与 MMP-7 及 N-cadherin 的相关性分析 DEK 的表达与 MMP-7 的表达呈正相关($r=0.269$, $P=0.008$),DEK 的表达与 N-cadherin 的表达呈正相关($r=0.295$, $P=0.004$),见图 1。

表 1 宫颈鳞状细胞癌组织中 DEK、MMP-7、N-cadherin 表达比较(n)

临床参数	n	DEK 高($n=36$)	χ^2	P	MMP-7 高($n=36$)	χ^2	P	N-cadherin 高($n=38$)	χ^2	P
组织			15.321	0.000		13.358	0.000		13.353	0.000
正常宫颈组织	50	6			7			8		
宫颈癌组织	80	36			36			38		
淋巴结转移			4.300	0.038		6.474	0.011		9.891	0.002
无	52	19			18			18		
有	28	17			18			20		

表 1(续)

临床参数	n	DEK 高 (n=36)	χ^2	P	MMP-7 高 (n=36)	χ^2	P	N-cadherin 高 (n=38)	χ^2	P
TNM 分期			6.599	0.010		6.599	0.010		7.026	0.008
I	48	16			16			17		
II、III	32	20			20			21		
分化程度			4.242	0.039		6.503	0.011		7.485	0.006
高分化	24	15			16			17		
中低分化	56	21			20			21		
肿瘤大小(cm)			0.056	0.812		0.586	0.444		2.450	0.118
>4	19	9			10			12		
≤4	61	27			26			26		
年龄(岁)			2.548	0.110		1.314	0.252		2.493	0.114
≥50	39	14			15			15		
<50	41	22			21			23		



注:A:DEK 与 MMP-7 呈正相关;B:DEK 与 N-cadherin 呈正相关

图 1 DEK 与 MMP-7、N-cadherin 的相关性

3 讨论

宫颈癌是女性第 4 常见癌症,占每年女性癌症死亡人数的近 8%。宫颈癌最重要的危险因素是感染人乳头瘤病毒(HPV),尤其是 HPV16 和 HPV18。这两种 HPV 亚型导致所有宫颈癌的 70%~75%^[1-3]。尽管 HPV 疫苗的应用及宫颈癌早期筛查的普及大大提高了宫颈癌的早期诊断率和治疗,改善了许多患者的预后,但晚期宫颈癌的复发和转移仍然是治疗的难点。因此,对于宫颈癌的早期诊断、评估及发病机制的探讨仍需继续研究。

DEK 是一个原癌基因,是一个高度保守的转录调控因子,DEK 基因位于染色体 6p22,编码 375 个氨基酸(43 kDa)蛋白。该蛋白在细胞核中丰富,在染色质组装的结构控制中起关键作用,在急性髓系白血病患者亚群中,DEK 蛋白被鉴定为与核孔蛋白 214 的融合基因^[15,16];在多种细胞活动和各种细胞代谢过程中也起着关键作用。既往研究显示,DEK 参与多种疾病的发生发展,譬如乳腺癌、卵巢癌、阿尔茨海默病等^[16-18],在非小细胞肺癌、乳腺癌、头颈部鳞状细胞癌等中出现高表达^[19-21]。DEK 过表达抑制宫

颈癌 HeLa 细胞的凋亡,也可以抑制 p53 转录活性。表明 DEK 在宫颈癌的进展中起着非常重要的作用。选择性剪接是导致人类基因组生物学功能复杂性的关键分子机制之一。据报道^[17,18],约 95%的多外显子基因转录物具有选择性剪接变体,异常剪接产生的非规范和癌症特异性 mRNA 转录物,可导致肿瘤抑制因子功能丧失或癌基因功能增强,而 DEK 参与基因表达中的剪接后步骤。DEK 可抑制细胞衰老、凋亡和分化,从而促进细胞生长和存活。钙黏附蛋白是一类结构与功能相似的钙依赖性单链跨膜糖蛋白,根据其结构分为 E-cadherin、P-cadherin、N-cadherin 3 种。其中 EMT 的重要特征之一是作为上皮细胞标志的 E-cadherin 表达缺失和间质标志的 N-cadherin 表达上调。N-cadherin 的上调表达与多种人类恶性肿瘤侵袭转移及预后密切相关^[11]。MMP 是一族 Zn²⁺依赖性的蛋白水解酶,能够降解多种基底膜和细胞外基质成分,在肿瘤的浸润和转移中起重要作用。MMP-7 是 MMP 中唯一的由上皮性肿瘤细胞特异性表达的酶。由于其降解细胞外基质的能力,因此 MMP-7 在肿瘤的浸润和转移中起着重要作用^[14]。

本研究通过免疫组化方法检测 DEK 在宫颈鳞状细胞癌组织中显著高表达, MMP-7 和 N-cadherin 在宫颈癌表达也显著高于癌旁正常宫颈组织。DEK、MMP-7 和 N-cadherin 在不同临床分期和不同组织学分级的宫颈癌中表达存在显著差异, 提示它们的高表达在子宫颈癌向周围组织的浸润转移过程中具有重要作用, 可以作为反映宫颈癌侵袭转移能力的生物学标志物。早期阻断它们的表达可能会抑制肿瘤的浸润和转移, 从而成为宫颈癌治疗的一个新途径。且在有淋巴结转移的宫颈癌中 DEK、MMP-7 和 N-cadherin 表达水平显著高于无淋巴结转移者, 说明其与淋巴结转移密切相关, 可成为监测宫颈癌浸润和转移的重要指标。

通过进一步分析 DEK 与 MMP-7 和 N-cadherin 的关系, 结果提示 DEK 的表达与 MMP-7 和 N-cadherin 的表达分别呈正相关, 说明 DEK 对宫颈鳞状细胞癌的影响与 MMP-7 和 N-cadherin 有关。DEK 与 MMP-7 和 N-cadherin 的作用是协同的, 这提示 DEK 在宫颈癌中的发生发展及高侵袭行为与细胞外基质的降解和 EMT 过程有关。但是它们三者的具体关系及作用机制还需进一步去探讨。

综上所述, DEK 与 MMP-7 和 N-cadherin 在宫颈鳞状细胞癌组织中的表达显著增多, 并且 DEK 的表达与 DEK 与 MMP-7 和 N-cadherin 的表达呈正相关。DEK 对宫颈鳞状细胞癌的影响与细胞外基质的降解和 EMT 过程有一定的关联。这为以后研究宫颈鳞状细胞癌的研究提供新的方向。

参考文献:

- [1] Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, et al. Cancer Statistics, 2021[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(1): 7-33.
- [2] Mitra T, Elangovan S. Cervical cancer development, chemoresistance, and therapy: a snapshot of involvement of microRNA[J]. Mol Cell Biochem, 2021, 476(12): 4363-4385.
- [3] 付小玲, 郭哲, 许静. cAMP/PKA 通路在 HPV16/18 相关宫颈癌中的表达情况及临床意义[J]. 实用癌症杂志, 2023, 38(2): 227-230.
- [4] He WQ, Li C. Recent global burden of cervical cancer incidence and mortality, predictors, and temporal trends[J]. Gynecol Oncol, 2021, 163(3): 583-592.
- [5] 张璐, 隋龙. 中国 21~24 岁女性宫颈癌筛查现状及应对困扰[J]. 现代妇产科进展, 2021, 30(12): 951-953.
- [6] 李宏, 高蓓, 王媛. 1990-2019 年我国宫颈癌疾病负担变化趋势分析[J]. 中国慢性病预防与控制, 2022, 30(9): 672-675, 681.
- [7] 王静, 杜欣, 黄燕明, 等. 宫颈癌高危型 HPV 感染的影响因素与 ERK1/2 信号通路关键因子[J]. 中华医院感染学杂志, 2023, 33(4): 593-597.
- [8] 刘敏, 缪华珍, 黄菁. G 蛋白偶联受体 4、Ki-67、生存素与高危 HPV 感染的相关性及诊断宫颈癌价值[J]. 中国计划生育学杂志, 2022, 30(12): 2866-2869, 2874.
- [9] 张艳霞, 闫燕艳, 邓亮, 等. E-钙黏素和 N-钙黏素在胃肠道间质瘤中的表达及其临床意义[J]. 山西大同大学学报(自然科学版), 2023, 39(1): 80-83.
- [10] 张继东, 王童玉, 朱绪锋. 原发性肝癌组织中钙黏蛋白和 P63 蛋白表达情况及意义[J]. 中国卫生工程学, 2022, 21(6): 1009-1011.
- [11] Ke W, Ma L, Wang B, et al. N-cadherin mimetic hydrogel enhances MSC chondrogenesis through cell metabolism[J]. Acta Biomater, 2022, 150: 83-95.
- [12] 赵春华, 赵慧君, 安娜, 等. 脑胶质瘤患者术后肺部感染情况及血清 MMP、IGF 水平的变化[J]. 中国现代医药杂志, 2022, 24(11): 22-25.
- [13] 陈浩, 白利君, 于超. 术前 LSR、D-Dime 及 MMP-9 联合检测在胃癌根治术预后中的评估价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2022, 14(11): 2001-2004.
- [14] Kovács PT, Mayer T, Csizmarik A, et al. Elevated Pre-Treatment Serum MMP-7 Levels Are Associated with the Presence of Metastasis and Poor Survival in Upper Tract Urothelial Carcinoma[J]. Biomedicine, 2022, 10(3): 698.
- [15] Capitano ML, Sammour Y, Ropa J, et al. DEK, a nuclear protein, is chemotactic for hematopoietic stem/progenitor cells acting through CXCR2 and Gαi signaling[J]. J Leukoc Biol, 2022, 112(3): 449-456.
- [16] Yang YS, Jia XZ, Lu QY, et al. Exosomal DEK removes chemoradiotherapy resistance by triggering quiescence exit of breast cancer stem cells[J]. Oncogene, 2022, 41(18): 2624-2637.
- [17] Hacker KE, Bolland DE, Tan L, et al. The DEK Oncoprotein Functions in Ovarian Cancer Growth and Survival[J]. Neoplasia, 2018, 20(12): 1209-1218.
- [18] 宋艺兰, 王知广, 姜京植, 等. 靶向 DEK 适配体 DTA-64 可通过阻断 TGF-β1 信号通路抑制支气管哮喘小鼠气道上皮细胞的上皮间质转化[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2022, 38(2): 103-109.
- [19] Ishida K, Nakashima T, Shibata T, et al. Role of the DEK oncogene in the development of squamous cell carcinoma[J]. Int J Clin Oncol, 2020, 25(9): 1563-1569.
- [20] Cai Y, Hao Y, Xu H, et al. Gigantol inhibits cell proliferation and induces apoptosis by regulating DEK in non-small cell lung cancer[J]. Exp Ther Med, 2021, 22(5): 1317.
- [21] Yang MQ, Bai LL, Wang Z, et al. DEK is highly expressed in breast cancer and is associated with malignant phenotype and progression[J]. Oncol Lett, 2021, 21(6): 440.

收稿日期: 2023-03-02; 修回日期: 2023-03-13

编辑/肖婷婷