

DOI:10.3724/SP.J.1008.2009.00340

结直肠癌及其淋巴结转移灶内 Annexin I 和 Annexin II 的表达及意义

Expression of Annexin I and Annexin II in colorectal carcinoma and its lymphatic metastatic tissues

葛慧娟, 杨晓群, 余宏宇*, 何金, 刘惠敏

第二军医大学长征医院病理科, 上海 200003

[关键词] 膜联蛋白 A1; 结直肠肿瘤; 肿瘤转移; 免疫组织化学

[中图分类号] R 735.3 [文献标志码] B [文章编号] 0258-879X(2009)03-0340-02

结直肠癌的病死率位列癌症死亡的第4位, 其发生、发展和转移的机制及临床病理分级备受关注。有学者认为膜联蛋白(Annexin) I、II 与肿瘤的发生、发展和转移有关, 可以作为提示预后的标志分子, 但也有人持相反观点。本实验旨在研究 Annexin I 和 Annexin II 的表达情况与结直肠癌的病理分级和转移的关系。

1 对象和方法

1.1 对象 随机选取 2008 年长征医院结直肠腺癌组织存档蜡块 30 例。患者年龄为 29~74 岁, 平均(56±16)岁; 男女各 15 例; 出现淋巴结转移 17 例; 高分化腺癌 8 例, 中分化腺癌 13 例, 低分化腺癌 9 例。选取对应的癌旁组织作为对照。所有病例均无家族史且未接受过放化疗。挑选 10 例淋巴结取材比较完整的病例标本检测其淋巴结 Annexin I 和 Annexin II 的表达情况。

1.2 免疫组化染色 免疫组织化学染色采用 S-P 法。石蜡切片脱蜡至水, 抗原修复, 去除内源性过氧化物酶以及非特异染色。小鼠源单抗 Annexin I 和 Annexin II (福州迈新生

物技术开发公司) 1:100 室温孵育 1 h, 生物素化抗鼠二抗室温孵育 10 min, 辣根过氧化物酶标记链霉卵白素室温孵育 10 min, DAB 显色, 苏木精复染。PBS 代替一抗作为阴性对照。

1.3 结果判定标准 结果判定采用双盲法, 由两位病理医师独立完成每张切片的光镜观察后分别做出判定, 意见一致者予以采纳, 不一致者重新观察并讨论决定。由于本实验中癌旁腺上皮组织在 Annexin I 和 Annexin II 免疫组化标记后均有相对一致的弱阳性着色, 浆细胞对 Annexin I 有阳性着色, 对 Annexin II 有平均弱阳性的着色, 所以采用切片内对照的方法判定癌细胞的平均着色强弱, 似较通常采用的评分标准更能反映肿瘤细胞 Annexin I 和 Annexin II 的表达程度。

1.4 统计学处理 应用 SPSS 11.0 软件进行统计学处理, 统计分析采用多个样本比较的 *H* 检验和 Wilcoxon 配对样本秩和检验。

2 结果

2.1 Annexin 蛋白表达与结直肠癌病理特征的关系(表 1)

表 1 Annexin 表达强度与肿瘤分化程度及淋巴结转移的关系

分组	N	Annexin I (n)				Annexin II (n)			
		-	±	+	++	-	±	+	++
病理学分级**									
高分化	8	3	5	0	0	4	3	1	0
中分化	13	0	10	3	0	2	7	4	0
低分化	9	0	1	6	2	0	1	4	4
淋巴结转移									
无转移组	13	2	9	2	0	5	7	1	0
转移组*	17	1	6	7	3	2	3	7	5
原发灶	10	1	4	4	1	1	3	4	2
转移灶	10	0	2	4	4	0	1	3	6

病理学分级比较: $H_C(\text{Annexin I})=17.29, H_C(\text{Annexin II})=19.68, ** P<0.005$; 淋巴结有无转移比较: $P>0.05(\text{Annexin I})$; 淋巴结转移组比较: $t=80, 0.025<* P<0.05(\text{Annexin I})$

30 例标本中 Annexin I 阴性表达 3 例, 弱阳性(±)表达 16 例, 阳性(+)表达 9 例, 强阳性(++)表达 2 例; 30 例标本中

[收稿日期] 2008-10-20 [接受日期] 2009-01-24

[作者简介] 葛慧娟, 硕士生. E-mail: ghj0604@hotmail.com

* 通讯作者(Corresponding author). Tel: 021-81886122, E-mail: yuhongyu795@hotmail.com

Annexin II 阴性表达 6 例,弱阳性(±)表达 11 例,阳性(+)表达 9 例,强阳性(++)表达 4 例。高分化、中分化、低分化组间 Annexin I 及 Annexin II 表达差异具有统计学意义($P < 0.005$)。总体观察,分化程度越高者 Annexin I 和 Annexin II 的表达越弱,分化程度越差者表达越强。可作为阳性程度参照的是:Annexin I 在结肠腺体管腔内缘略强于胞质,平均为弱阳性;浆细胞胞质呈阳性表达。癌组织中阳性表达主要见于胞质中,但分布不均,并随着肿瘤分化程度降低而上调,偶见个别癌细胞核表达阳性。Annexin II 在结肠腺体上皮中的表达与 Annexin I 类似;浆细胞的表达不均一,平均弱阳性;癌灶中 Annexin II 阳性表达也与 Annexin I 类似。

2.2 结直肠癌转移组中原发癌及其配对淋巴结转移癌中 Annexin 蛋白的表达 从表 1 中可以看出,淋巴结转移组 Annexin 在原发灶中的表达强度较无淋巴结转移组差异无统计学意义,可能是由于病例数较少而且肿瘤分化程度偏差较大;比较淋巴结转移灶与相应的原发灶,可以发现 Annexin I 在转移灶中表达较原发灶有所增强($P < 0.05$)。

3 讨论

膜联蛋白(Annexins, Anx)家族是一类钙依赖的磷脂结合蛋白,在大多数生物体细胞中含量较高(为蛋白质含量的 0.5%~2%),在细胞内参与一系列重要的生理功能。有研究^[1]表明,Annexin I 的表达变化发生在组织和细胞恶变之前,这提示 Annexin I 的表达可能与肿瘤的发生密切相关。而其与肿瘤转移的关系却一直有两种相反的观点,难以定论。Cicek 等^[2]利用蛋白质组学技术研究人乳腺癌转移性细胞系 MDA-MB-435 在转染乳腺癌转移抑制基因 1(BRMS1)前后的差异表达蛋白质图谱,结果显示转染后 Annexin I 蛋白表达较转染前低,提示 Annexin I 与乳腺癌转移呈正相关。而 Kreunin 等^[3]将 MDA-MB-435 细胞系接种至裸鼠体内筛选出一对具有不同转移表型的 MDA-MB-435 细胞亚系,然后分析蛋白质差异表达情况,结果显示 Annexin I 仅在无转

移表型细胞亚系中表达,而在转移表型中不表达,提示 Annexin I 表达可能与乳腺癌转移负相关。Pei 等^[4]利用组织芯片技术研究发现,Annexin II 在有淋巴结转移的结肠癌中的表达较未发生淋巴结转移的结肠癌中表达升高。

本研究结果显示:Annexin I、Annexin II 表达在结肠癌细胞胞质中,随着肿瘤的分化程度降低其表达升高,说明其与肿瘤的发生发展密切联系。结合文献,我们推测可能是因为 Annexin I 作为生长因子的底物,参与 ERK 信号转导通路的激活,导致细胞的过度增殖、凋亡减少、分化障碍,从而出现形态学上的低分化状态,最终表现为低分化大肠癌的更明显的恶性生物学行为,但这需要进一步的深入研究来予以证实。

[参考文献]

- [1] Lecona E, Barrasa J I, Olmo N, Llorente B, Turnay J, Lizarbe M A. Upregulation of annexin A1 expression by butyrate in human colon adenocarcinoma cells:role of p53, NF- γ , and p38 mitogen-activated protein kinase[J]. *Mol Cell Biol*, 2008, 28:4665-4674.
- [2] Cicek M, Samant R S, Kinter M, Welch D R, Casey G. Identification of metastasis-associated proteins through protein analysis of metastatic MDA-MB-435 and metastasis-suppressed BRMS1 transfected-MDA-MB-435 cells[J]. *Clin Exp Metastasis*, 2004, 21:149-157.
- [3] Kreunin P, Urquidí V, Lubman D M, Goodison S. Identification of metastasis-associated proteins in a human tumor metastasis model using the mass-mapping technique[J]. *Proteomics*, 2004, 4:2754-2765.
- [4] Pei H, Zhu H, Zeng S, Li Y, Yang H, Shen L, et al. Proteome analysis and tissue microarray for profiling protein markers associated with lymph node metastasis in colorectal cancer [J]. *J Proteome Res*, 2007, 6:2495-2501.

[本文编辑] 商素芳

• 书 讯 •

《现代血液病药物治疗学》已出版

本书由王健民主编,第二军医大学出版社出版,ISBN 978-7-81060-807-7,16 开,定价 80.00 元。

本书在阐述血液病的病因、发病机制、临床表现、诊断及鉴别诊断的基础上,重点对各种血液病的常规治疗原则及药物治疗原则作了详细叙述,并探讨了治疗药物的作用机制、各种药物的临床选用和常见药物的不良反应。同时,对血液病各种特殊状态下的用药作了专题介绍,以及综述了血液病在基因治疗等领域的发展新趋势。

本书是一本以药物治疗为主线的理论与临床实践紧密结合的治疗学专著,既较全面地论述了各种血液病的传统治疗和新疗法,也融入了编者的临床用药经验,并系统地介绍了造血系统和药物之间的关系、造血系统疾病的药效学和药动学、药物生化代谢学等基础知识。可作为临床血液病医师、药师及有关研究人员参考用书。

本书由第二军医大学出版社发行科发行,全国各大书店均有销售。

通讯地址:上海市翔殷路 800 号,邮编:200433

邮购电话:021-65344595

<http://www.smmup.com>