

文章编号:1005-6947(2005)05-0385-03

· 简要论著 ·

XIAP 在胰腺癌组织中的表达及其意义

管志远, 李宜雄, 李小刚, 陈俭云

(中南大学湘雅医院 普通外科, 湖南 长沙 410008)

摘要:为研究 X 染色体连锁的凋亡抑制蛋白(XIAP)在胰腺癌组织中的表达并探讨其与临床分期,病理分化之间的关系。收集近两年来手术切除的胰腺癌标本,用免疫组织化学染色法观察 XIAP 在胰腺癌及癌旁正常胰腺组织中的表达情况。结果示 XIAP 在胰腺癌组织中的阳性率为 87.0% (20/23),在癌旁正常胰腺组织中的阳性率为 33.3% (4/12),两者差异有显著意义($P < 0.05$)。XIAP 在癌组织中的表达强度比癌旁正常胰腺组织明显增强($P < 0.01$),且与肿瘤病理分化程度有关($P < 0.05$),与临床分期无关($P > 0.05$)。提示 XIAP 在胰腺癌中的高表达与胰腺癌的发生可能有关,可望作为胰腺癌基因治疗的一个新靶点。

关键词:胰腺肿瘤/病理学; 凋亡抑制蛋白

中图分类号:R735.9; R322.491

文献标识码:B

胰腺癌是腹部最常见的恶性肿瘤之一,发病率呈逐年上升趋势。因其发病隐蔽,位置特殊,手术切除率低,预后极差。X 染色体连锁的凋亡抑制蛋白(X-linked inhibitor of apoptosis, XIAP)是凋亡抑制蛋白家族中作用最强的一员^[1],在多种正常组织中呈低表达,而在恶性肿瘤中表达明显升高,有报道认为 XIAP 在肿瘤中的高表达与肿瘤的增殖及在化疗耐药机制的产生中扮演了重要的角色^[1,2]。本研究通过免疫组化染色,了解 XIAP 在胰腺癌组织中的表达情况,并探讨其与病理分级及临床分期的关系。

1 材料与方法

1.1 临床资料

23 例标本均取自本院普外科 2002 年 1 月 ~ 2004 年 6 月手术切除的胰腺癌组织,病例中男 16 例,女 7 例,年龄在 42 ~ 68 (平均 56) 岁。包括胰腺导管癌 21 例,胰腺腺泡癌 2 例。胰腺癌的临床分期按 TNM 分期法,其中 I 期 3 例,II 期 5 例,III 期 11 例,IV 期 4 例。病理分级:高分化 7 例,中分化

12 例,低分化 4 例。对其中 2003 年 6 月 ~ 2004 年 6 月的 12 例患者,同时切取距癌组织边缘 1 cm 以上的癌旁胰腺组织作为对照。

1.2 免疫组化染色方法

1.2.1 试剂 山羊抗人 XIAP 多克隆抗体购自 R&D 公司,工作浓度为 2.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$,辣根过氧化物酶标记的兔抗山羊 IgG 购自 Pierce 公司,工作浓度为 1:200。Spkit 免疫组化试剂盒和 DAB 显色试剂盒均购自北京中山生物技术有限公司。

1.2.2 检测方法 标本经 10% 甲醛溶液固定,组织脱水,透明,浸蜡、包埋,切片常规 HE 染色,进行病理学分级和组织学分型。石蜡切片厚度均为 4 μm 。切片脱腊至水,3% H_2O_2 作用 20 min 灭活内源性过氧化物酶;蒸馏水洗 3 次,微波 5 min \times 2 次修复抗原;PBS 洗 3 次,滴加 XIAP 一抗,37 $^\circ\text{C}$ 30 min,4 $^\circ\text{C}$ 过夜;PBS 洗 3 次,滴加二抗,37 $^\circ\text{C}$ 30 min, PBS 洗涤后,滴加 SP 复合物,37 $^\circ\text{C}$ 反应 30 min;PBS 和蒸馏水洗涤后,滴加 DAB 显色试剂,显微镜下观察控制显色时间。以 PBS 代替一抗作为阴性对照,以试剂公司提供的阳性切片标本为阳性对照。

1.3 结果判断

细胞被染成黄色或棕色为阳性细胞。每张切片随机观察 10 个高倍镜视野,根据视野的细胞着色程度记分:细胞不着色为 0 分,浅黄色为 1 分,黄色为 2 分,棕黄色为 3 分,深棕色为 4 分;将 10 个

基金资助:湖南科技厅基金资助项目(04HK3012,04SK3043-2)。

收稿日期:2005-01-18; **修订日期:**2005-04-25。

作者简介:管志远(1975-),男,河南许昌人,中南大学湘雅医院博士研究生,主要从事肝胆胰脾外科的临床与基础方面的研究。

通讯作者:管志远 电话:13170473920。

视野的积分之和除以10,结果4舍5入取整数作为细胞染色强度最后积分。每张切片随机选取1000个细胞计数,总染色细胞数 $< 25\%$ 记为1分, $25\% \sim 50\%$ 记为2分, $51\% \sim 75\%$ 记为3分,大于 75% 记为4分。将细胞染色强度积分与细胞染色数目积分的乘积作为每个标本的最后积分。以0~1分作为切片阴性(-),2~5分为弱阳性(+),6~10分为阳性(++),大于10分为强阳性(+++)。

1.4 统计学处理

各组积分之间的比较采用方差检验;癌与癌旁组织的积分比较采用配对资料 t 检验;组之间的阳性率比较采用 χ^2 检验。所有统计分析均采用

SSPS10.0统计软件包完成。

2 结果

XIAP的阳性染色位于细胞浆内,细胞核与细胞膜均未见着色(附图)。23例胰腺癌组织有20例(87.0%)XIAP呈阳性,12例癌旁组织有6例(50.0%)阳性,两者差异有显著性($P = 0.038$)。XIAP表达强度在不同的病理分级之间差异有显著性($P = 0.014$),即组织分化越差,XIAP表达水平越高(附表)。而XIAP在不同的临床分期之间的差异无显著性($P = 0.702$)。2003年6月以后的12例癌组织(6.3 ± 4.1)与癌旁组织(2.1 ± 1.9)之间的XIAP表达强度差异有显著意义($P = 0.001$)。

附表 XIAP表达与胰腺癌临床分期、病理分级的关系

分组	病例数	不同 XIAP 表达强度的病例数				XIAP 积分	P 值
		(-)	(+)	(++)	(+++)		
临床分期							
I	3	0	2	1	0	5.33 ± 1.15	>0.05
II	5	0	1	3	1	8.20 ± 3.77	
III	11	3	1	5	2	6.45 ± 4.72	
IV	4	0	1	2	1	8.00 ± 2.58	
病理分级							
高分化	7	2	2	3	0	4.50 ± 3.10	<0.05
中分化	12	1	3	7	1	6.92 ± 3.63	
低分化	4	0	0	1	3	11.25 ± 1.71	

a: XIAP(-)

b: XIAP(+)

c: XIAP(++)

d: XIAP(+++)

附图 胰腺癌组织中 XIAP 的表达($\times 400$)

3 讨论

XIAP 是 Peter^[3] 等于 1996 年在人的胚胎脑组织细胞中克隆出的凋亡抑制蛋白 (inhibitor of apoptosis protein, IAP) 家族的一员,其基因定位于 Xq24-25, 编码区由 7 个外显子组成, cDNA 由 2540bp 碱基组成, 编码含 497 个氨基酸, 分子量为 54kD 的蛋白质。此后的研究发现 XIAP 存在于多种正常组织, 而在多种恶性肿瘤中表达水平明显升高; 认为 XIAP 可能在细胞的增殖过程和细胞向恶性转化过程中发挥重要作用^[2,4]。作为 IAP 家族中作用最强的一种, XIAP 可直接抑制凋亡起始因子 Caspase-9 以及效应分子 Caspase-3 与 Caspase-7 的活性, 抑制细胞对外源性凋亡诱导信号诱导的细胞凋亡, 参与肿瘤细胞对化疗药物耐药性的产生^[1,5]。胰腺癌增殖迅速, 浸润性强, 对化疗药物反应差。本研究结果显示, XIAP 的表达水平以及阳性率均明显高于癌旁胰腺组织, 推测 XIAP 的表达升高可能在胰腺癌的发生中起一定的作用, 并可能与胰腺癌对化疗药物的敏感性普遍较差有关。

肿瘤的临床分级是决定肿瘤预后的一个关键指标。Ferreira^[6] 等在研究 XIAP 与肺癌的关系时认为 XIAP 是肺癌患者预后差的一个独立决定指标。本研究显示, XIAP 与胰腺癌的临床分期之间无明显关系, 而与胰腺癌的组织分化程度有关; 分化程度愈差, 恶性程度越高, XIAP 表达阳性率及表达强度愈高。Hofmann^[7] 运用肺癌的组织标本行逆转录-多聚酶链反应和免疫印迹研究 XIAP 的表达, 认为 XIAP 是促进肿瘤发生的重要因子。Lee^[8] 等的研究发现, 淋巴瘤在缺氧环境下, 可诱导血管内皮细胞生长因子 (VEGF) 的表达, 进而使 XIAP 的表达升高, 参与肿瘤新生血管的形成。笔者认为, 分化差的胰腺癌生长更为迅速, 对局部的缺氧环境需要更强的耐受性, 并要求有更强的刺激血管生

成的能力; XIAP 可能是保证细胞在缺氧环境不发生凋亡, 并刺激血管生成的一个重要因子。

因而, 深入研究 XIAP 与胰腺细胞凋亡及化疗药物敏感性之间的关系, 可望将 XIAP 作为胰腺癌基因治疗的一个新靶点。

参考文献:

- [1] Yang L, Cao Z, Yan H, *et al.* Coexistence of high levels of apoptotic signaling and inhibitor of apoptosis proteins in human tumor cells: implication for cancer specific therapy [J]. *Cancer Res*, 2003, 63(20):6815-6824.
- [2] Ramp U, Krieg T, Caliskan E, *et al.* XIAP expression is an independent prognostic marker in clear-cell renal carcinomas [J]. *Hum Pathol*, 2004, 35(8):1022-1028.
- [3] Peter L, Natalle R, Katsuyuki T, *et al.* Suppression of apoptosis in mammalian cells by NAPI and a related family of IAP genes [J]. *Nature*, 1996, 379(15):349-353.
- [4] Gruslin A, Qiu Q, Tsang BK. Influence of maternal smoking on trophoblast apoptosis throughout development: possible involvement of XIAP regulation [J]. *Biol Reprod*, 2001, 65(4):1164-1169.
- [5] Li J, Feng Q, Kim JM, *et al.* Human ovarian cancer and cisplatin resistance: possible role of inhibitor of apoptosis proteins [J]. *Endocrinology*, 2001, 142(1):370-380.
- [6] Ferreira CG, van der Valk P, Span SW, *et al.* Expression of X-linked inhibitor of apoptosis as a novel prognostic marker in radically resected non-small cell lung cancer patients [J]. *Clin Cancer Res*, 2001, 7(8):2468-2674.
- [7] Hofmann HS, Simm A, Hammer A, *et al.* Expression of inhibitor of apoptosis proteins (IAP) in non-small cell human lung cancer [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2002, 128(10):554-560.
- [8] Lee YK, Bone ND, Strega AK, *et al.* VEGF Receptor phosphorylation status and apoptosis is modulated by a green tea component, epigallocatechin-3-gallate (EGCG) in B cell chronic lymphocytic leukemia [J]. *Blood*, 2004, 104(3):788-794.