

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.02.010

iASPP 表达与鼻咽癌患者临床病理学特征及预后的关系*

焦红叶, 薛飞, 程友[△]

(南京军区总医院耳鼻喉科, 江苏南京 210000)

[摘要] **目的** 探讨鼻咽癌患者癌组织中 p53 凋亡刺激蛋白抑制因子(iASPP)的表达变化、与鼻咽癌临床病理学特征及远期预后的关系。**方法** 选取该院经病理学证实为鼻咽癌的 133 例患者,同时选取该院病理科既往收集的 30 例患者鼻咽部慢性黏膜炎活组织蜡块作为对照组,采用免疫组织化学染色对比两组中 iASPP 蛋白的表达,并分析鼻咽癌患者 iASPP 表达与临床病理学特征及预后的关系。**结果** 鼻咽癌组织中 iASPP 蛋白阳性表达率(72.18%)高于对照组的 20.00%($P < 0.05$);鼻咽癌组织中 iASPP 蛋白阳性表达与原发肿瘤范围及淋巴结转移具有一定的相关性($P < 0.05$);92 例鼻咽癌患者获得随访,其中 iASPP 蛋白阳性表达患者 63 例、阴性表达患者 29 例,iASPP 蛋白阳性表达患者的 5 年生存率(71.43%)与阴性表达患者的 86.21%比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 鼻咽癌组织中 iASPP 的表达上调,与淋巴结转移、原发肿瘤的范围有关,对患者的预后影响尚不显著。

[关键词] 鼻咽肿瘤;病理学;预后;p53 凋亡刺激蛋白抑制因子

[中图分类号] R446.6

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2018)02-0177-03

Relationship between iASPP expression with clinicopathological features and prognosis in patients with nasopharyngeal carcinoma*

JIAO Hongye, XUE Fei, CHENG You[△]

(Department of ENT, Nanjing General Hospital, Nanjing, Jiangsu 210000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the expression change of inhibitory member of the ASPP family(iASPP) and its relationship with clinicopathological features and prognosis in the patients with nasopharyngeal carcinoma(NPC). **Methods** One hundred and thirty-three cases of nasopharyngeal carcinoma confirmed by pathology in the hospital were selected, at the same time 30 cases of nasopharyngeal chronic mucositis biopsy paraffin blocks previously collected in the pathology department served as the control group. The immunohistochemical staining was used to compare the expression of iASPP protein in the two groups and the relationship between the expression of iASPP with the clinicopathologic characteristics and prognosis in the patients with NPC was analyzed. **Results** The positive expression of iASPP protein in the nasopharyngeal carcinoma tissue was 72.18%, which was higher than 20.00% in the control group($P < 0.05$); the positive expression of iASPP protein in the nasopharyngeal carcinoma tissue had a certain relationship with the primary tumor range and lymph node metastasis($P < 0.05$); 92 cases of nasopharyngeal carcinoma were followed up, including 63 cases of iASPP protein positive expression and 29 cases of iASPP protein negative expression, the 5-year survival rate in the patients with iASPP protein positive expression was 71.43%, which in the patients with iASPP protein negative expression was 86.21%, the difference was not statistically significant($P > 0.05$). **Conclusion** The iASPP expression in the nasopharyngeal carcinoma tissue is up-regulated, which is related to the lymph node metastasis and the primary tumor range, but its influence on the patient's prognosis is not significant.

[Key words] nasopharyngeal neoplasms; pathology; prognosis; p53 inhibitor of apoptosis protein

鼻咽癌是耳鼻咽喉科较为常见的恶性肿瘤,且近 5 年发病率逐年上升^[1]。鼻咽癌易早期发生淋巴结或血行转移,预后较差^[2]。p53 基因是重要的抗癌基因,对肿瘤细胞的发生、增殖、分化及凋亡起调控作用,p53 凋亡刺激蛋白抑制因子(inhibitory member of the ASPP family, iASPP) 可以发挥拮抗 p53 的生物学效应,在促进癌细胞异常持续性增殖过程中发挥重要作用,也提高了癌细胞的侵袭能力^[3-6]。因此,iASPP 可为鼻咽癌的早期诊断及预后评估提供实验室参考指标。为探讨 iASPP 在鼻咽癌诊断中的价值,本研究分析了鼻咽癌患者 iASPP 表达水平,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2010 年 1 月至 2012 年 12 月在本院经病理学证实为鼻咽癌的 133 例患者,同时选取本院病理科既往收集的 30 例患者鼻咽部慢性黏膜炎活组织蜡块作为对照组。鼻咽癌组 133 例,其中男 89 例、女 44 例,年龄 39~75 岁,平均(53.3±12.5)岁,病理学分型:I 型 6 例、II 型 13 例、III 型 114 例,TNM 分期:I 期 13 例、II 期 33 例、III 期 57 例、IV 期 30 例,92 例患者获得随访。对照组 30 例,其中男 20 例、女 10 例,年龄 33~70 岁,平均(51.4±15.0)岁。纳入标准:(1)鼻咽癌的诊断依据中华医学会头颈外科学分会制订的诊断标准^[6];(2)

* 基金项目:中国博士后科学基金(2017M613438)。 作者简介:焦红叶(1987—),住院医师,硕士,主要从事耳部疾病的诊治研究。

[△] 通信作者,E-mail:chengyou2002@126.com。

年龄 18~79 岁;(3)所有患者均经过病理活检或术后病理学证实;(4)获取组织学标本前,患者无鼻咽癌放疗史;(5)患者一般资料、临床资料收集完整。排除标准:(1)具有放疗史;(2)复发性鼻咽癌患者;(3)各项临床资料不完整,无法纳入统计的患者。两组患者年龄、性别比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学 采用石蜡切片(切片厚度 3 mm)脱蜡至水,切片厚度 3 mm,3%过氧化氢(H_2O_2)室温孵育 5 min;去离子水冲洗 3 次,每次 3 min,采用 10%牛奶蛋白(1 g 蛋白加入 100 mL 纯水)封闭,室温孵育 5 min;加入 iASPP 抗体(鼠来源,南京碧云天生物科技有限公司),37 °C 孵育 2 h;磷酸缓冲盐溶液(PBS)冲洗 3 次,每次 5 min,滴加辣根过氧化物酶(HRP)标记的二抗(兔来源,购自罗氏检测公司),37 °C 孵育 30 min;PBS 冲洗 3 次,每次 5 min,加入硝基四氮唑蓝/5-溴-4-氯-3-吡啶基磷酸(NBT/BCIP)显色 5 min,复染,脱水,透明,封片,镜下观察。OLIPICS 电子显微镜购自上海精密仪器有限公司,配套试剂购自南京泰康生物科技有限公司。

1.2.2 判断标准 阳性着色的 iASPP 蛋白定位于细胞质、细胞核,显色为黄色、褐色,(1)依据显色强度:无色(0 分)、淡黄色(1 分)、棕黄色(2 分)、褐色及黑色(3 分);(2)依据阳性细胞所占比例: $<5\%$ 为 0 分、 $\geq 5\% \sim \leq 25\%$ 为 1 分、 $> 25\% \sim \leq 50\%$ 为 2 分、 $> 50\% \sim \leq 75\%$ 为 3 分、 $> 75\%$ 为 4 分。两种积分之和,0~1 分为阴性(-);2 分为弱阳性(+);3~5 分为阳性(++),6~7 分为强阳性(+++)。

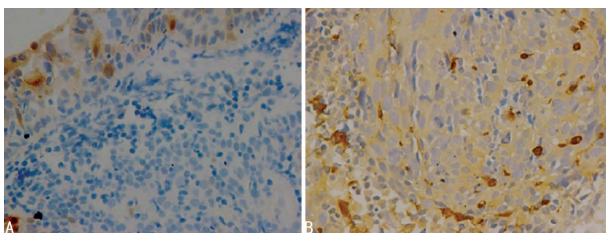
1.3 统计学处理 采用 SPSS16.0 软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,比较采用 t 检验,计数资料以百分率表示,比较采用 χ^2 检验,生存分析采用 Kaplan-Meier 法,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组标本中 iASPP 蛋白阳性表达率比较 鼻咽癌组织中 iASPP 蛋白阳性表达率(72.18%)高于对照组的 20.00% ($\chi^2=28.461, P<0.01$),见表 1、图 1。

表 1 两组标本中 iASPP 蛋白阳性表达率比较(n)

组别	n	- (n)	+ (n)	++ (n)	+++ (n)	阳性表达率 [n(%)]
鼻咽癌组	133	37	13	50	33	96(72.18)
对照组	30	24	6	0	0	6(20.00)



A:鼻咽部慢性黏膜炎组织;B:鼻咽癌组织

图 1 免疫组织化学染色($\times 400$)

2.2 iASPP 蛋白表达与鼻咽癌患者临床相关特征的关系 原发性肿瘤(T3~T4)、发生淋巴结转移患者 iASPP 蛋白阳性表达

率高于原发肿瘤(T1~T2)、未发生淋巴结转移的患者($P<0.05$),而 iASPP 表达与患者的年龄、性别、病理学分型、TNM 分期无关($P>0.05$),见表 2。

表 2 iASPP 蛋白表达与鼻咽癌患者的临床相关特征的关系[n(%)]

临床病理	阳性表达(n=96)	阴性表达(n=37)	χ^2	P
年龄(岁)			0.160	0.689
≥ 50	53(55.21)	19(51.35)		
< 50	43(44.79)	18(48.65)		
性别			0.524	0.469
男	66(68.75)	23(62.16)		
女	30(31.25)	14(37.84)		
病理学分型			2.441	0.295
I型	6(6.25)	0(0)		
II型	9(9.38)	4(10.81)		
III型	81(84.38)	33(89.19)		
TNM 分期			2.924	0.087
I+II期	29(30.21)	17(45.95)		
III+IV期	67(69.79)	20(54.05)		
原发肿瘤范围			10.138	0.001
T1~T2	33(34.38)	24(64.86)		
T3~T4	63(65.63)	13(35.14)		
淋巴结转移			11.984	0.001
是	74(77.08)	17(45.95)		
否	22(22.92)	20(54.05)		

2.3 随访结果分析 92 例鼻咽癌患者获得随访,其中 iASPP 蛋白阳性表达患者 63 例、阴性表达患者 29 例,iASPP 蛋白阳性表达患者的 5 年生存率(71.43%)与阴性表达患者(86.21%)比较,差异无统计学意义($\chi^2=2.993, P=0.084$),见图 2。

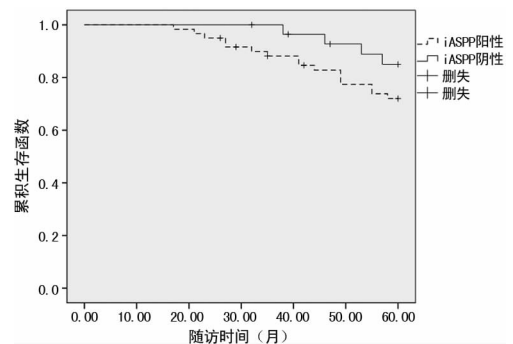


图 2 鼻咽癌患者的 5 年生存函数图

3 讨论

临床上鼻咽癌早期血行转移率可达 25% 以上,临床预后较差,5 年生存率不足 35%^[7-8]。恶性肿瘤依靠超声或 CT 等早期诊断较困难。而通过对鼻咽癌发病过程中相关生物学机制的研究,可以为鼻咽癌患者的早期诊断提供潜在的理论参考指标。

p53/CYC/NOTCH 信号通路及 p53/HES 信号通路的激活,可以促进上游转录调节基因的激活,提高转录增强子或启动子的活性,进而促进癌细胞细胞周期的调控,促进癌细胞凋亡^[9-10]。而 iASPP 通过拮抗性抑制 p53 受体,进而沉默了 p53 导致的保护性效应的产生^[11]。iASPP 对于相关保护性信号通路的抑制,促进了癌细胞的自我增殖,并提高了浸润能力,促进了病情进展^[3,12]。已有的研究探讨了 iASPP 在鼻咽癌患者病灶组织中的异常表达,但缺乏对于 iASPP 的表达与患者临床病理特征间关系的研究。

本研究发现,在鼻咽癌病灶组织中,iASPP 的表达明显上升,表达阳性率高于正常组织,提示 iASPP 可能参与了鼻咽癌的发生、发展过程。侯文群等^[13]和 WANG 等^[14]通过回顾性分析研究了 73 例患者临床资料,从免疫组织化学结果中可以发现明显的 iASPP 表达阳性率的上升,且 iASPP 的阳性率越高,患者的病情越严重、预后越差,这与本研究的结果一致。在发生了淋巴结转移的患者中,iASPP 的阳性表达率较高,提示 iASPP 促进了癌细胞对于淋巴结的浸润。此外,iASPP 的表达与鼻咽癌原发灶的范围有关,提示在癌细胞早期浸润或扩张过程中,iASPP 的生物活性作用可能较为剧烈,也提示 iASPP 的表达对于原发部位恶性肿瘤的生物学调控作用较为明显,而对于转移或淋巴结转移等部位的调控作用较弱。

综上所述,鼻咽癌患者癌组织中 iASPP 的表达上调,与患者的淋巴结转移、原发肿瘤的范围有关,但本研究对于 iASPP 在鼻咽癌患者中血清学诊断价值分析不足,存在一定局限性。

参考文献

- [1] ROSALES PÉREZ S, CANO VALDEZ A M, FLORES BALCÁZAR C H, et al. Expression of epstein-barr virus-encoded latent membrane protein(LMP-1), p16 and p53 proteins in non-endemic nasopharyngeal carcinoma(NPC): a clinicopathological study[J]. Arch Med Res, 2014, 45(3): 229-236.
- [2] WU J, TANG Q, ZHAO S, et al. Extracellular signal-regulated kinase signaling-mediated induction and interaction of FOXO3a and p53 contribute to the inhibition of nasopharyngeal carcinoma cell growth by curcumin[J]. Int J Oncol, 2014, 25(5): 90-92.
- [3] 吴芳,王仁生,张勇,等. p53 凋亡刺激蛋白抑制因子表达水平与鼻咽癌临床病理学特征的关系[J]. 广西医学,

2016, 38(8): 1075-1077.

- [4] 吴芳,方业颖,胡凯,等. 凋亡刺激蛋白抑制因子表达对鼻咽癌预后预测的研究[J]. 中华放射医学与防护杂志, 2017, 37(4): 273-277.
- [5] 屠彦红,李娜,高士秀,等. 拉帕替尼诱导人鼻咽癌 CNE-2Z 细胞周期阻滞和细胞凋亡观察[J]. 解放军医学杂志, 2015, 40(7): 568-573.
- [6] 李涛. 紫杉醇通过抑制 PI3K/AKT/p53 信号通路诱导人鼻咽癌细胞株 CNE2 增殖抑制和凋亡[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2015, 10(24): 2147-2150.
- [7] YAN M, QIAN Y, YUE C, et al. Inhibition of histone deacetylases induces formation of multipolar spindles and subsequent p53-dependent apoptosis in nasopharyngeal carcinoma cells[J]. Oncotarget, 2014, 22(4): 56-58.
- [8] MA W, MA J, XING L. Efficacy and safety of recombinant human adenovirus p53 combined with chemoradiotherapy in the treatment of recurrent nasopharyngeal carcinoma[J]. Anticancer Drugs, 2017, 28(2): 230-236.
- [9] 徐光. EGFR、p53、Fascin 蛋白在鼻咽癌组织中表达[J]. 中国公共卫生, 2015, 31(10): 1356-1358.
- [10] 兰桂萍,司勇锋,翁敬锦,等. p53 和 p21~(WAF1)在鼻咽癌 rAd-p53 瘤内注射前后的表达及其与近期预后的关系[J]. 肿瘤防治研究, 2012, 25(8): 961-965.
- [11] 彭裕辉,谢长乐,庄珊珊,等. 联合检测 p53 自身抗体与 EB 病毒 VCA-IgA 对鼻咽癌的诊断价值[J]. 癌变·畸变·突变, 2015, 25(1): 26-29.
- [12] AHN Y C, KIM Y S. Korean perspectives of nasopharynx cancer management[J]. Chin Clin Oncol, 2016, 5(2): 764-779.
- [13] 侯文群,杨小敏,张胜男. P53 蛋白在鼻咽癌中表达的 Meta 分析[J]. 中国循证医学杂志, 2016, 35(9): 1040-1046.
- [14] WANG Z, LIAO K, ZUO W, et al. Depletion of NFBD1/MDC1 induces apoptosis in nasopharyngeal carcinoma cells through the p53-ROS-mitochondrial pathway[J]. Oncol Res, 2017, 25(1): 123-136.

(收稿日期:2017-07-08 修回日期:2017-09-19)

(上接第 176 页)

- B, et al. Preventing surgical site infections: a randomized, open-label trial of nasal mupirocin ointment and nasal povidone-iodine solution[J]. Infect Control Hosp Epidemiol, 2014, 35(7): 826-832.
- [15] 吴安华,任南,文细毛,等. 外科手术部位感染病原菌分布[J]. 中华医院感染学杂志, 2005, 15(2): 210-212.
- [16] KURZ A, SESSLER D I, LENHARDT R. Perioperative normothermia to reduce the incidence of surgical-wound infection and shorten hospitalization[J]. N Engl J Med,

1996, 334(19): 1209-1215.

- [17] STONE H H, HOOPER C A, KOLB L D, et al. Antibiotic prophylaxis in gastric, biliary and colonic surgery[J]. Ann Surg, 1976, 184(4): 443-452.
- [18] KNOBBEN B A, ENGELSMA Y, NEUT D. Intraoperative contamination influences wound discharge and periprosthetic infection[J]. Clin Orthop Relat Res, 2006(452): 236-241.

(收稿日期:2017-07-09 修回日期:2017-09-16)