

人胰腺癌组织中增殖诱导配体蛋白的表达及意义

APRIL expression in human pancreatic cancer tissue and its significance

王唯一¹, 毛振彪^{1*}, 潘正平², 黄介飞¹, 邵建国³

(1. 南通大学附属医院消化内科, 南通 226001; 2. 南通大学附属医院肾脏内科; 3. 南通市第三人民医院消化内科, 南通 226001)

[摘要] **目的:** 观察人胰腺癌组织中增殖诱导配体(APRIL)蛋白的表达情况, 探讨其与胰腺癌生物学行为的关系。 **方法:** 免疫组化染色法检测人胰腺癌组织($n=20$)及正常胰腺组织($n=10$)APRIL 蛋白的表达, 分析不同临床病理指标下胰腺癌组织中 APRIL 蛋白的表达。 **结果:** 胰腺癌组织中 APRIL 阳性率为 90.0%(18/20), 明显高于正常胰腺组织 0(0/10)。胰腺癌组织不同临床病理指标下(肿瘤分化程度、有无淋巴结转移、有无远处转移、肿瘤大小), APRIL 蛋白表达无显著差异。 **结论:** APRIL 蛋白表达可能与胰腺癌的发生、发展有关。

[关键词] 胰腺肿瘤; 增殖诱导配体

[中图分类号] R 735.9

[文献标识码] B

[文章编号] 0258-879X(2007)02-0214-02

增殖诱导配体(a proliferation-inducing ligand, APRIL)是肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)超家族的新成员^[1-2], 属 II 型跨膜蛋白, 全长为 250 个氨基酸。不少研究^[1-4]发现, APRIL 具有促进多种肿瘤细胞增殖和存活的作用, 人消化系肿瘤细胞株及肿瘤组织中 APRIL 基因表达均升高。目前国内外尚未见 APRIL 蛋白在人胰腺癌组织中表达情况的研究。本研究应用免疫组化法检测胰腺癌组织 APRIL 蛋白的表达情况, 并与正常人胰腺组织作比较, 分析其与胰腺癌生物学行为的关系, 寻找胰腺癌早期诊断和预后判断新的肿瘤标志物。

1 材料和方法

1.1 组织及试剂来源 人胰腺癌标本和正常胰腺组织标本均为第二军医大学长海医院 2001 年 4 月至 2003 年 10 月手术切除的胰腺组织。所有病例均经手术及病理确诊。20 例胰腺癌患者, 男 14 例、女 6 例, 平均年龄(61.8±4.4)岁。肿瘤部位: 胰头 15 例(75.0%), 胰体尾 5 例(25.0%); 肿瘤大小(直径): ≤3 cm 11 例, >3 cm 9 例。病理组织学分类: 浸润性导管癌 18 例(90.0%), 黏液性囊腺癌 2 例(10.0%)。EnVision 试剂盒和 AEC 显色剂均为福州迈新公司进口分装产品; 一抗为鼠抗人 APRIL 单克隆抗体, 效价为 1:100~1:1 000, 购自 Santa Cruz 公司。

1.2 EnVision 二步法检测胰腺组织 APRIL 蛋白表达

1.2.1 染色方法 标本甲醛溶液固定, 石蜡包埋, 4 μm 切片, 常规脱蜡, 进行 H-E 染色及 EnVision 二步法染色。将切片插入塑料片架, 放置在 PBS 缓冲液(0.01 mmol/L pH 7.0)中, 高压锅加帽出气后 5 min 修复抗原, 取出自然冷却至室温。然后水洗, PBS 浸泡 5 min, 3% H₂O₂ 阻断内源性过氧化物酶 15 min, 水洗, 再次 PBS 浸泡 5 min。1:200 稀释鼠抗人 APRIL 单克隆抗体孵育 45 min, PBS 洗 3 次, 每次 3 min。EnVision 复合物孵育 45 min, 再次 PBS 洗 3 次, 每次 3 min, 然后 AEC 显色数分钟, 水洗, 复染, 封固, 镜检。阴性对

照采用 0.01 mmol/L PBS 替代一抗。

1.2.2 结果判定 根据染色阳性细胞数和染色强度综合评定。APRIL 蛋白阳性染色定位于细胞质或胞膜, 染色呈红色。计数染色阳性细胞数: 0 分, 连续 5 个高倍视野无阳性细胞; 1 分, 阳性细胞数占 1%~25%; 2 分, 阳性细胞 26%~50%; 3 分, 阳性细胞 50%~75%; 4 分, 阳性细胞 >75%。染色强度: 淡红色为 1 分, 红色为 2 分, 深红色为 3 分。阳性细胞和染色强度两项积分相乘, 0 分者为阴性(-), 1~4 分为弱阳性(+), 5~8 分为中度阳性(++), 9~12 分为强阳性(+++)。

1.3 统计学处理 应用 SPSS 10.0 统计软件进行精确概率法统计分析, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 人胰腺组织中 APRIL 蛋白的表达 人胰腺癌组织中 APRIL 蛋白阳性表达呈红色粗颗粒状, 位于胞膜或胞质(图 1A), 阳性率为 90.0%(18/20)。10 例正常胰腺组织 APRIL 染色全部阴性(0/10)(图 1B)。

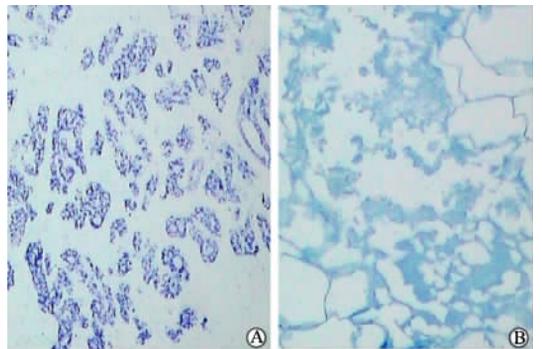


图 1 胰腺浸润性导管癌(A)及正常胰腺组织(B)中 APRIL 的表达(EnVision 法, ×200)

[作者简介] 王唯一, 硕士。现在南通市第一人民医院内科, 南通 226001。

* Corresponding author. E-mail: mzb63@163.com

2.2 人胰腺癌不同临床病理指标下 APRIL 蛋白的表达 胰腺癌组织 APRIL 蛋白表达在胰腺癌不同分化程度(高、中低)、有无淋巴结转移、有无远处转移、不同肿瘤大小(直径 ≤ 3 cm、 > 3 cm)间无显著差异(表 1)。

表 1 不同临床病理因素下
胰腺癌组织 APRIL 的表达

临床特征	N	APRIL 蛋白表达(n)				P
		-	+	++	+++	
肿瘤直径						
≤ 3 cm	11	2	3	3	3	0.47
> 3 cm	9	0	4	1	4	
分化程度						
高分化	8	1	2	2	3	0.78
中、低分化	12	1	5	2	4	
淋巴结转移						
无	11	1	3	3	4	0.60
有	9	1	4	1	3	
远处转移						
无	10	1	3	2	4	0.66
有	10	1	4	2	3	

3 讨论

胰腺癌是一种比较常见的恶性肿瘤,目前我国,胰腺癌的发病率有逐年增高的趋势。手术切除是治疗胰腺癌的主要手段,但由于胰腺癌的早期诊断比较困难,仅 20% 的患者可根治切除,51% 的患者确诊时已发生远处转移,因此手术切除率很低,患者的中位生存期只有 3~4 个月,5 年生存率通常在 4.4% 左右。有研究报道直径 ≤ 2 cm 的胰腺癌术后 5 年生存率为 19%~41%,而直径 ≤ 1 cm 的微小胰腺癌,多无胰实质浸润、无淋巴转移及血管神经受累,术后 5 年生存率可达到 70%~100%。因此,早期发现、早期诊断是有效治疗胰腺癌及改善预后的关键。胰腺癌肿瘤标志物的研究是胰腺癌诊断的重要课题之一。

APRIL 是 TNF 超家族的新成员,1998 年首先由 Hahne 等^[1]发现并克隆成功,全长 250 个氨基酸,其编码基因位于染色体 17p13.1。研究^[5-7]发现,APRIL 可通过膜结合型和可溶型两种形式促进肿瘤细胞增殖。APRIL mRNA 在许多人类肿瘤细胞株(结肠癌细胞株 SW480、肺癌细胞株 A459、黑色素瘤细胞株 G361 等)和肿瘤组织(结肠癌、胃癌、食管癌等)高表达。低浓度重组 APRIL 能刺激体外培养多种人类肿瘤细胞株的增殖;转染 APRIL 基因的 NIH-3T3 裸鼠移植

瘤肿瘤生长速度明显高于 NIH-3T3 裸鼠移植瘤。前期研究^[3]还发现,肠上皮化生、异型增生和胃癌组织中 APRIL 表达水平显著高于正常胃黏膜、浅表性胃炎和萎缩性胃炎,且胃癌组织的表达水平显著高于肠上皮化生和异型增生组织。以上研究表明,APRIL 在消化系统肿瘤发生、发展过程中可能起一定作用,能为肿瘤的诊断和治疗提供新的分子靶点。

本研究发现 APRIL 蛋白在胰腺癌组织中呈高表达(90.0%),而正常胰腺组织表达全部阴性;APRIL 蛋白表达与胰腺癌的分化程度、淋巴结转移、远处转移、病灶大小等无关。这些提示 APRIL 作为一种膜或胞质蛋白可能会诱导胰腺癌发生、发展,检测其表达水平可能有助于胰腺癌的早期诊断。但本研究例数较少,相关结论还有待大样本研究证实。此外,APRIL 在胰腺癌发生中的具体调节机制尚不清楚,仍有待进行基因工程、信号转导、分子机制等方面的深入研究。

致谢:本研究得到第二军医大学长海医院病理科的大力支持,在此深表感谢!

[参考文献]

- [1] Hahne M, Kataoka T, Schroter M, et al. APRIL, a new ligand of the tumor necrosis factor family, stimulates tumor cell growth[J]. *J Exp Med*, 1998, 188: 1185-1190.
- [2] Kelly K, Manos E, Jensen G, et al. APRIL/TRDL-1, a tumor necrosis factor-like ligand, stimulates cell death[J]. *Cancer Res*, 2000, 60: 1021-1027.
- [3] 毛振彪,张冬雷,施 健,等. 胃黏膜癌变过程中增殖诱导配体及其受体表达水平分析[J]. *中华消化杂志*, 2005, 25: 476-479.
- [4] 张冬雷,鞠少卿,施 健,等. 人肝癌组织中 APRIL 及其受体 mRNA 水平的定量测定[J]. *中华检验医学杂志*, 2005, 28: 433-436.
- [5] Rennert P, Schneider P, Cachero T G, et al. A soluble form of B cell maturation antigen, a receptor for the tumor necrosis factor family member APRIL, inhibits tumor cell growth[J]. *J Exp Med*, 2000, 192: 1677-1684.
- [6] 戴双双,何风田,张 艳,等. 人可溶型 APRIL(sAPRIL)基因的克隆及在大肠杆菌中的表达[J]. *生物工程学报*, 2004, 20: 857-878.
- [7] 张冬雷,施 健,王惠民,等. 增殖诱导配体基因的克隆、表达及生物学活性分析[J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2005, 25: 907-911.

[收稿日期] 2006-09-28

[修回日期] 2007-01-29

[本文编辑] 贾泽军