

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.34.016

大肠癌组织中膜联蛋白 A1 的表达及其病理意义

王保庆, 张世强[△], 陈卫花, 陈冬波, 薛青萍

(徐州医学院第二附属医院肿瘤内科, 江苏徐州 221006)

摘要:目的 研究膜联蛋白 A1(Annexin A1)在大肠癌组织中的表达及其与大肠癌临床病理特征之间的关系。方法 选取 48 例患者大肠癌组织、36 例患者癌旁组织、15 例患者腺瘤性息肉组织手术切除标本,采用免疫组织化学法检测各组织中 Annexin A1 的表达水平。结果 大肠癌组织中 Annexin A1 的阳性表达率(64.6%)高于癌旁组织(38.8%)、腺瘤性息肉组织(40.0%),差异有统计学意义($P < 0.05$)。Annexin A1 阳性表达的癌旁组织、腺瘤性息肉组织均呈轻至重度不典型增生。高分化腺癌、肿瘤最大径小于 5 cm、淋巴结未转移及未侵犯周围组织的大肠癌患者 Annexin A1 的阳性表达率均明显低于中或低分化腺癌、肿瘤最大径大于或等于 5 cm、有淋巴结转移及侵犯周围组织者($P < 0.05$)。结论 Annexin A1 的表达水平可能是反映大肠癌发生、发展及生物学行为的重要指标。

关键词:大肠肿瘤;膜联蛋白 A1;免疫组织化学

中图分类号:R574.6

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2014)34-4608-02

Expression of annexin A1 in tissues of colorectal carcinoma and its clinical pathological significance

Wang Baoqing, Zhang Shiqiang[△], Chen Weihua, Chen Dongbo, Xue Qinpeng

(Department of Medical Oncology, the Second Affiliated Hospital, Xuzhou Medical College, Xuzhou, Jiangsu 221006, China)

Abstract: Objective To investigate the expression of Annexin A1 proteins in colorectal cancer tissues and the relationship between it and clinicopathologic features of colorectal cancer. **Methods** The surgical specimens from 48 cases of colorectal cancer, 36 cases of adjacent tissues, 15 cases of adenoma polyp were used to be examined expression of Annexin A1 immunohistochemical method. **Results** The positive expression rate of Annexin A1 in cancer tissue(64.6%)was significantly higher than those in adjacent tissues(38.8%)and adenoma polyp tissues(40.0%)($P < 0.05$). The adjacent tissues and adenoma polyp tissues with positive Annexin A1 expression showed mild to severe atypical hyperplasia. The positive rates of Annexin A1 were significantly lower in the well-differentiated adenocarcinoma, tumor size of < 5 cm, with no metastasis to lymphnodes and no invasion to surrounding tissues of colorectal cancer than those in the moderately or poorly differentiated adenocarcinoma, tumor size of ≥ 5 cm, with metastasis to lymphnodes and invasion in surrounding tissues($P < 0.05$). **Conclusion** The expression levels of Annexin A1 may be an important index of occurrence, progression and biological behaviors of colorectal carcinoma.

Key words: colorectal neoplasms; annexin A1; immunohistochemistry

膜联蛋白 A1(Annexin A1)是钙磷脂结合蛋白 Anx 超家族的成员之一,在信号传导、DNA 复制、细胞周期调控、细胞转化、细胞凋亡、钙离子通道的形成等众多的生理过程中发挥重要作用^[1-3]。众多的研究已经证实了 Annexin A1 与多种肿瘤的发生关系密切,其表达在多个系统的肿瘤中明显异常,直接或间接参与肿瘤的发生^[4-7]。在体外实验中,Annexin A1 对肿瘤细胞系亦有不同的影响,Annexin A1 抑制喉癌 Hep-2 细胞的生长而促进结直肠癌细胞的生长和转移^[8-9],本研究通过免疫组织化学检测大肠癌组织、癌旁组织及腺瘤性息肉组织(管状绒毛状腺瘤)中 Annexin A1 的表达,探讨其在大肠癌发生、发展过程中的临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2009~2013 年本院病理科存档大肠癌组织蜡块的患者 48 例,其中男 26 例,女 22 例,年龄 29~72 岁,中位年龄 56 岁,癌旁组织(均与大肠癌标本是同一患者,但其中 12 例大肠癌标本无癌旁组织)36 例,其中男 24 例,女 12 例;腺瘤性息肉组织 15 例,其中,男 8 例,女 7 例。所有病例术前均未进行放射治疗和化学治疗。标本分为大肠癌组、癌旁组

组织及腺瘤性息肉组织组。

1.2 方法

1.2.1 主要试剂 Annexin 鼠抗人单克隆抗体购自美国 Abcam 公司,免疫组织化学 EnVisionTM 染色试剂盒购自上海基因公司。

1.2.2 实验方法 免疫组织化学技术采用 EnVision 二步法。免疫组织化学过程:组织切片经脱蜡、水化后,用柠檬酸缓冲液(pH=6.0)微波热修复抗原 5 min,30 g/L A_2O_2 封闭内源性的过氧化物酶,山羊血清封闭非特异性反应。PBS 替代一抗作阴性对照。参照文献对染色结果进行判断。以大于或等于 5%细胞质染色为阳性。

1.3 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计软件进行数据分析,应用 χ^2 检验分析 Annexin A1 表达与大肠癌临床病理因素的相互关系,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Annexin A1 在大肠癌组织、癌旁组织及腺瘤性息肉组织的表达 Annexin A1 免疫组织化学阳性产物主要定位于细胞膜和细胞质,部分患者可见胞核着色(图 1)。48 例患者大肠癌

组织中,Annexin A1 阳性表达 31 例(64.6%);36 例患者癌旁组织中,Annexin A1 阳性表达 14 例(38.8%);15 例患者腺瘤性息肉组织中,Annexin A1 阳性表达 6 例(40.0%);大肠癌组织中,Annexin A1 的阳性表达率高于癌旁组织、腺瘤性息肉组织($P<0.05$)。而 Annexin A1 阳性表达的癌旁组织、腺瘤性息肉组织均呈轻度至重度不典型增生,且两组间差异无统计学意义($P>0.05$)。

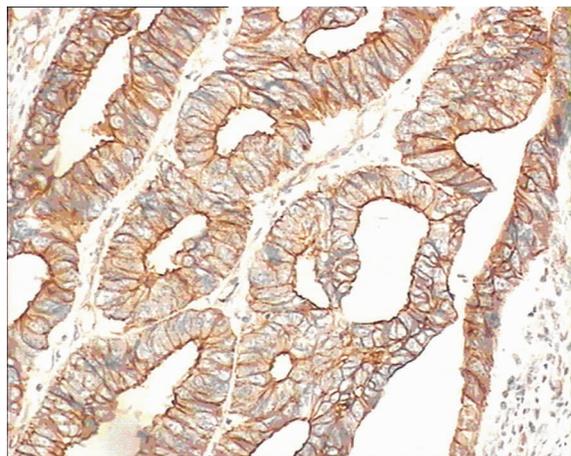


图 1 Annexin A1 蛋白在大肠癌组织中的表达 (免疫组织化学×400)

2.2 Annexin A1 的表达与大肠癌临床病理特征之间的关系

Annexin A1 的表达与大肠癌的病理类型、肿瘤最大径、有无淋巴结转移和周围组织侵犯有关,其中高分化腺癌、肿瘤最大径小于 5 cm、淋巴结未转移及未侵犯周围组织器官的患者 Annexin A1 的阳性表达率均明显低于中或低分化腺癌、肿瘤最大径大于或等于 5 cm、有淋巴结转移及伴周围组织器官侵犯的患者($P<0.05$);Annexin A1 的表达与大肠癌患者的性别差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

表 1 Annexin A1 的表达与大肠癌临床病理特征之间的关系(n)

项目	n	Annexin A1 阳性	Annexin A1 阴性	χ^2	P
性别					
男	26	18	8		
女	22	13	9	0.535 6	>0.05
淋巴结转移					
有	29	23	5		
无	19	8	11	8.080 9	<0.05
分化程度					
低分化癌	23	19	4		
中分化癌	16	7	9		
高分化癌	9	5	4	6.623 8	<0.05
肿瘤最大径(cm)					
<5	25	12	13		
≥ 5	23	19	4	6.272 9	<0.05
侵犯周围组织					
无	19	9	11		
有	29	22	6	5.478 5	<0.05

3 讨 论

大肠癌是常见的消化道恶性肿瘤,具有高复发和高转移的特点。其 5 年总体生存率在 60%左右,近年来发病率逐步上升,严重危害人民生活健康。目前对于大肠癌的发病及其转移尚无有效的防治手段,其发病机制和防治依然是这一领域中的研究热点。

Annexin 家族是一类钙依赖的磷脂结合蛋白,细胞中含量较高,参与细胞多种重要生理功能。Annexin A1 是 Anx 家族的成员之一,是多种受体和酶的底物,如 EGF 受体、蛋白激酶 C、酪氨酸蛋白激酶等^[2]。Annexin A1 参与了包括细胞信号传导、炎症反应、DNA 修复和细胞凋亡等多种细胞生理病理过程^[10]。肿瘤的发生和发展是一个多因素作用、多基因参与、经过多阶段形成的、极其复杂的生物学现象,信号传导异常是肿瘤形成过程中的频发事件,而 Annexin A1 在胞内信号传导中发挥重要作用,故其在肿瘤形成及发展中的作用日益受到人们的关注。

本研究利用免疫组织化学对癌旁组织、腺瘤性息肉组织及大肠癌组织中 Annexin A1 的表达水平进行检测,探讨其在大肠癌发生、发展机制中的可能作用。研究结果显示,大肠癌组织中 Annexin A1 的阳性表达率明显高于癌旁组织、腺瘤性息肉组织;Annexin A1 阳性表达的良性病变的黏膜上皮呈不同程度的不典型增生。高分化腺癌、肿瘤最大径小于 5 cm、无淋巴结转移及未侵犯周围组织器官患者的 Annexin A1 阳性表达率均明显低于中或低分化腺癌、肿瘤最大径大于或等于 5 cm、有淋巴结转移及伴周围组织器官侵犯患者。上述结果提示,大肠癌变过程中 Annexin A1 表达水平明显上调,且其表达水平与大肠癌的发展、转移及侵袭能力密切相关,阳性表达者进展快,易发生转移,侵袭能力强,说明 Annexin A1 表达水平可能是反映大肠癌发生、发展及临床生物学行为的重要标志物。同时检测大肠良性病变组织中 Annexin A1 的表达水平可能对预防和早期发现大肠癌有重要临床价值,但仍有待积累更多的病例进行更深入的研究。

参考文献:

- [1] Lim LH, Pervaiz S. Annexin 1: the new face of an old molecule[J]. FASEB J, 2007, 21(4): 968-975.
- [2] Gerke V, Creutz CE, Moss SE. Annexins: linking Ca^{2+} signalling to membrane dynamics[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2005, 6(6): 449-461.
- [3] Rescher U, Gerke V. Annexins—unique membrane binding proteins with diverse functions[J]. J Cell Sci, 2004, 117(Pt 13): 2631-2639.
- [4] 张珑涓,李斌,谢至,等. Annexin A1 在胃癌中的表达及其与胃癌预后的关系[J]. 中山大学学报:医学科学版, 2011, 32(2): 237-241.
- [5] 杨乐平,杨竹林,谭兴国,等. 膜联蛋白 A1 和 A2 在胆囊良恶性病变组织中的表达水平及其与胆囊腺癌临床病理特征的关系[J]. 中华肿瘤杂志, 2010, 32(8): 595-599.
- [6] Cao Y, Li Y, Edelweiss M, et al. Loss of annexin A1 expression in breast cancer progression[J]. Appl Immunohistochem Mol Morphol, 2008, 16: 530-534.
- [7] Yu G, Wang J, Chen Y, et al. Tissue microarray analysis reveals strong clinical evidence for a close association between loss of annexin A1 expression and(下转第 4612 页)

升高避开了子宫分泌液的强流和宫缩导致的负压,可有效降低异位妊娠的发生。本研究结果显示,冻融囊胚移植和冻融卵裂期胚胎行囊胚培养后移植的异位妊娠率均低于冻融卵裂期胚胎移植,但两者间差异无统计学意义。

3.2 胚胎质量与囊胚形成率 新鲜周期移植后剩余胚胎行囊胚培养不仅能够对剩余胚胎进行有效筛选,而且在冻融周期移植可显著提高种植率和临床妊娠率^[11]。由于只有 30%~50% 的优质胚胎能够形成囊胚^[12],囊胚培养的主要弊端就是培养过程中导致的胚胎损耗以及长时间培养导致透明带的变化,甚至出现无囊胚形成的潜在风险。Hardy 等^[13]认为,胚胎的质量影响囊胚形成率、囊胚质量和种植率。胚胎碎片不仅干扰细胞之间的连接,不利于细胞的融合、囊胚腔和囊胚的形成^[14],而且释放的有毒物质损伤其临近的细胞,减少胞质的体积并耗竭胚胎发育所需的细胞器,造成卵裂球或胞质的损失,最终凋亡。随着胚胎碎片的增多,囊胚形成率降低,囊胚质量下降。本研究也发现,第 3 天优质胚胎的囊胚形成率(62.5%)显著高于非优质胚胎(20.3%),因此,对第 3 天大于或等于 3 个优质胚胎进行囊胚培养,理论上至少可获得 1~2 枚囊胚,从而确保囊胚培养的成功。对于第 3 天形态学评分低的胚胎进行体外延长培养仍有一部分能越过阻滞期发育到囊胚,从中筛选出具有发育潜能、生存能力强、质量好的胚胎。本研究对 246 枚第 3 天 2 细胞或 3 细胞胚胎进行了观察,仅有 3 枚形成囊胚,囊胚形成率仅为 1.2%,表明该类胚胎几乎不具备发育为囊胚的潜能。

总之,本研究认为冻融囊胚移植与冻融卵裂期胚胎复苏后行囊胚培养后移植可获得较好的临床结局,尤其解冻卵裂期胚胎行囊胚培养可获得较高的囊胚形成率和妊娠率,建议对复苏后存活 3 枚优质卵裂期胚胎的患者行囊胚培养后移植。

参考文献:

- [1] Gardner DK, Lane M, Stevens J, et al. Blastocyst score affects implantation and pregnancy outcome: towards a single blastocyst transfer[J]. *Fertil Steril*, 2000, 73(6): 1155-1158.
- [2] Fisch JD, Rodriguez H, Ross R, et al. The graduated embryo score(GES) predicts blastocyst formation and pregnancy rate from cleavage-stage embryos[J]. *Hum Reprod*, 2001, 16(9): 1970-1975.
- [3] Hong SW, Sepilian V, Chung HM, et al. Cryopreserved human blastocysts after vitrification result in excellent

implantation and clinical pregnancy rates[J]. *Fertil Steril*, 2009, 92(6): 2062-2064.

- [4] Huang CC, Lee TH, Chen SU, et al. Successful pregnancy following blastocyst cryopreservation using super-cooling ultra-rapid vitrification[J]. *Hum Reprod*, 2005, 20(1): 122-128.
- [5] 马文敏, 李海仙, 张静雯, 等. 囊胚期胚胎培养与移植的临床研究[J]. *中国妇幼保健*, 2008, 23(32): 4604-4605.
- [6] Kuczyński W, Dhont M, Grygoruk C, et al. Rescue ICSI of unfertilized oocytes after IVF[J]. *Hum Reprod*, 2002, 17(9): 2423-2427.
- [7] Eftekhar M, Aflatoonian A, Mohammadian F, et al. Transfer of blastocysts derived from frozen-thawed cleavage stage embryos improved ongoing pregnancy[J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2012, 286(2): 511-516.
- [8] Wang YA, Chapman M, Costello M, et al. Better perinatal outcomes following transfer of fresh blastocysts and blastocysts cultured from thawed cleavage embryos: a population based study[J]. *Hum Reprod*, 2010, 25(6): 1536-1542.
- [9] Sowter MC, Farquhar CM. Ectopic pregnancy: an update[J]. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 2004, 16(4): 289-293.
- [10] 加藤修. 不孕症治疗的成功之路[M]. 上海: 上海科学普及出版社, 2004: 80-90.
- [11] 张顺吉, 林戈, 卢光琇. 卵裂期胚胎、囊胚的玻璃化冷冻解冻的妊娠结果分析[J]. *中国现代医学杂志*, 2011, 21(8): 955-958.
- [12] Behr B, Pool TB, Milki AA, et al. Preliminary clinical experience with human blastocyst development in vitro without co-culture[J]. *Hum Reprod*, 1999, 14(2): 454-457.
- [13] Hardy K, Stark J, Winston RM. Maintenance of the inner cell mass in human blastocysts from fragmented embryos[J]. *Biol Reprod*, 2003, 68(4): 1165-1169.
- [14] Eftekhari-Yazdi P, Valojerdi MR, Ashtiani SK, et al. Effect of fragment removal on blastocyst formation and quality of human embryos[J]. *Reprod Biomed Online*, 2006, 13(6): 823-832.

(收稿日期: 2014-05-23 修回日期: 2014-07-04)

(上接第 4609 页)

- nodal metastasis in gastric cancer[J]. *Clin Exp Metastasis*, 2008, 25(7): 695-702.
- [8] Silistino-Souza R, Rodrigues-Lisoni FC, Cury PM, et al. Annexin 1, differential expression in tumor and mast cells in human larynx cancer[J]. *Int J Cancer*, 2007, 120(12): 2582-2589.
- [9] Liang L, Qu L, Ding Y. Protein and mRNA characterization in human colorectal carcinoma cell lines with different

metastatic potentials[J]. *Cancer Invest*, 2007, 25(6): 427-434.

- [10] Paravicini TM, Yogi A, Mazur A, et al. Dysregulation of vascular TRPM7 and annexin-1 is associated with endothelial dysfunction in inherited hypomagnesemia[J]. *Hypertension*, 2009, 53(2): 423-429.

(收稿日期: 2014-06-16 修回日期: 2014-10-25)