

DOI:10.3724/SP.J.1008.2008.00271

## 血小板反应素-1的表达与胰腺癌转移及预后

林海<sup>1</sup>, 刘瑞<sup>1\*</sup>, 郑建明<sup>2</sup>, 唐岩<sup>1</sup>

1. 第二军医大学长海医院普外三科, 上海 200433

2. 第二军医大学长海医院病理科, 上海 200433

**[摘要]** **目的:**探讨血小板反应素-1(TSP-1)在胰腺癌转移及预后评价中的价值。**方法:**应用免疫组化方法检测 74 例胰腺癌组织和 16 例其他胰腺组织(6 例正常胰腺组织, 4 例慢性胰腺炎组织, 6 例癌旁正常胰腺组织)中 TSP-1 的表达与分布, 所得数据用 SPSS 11.0 软件进行统计学处理, 分析胰腺癌组织中 TSP-1 表达对判断胰腺癌转移及预后的价值。**结果:**TSP-1 在胰腺癌组织中的表达明显高于正常胰腺及慢性胰腺炎组织( $P < 0.05$ )。不同肿瘤分期、不同肿瘤大小、有无淋巴结转移、有无神经浸润胰腺癌患者 TSP-1 表达有统计学差异( $P < 0.05$ ); Logistic 逐步回归分析显示, TSP-1 表达与肿瘤分期、神经浸润密切相关。Kaplan-Meier 方法和 Log-rank 检验分析显示, TSP-1 表达、淋巴结转移、神经浸润、肿瘤分期与肿瘤术后生存率相关; 多变量 COX 风险模型分析显示, 神经浸润、淋巴结转移与肿瘤生存预后直接相关, 而 TSP-1 表达不是直接相关因素。**结论:** TSP-1 可以作为判断胰腺癌是否转移的指标, 对判断胰腺癌预后有一定临床价值。

**[关键词]** 凝血酶敏感蛋白 1; 胰腺肿瘤; 肿瘤转移; 预后

**[中图分类号]** R 735.9 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2008)03-0271-05

### Relationship of TSP-1 expression with metastasis and prognosis of human pancreatic cancer

LIN Hai<sup>1</sup>, LIU Rui<sup>1\*</sup>, ZHENG Jian-ming<sup>2</sup>, TANG Yan<sup>1</sup>

1. Department of General Surgery, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

2. Department of Pathology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433

**[ABSTRACT]** **Objective:** To study the relationship of TSP-1 expression with the metastasis and prognosis of human pancreatic cancer. **Methods:** The expression and distribution of TSP-1 were investigated in 74 pancreatic cancer tissues and 16 other pancreatic tissues (6 normal pancreatic tissues, 4 chronic pancreatitis tissues and 6 normal pancreatic tissues adjacent to the pancreatic cancer tissues) using immunohistochemical method. The data were analyzed by using SPSS 11.0 software and the value of TSP-1 expression in predicting the metastasis and prognosis of pancreatic cancer was investigated. **Results:** The expression of TSP-1 in the pancreatic cancer tissues was significantly higher than that in the normal pancreatic and chronic pancreatitis tissues ( $P < 0.05$ ). Significant differences were also found between tumors of different stages, different sizes, with or without lymphatic metastasis, and with or without neural infiltration ( $P < 0.01$  or  $P < 0.05$ ). Logistic regression analysis showed that TSP-1 expression was correlated with the stages and neural infiltration of the tumor. Univariate analysis using the Kaplan-Meier method and log-rank test revealed a relationship of TSP-1 expression with lymphatic metastasis, neural infiltration, tumor stage and patient survival rate. Multivariate analysis using the Cox proportional hazard model demonstrated that the neural infiltration, lymphatic metastasis were the independent factors of patients' prognosis and survival; TSP-1 expression was not independent prognostic parameter. **Conclusion:** Expression and distribution of TSP-1 may serve as indicator for metastasis of pancreatic cancer and is also helpful in predicting the prognosis of pancreatic cancer.

**[KEY WORDS]** thrombospondin 1; pancreatic neoplasms; neoplasm metastasis; prognosis

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2008, 29(3):271-275]

胰腺癌是消化系统恶性程度高、预后差的肿瘤之一, 其外科手术切除率低, 术后生存率亦很低。造成胰腺癌预后差的主要原因包括胰腺的特殊解剖位

置、发病早期缺乏特征性体征, 无论原发肿瘤个体大小都有非常高的肿瘤转移率及多种转移通道(包括神经浸润), 且胰腺癌对周围器官及大血管具有高侵

**[收稿日期]** 2007-08-12 **[接受日期]** 2008-01-20

**[作者简介]** 林海, 硕士, 现在新疆伊宁市解放军第十一医院外一科, 伊宁 835000. E-mail: wslh197686@sohu.com

\* 通讯作者(Corresponding author). Tel: 021-25072074, E-mail huangliur@163.com

袭性。Sargiannidou 等<sup>[1]</sup>研究发现,血小板反应素-1 (thrombospondin-1, TSP-1)能介导肿瘤细胞和血小板的黏附,可能与肿瘤预后相关。本研究比较了 TSP-1 在胰腺癌组织和正常胰腺组织中的表达差异,并分析胰腺癌患者 TSP-1 表达与其临床特征及预后的关系,探讨 TSP-1 在胰腺癌转移及预后评价中的可能价值。

## 1 材料和方法

1.1 对象及分组 本研究选取第二军医大学长海医院 2004 年至 2006 年普外科手术治疗的 74 例胰腺癌患者手术切除后的标本,其中男性 47 例,女性 27 例,年龄 36~83 岁,平均年龄(60.1±4.5)岁,患者随访时间为手术结束至 2007 年 4 月。所有患者均经病理证实。对照的 16 例其他胰腺组织包括 6 例正常胰腺组织(女性 3 例、男性 3 例)、4 例慢性胰腺炎组织(女性 2 例、男性 2 例)、6 例癌旁正常胰腺组织(女性 3 例、男性 3 例),均为长海医院 2004 年至 2006 年普外科手术治疗的胰腺癌患者。所有研究对象均知情同意并报医院伦理委员会审批通过。

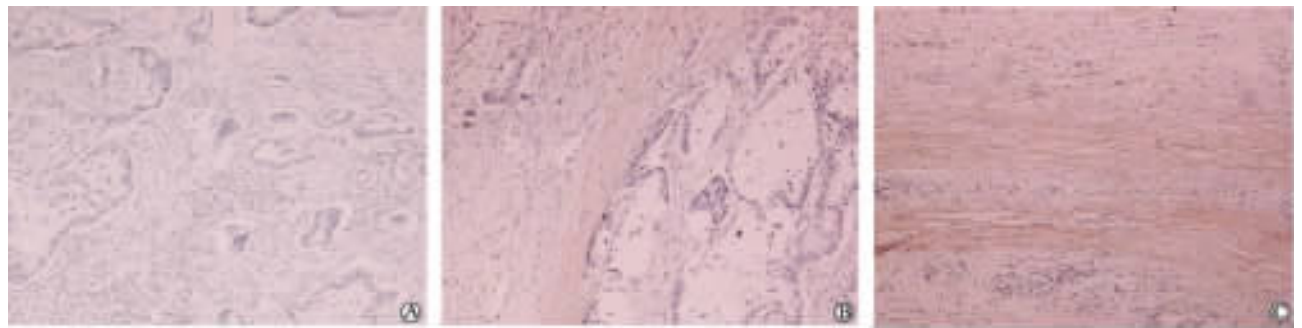


图 1 胰腺癌组织 TSP-1 的表达

Fig 1 Expression of TSP-1 in pancreatic cancer tissues(EnVision)

A: Negative; B: Weekly positive; C: Positive. Original magnification: ×100

1.3 统计学处理 TSP-1 表达与临床指标之间的相关性采用  $\chi^2$  检验及 Logistic 回归分析, TSP-1 表达与淋巴结转移及肿瘤分期的相关性采用  $\chi^2$  检验, TSP-1 表达与患者生存率的相关性分析采用 Kaplan-Meier 方法和 Log-rank 检验分析,多因素预后分析使用了 COX 风险模型。 $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

2.1 TSP-1 的表达 74 例胰腺癌患者中有 53 例患者(71.6%)肿瘤组织 TSP-1 表达,其中 42 例(56.8%)为阳性表达,11 例(14.8%)为弱阳性表

达,另 21 例患者(28.4%)肿瘤组织中 TSP-1 表达为阴性。正常胰腺组织或慢性胰腺炎或其他良性病变组织中 TSP-1 表达为阴性。胰腺癌患者 TSP-1 表达率明显高于正常胰腺组织或慢性胰腺炎或其他良性病变组织( $P < 0.05$ )。

2.2 胰腺癌患者不同临床特征下 TSP-1 的表达 胰腺癌患者不同肿瘤分期( $P < 0.001$ )、肿瘤大小( $P < 0.05$ )、淋巴结转移与否( $P < 0.001$ )、神经浸润与否( $P < 0.001$ )的肿瘤组织 TSP-1 表达有统计学差异(表 1)。Logistic 逐步回归分析结果表明, TSP-1 表达与肿瘤分期、神经浸润相关(表 2)。

胰腺癌根据 1987 年国际抗癌协会(UICC)制定的 TNM 分期,分为 I、II、III、IV 组。根据肿瘤部位分为胰头部、胰体尾部、全胰 3 组。根据肿瘤直径分为  $< 3$  cm、3~5 cm、 $> 5$  cm 共 3 组。根据病理检查结果将标本分为中分化、中至低分化、低分化、其他类型 4 组。根据淋巴结转移、神经浸润、远处转移分为阴性、阳性组。

1.2 免疫组化检测 TSP-1 表达 肿瘤标本经 10% 甲醛固定,切取为 4  $\mu$ m 厚制作成石蜡切片用于肿瘤组织学检查分型及免疫组化染色。TSP-1 免疫组化(EnVision 法)表达结果分为 3 种:阴性、弱阳性、阳性(图 1)。

结果判定标准:(1)按阳性细胞数计分,无阳性细胞计为 0 分;阳性细胞数  $\leq 25\%$  计为 1 分;阳性细胞数在 25%~50% 之间计为 2 分;阳性细胞数在 50%~75% 之间计为 3 分;阳性细胞数  $\geq 75\%$  计为 4 分;(2)按阳性信号的强度计分:阴性计为 0 分;弱阳性计为 1 分;中等度阳性计为 2 分;强阳性计为 3 分。(1)和(2)乘积  $\leq 3$  分计为阴性;介于 3 分和 6 分之间计为弱阳性; $\geq 6$  分计为阳性。

表 1 胰腺癌患者不同临床特征下 TSP-1 的表达

Tab 1 Relationship between expression of TSP-1 and pathological parameters of pancreatic cancer patients

Clinical parameter	N	TSP-1		Positive rate(%)	P value
		Negative, weakly positive	Positive		
Age					
<60 years	38	17	21	55.2	0.601
≥60 years	36	14	22	61.1	
Sex					
Female	27	13	14	51.8	0.408
Male	47	18	29	61.7	
Histological differentiation					
Moderately differentiated AD	58	23	35	60.3	0.649
Moderately to poorly differentiated AD	5	2	3	60.0	
Poorly differentiated AD	5	2	3	60.0	
Other types	6	4	2	33.3	
Lymphatic metastasis					
(-)	29	23	6	20.7	<0.001
(+)	45	8	37	82.2	
Neural invasion					
(-)	27	21	6	22.2	<0.001
(+)	47	10	37	78.7	
Stage of tumor					
I	14	13	1	7.1	<0.001
II	14	10	4	28.6	
III	43	8	35	81.3	
IV	3	0	3	100.0	
Distant metastasis					
(-)	71	31	40	56.3	0.133
(+)	3	0	3	100.0	
Size of tumor					
<3 cm	13	7	6	46.2	0.05
3-5 cm	50	23	27	54.0	
>5 cm	11	1	10	90.9	
Location of tumor					
Head of pancreas	54	23	31	57.4	0.936
Body and tail of pancreas	18	7	11	61.1	
Whole pancreas	2	1	1	50.0	
Total	74	31	43	58.1	

表 2 TSP-1 的表达与胰腺癌患者肿瘤分期、神经浸润的关系

Tab 2 Relationship of expression of TSP-1 with tumor stage and neural invasion of tumors

	B	S. E.	Wald	df	P	Exp(B)
Neural invasion	1.458	0.697	4.372	1	0.037	4.296
Stage of tumor	1.796	0.527	11.635	1	0.001	6.028

2.3 胰腺癌预后影响因素分析 单变量 Kaplan-Meier 方法和 Log-rank 检验分析结果表明, TSP-1 表达、淋巴结转移、神经浸润、肿瘤分期对胰腺癌预后均有影响(表 3)。多变量 COX 风险模型分析表

明, 神经浸润( $P=0.004$ )、淋巴结转移( $P=0.021$ ) 与肿瘤患者生存预后直接相关, 而 TSP-1 的表达不是肿瘤患者生存预后的直接相关因素(表 4)。

表 3 TSP-1 表达、肿瘤分期、神经浸润和淋巴转移与胰腺癌患者生存率的关系

Tab 3 Relationship of TSP-1 expression, tumor stage, neural infiltration, and lymphatic metastasis with survival rate of pancreatic cancer patients

Clinical parameter	Number of patient	Meso-live time(M)	Half annual survival rate(%)	Annual survival rate(%)	P
Stage of tumor					
I	14	9	71.43	28.57	0.004 4
II	14	8	64.29	28.57	
III	43	5	27.91	9.30	
IV	3	12	66.67	0.00	
Neural invasion					
(-)	27	9	70.37	33.33	0.000 5
(+)	47	5	29.79	6.87	
Lymphatic metastasis					
(-)	29	9	68.97	27.59	0.000 3
(+)	45	5	28.89	9.63	
TSP-1					
(-)	21	8	71.43	23.81	0.041 7
(W+),(+)	53	5	33.96	13.98	

表 4 TSP-1 表达及各相关胰腺癌临床特征与胰腺癌患者预后的关系

Tab 4 Relationship of TSP-1 expression and pathological parameters with prognosis of pancreatic cancer patients

	B	S. E.	Wald	df	P	Exp(B)
TSP-1	-0.387	0.327	1.395	1	0.238	0.679
Location of tumor	0.463	0.253	3.359	1	0.067	1.589
Neural invasion	0.974	0.335	8.426	1	0.004	2.648
Lymphatic metastasis	1.26	0.548	5.287	1	0.021	3.524
Size of tumor	0.03	0.219	0.019	1	0.889	1.031
Stage of tumor	-0.362	0.344	1.111	1	0.292	0.696

### 3 讨论

细胞与基质、细胞与细胞的黏附抑制了肿瘤的浸润和转移。肿瘤细胞与血小板黏附所组成的微栓子会导致肿瘤的血道转移, TSP-1 在肿瘤细胞和血小板的黏附中起积极作用<sup>[1]</sup>。TSP-1 存在于血浆、激活的血小板上、内皮细胞质、基底膜和血管壁中, 可与一系列因子相互作用, 包括基质中的一些成分、细胞表面特异性受体(整合素  $\alpha v\beta 3$ 、 $\alpha 3\beta 1$ 、 $\alpha 4\beta 1$ 、 $\alpha 5\beta 1$ 、整合素相关蛋白 CD47、硫酸乙酰肝素蛋白多糖和 CD36)<sup>[2]</sup>, 从而介导细胞-细胞、细胞-基质的相互作用。体外实验发现 TSP-1 抑制内皮细胞的增殖和迁移, 进一步的体内实验发现 TSP-1 能抑制新生血管的生成和肿瘤的生长<sup>[3-4]</sup>。Albo 等<sup>[5]</sup>发现 TSP-1 与胰腺肿瘤细胞浸润黏附密切相关。动物模型研究<sup>[6-7]</sup>发现 TSP-1 相关基因治疗能明显抑制胰腺肿瘤的生长和发展, 证实 TSP-1 在体内的表达对胰腺癌的发生和发展有一定意义。

肿瘤细胞表达 TSP-1 受一系列生长因子、癌基因和肿瘤抑制基因的调节。它们直接影响 TSP-1 在肿瘤细胞中的表达; 肿瘤细胞诱导的生长因子的过量表达也调节 TSP-1 在肿瘤血管的基质细胞、内皮细胞和平滑肌细胞中的表达。TSP-1 能够介导细胞与基质、细胞与细胞的黏附, 但在一定条件下, TSP-1 也抑制肿瘤细胞的黏附。细胞与基质、细胞与细胞的黏附抑制了肿瘤的浸润和转移。但肿瘤细胞与血小板黏附所组成的微栓子则是肿瘤血道转移的主要形式, TSP-1 在肿瘤细胞和血小板的黏附中起了积极作用<sup>[8-15]</sup>。

本研究检测了 TSP-1 在人胰腺癌组织中的表达并分析了其临床病理意义, 结果发现 TSP-1 在 71.6%(53/74)的胰腺癌患者的肿瘤组织中有表达, 大部分表达于肿瘤组织的基质中。TSP-1 的阳性表达与淋巴结转移、神经浸润和肿瘤 TNM 分期等临床病理特征明显相关。进一步检测 TSP-1 在手术切除的人胰腺癌组织中的表达情况, 发现 TSP-1 表

达与肿瘤转移有相关性,且与患者预后相关。TSP-1的表达与胰腺癌的淋巴结转移、神经浸润和肿瘤分期明显相关,TSP-1阳性表达患者的生存率明显低于阴性表达患者,这些研究结果与以往研究<sup>[16-17]</sup>类似。结果证实 TSP-1 可作为判断胰腺癌转移及预测预后的一个重要指标,值得进一步研究。

(志谢:本研究统计学处理部分得到第二军医大学卫生勤务学系统统计学教研室孟虹教授的无私帮助,在此表示感谢!)

## [参考文献]

- [1] Sargiannidou I, Zhou J, Tuszyński G P. The role of thrombospondin-1 in tumor progression[J]. *Exp Biol Med* (Maywood), 2001, 226: 726-733.
- [2] Adams J C. Thrombospondin-1[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 1997, 29: 861-865.
- [3] Streit M, Velasco P, Brown L F, Skobe M, Richard L, Riccardi L, et al. Overexpression of thrombospondin-1 decreases angiogenesis and inhibits the growth of human cutaneous squamous cell carcinomas[J]. *Am J Pathol*, 1999, 155: 441-452.
- [4] Boukamp P, Bleuel K, Popp S, Vormwald-Dogan V, Fusenig N E. Functional evidence for tumor-suppressor activity on chromosome 15 in human skin carcinoma cells and thrombospondin-1 as the potential suppressor[J]. *J Cell Physiol*, 1997, 173: 256-260.
- [5] Albo D, Berger D H, Tuszyński G P. The effect of thrombospondin-1 and TGF-beta 1 on pancreatic cancer cell invasion [J]. *J Surg Res*, 1998, 76: 86-90.
- [6] Zhang X, Xu J, Lawler J, Terwilliger E, Parangi S. Adeno-associated virus-mediated antiangiogenic gene therapy with thrombospondin-1 type 1 repeats and endostatin[J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13: 3968-3976.
- [7] Zhang X, Connolly C, Duquette M, Lawler J, Parangi S. Continuous administration of the three thrombospondin-1 type 1 repeats recombinant protein improves the potency of therapy in an orthotopic human pancreatic cancer model[J]. *Cancer Lett*, 2007, 247: 143-149.
- [8] Mart nez-Sales V, Vila V, Ferrando M, Reganon E. Atorvastatin neutralizes the up-regulation of thrombospondin-1 induced by thrombin in human umbilical vein endothelial cells[J]. *Endothelium*, 2007, 14(4-5): 233-238.
- [9] Kopp H G, Hooper A T, Broekman M J, AVECILLA S T, Petit I, Luo M, et al. Thrombospondins deployed by thrombopoietic cells determine angiogenic switch and extent of revascularization[J]. *J Clin Invest*, 2006, 116: 3277-3291.
- [10] Panigrahy D, Kaipainen A, Huang S, Butterfield C E, Barnés C M, Fannon M, et al. PPAR alpha agonist fenofibrate suppresses tumor growth through direct and indirect angiogenesis inhibition[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105: 985-990.
- [11] Robinet A, Emonard H, Banyai L, Laronze J Y, Patthy L, Hornebeck W, et al. Collagen-binding domains of gelatinase A and thrombospondin-derived peptides impede endocytic clearance of active gelatinase A and promote HT1080 fibrosarcoma cell invasion[J]. *Life Sci*, 2008, 82(7-8): 376-382.
- [12] Uchida H, Kuroki M, Shitama T, Hayashi H, Kuroki M. Activation of TGF-beta1 through up-regulation of TSP-1 by retinoic acid in retinal pigment epithelial cells[J]. *Curr Eye Res*, 2008, 33: 199-203.
- [13] Yamauchi M, Imajoh-Ohmi S, Shibuya M. Novel antiangiogenic pathway of thrombospondin-1 mediated by suppression of the cell cycle[J]. *Cancer Sci*, 2007, 98: 1491-1497.
- [14] Rennemeier C, Hammerschmidt S, Niemann S, Inamura S, Zhringer U, Kehrel B E. Thrombospondin-1 promotes cellular adherence of gram-positive pathogens *via* recognition of peptidoglycan[J]. *FASEB J*, 2007, 21: 3118-3132.
- [15] Boukerche H, Berthier-Vergnes O, Tabone E, Bailly M, Dor J F, McGregor J L. Thrombospondin modulates melanoma-platelet interactions and melanoma tumour cell growth *in vivo* [J]. *Br J Cancer*, 1995, 72: 108-116.
- [16] Tobita K, Kijima H, Dowaki S, Oida Y, Kashiwagi H, Ishii M, et al. Thrombospondin-1 expression as a prognostic predictor of pancreatic ductal carcinoma[J]. *Int J Oncol*, 2002, 21: 1189-1195.
- [17] 戴梦华, 闫长青, 赵玉沛, 宋一民. 胰腺癌患者外周血抑血管生成因子浓度与疾病进展的关系[J]. *中华外科杂志*, 2007, 45: 1199-1201.

[本文编辑] 贾泽军