

◇临床医学研究◇

基质金属蛋白酶 12 泛癌特征及其作为血清标志物的价值

贾 敏^{1,2,3}, 邓庆梅^{1,2,3}, 王惠芬³, 万晓枫³, 王宏志^{1,2,3}, 杨武林^{2,3}⁽¹⁾ 安徽理工大学医学院, 淮南 232001; ⁽²⁾ 中国科学院合肥物质科学研究院健康与医学技术研究所, 合肥 230031; ⁽³⁾ 中国科学院合肥肿瘤医院医学病理中心, 合肥 230031)

摘要 **目的** 探讨基质金属蛋白酶 12(MMP12)作为泛癌标志物的特征,评估其作为肿瘤血清标志物的筛查价值。**方法** 利用 GEPIA2、GSCA 和 cBioPortal 等生物信息工具对 TCGA 泛癌症数据集进行 MMP12 泛癌特征分析,包括 MMP12 mRNA 基因差异表达分析、预后分析、DNA 甲基化分析、基因结构变异分析及免疫微环境分析。进一步收集肺腺癌、乳腺癌、食管鳞癌、胃癌、肝细胞癌及健康人群血清,ELISA 检测血清中 MMP12 的表达,ROC 曲线下面积评估 MMP12 的筛查效能。随访食管鳞癌患者 28 例,比较 19 例疾病进展组和 9 例稳定组间 MMP12 血清水平。**结果** 泛癌特征分析显示,MMP12 mRNA 的表达与其启动子 DNA 甲基化呈负相关关系($P < 0.05$),与基因拷贝数变异呈正相关关系($P < 0.05$)。与癌旁正常组织相比,MMP12 mRNA 在 14 种癌组织中的表达上调($P < 0.05$),并且与癌症患者的预后不良相关($P < 0.05$)。免疫相关分析显示,MMP12 与免疫、基质细胞的浸润、肿瘤突变负荷(TMB)及微卫星不稳定性(MSI)显著相关($P < 0.05$)。ROC 曲线分析显示,MMP12 可作为筛查肺腺癌、乳腺癌、食管鳞癌、胃癌及肝细胞癌的潜在生物标志物。食管鳞癌为期 30 个月的随访发现,疾病进展组 MMP12 的表达高于稳定组。**结论** MMP12 是一种潜在的泛癌筛查和预后标志物。

关键词 MMP12;泛癌症;血清;筛查;预后;标志物

中图分类号 R 446.6

文献标志码 A

癌症是威胁人类健康的第二大杀手^[1]。癌症的早期诊断、规范化治疗及后期随访是改善癌症患者生存期的关键因素。肿瘤标志物贯穿癌症筛查、诊断、疗效及复发的全过程,但是存在作用单一,灵敏度、特异度不够高及检测方法复杂化等问题^[2]。因此,寻找在多种肿瘤中发挥作用的标志物对癌症的诊疗至关重要。基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)属于锌依赖性蛋白酶,参与基质重塑、血管生成及炎症反应等^[3]。近年来,基质金属蛋白酶 12(matrix metalloproteinase-12, MMP12)作为一种分泌蛋白,参与降解细胞外基质,调节肿瘤细胞增殖转移等,受到学术界越来越多的关注^[4-5]。本研究利用生物信息学分析工具对 MMP12 泛癌症特征进行全面探索,包括 MMP12 mRNA 基因差异表

达分析、预后分析、DNA 甲基化分析、基因结构变异分析及免疫微环境分析;运用免疫组化和酶联免疫吸附实验方法验证 MMP12 在癌症组织中的表达、多种癌症中筛查的价值及对 ESCC 预后的评估作用。

1 材料与方法

1.1 研究对象 从 TCGA 数据库(The Cancer Genome Atlas, <https://portal.gdc.cancer.gov/>)下载 33 种肿瘤类型的 RNA-seq 数据。在中国科学院合肥肿瘤医院收集初诊初治癌症患者、健康人群血清及 5 对食管鳞癌癌组织及癌旁组织,其中肺腺癌 68 例,男 30 例,女 38 例,平均年龄(62.47 ± 11.34)岁、乳腺癌 61 例,均为女性,平均年龄(56.28 ± 12.68)岁、食管鳞癌 60 例,男 48 例,女 12 例,年龄[73.00(69.00, 80.00)]岁、胃癌 59 例,男 43 例,女 16 例,年龄[68.00(59.00, 75.00)]岁、肝细胞癌 39 例,男 31 例,女 8 例,平均年龄(58.31 ± 10.20)岁,癌症患者与健康对照组的年龄、性别相比均无统计学差异($P > 0.05$)。本研究经过了中国科学院合肥肿瘤医院伦理委员会批准(批件号:PJ-KY2023-093)。

2025-01-18 接收

基金项目:国家自然科学基金项目(编号:81872276);安徽省卫生健康科研项目(编号:AHWJ2021b142)

作者简介:贾 敏,女,硕士研究生;

王宏志,男,硕士,教授级高级工程师,博士生导师,通信作者, E-mail: wanghz@hfcas.ac.cn;

杨武林,男,博士,研究员,博士生导师,通信作者, E-mail: yangw@cmpt.ac.cn

1.2 生物信息分析

1.2.1 MMP12 mRNA 在 33 种肿瘤中的差异表达及预后价值分析 运用 R 包“ggpubr”统计软件分析下载自 TCGA 数据库的 33 种肿瘤组织与正常组织 MMP12 mRNA 的表达差异。GSCA(Gene Set Cancer Analysis, <http://bioinfo.life.hust.edu.cn/GSCA/#/>)分析工具评估 TCGA 数据集中 33 种肿瘤 MMP12 mRNA 的表达与患者的总生存期(overall survival, OS)、疾病特异性生存期(disease specific survival, DSS)、无疾病间期(disease-free interval, DFI)和无进展生存期(progression-free interval, PFI)的关系,生存分析采用 Cox 回归模型,并用 Log-rank 检验进行生存曲线的比较。

1.2.2 MMP12 的 DNA 甲基化分析 采用 GSCA 分析工具评估 TCGA 数据集中肿瘤组织与正常组织 MMP12 启动子的甲基化差异及 MMP12 DNA 甲基化与肿瘤患者 OS、DSS、DFI 和 PFI 的相关性。

1.2.3 MMP12 的基因突变分析 cBioPortal 分析工具评估 TCGA 数据集中 MMP12 基因的突变类型及频率;GSCA 分析工具评估不同肿瘤中基因拷贝数变异(gene copy number variation,CNV)与 MMP12 mRNA 表达的关系及对 OS、DSS、DFI 和 PFI 的影响。

1.2.4 MMP12 mRNA 与免疫微环境及肿瘤突变负荷(tumor mutational burden,TMB)、微卫星不稳定性(microsatellite instability,MSI)的相关性分析 利用 R 软件包“estimate”和“limma”计算 TCGA 数据库中肿瘤样本的 ESTIMATE 评分、免疫评分和基质评分;R 软件包“limma”、“ggplot2”和“reshape2”分析 TCGA 数据库中不同的肿瘤免疫亚型中 MMP12 mRNA 的表达差异并绘图;R 软件包“reshape2”和“Color Brewer”评估 33 种癌症 MMP12 mRNA 的表达与免疫相关基因的关系并绘图;并计算 TMB、MSI 评分,以及与 MMP12 表达的相关性,运用 R 软件包“fmsb”绘制 TMB、MSI 与 MMP12 mRNA 表达的雷达图。

1.3 酶联免疫吸附实验(enzyme linked immunosorbent assay,ELISA) 收集受试者血清,采用 ELISA 检测试剂盒(武汉华美生物有限公司,货号:E13208h)测定血清 MMP12 蛋白浓度。于包被有 MMP12 抗体的 96 微孔板内加入标准品及待测血清样本各 100 μ l,37 $^{\circ}$ C 室温孵育 2 h 后弃去液体,加入生物素标记抗体工作液 100 μ l,孵育 1 h 后弃去液体,洗板 5 次,每次浸泡 2 min,甩干后再加入辣根过

氧化物酶标记亲和素工作液 100 μ l,孵育 1 h 后弃去液体,洗板 3 次,每次浸泡 2 min,再加入底物溶液 90 μ l,37 $^{\circ}$ C 避光显色 15 ~ 30 min,加入终止液 50 μ l,5 min 内用酶标仪(上海美谷分子仪器有限公司,型号:CMax Plus)在 450 nm 波长下读数取 OD 值。

1.4 磁微粒免疫化学发光法(chemiluminescence immunoassay,CLIA) 癌胚抗原(carcinoembryonic antigen,CEA)、神经元特异性烯醇化酶(neuron-specific enolase,NSE)、细胞角蛋白 21-1(Cyfra21-1)、糖类抗原 125(carbohydrate antigen 125,CA125)、鳞状细胞癌抗原(squamous cell carcinoma antigen,SCC)、胃泌素释放肽前体(pro-gastrin releasing peptide,ProGRP)、糖类抗原 153(carbohydrate antigen 153,CA153)、糖类抗原 19-9(carbohydrate antigen 19-9,CA19-9)、糖类抗原 125(carbohydrate antigen 72-4,CA72-4)和甲胎蛋白(Alpha-fetoprotein,AFP)采用磁微粒免疫化学发光法,通过全自动化学发光免疫分析仪(郑州安图生物工程股份有限公司,型号:A6200)及系列配套试剂盒(郑州安图生物工程股份有限公司,CEA 药品识别码:06970150900076, NSE 药品识别码:06970150900007, Cyfra21-1 药品识别码:06975577172877, CA125 药品识别码:06970150900151, SCC 药品识别码:06970150900205, ProGRP 药品识别码:06970150901363, CA153 药品识别码:06970150900168, CA19-9 药品识别码:06970150900175, CA72-4 药品识别码:06970150900229, AFP 药品识别码:06970150900052)进行检测。

1.5 免疫组化(immunohistochemistry,IHC) 对食管鳞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)癌组织及癌旁组织石蜡切片进行 IHC 染色,检测 MMP12 的蛋白水平。脱蜡水化后的切片经抗原修复后,用 10%的山羊血清封闭 1 h。加入 1 : 100 的 MMP12 一抗稀释液(英国生命科学试剂和工具公司,货号:AB137444)4 $^{\circ}$ C 过夜孵育,TBST 洗涤 3 次后,滴加酶标山羊抗小鼠/兔二抗(福州迈新生物技术开发有限公司,货号:KJ02228407)室温孵育 30 min。DAB 显色后,中性树胶封片。以细胞外基质出现棕黄色颗粒为阳性表达,依据染色强度与着色细胞百分比进行评分;染色强度评分标准:基本不着色为 0 分,淡黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,黄褐色为 3 分;阳性细胞百分比评分标准:<5% 为 0 分;5% ~ 25% 为 1 分;25.1% ~ 50% 为 2 分;50.1% ~ 75% 为 3 分;>75% 为 4 分。IHC 评分等于染色强度评分与阳性细胞百分比评分的乘积(0 分:-;1 ~ 4 分:

+;5~8分:++;9~12分:+++);结果评定标准:≤4为阴性,>4为阳性。

1.6 统计学处理 采用SPSS 26.0、GraphPad Prism 9和R4.3.0软件进行数据统计与分析。两组间性别的比较采用 χ^2 检验、年龄比较采用 t 检验或Mann-Whitney U 检验,MMP12及常规肿瘤标志物血清蛋白浓度的比较采用Mann-Whitney U 检验。ROC曲线下面积评估各项指标的筛查效能,两指标间AUC的比较采用Delong检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MMP12 mRNA在多种肿瘤中的表达及预后价值 基于TCGA数据库分析MMP12 mRNA在14种肿瘤中高表达:乳腺癌(breast invasive carcinoma, BRCA)、宫颈鳞癌和腺癌(cervical squamous cell carcinoma and endocervical adenocarcinoma, CESC)、胆管癌(cholangiocarcinoma, CHOL)、结肠癌(colon adenocarcinoma, COAD)、食管癌(esophageal carcino-

ma, ESCA)、头颈鳞状细胞癌(head and neck squamous cell carcinoma, HNSC)、肝细胞癌(liver hepatocellular carcinoma, LIHC)、肺腺癌(lung adenocarcinoma, LUAD)、肺鳞癌(lung squamous cell carcinoma, LUSC)、前列腺癌(prostate adenocarcinoma, PRAD)、直肠腺癌(rectum adenocarcinoma, READ)、胃癌(stomach adenocarcinoma, STAD)、甲状腺癌(thyroid carcinoma, THCA)和子宫内膜癌(uterine corpus endometrial carcinoma, UCEC)(均 $P<0.05$,图1A)。其余癌症的英文全称及缩写见表1。GSCA工具分析显示高MMP12表达的ACC、KIRC、UVM、LIHC、ESCA、PAAD、SARC患者预后更差,表现为ACC、KIRC、UVM患者OS、PFS、DSS更短,LIHC患者的OS更短,ESCA患者的PFS、DSS更短,PAAD患者PFS、DSS和DFI更短,SARC患者PFS和DFI更短;而高MMP12表达STAD、COAD和OV患者预后更好,表现为STAD患者OS、PFS、DSS和DFI更长,COAD患者的DFI更长;OV患者的PFS更长(图1B)。

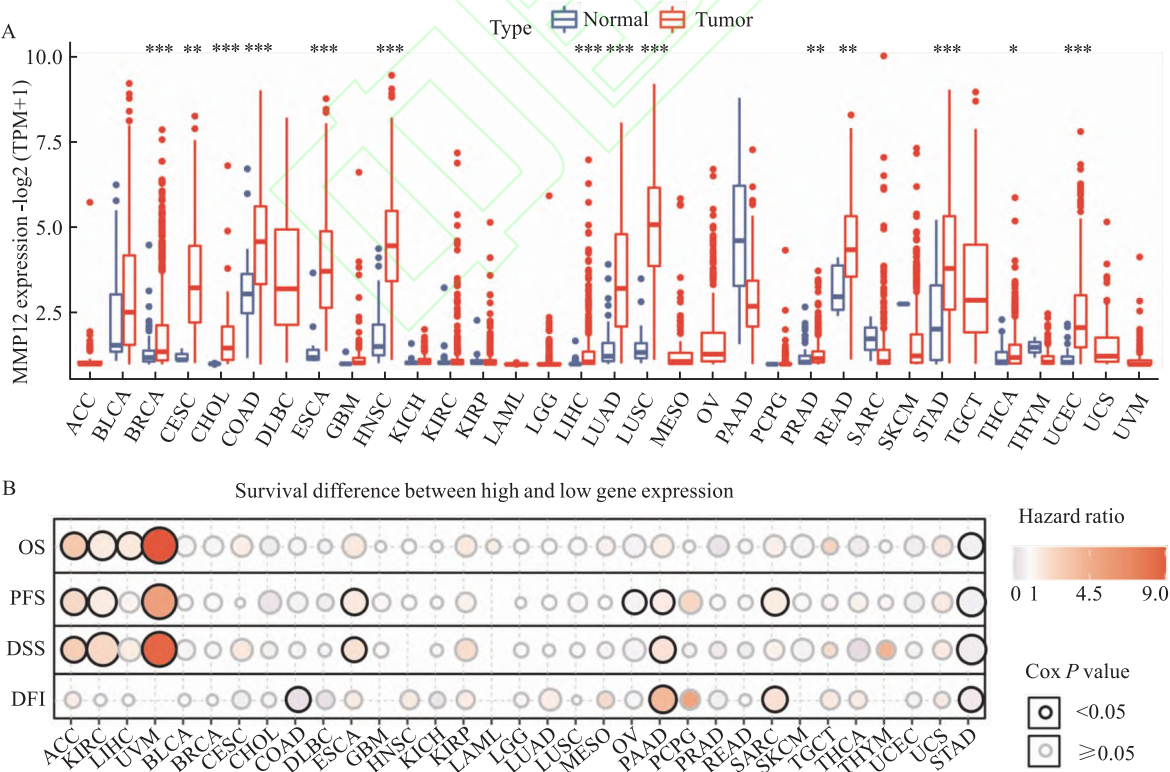


图1 在33种癌症中MMP12的mRNA表达及预后价值

Fig.1 mRNA expression and prognostic value of MMP12 in 33 cancers

A: Analysis of MMP12 expression in different cancers based on TCGA database; B: Cox regression was used to analyze the differences in survival indicators OS, PFS, DSS, and DFI of 33 cancer patients in the high expression group of MMP12 mRNA vs the low expression group. * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ vs normal tissue.

表 1 缩略词对照表
Tab.1 Abbreviations cross-reference table

Abbreviations	Full name in English
ACC	Adrenocortical carcinoma
BLCA	Bladder urothelial carcinoma
READ	Rectum adenocarcinoma esophageal carcinoma
DLBC	Lymphoid neoplasm diffuse large B-cell lymphoma
GBM	Glioblastoma multiforme
KICH	Kidney chromophobe
Abbreviations	Full name in English
KIRC	Kidney renal clear cell carcinoma
KIRP	Kidney renal papillary cell carcinoma
LGG	Brain lower grade glioma
MESO	Mesothelioma
OV	Ovarian serous cystadenocarcinoma
PAAD	Pancreatic adenocarcinoma
SARC	Sarcoma
SKCM	Skin cutaneous melanoma
TGCT	Testicular germ cell tumors
THYM	Thymoma
UCS	Uterine carcinosarcoma
UVM	Uveal melanoma

2.2 *MMP12* 的 DNA 甲基化分析 GSCA 工具分析显示,与正常组织相比,ESCA、LUSC、LUAD、THCA、HNSC、KIRC、BRCA、COAD、LIHC、UCEC 肿瘤组织的 *MMP12* 启动子甲基化水平降低(图 2A)。在 KIRP、THYM、UVM、SKCM、TGCT、LUAD、CESC、BRCA、KICH、KIRC 和 STAD 中 *MMP12* mRNA 表达水平与 DNA 甲基化水平呈负相关,而在 BLCA 和 LIHC 中呈正相关(均 $P < 0.05$,图 2B)。在 KIRP、UVM、KIRC、LGG、BLCA 患者中,*MMP12* 启动子高甲基化水平的患者 OS 更长;*MMP12* 启动子高甲基化的 KIRP、UVM、KIRC、LGG、LUAD、BLCA 患者有较长的 PFS 和 DSS;高 *MMP12* 启动子甲基化水平在 LUAD 中有较好的 DFI。而高启动子甲基化的 GBM 患者的 PFS 短,PAAD 患者的 DFI 短,UCEC 患者的 OS、DSS 短(图 2C)。这些结果表明在多数癌症类型中,高甲基化是预后有利因素。

2.3 *MMP12* 的基因突变分析 cBioPortal 分析结果显示,宫颈鳞状细胞癌、头颈鳞癌、卵巢上皮性肿

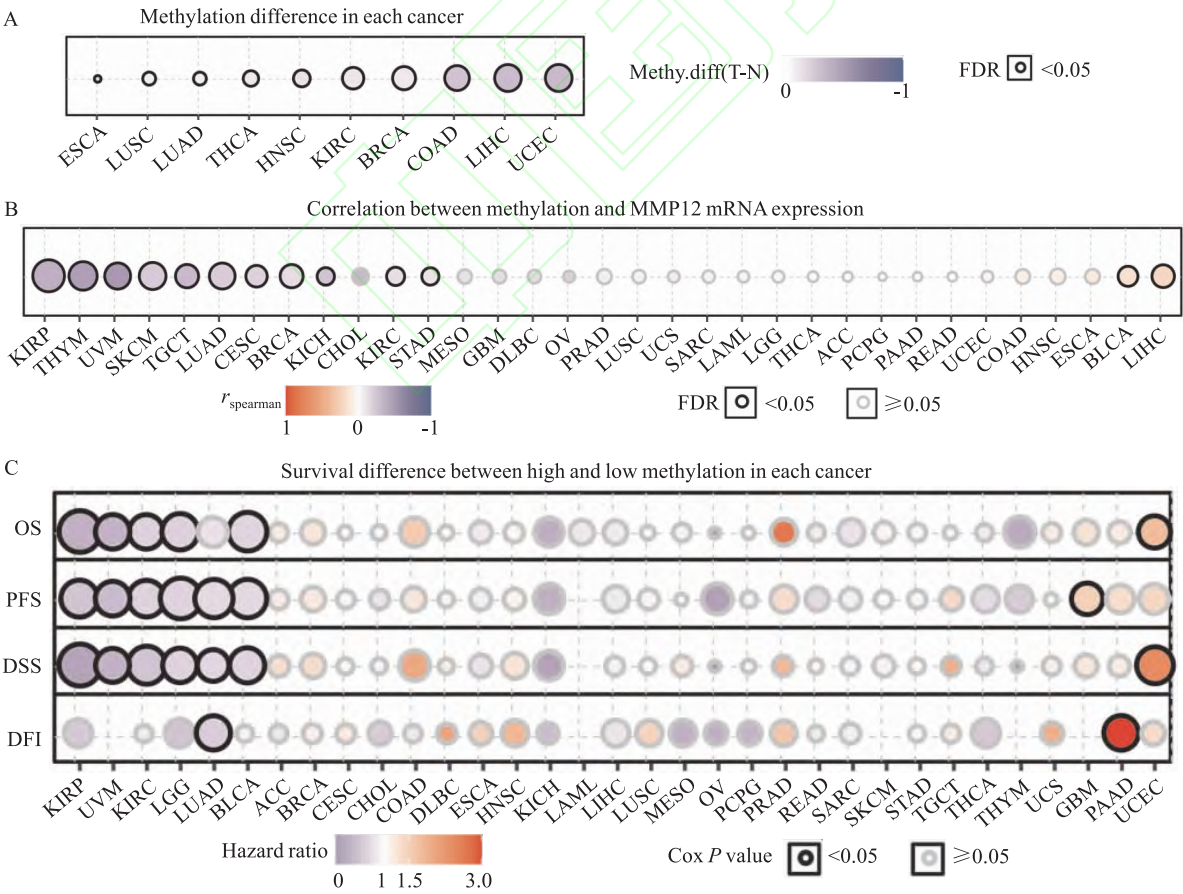


图 2 *MMP12* 基因启动子的甲基化分析

Fig.2 Methylation analysis of *MMP12* gene promoter

A: Comparison of *MMP12* promoter methylation levels in cancer tissues and adjacent normal tissues; B: Correlation between *MMP12* mRNA expression and DNA promoter methylation levels; C: The differences of OS, PFS, DSS, and DFI between the *MMP12* promoter hypermethylation group and hypomethylation group evaluated using Cox regression model.

瘤及食管鳞状细胞癌等多数肿瘤存在 *MMP12* 基因扩增形式的改变(见图4A),且检测到6个剪接体突变位点(图4B)。编码基因位点的拷贝数变异可通过基因剂量效应直接影响其编码产物的表达水平。基于 GSCA 数据库评估表明,在 SARC、SKCM 及 BRCA 中,*MMP12* mRNA 的表达与 CNV 呈正相关($P<0.05$,图4C)。此外,预后评估表明,高 CNV 的

ACC、LGG 患者 OS、PFS、DSS 更短,KIRP、UCEC 患者的 OS、PFS、DSS 和 DFI 更短,KIRC 患者的 OS、DSS 更短,LUAD 和 MESO 的 DFI 更短,TGCT 患者的 PFS 和 DFI 更短,THCA 患者的 PFS、DSS 和 DFI 更短,UVM 患者的 PFS 更短(图4D),提示 *MMP12* 的表达受基因扩增及 CNV 变异的影响,从而促进肿瘤进展。

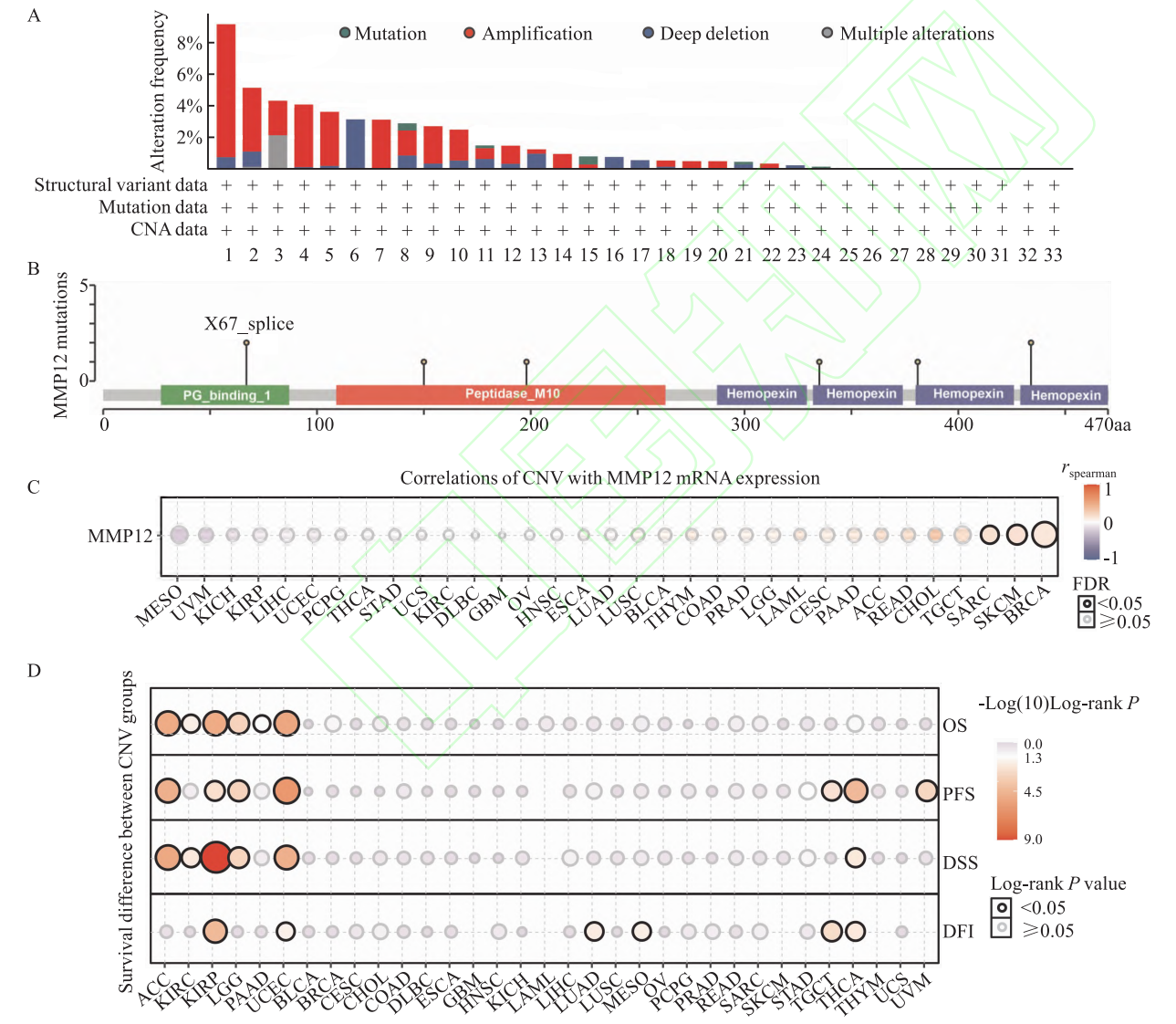


图3 不同癌症类型的 *MMP12* 突变特征

Fig.3 Characteristics of *MMP12* mutations in different cancer types

A: Types and frequencies of genetic alterations in *MMP12* in pan-cancer; 1: Cervical Squamous Cell Carcinoma; 2: Head and Neck Squamous Cell Carcinoma; 3: Cervical Adenocarcinoma; 4: Ovarian Epithelial Tumor; 5: Bladder Urothelial Carcinoma; 6: Seminoma; 7: Esophageal Squamous Cell Carcinoma; 8: Melanoma; 9: Sarcoma; 10: Esophagogastric Adenocarcinoma; 11: Endometrial Carcinoma; 12: Non-Small Cell Lung Cancer; 13: Invasive Breast Carcinoma; 14: Leukemia; 15: Glioblastoma; 16: Thymic Epithelial Tumor; 17: Prostate Glioma; 18: Diffuse Glioma; 19: Pancreatic Adenocarcinoma; 20: Hepatocellular Carcinoma; 21: Colorectal Adenocarcinoma; 22: Renal Clear Cell Carcinoma; 23: Renal Non-Clear Cell Carcinoma; 24: Well-Differentiated Thyroid Cancer; 25: Adrenocortical Carcinoma; 26: Cholangiocarcinoma; 27: Mature B-Cell Neoplasms; 28: Pleural Mesothelioma; 29: Pheochromocytoma; 30: Miscellaneous Neuroepithelial Tumor; 31: Undifferentiated Stomach Adenocarcinoma; 32: Non-Seminomatous Germ Cell Tumor; 33: Ocular Melanoma; B: Map of *MMP12* full sequence mutations obtained through the cBioPortal database; C: Correlation between *MMP12* mRNA expression and CNV; D: Differences in OS, PFS, DSS, and DFI of cancer patients in different CNV groups were analyzed by Cox regression in different cancers.

2.4 MMP12 mRNA 与肿瘤免疫微环境及 TMB、MSI 的相关性 在 CHOL、COAD 等肿瘤中 MMP12 mRNA 高表达伴随较高的免疫细胞和基质细胞的浸润 (见图 4A)。MMP12 mRNA 的表达在 C2 亚型 (IFN- γ 为主型) 中表达最高, 其次是 C1 (伤口愈合型) 和 C6 型 (TGF- β 为主型) (图 4B)。此外, 在 LUAD、LIHC 等肿瘤中 MMP12 mRNA 表达与 PD-CD1、CD44、IDO1 等多种免疫检查点显著正相关 (图 4C), 可降低免疫细胞活性, 抑制机体的抗肿瘤免疫

应答。TMB 和 MSI 通常是预测肿瘤免疫治疗的潜在生物标志物。MMP12 mRNA 的表达与 LUAD、BRCA 等癌症类型的 TMB 正相关 ($P < 0.05$, 图 4D); MMP12 mRNA 与 COAD、STAD 等癌症类型的 MSI 呈正相关, 与 LUSC、HNSC 等癌症类型的 MSI 呈负相关 ($P < 0.05$, 图 4E)。因此, MMP12 与免疫微环境高度相关, 可能通过免疫微环境影响肿瘤的发生发展。

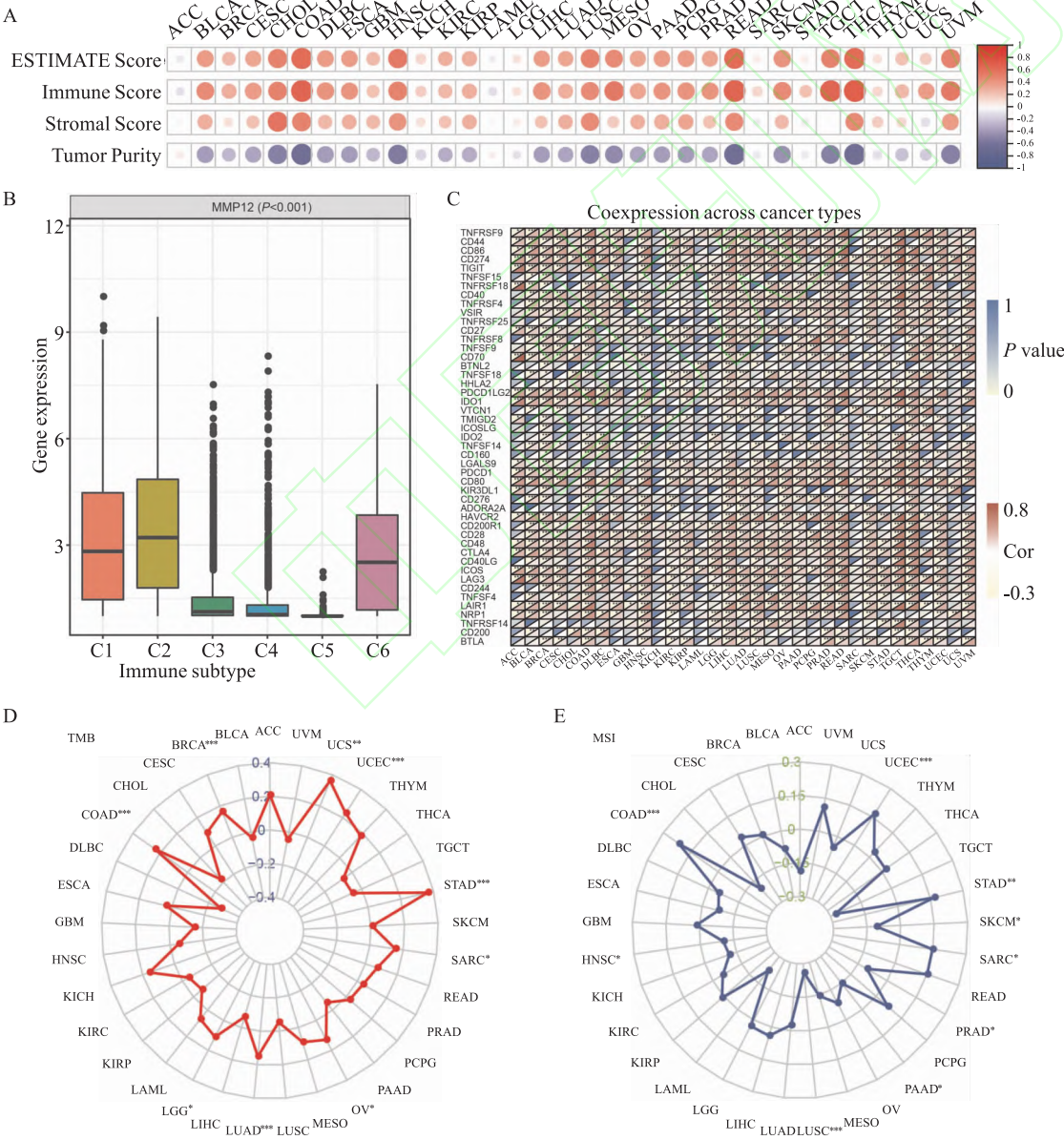


图 4 MMP12 mRNA 与肿瘤免疫微环境及 TMB、MSI 的相关性

Fig. 4 Correlation of MMP12 mRNA with tumor immune microenvironment, TMB, and MSI

A: Correlation of MMP12 mRNA expression with ESTIMATE score, immune score, stromal score and tumor purity; B: Differential expression of MMP12 in six different immunosubtypes, where C1 is wound healing, C2 is IFN-gamma dominant, C3 is inflammatory, C4 is lymphocyte depletion, C5 is immunological quiet and C6 is TGF-beta dominant; C: Association of MMP12 expression with different immune genes in pan-cancer; D: Correlation of MMP12 mRNA expression with TMB; E: Correlation of MMP12 mRNA expression with MSI; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

2.5 MMP12 作为血清标志物的筛查和预后价值

LUAD、BRCA、ESCC、STAD 及 LIHC 组血清 MMP12 浓度中位值分别为 4.95 (3.48, 7.50) $\mu\text{g/L}$ 、5.55 (3.77, 9.85) $\mu\text{g/L}$ 、6.09 (4.24, 12.86) $\mu\text{g/L}$ 、7.12 (4.77, 11.49) $\mu\text{g/L}$ 和 9.11 (6.59, 14.01) $\mu\text{g/L}$ ；血清 MMP12 筛查 LUAD、BRCA、ESCC、STAD 及 LIHC 的 AUC 分别为 0.821、0.834、0.914、0.933 和 0.961 (见图 5)，其中 LUAD 组 MMP12 的 AUC 显著优于常规标志物 SCC ($Z = 3.088, P < 0.05$)，BRCA 组 MMP12 显著优于 CA153 ($Z = 2.602, P < 0.05$)，

ESCC 组 MMP12 显著优于 CEA ($Z = 3.054, P < 0.05$) 和 CYFRA21-1 ($Z = 3.006, P < 0.05$)，STAD 组显著优于 CA72-4 ($Z = 5.567, P < 0.05$)，CA125 ($Z = 3.445, P < 0.05$)、CEA ($Z = 3.497, P < 0.05$) 和 CA19-9 ($Z = 4.747, P < 0.05$)，其余无统计学差异 ($P > 0.05$)。血清 MMP12 早期诊断 LUAD、BRCA 及 ESCC 的 AUC 分别为 0.779、0.816 和 0.968，其中 ESCC 组 AUC 显著优于 CEA ($Z = 3.405, P < 0.05$) 和 CYFRA21-1 ($Z = 3.322, P < 0.05$)。

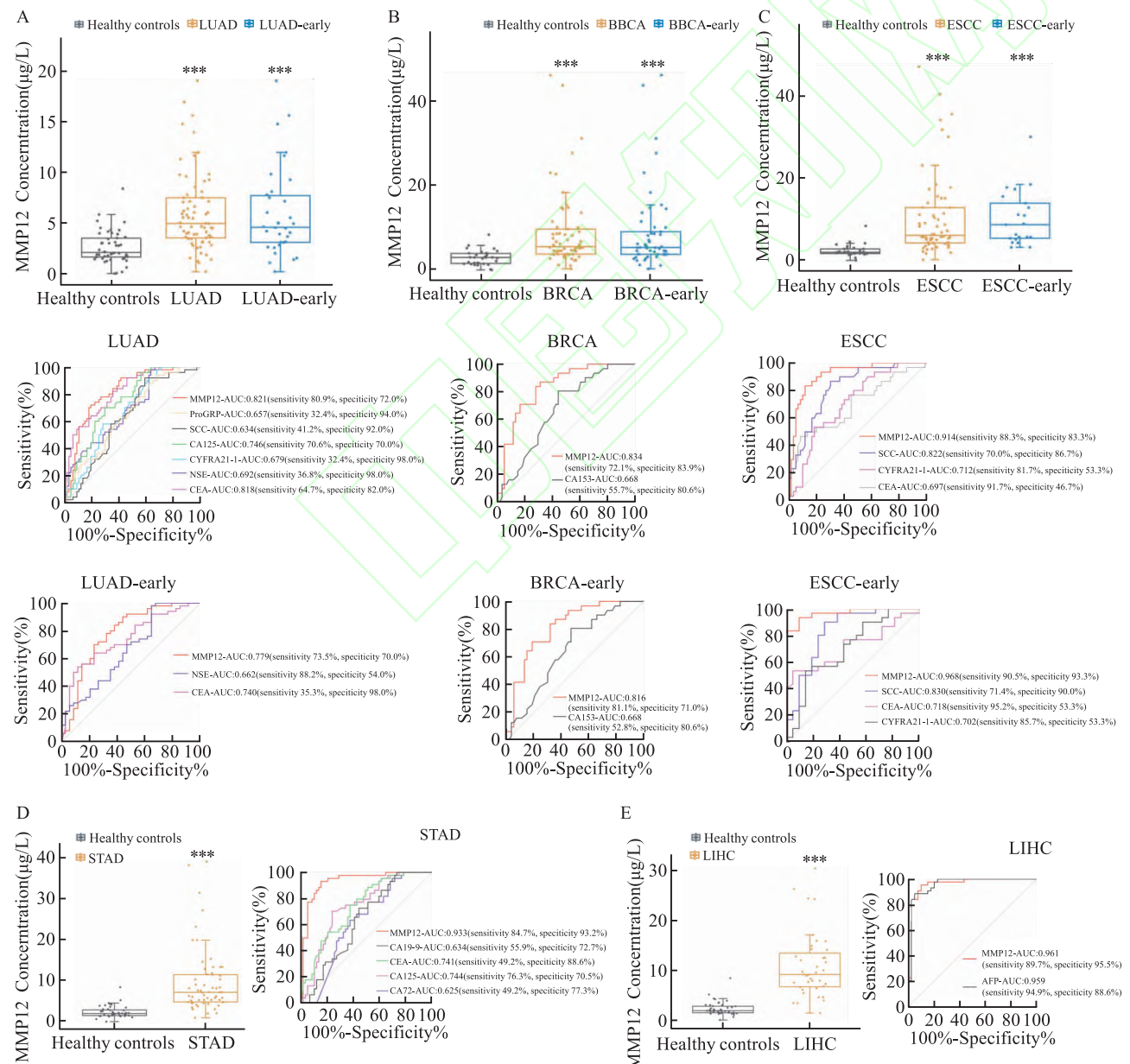


图5 MMP12 在肿瘤中的筛查效能

Fig.5 Screening efficacy of MMP12 in tumors

A - E: Comparison of screening efficacy of MMP12 with conventional tumor markers in LUAD (A), BRCA (B), ESCC (C), STAD (D), LIHC (E). * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs Healthy controls.

对 28 例 ESCC 患者进行 30 个月的随访,19 例疾病进展患者血清 MMP12 水平为 6.789 (5.009, 15.113),9 例稳定患者为 5.717 (4.287, 12.851),疾病进展患者 MMP12 水平高于稳定患者,但差异无显著统计学意义($Z = -0.271, P > 0.05$)。

2.6 MMP12 蛋白在肿瘤组织中表达 IHC 方法检测随机挑选血清 MMP12 阳性的 5 对 ESCC 患者癌组织及癌旁组织中 MMP12 的表达。结果显示, MMP12 在 ESCC 组织中高表达(见图 6A),在癌旁组织中低表达(见图 6B);ESCC 组织 MMP12 蛋白的阳性表达率(80%)明显优于癌旁组织的阳性表达率(0%)。

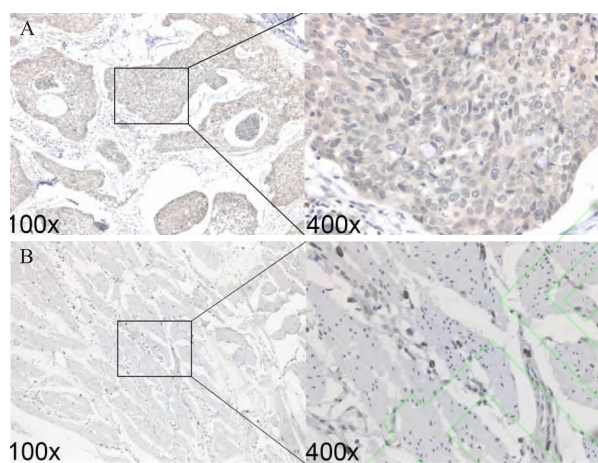


图 6 IHC 检测 ESCC 癌组织与癌旁组织 MMP12 表达

Fig. 6 IHC detection of MMP12 expression in ESCC cancer tissues and paracancerous tissues

A: Positive expression of MMP12 in ESCC tissues; B: Negative expression of MMP12 in ESCC paracancerous tissues.

3 讨论

MMP12 属于基质金属蛋白酶家族的其他分泌型 MMP, 最早发现于人肺泡巨噬细胞, 位于 11q22.3。MMP12 蛋白的显著上调与多种癌症的发生和进展存在密切关联。众多研究报道, MMP12 蛋白在肝细胞癌等多种癌组织中表达显著上调, 通常提示预后不良^[4-9], 但对胃癌患者生存期的影响存在争议^[5,10]。本研究基于生物信息分析发现, MMP12 mRNA 在 14 种肿瘤中高表达, 且与部分肿瘤患者生存期短相关。表明 MMP12 是一种潜在的泛癌预后评估标志物。

DNA 甲基化在维持染色体稳定性和基因表达方面起着举足轻重的作用。Boycott et al^[11]发现, 在人 HepG2 细胞中 MMP12 mRNA 的过表达伴随着启动子甲基化水平的降低。本研究分析发现, MMP12

mRNA 的高表达可能受 MMP12 基因低甲基化水平调控的影响, 促进肿瘤的进展。

基因结构改变导致癌基因表达水平的增加是致瘤的关键因素。Dehan et al^[12]报道了非小细胞肺癌组织 MMP12 基因区域的扩增可引起 MMP12 mRNA 的过表达, 进而促进非小细胞肺癌患者复发及远处转移。本研究分析发现, 多数肿瘤中存在 MMP12 基因扩增形式的变异, 且部分肿瘤常伴随 CNV 的增加, 这些结果提示 CNV 可影响 MMP12 mRNA 的表达, 从而影响肿瘤进展。

肿瘤免疫微环境参与癌症进展的全过程。癌基因与肿瘤免疫微环境相互作用, 影响免疫系统对肿瘤的反应^[13]。既往研究^[14-15]报道, 在 LUAD、LIHC 中, MMP12 mRNA 与 Treg 细胞等的浸润相关, 可通过免疫反应影响患者预后。本研究分析发现, 在 LUAD、LIHC 等肿瘤中 MMP12 mRNA 高表达与较高的免疫细胞、基质细胞浸润有关, 并伴随 CD44、PD-CD1、IDO1 等免疫检查点水平的升高, 起到抑制机体的抗肿瘤免疫活性的作用。同时, LUAD 等肿瘤中 MMP12 mRNA 的表达与 TMB 或 MSI 显著正相关, 表明其更易从免疫治疗中获益。因此, MMP12 与免疫微环境高度相关, 是肿瘤免疫治疗的潜在标志物。

重要的是, 本研究基于 MMP12 mRNA 表达在肿瘤组织中升高的现象, 验证了其在血清中的表达水平及其用于肿瘤筛查的价值。血清指标检测结果显示 MMP12 在 LUAD、BRCA、ESCC、STAD 及 LIHC 中的筛查价值均优于常规肿瘤标志物, 且在 LUAD、BRCA 及 ESCC 早期也有显著效果。另外, 对 ESCC 患者进行 30 个月的随访后显示疾病进展组 MMP12 的表达高于疾病稳定组, 证明 MMP12 血清高表达与 ESCC 不良预后相关。

综上所述, MMP12 具有泛癌标志物的潜质, 是某些特定癌症类型筛查和预后重要生物标志物。本研究的不足之处为, 血清 MMP12 筛查及预后验证的癌症类型偏少, 未纳入多中心联合试验研究, 缺乏对 MMP12 与肿瘤发生发展的深入机制研究。未来将开展多中心大样本、多癌种的 MMP12 血清标志物临床验证, 同时延长随访时间, 进一步评估 MMP12 在癌症筛查、预后等价值, 同时推进癌变过程分子机理实验。

参考文献

[1] Bray F, Laversanne M, Sung H, et al. Global cancer statistics

- 2022; GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2024, 74(3): 229–63. doi: 10.3322/caac.21834.
- [2] 张梅. 肿瘤标志物 CA724、CEA、CA242、CA199 联合检测在胃癌临床诊断中的价值[J]. *中国实用医药*, 2022, 17(22): 27–30. doi: 10.14163/j.cnki.11–5547/r.2022.22.007.
- [2] Zhang M. The value of combined detection of tumor markers of CA724, CEA, CA242 and CA199 in clinical diagnosis of gastric cancer[J]. *China Pract Med*, 2022, 17(22): 27–30. doi: 10.14163/j.cnki.11–5547/r.2022.22.007.
- [3] de Almeida L G N, Thode H, Eslambolehi Y, et al. Matrix metalloproteinases: from molecular mechanisms to physiology, pathophysiology, and pharmacology[J]. *Pharmacol Rev*, 2022, 74(3): 712–68. doi: 10.1124/pharmrev.121.000349.
- [4] Gao H, Zhou X, Li H, et al. Role of matrix metalloproteinase 12 in the development of hepatocellular carcinoma[J]. *J Invest Surg*, 2021, 34(4): 366–72. doi: 10.1080/08941939.2019.1637975.
- [5] Li G S, Tang Y X, Zhang W, et al. MMP12 is a potential predictive and prognostic biomarker of various cancers including lung adenocarcinoma [J]. *Cancer Control*, 2024, 31: 10732748241235468. doi: 10.1177/10732748241235468.
- [6] Zhang W, Li G S, Gan X Y, et al. MMP12 serves as an immune cell-related marker of disease status and prognosis in lung squamous cell carcinoma[J]. *PeerJ*, 2023, 11: e15598. doi: 10.7717/peerj.15598.
- [7] Mao J T, Lu Q, Jing P Y, et al. Comprehensive analysis of prognostic value and immune infiltration of MMP12 in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *J Oncol*, 2022, 2022: 4097428. doi: 10.1155/2022/4097428.
- [8] Zeng L, Qian J, Zhu F, et al. The prognostic values of matrix metalloproteinases in ovarian cancer[J]. *J Int Med Res*, 2020, 48(1): 300060519825983. doi: 10.1177/0300060519825983.
- [9] Guo Z Y, Jiang L P. Matrix metalloproteinase 12 (MMP12) as an adverse prognostic biomarker of vascular invasion in hepatic cell carcinoma[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2022, 26(7): 2238–49. doi: 10.26355/eurrev_202204_28454.
- [10] Zheng J, Chu D, Wang D, et al. Matrix metalloproteinase-12 is associated with overall survival in Chinese patients with gastric cancer[J]. *J Surg Oncol*, 2013, 107(7): 746–51. doi: 10.1002/jso.23302.
- [11] Boycott C, Beetch M, Yang T, et al. Epigenetic aberrations of gene expression in a rat model of hepatocellular carcinoma[J]. *Epigenetics*, 2022, 17(11): 1513–34. doi: 10.1080/15592294.2022.2069386.
- [12] Dehan E, Ben-Dor A, Liao W, et al. Chromosomal aberrations and gene expression profiles in non-small cell lung cancer[J]. *Lung Cancer*, 2007, 56(2): 175–84. doi: 10.1016/j.lungcan.2006.12.010.
- [13] Bader J E, Voss K, Rathmell J C. Targeting metabolism to improve the tumor microenvironment for cancer immunotherapy[J]. *Mol Cell*, 2020, 78(6): 1019–33. doi: 10.1016/j.molcel.2020.05.034.
- [14] Feng H M, Zhao Y, Yan W J, et al. Genomic and immunogenomic analysis of three prognostic signature genes in LUAD[J]. *BMC Bioinformatics*, 2023, 24(1): 19. doi: 10.1186/s12859–023–05137–y.
- [15] He M K, Le Y, Zhang Y F, et al. Matrix metalloproteinase 12 expression is associated with tumor FOXP3 + regulatory T cell infiltration and poor prognosis in hepatocellular carcinoma[J]. *Oncol Lett*, 2018, 16(1): 475–82. doi: 10.3892/ol.2018.8642.

Pan-cancer characterization of matrix metalloproteinase 12 and its value as a serum marker

Jia Min^{1,2,3}, Deng Qingmei^{1,2,3}, Wang Huifen³, Wan Xiaofeng³, Wang Hongzhi^{1,2,3}, Yang Wulin^{2,3}

(¹*School of Medicine, Anhui University of Science and Technology, Huainan 232001*; ²*Institute of Health and Medical Technology, Hefei Institutes of Physical Science, Chinese Academy of Sciences, Hefei 230031*;

³*Medical Pathology Center, Hefei Cancer Hospital, Chinese Academy of Sciences, Hefei 230031*)

Abstract Objective To characterize MMP12 as a pan-cancer marker and assess its screening value as a tumor serum marker. **Methods** Bioinformatics tools such as GEPIA2, GSCA, cBioPortal, and GeneMANIA were used to analyze the pan-cancer features of MMP12 in TCGA datasets, including encompassing differential gene expression analysis, prognostic analysis, DNA methylation analysis, gene structural variation analysis and immune microenvironment analysis. Furthermore, serum samples we collected from patients with lung adenocarcinoma, breast invasive carcinoma, esophageal squamous cell carcinoma, stomach adenocarcinoma, liver hepatocellular carcinoma, and healthy individuals. ELISA was used to detect MMP12 expression in serum, and the screening performance was evaluated using the area under the ROC curve. Additionally, we followed up 28 ESCC patients and compared serum MMP12 levels between 19 patients with disease progression and 9 patients with stable disease. **Results** The pan-cancer feature analysis revealed a significant negative correlation between MMP12 mRNA expression and its promot-

基于¹⁸F-FDG PET/CT 影像组学联合临床特征鉴别淋巴瘤及淋巴炎性增生

谢 亮¹, 秦甲霖¹, 吴瑞雪², 向春锋³, 方鹏飞², 寿晨锋⁴, 陈 鸿⁵, 庞小溪¹

(安徽医科大学第二附属医院¹ 核医学科、⁴ 急诊外科, 合肥 230601; 安徽医科大学² 基础医学院、⁵ 第二临床医学院, 合肥 230032; ³ 达州市中心医院放射科, 达州 635000)

摘要 **目的** 建立并验证¹⁸F-FDG PET/CT 影像组学与临床特征联合模型鉴别淋巴瘤及淋巴炎性增生的能力。**方法** 回顾性收集 232 例淋巴瘤及淋巴炎性增生的患者。分析组间临床与传统影像指标的差异。通过 3D-Slicer、Lifex 等医学软件勾画并提取特征, 筛选特征, 构建 PET/CT 影像组学 Logistic 回归模型及 PET/CT 影像组学与临床特征联合的 Logistic 回归模型, 评估模型鉴别诊断效能。**结果** 患者一般临床特征组间差异分析显示, 年龄、CT_{mean} 和肿瘤代谢体积 (MTV) 在淋巴瘤与淋巴炎性增生患者间存在明显差异 ($P < 0.05$)。PET/CT 影像组学 Logistic 回归模型在训练集和测试集受试者工作特征 (ROC) 曲线下面积 (AUC) 分别为 0.924 (95% CI: 0.884 ~ 0.960) 和 0.863 (95% CI: 0.774 ~ 0.939)。基于 PET/CT 影像组学与临床特征联合 Logistic 回归模型在训练集和测试集的 AUC 分别为 0.933 (95% CI: 0.889 ~ 0.969) 和 0.884 (95% CI: 0.792 ~ 0.964)。决策曲线分析 (DCA) 表明影像组学与临床联合模型具有最高的临床净收益。**结论** 基于 PET/CT 影像组学与临床特征联合模型在淋巴瘤与淋巴炎性增生具有良好的鉴别诊断效能。

关键词 影像组学; 淋巴瘤; 淋巴炎性增生; PET/CT; ¹⁸F-FDG; 核医学诊断

中图分类号 R 733.1; R 730.44

文献标志码 A

2025-01-19 接收

基金项目: 中华国际医学交流基金会 2020 SKY 影像科研基金 (编号: Z-2014-07-2003-18); 达州市医学会科研课题计划项目 (编号: D2010); 安徽省自然科学基金 (编号: 2008085QH406)

作者简介: 谢 亮, 男, 硕士研究生;

庞小溪, 男, 副教授, 硕士生导师, 通信作者, E-mail: frankpang@foxmail.com

淋巴瘤是血液系统中最常见的恶性肿瘤^[1], 在中国, 淋巴瘤患者发病率逐年增长^[2], 5 年总生存率较低, 近 2/3 的患者预后不佳^[3]。目前, 氟脱氧葡萄糖正电子发射型计算机断层显像/计算机断层扫描显像 (¹⁸F-fluorodeoxyglucose, positron emission tomography / computed tomography, ¹⁸F-FDG PET/CT) 作为核医学检查手段, 已被纳入淋巴瘤的临床诊疗指南^[4]。研究^[5]表明, 淋巴瘤通常具有比非肿瘤性炎

er DNA methylation ($P < 0.05$), as well as a positive correlation with gene copy number variations ($P < 0.05$). MMP12 mRNA expression was up-regulated in 14 cancer tissues compared to normal tissues next to cancer ($P < 0.05$) and was associated with poor prognosis of cancer patients ($P < 0.05$). Immunocorrelation analysis showed that MMP12 was significantly associated with immunity, infiltration of stromal cells, tumor mutational burden (TMB) and microsatellite instability (MSI) ($P < 0.05$). ROC curve analysis indicated that MMP12 could serve as a potential biomarker for screening lung adenocarcinoma, breast invasive carcinoma, esophageal squamous cell carcinoma, stomach adenocarcinoma, and liver hepatocellular carcinoma. In a 30-month follow-up study of esophageal squamous cell carcinoma patients, the expression of MMP12 was higher in the disease progression group than that in the stable group. **Conclusion** MMP12 serves as a potential prognostic and screening marker of pan-cancer.

Key words MMP12; pan-cancer; serum; screening; prognosis; marker

Fund programs National Natural Science Foundation of China (No. 81872276); Health Research Project of Anhui Province (No. AHWJ2021b142)

Corresponding authors Wang Hongzhi, E-mail: wanghz@hfcas.ac.cn; Yang Wulin, E-mail: yangw@cmpt.ac.cn