PD-L1、MMP-9、IMP3 表达水平与乳腺癌病理分期、组织学分级及预后的关系研究

杨 静,王 新

(天津市西青医院病理科,天津 300380)

摘要:目的 研究乳腺癌组织中程序性死亡受体配体-1(PD-L1)、基质金属蛋白酶 9(MMP-9)、胰岛素样生长因子Ⅱ mRNA 结合蛋白 3(IMP3)表达水平与患者病理分期、组织学分级及预后的关系。**方法** 选取 2016 年 7 月-2021 年 7 月天津市西青医院收治的 60 例乳腺癌患者为研究对象,对其术后病理组织行免疫组化检测,观察组织中 PD-L1、MMP-9、IMP3 的表达情况,并分析其与病理分期、组织学分级及预后的关系。**结果** 三阴性乳腺癌患者 PD-L1、MMP-9、IMP3 阳性率高于非三阴性乳腺癌 ($P<0.05$);不同病理分期的患者 PD-L1、MMP-9、IMP3 阳性表达率比较,差异有统计学意义($P<0.05$),其阳性表达率由高至低依次为Ⅳ期>Ⅲ期>Ⅱ期>Ⅰ期;不同组织学分级患者的 PD-L1、MMP-9、IMP3 阳性表达率比较,差异有统计学意义($P<0.05$),其阳性表达率由高至低依次为 3 级>2 级>1 级;PD-L1、MMP-9、IMP3 阳性患者的乳腺癌预后指数(BCPI)评分高于阴性患者($P<0.05$);PD-L1、MMP-9、IMP3 阳性表达与病理分期、组织学分级及 BCPI 评分均呈正相关 ($P<0.05$)。**结论** PD-L1、MMP-9、IMP3 在三阴性乳腺癌组织中呈高表达,其阳性表达与患者病理分期、组织学分级呈正相关,对患者预后生存具有一定预测价值。

关键词:PD-L1;MMP-9;IMP3;乳腺癌;病理分期;组织学分级

中图分类号:R737.9 **文献标识码:**A **DOI:**10.3969/j.issn.1006-1959.2022.14.011

文章编号:1006-1959(2022)14-0053-04

The Relationship Between PD-L1, MMP-9, IMP3 Expression Levels and Pathological Staging, Histological Grade and Prognosis of Breast Cancer

YANG Jing,WANG Xin

(Department of Pathology,Tianjin Xiqing Hospital,Tianjin 300380,China)

Abstract:Objective To study the relationship between the expression levels of programmed death receptor ligand-1 (PD-L1), matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and insulin-like growth factor Ⅱ mRNA-binding protein 3 (IMP3) in breast cancer tissues and pathological staging, histological grading and prognosis of patients.**Methods** Sixty patients with breast cancer admitted to Tianjin Xiqing Hospital from July 2016 to July 2021 were selected as the research objects. The postoperative pathological tissues were detected by immunohistochemistry. The expressions of PD-L1, MMP-9 and IMP3 in the tissues were observed, and their relationship with pathological stage, histological grade and prognosis was analyzed. **Results** The positive rates of PD-L1, MMP-9 and IMP3 in patients with triple negative breast cancer were higher than those in patients with non-triple negative breast cancer ($P<0.05$). There were significant differences in the positive expression rates of PD-L1, MMP-9 and IMP3 among patients with different pathological stages ($P<0.05$), and the sequence of positive expression rates was stage Ⅳ>stage Ⅲ>stage Ⅱ>stage Ⅰ. There were statistically significant differences in the positive expression rates of PD-L1, MMP-9 and IMP3 among patients with different histological grades ($P<0.05$), and the positive expression rates were grade 3>grade 2>grade 1 from high to low. The breast cancer prognostic index (BCPI) score in PD-L1, MMP-9 and IMP3 positive patients was higher than that in negative patients ($P<0.05$). Positive expressions of PD-L1, MMP-9 and IMP3 were positively correlated with pathological stage, histological grade and BCPI score ($P<0.05$).**Conclusion** PD-L1, MMP-9 and IMP3 are highly expressed in triple negative breast cancer tissues, and their positive expressions are positively correlated with the pathological stage and histological grade of patients, which has certain predictive value for the prognosis and survival of patients.

Key words:PD-L1;MMP-9;IMP3;Breast cancer;Pathological staging;Histological grading

乳腺癌(breast cancer)为女性多发恶性肿瘤,其侵袭及转移过程较为复杂,对患者预后生存造成了严重影响[1,2]。多项报道指出[3,4],分子病理诊断对癌症早期诊断、预后评估具有重要价值。其中,程序性死亡受体配体-1 (PD-L1)、基质金属蛋白酶 9(MMP-9)、胰岛素样生长因子Ⅱ mRNA 结合蛋白 3(IMP3)等物质的异常表达与肿瘤细胞的进展、浸润及扩散存在密切相关。PD-L1 属于Ⅰ型跨膜蛋白,在多种恶性肿瘤中均有表达,与肿瘤的免疫逃逸存在密切相关,可参与肿瘤进展[5]。MMP-9 则属于基质金属蛋白酶(MMPs)的常见种类,可降解各种细胞外基质成分, 与乳腺癌的局部侵袭及远处扩散存在一定相关性[6]。IMP3 是一种新识别的信使 RNA 结合蛋白,可通过与不同信使 RNA 结合,调控 mMRA 的转录过程,进而影响细胞的恶性潜能[7]。现阶段,关于以上指标在乳腺癌组织中表达状态的研究较少。基于此,本研究结合 2016 年 7 月-2021 年 7 月天津市西青医院收治的 60 例乳腺癌患者,观察乳腺癌组织中 PD-L1、MMP-9、IMP3 表达水平与病理分期、组织学分级及预后的关系,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 以 2016 年 7 月-2021 年 7 月天津市西青医院收治的 60 例乳腺癌患者为研究对象,患者年龄 22~56 岁,平均年龄(45.76±5.14)岁;组织分

作者简介:杨静(1973.10-),女,天津人,本科,主治医师,主要从事病理研究工作

型:管腔 A 型 13 例,管腔 B 型 14 例,HER-2 过表达型 9 例,三阴型 24 例;TNM 分期:Ⅰ期 15 例,Ⅱ期 28 例,Ⅲ期 11 例,Ⅳ期 6 例;手术方式:根治术 54 例、保乳术 6 例。本研究经医院伦理委员会审批通过,患者均知情自愿参加并签署知情同意书。

1.2 纳入与排除标准 纳入标准:①经术后病理诊断为乳腺癌;②女性;③术前未进行放、化疗。排除标准:①合并其他恶性肿瘤者;②病历资料不全者;③诊断不明者;④急慢性感染者。

1.3 方法 免疫组化检测法:所有病理样本均经 3.7%中性甲醛液固定,行常规脱水、透明、浸蜡、包埋、3 μm 切片操作,经二甲苯与梯度乙醇脱水后,以苏木精对比色 1~3 min,最后采用中性树胶封片。采用全自动免疫组化染色机(Leica BOND-MAX)行免疫组化染色,最后在显微镜下进行阅片。所有步骤严格按说明书进行,采用 PBS 代替Ⅰ抗作为阴性对照。鼠抗人 PD-L1 单克隆抗体及试剂盒购自 Abcam 公司,鼠抗人 MMP-9 单克隆抗体工作液购自北京中杉金桥生物技术有限公司,鼠抗人 IMP3 单克隆抗体工作液来自美国 Dako 公司,按乳腺癌细胞包膜及包质着色程度进行评定:0 分(无着色)、1 分(淡黄色)、2 分(棕黄色)、3 分(黄褐色),按显色细胞数占百分比进行评定:0 分(<5%)、1 分(5%~25%)、2 分(26%~50%)、3 分(51%~75%)、4 分(>75%);PD-L1、MMP-9 与 IMP3 的阳性判定标准:阳性细胞显色深浅分数×所占百分比分数>1 为阳性,反之为阴性。

1.4 观察指标 ①比较 PD-L1、MMP-9、IMP3 在不同组织分型中的表达情况,包括管腔 A 型、管腔 B 型、HER-2 过表达型、三阴型;②比较 PD-L1、MMP-9、IMP3 在不同病理分期中的表达情况,包括Ⅰ期、Ⅱ期、Ⅲ期、Ⅳ期;③比较 PD-L1、MMP-9、IMP3 在不同组织学分级中的表达情况,其组织学分级评估[8]包括腺管形成程度、细胞核多形性、核分裂能力 3 个方面,每项均为 1~3 分,其组织学分级依据总分进行评定:1 级(3~5 分)、2 级(6~7 分)、3 级(8~9 分);④比较不同 PD-L1、MMP-9、IMP3 表达的预后情况,采用乳腺癌预后指数(BCPI)[9]评定患者预后,总分 4~19 分,分数越高表示患者预后越差;⑤采用 Spearman 相关性分析 PD-L1、MMP-9、IMP3 表达与病理分期、组织学分级及预后的关系。

1.5 统计学方法 采用 SPSS 21.0 软件进行数据处理,计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较行 t 检验;计数资料以[n(%)]表示,行 χ^2 检验,两变量间相关性采用 Spearman 相关性分析,P<0.05 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 不同组织分型中 PD-L1、MMP-9、IMP3 的表达比较 三阴性乳腺癌的 PD-L1、MMP-9、IMP3 阳性率高于非三阴性乳腺癌(HER-2 过表达型、LuminalB 型、LuminalA 型),差异有统计学意义(P<0.05),见表 1。

2.2 不同病理分期中 PD-L1、MMP-9、IMP3 的表达比较 不同病理分期患者的 PD-L1、MMP-9、IMP3 阳性表达率比较,差异有统计学意义(P<0.05),其阳性表达率由高至低依次为Ⅳ期>Ⅲ期>Ⅱ期>Ⅰ期,见表 2。

2.3 不同组织学分级中 PD-L1、MMP-9、IMP3 的表达比较 不同组织学分级中 PD-L1、MMP-9、IMP3 的阳性表达率比较,差异有统计学意义(P<0.05),其阳性表达率由高至低依次为 3 级>2 级>1 级,见表 3。

表 1 不同组织分型中 PD-L1、MMP-9、IMP3 的表达比较[n(%)]

乳腺癌分型	n	PD-L1 阳性	MMP-9 阳性	IMP3 阳性
管腔 A 型	13	2(15.38)*	3(23.08)*	3(23.08)*
管腔 B 型	14	4(28.57)*	3(21.43)*	4(28.57)*
HER-2 过表达型	9	2(22.22)*	2(22.22)*	3(33.33)*
三阴型	24	11(45.83)	12(50.00)	14(58.33)

注:与三阴型比较,*P<0.05

表 2 不同病理分期中 PD-L1、MMP-9、IMP3 的表达比较[n(%)]

病理分期	n	PD-L1 阳性	MMP-9 阳性	IMP3 阳性
Ⅰ期	15	1(6.67)	2(13.33)	1(6.67)
Ⅱ期	28	15(53.57)	16(57.14)	14(50.00)
Ⅲ期	11	8(72.73)	9(81.82)	8(72.73)
Ⅳ期	6	6(100.00)	6(100.00)	6(100.00)
χ^2		5.647	5.253	6.758
P		0.002	0.010	0.006

表 3 不同组织学分级中 PD-L1、MMP-9、IMP3 的表达比较[n(%)]

组织学分级	n	PD-L1 阳性	MMP-9 阳性	IMP3 阳性
1 级	2	0	0	0
2 级	34	10(29.41)	11(32.35)	11(32.35)
3 级	24	11(45.83)	14(58.33)	13(54.17)
χ^2		4.157	4.142	4.126
P		0.013	0.022	0.016

2.4 不同 PD-L1、MMP-9、IMP3 表达的预后比较 PD-L1、MMP-9、IMP3 阳性患者的 BCPI 评分高于阴性患者，差异有统计学意义（$P<0.05$），见表 4。

2.5 PD-L1、MMP-9、IMP3 与病理分期、组织学分级及预后的关系 Spearman 相关性分析显示，乳腺癌组织中 PD-L1、MMP-9、IMP3 的表达与病理分期、组织学分级及 BCPI 评分呈正相关（$P<0.05$），见表 5。

表 4 不同 PD-L1、MMP-9、IMP3 表达的 BCPI 评分比较（$\bar{x}\pm s$，分）

项目	阳性	阴性	t	P
PD-L1	12.26±2.15	7.68±1.44	7.474	<0.05
MMP-9	12.56±2.32	7.71±1.39	7.821	<0.05
IMP3	12.70±2.41	7.80±1.52	7.659	<0.05

表 5 PD-L1、MMP-9、IMP3 与病理分期、组织学分级及预后的关系

项目	PD-L1 阳性		MMP-9 阳性		IMP3 阳性	
	r	P	r	P	r	P
病理分期	0.436	<0.05	0.412	<0.05	0.351	<0.05
组织学分级	0.326	<0.05	0.387	<0.05	0.473	<0.05
BCPI 评分	0.431	<0.05	0.276	<0.05	0.348	<0.05

3 讨论

PD-L1 为程序性死亡受体-1（PD-1）的配体之一，可参与机体免疫调节过程。在肿瘤微环境中，肿瘤细胞及肿瘤浸润淋巴细胞均可表达 PD-L1，由此可激活 PD-1/PD-L1 信号通路，帮助肿瘤逃脱机体免疫系统的监视与杀伤，引发免疫逃逸[10,11]。因此通过阻断 PD-1/PD-L1 通路，可促使肿瘤细胞重新受到 T 淋巴细胞的免疫监视，达到清除肿瘤细胞的目的。由此可见，PD-1/ PD-L1 信号通路在 T 淋巴细胞激活中具有一定负性调节作用，现已成为当前免疫靶向治疗的重要研究方向[12]。MMP-9 属于明胶酶的一员，多以酶原形式分泌产出，经活化后可形成Ⅳ型胶原酶，对肿瘤胞外基质中的Ⅳ、Ⅴ型胶原具有一定降解作用，可破坏基底膜屏障，导致肿瘤细胞浸出，进而向周围器官浸润，引发癌细胞侵袭及转移[13,14]。正常情况下，中性粒细胞、纤维母细胞、巨噬细胞及肿瘤细胞等均可产生 MMP-9，其活性可受到组织中 MMPs 抑制剂的严格调控，以保持平衡状态，而恶性肿瘤的出现打破这一调控平衡，导致 MMP-9 表达增强，大大提高了细胞外结构框架的降解作用，由此可引发肿瘤细胞的侵袭与转移，在恶性肿瘤细胞扩散过程中具有重要参与作用[15,16]。IMP3 属于肿瘤胚胎蛋白，在成人组织中表达较少，多集中于胚胎早期，对 RNA 运输、稳定、细胞增殖及迁移等均具有重要意义 [17]。IMP3 在多种恶性肿瘤中均伴有高度表达，该物质可结合胰岛素样生长因子Ⅱ（IGFⅡ）的转录物，刺激细胞增殖，进而改变肿瘤细胞的数量，以此调节其生物学活性，其表达高低与肿瘤的侵袭性、进展、转移、预后等情况密切相关[18]。

本研究发现，三阴性乳腺癌的 PD-L1、MMP-9、IMP3 阳性率高于非三阴性乳腺癌（$P<0.05$），提示 PD-L1、MMP-9、IMP3 在三阴性乳腺癌中的阳性表达率最高。分析认为，三阴性乳腺癌属于免疫原性肿瘤，该类型侵袭性高、分化差、转移多，免疫逃逸较为明显，因而 PD-L1、MMP-9、IMP3 阳性表达相对较高[19-21]。另外，PD-L1、MMP-9、IMP3 在不同病理分期及组织学分级中的阳性表达率存在差异，且经 Spearman 相关性分析，乳腺癌组织中 PD-L1、MMP-9、IMP3 阳性表达与其病理分期、组织学分级呈正相关（$P<0.05$），表明不同病理分期及组织学分级中的 PD-L1、MMP-9、IMP3 表达存在明显差异。分析原因：肿瘤微环境及肿瘤细胞可分泌干扰素 γ 等炎症细胞因子，以此诱导 PD-L1 的表达；同时，肿瘤细胞中多种癌基因及信号通路的异常激活对 PD-L1 也具有一定调控作用，随着淋巴浸润程度及肿瘤扩散风险的增大，其诱导作用随之增强，PD-L1 表达更为显著[22,23]。同时，乳腺癌组织侵袭及转移程度与癌组织中细胞黏附分子表达下降存在密切相关，MMP-9 表达增强可加重肿瘤细胞基膜的破坏，因此其浸润及扩散程度可从侧面反映 MMP-9 表达水平的高低，浸润、扩散程度越大，MMP-9 表达越高[24]。IMP3 可通过调节 IGFⅡ控制肿瘤的生物学行为，促

使细胞黏附、细胞质铺展及侵袭伪足的形成，在肿瘤侵袭与转移中具有重要作用，其病理分期及组织学分级可随着 IMP3 表达增强而加重[25]。此外，PD-L1、MMP-9、IMP3 阳性患者的 BCPI 评分高于阴性患者（$P<0.05$），提示 PD-L1、MMP-9、IMP3 阳性表达的患者预后生存相对较差。经 Spearman 相关性分析可知，乳腺癌组织中 PD-L1、MMP-9、IMP3 阳性表达与 BCPI 评分呈正相关（$P<0.05$）。其中，BCPI 评分可用于评估总体生存概率及无瘤生存概率，其分数高低与生存概率呈负相关[26]，结合本次结果说明，PD-L1、MMP-9、IMP3 阳性表达与乳腺癌患者预后生存呈负相关，上述指标可作为乳腺癌不良预后的重要预测指标。邱志敏等[27]研究认为，PD-L1 是影响乳腺癌患者生存的独立不良预后因素，其阳性表达越高，预示患者生存率越低，这与本次研究观点高度一致。而 MMP-9 则可反映肿瘤浸润、扩散程度，与患者预后生存存在较大关系。IMP3 的表达与高组织学分级及肿瘤细胞的坏死密切相关，其表达高低亦可用于患者的预后评估。

综上所述，PD-L1、MMP-9、IMP3 在三阴性乳腺癌组织中呈高表达，其阳性表达与患者病理分期、组织学分级呈正相关，对患者预后生存具有一定的预测价值。

参考文献：

[1]李莹莹,董丽儒,李宇阳,等.PD-1/PD-L1 在非特殊型浸润性乳腺癌中的表达及意义 [J]. 广东医学,2018,39 (11):1690-1693.

[2]Yi Y,Sun L,Hung MC,et al.Exosomal PD-L1 harbors active defense function to suppress T cell killing of breast cancer cells and promote tumor growth[J].Cell Research,2018,28(8):862-864.

[3]耿卫朴.人乳腺癌中共刺激分子 PD-L1、PD-L2 的表达及其临床意义[J].临床与实验病理学杂志,2017,33(1):59-62.

[4]赵帅,肖琳.Nm23、IMP3 蛋白在乳腺浸润性导管癌组织中的表达及其临床意义[J].肿瘤基础与临床,2017,30(2):101-103.

[5]苗天培,张震宇,李中.三阴性乳腺癌患者 PD-1/PD-L1 通路表达改变及临床意义 [J]. 湖南师范大学学报 (医学版),2020,17(3):176-178.

[6]侯欣喜,耿文静,吴又明.MMP-9 和 MTDH 在乳腺癌中的表达及其临床病理学特征的关系[J].诊断病理学杂志,2019,26(11):728-730,759.

[7]汤红平,陈国艳,梁冠男,等.IMP3 在乳腺癌和癌前病变中的表达及临床意义[J].齐齐哈尔医学院学报,2019,40(12):1455-1458.

[8]黄亮亮,吕俊远,唐应麒,等.乳腺癌分子分型与临床病理特征的相关性研究[J].重庆医学,2019,48(10):1701-1704.

[9]Al-Maghrabi J,Al-Sakkaf K,Qureshi IA,et al.AMPK expression patterns are significantly associated with poor prognosis in breast cancer patients[J].Annals of Diagnostic Pathology,2017,29:62-67.

[10]任殿泉,冯立文,乌仁高娃.PD-L1 和 miR-34a 在三阴乳腺癌中的表达及相关性研究[J].诊断病理学杂志,2020,27(1):38-41.

[11]张凤春,张硕渊,陈天恩,等.PD-1/PD-L1 通路在三阴性乳腺癌预后预测及治疗中的意义[J].上海交通大学学报(医学版),2020,40(1):128-133.

[12]骆丽,杨清麟,胡艳萍,等.PD-1 及 PD-L1 在三阴性乳腺癌中差异性表达及与临床病理特征关系的研究[J].现代肿瘤医学,2019,27(20):3628-3633.

[13]于秀艳,张晓伟,野丽莉,等.hMAM 联合 MMP-9 和 C-erbB2 mRNA 表达检测在乳腺癌外周血微转移诊断中的应用[J].吉林大学学报(医学版),2017,43(5):1009-1014.

[14]张阿娜.乳腺癌组织中 VEGF-D、MMP-2 及 MMP-9 的表达及其临床意义[J].实用癌症杂志,2016,31(2):198-201.

[15]欧小波,周密.ADAM15、MMP-2 和 MMP-9 在不同转移能力乳腺癌细胞系中的表达差异[J].基础医学与临床,2016,36(2):227-231.

[16]刘辉,吕丽琼,莫小勤,等.MMP-2、MMP-7、MMP-9、TIMP-1 及 TIMP-2 在乳腺癌组织中的表达及意义[J].现代生物医学进展,2015,15(16):3046-3048,3200.

[17]赵雅男,张美云.PD-1/PD-L1 通路在乳腺癌治疗中的作用及意义[J].现代肿瘤医学,2019,27(18):3315-3318.

[18]李蕾,陈平,潘燕,等.PD-L1 与肿瘤浸润性淋巴细胞在浸润性导管乳腺癌中表达的相关性[J].广东医学,2019,40(5):702-705.

[19]程敏,史玉洁,孔令非.乳腺癌中 p53、PD-1 和 PD-L1 的表达及相关性分析 [J]. 临床与实验病理学杂志,2018,34(12):1307-1310.

[20]赵凌云.血清 MMP?9 和 LCN?2 水平在乳腺癌患者中表达意义及相关性分析 [J]. 分子诊断与治疗杂志,2020,12(6):756-759.

[21]张燕,郭爱萍,张晓君,等.三阴性乳腺癌组织 PD-L1 和 HIF-1α 表达临床意义 [J]. 中华肿瘤防治杂志,2018,25(18):1303-1307.

[22]朱健龙,刘涛,邹丹丹,等.肿瘤细胞及间质肿瘤浸润淋巴细胞 PD-L1 表达与三阴性乳腺癌临床病理特征及预后的关系[J].中国现代普通外科进展,2020,23(6):474-476.

[23]Hartkopf AD,Taran FA,Wallwiener M,et al.PD-1 and PD-L1 Immune Checkpoint Blockade to Treat Breast Cancer [J]. Breast Care,2016,11:385-390.

[24]黄榕权,谢燕清,张雅洁.MMP-2、MMP-9 和 VEGF-D 在乳腺癌中的表达及其与肿瘤淋巴管新生的关系[J].广东医学,2014,35(13):2072-2074.

[25]方明,康乐,陈英杰,等.Smoothened、STAT3 和 MMP-9 在三阴性乳腺癌中的表达及临床意义 [J]. 中国免疫学杂志,2014,30(6):821-824,830.

[26]Bai XY,Li S,Miao W,et al.Krüppel-like factor 9 down-regulates matrix metalloproteinase 9 transcription and suppresses human breast cancer invasion [J].Cancer Letters,2018,412 (2):224-235.

[27]邱志敏,王美鎏,付爱荣,等.程序性死亡因子配体 1(PD-L1)在乳腺癌中的表达及其与临床病理参数的关系和预后分析[J].实用癌症杂志,2018,33(11):1784-1787,1790.

收稿日期：2022-01-03；修回日期：2022-01-15
编辑/成森