

文章编号:1005-6947(2008)08-0816-04

· 简要论著 ·

肝细胞癌中 Arom 和 elastin 的表达及其临床意义

向志钢¹, 杨竹林², 邓星辉²

(1. 湖南吉首大学医学院 外科教研室, 湖南 吉首 416000; 2. 中南大学湘雅二医院肝胆研究室, 湖南 长沙 410011)

摘要:目的 探讨 Arom(芳香化酶)和 elastin(弹力蛋白)在肝细胞癌(HCC)组织中的表达相关性及其与 HCC 临床病理特征之间的关系。方法 应用 ABC 免疫组化法对 42 例 HCC 手术切除标本分别检测 Arom 和 elastin 的表达,并以癌旁肝组织作对照,高倍镜下评分,分别比较两种蛋白在临床病理特征分组间的差异;对两种蛋白的表达进行相关性分析。结果 癌组织中 Arom 和 elastin 的阳性表达率和表达评分均显著高于癌旁组织。 $(P < 0.05, P < 0.01)$ 。Arom 和 elastin 在 HCC 中的表达情况与其主要临床病理特征无明显关系;癌组织中 Arom 与 elastin 的表达评分呈正相关 $(r = 0.466, P < 0.01)$ 。结论 Arom 和 elastin 的表达可能与 HCC 的发生和发展有密切关系。

[中国普通外科杂志, 2008, 17(8): 816-819]

关键词: 肝肿瘤;芳香化酶;弹力蛋白;免疫组织化学

中图分类号: R 735.7

文献标识码: B

肿瘤的发生、发展、浸润和转移是一个多步骤的事件,调控机制十分复杂。芳香化酶(aromatase, Arom)是细胞色素 p450 超家族成员之一,其主要作用是将雄烯二酮和睾酮转化为雌酮和雌二醇;研究^[1]证实其与许多恶性肿瘤的关系十分密切。弹力蛋白(elastin)是一种细胞外基质蛋白,其功能主要是赋予所在组织和器官的机械特性;某些肿瘤细胞也能合成 elastin^[2],且其与肿瘤细胞之间的相互作用在恶性肿瘤的发展过程中起重要作用,与肿瘤的转移和预后密切相关。本研究应用免疫组化方法研究肝细胞癌组织中 Arom 和 elastin 的表达情况,并探讨它们之间的相关性以及与 HCC 临床病理特征之间的关系和意义。

1 材料与方法

1.1 标本及其一般资料

收集中南大学湘雅二医院肝胆胰外科 2002 年 3 月—2003 年 5 月手术切除并经病理证实的 HCC 标本 42 例(术前均未进行化疗和放疗)。其中男 41 例(97.6%),女 1 例(2.4%);年龄

25~73 岁,平均 (47.2 ± 14.4) 岁。高、中分化癌占 59.5%(25 例),低分化癌占 40.5%(17 例);血清甲胎蛋白(AFP)阴性占 14.3%(6 例);阳性占 85.7%(36 例)。术中或病理证实无或轻度肝硬化占 42.9%(18 例),中至重度肝硬化占 57.1%(24 例);临床或病理证实肝内或/和肝外转移占 64.3%(27 例)。巨块型占 85.7%(36 例),弥漫型和结节型占 14.3%(6 例)。肿块最大径 ≥ 5 cm 占 88.1%(37 例), < 5 cm 占 11.9%(5 例)。切除标本经病理证实后均取癌组织及癌旁组织,经 10% 甲醛溶液固定后常规石蜡包埋连续切片,切片厚 4 μ m。

1.2 主要试剂

兔抗人 Arom, elastin 多克隆抗体、生物素标记羊抗兔 IgG 和 ABC 试剂以及 DAB-HCL 显色试剂盒,均购自武汉博士德公司。

1.3 Arom, elastin 表达的检测方法和判断标准

Arom 和 elastin 染色方法均为 ABC 免疫组化法,步骤参照试剂盒说明。以试剂盒中阳性切片作为染色的阳性对照,磷酸盐缓冲液(PBS)(pH = 7.4)替代一抗作为染色的阴性对照。结果判断:细胞浆或/和细胞核中含黄色至棕黄色颗粒者为阳性细胞。由 2 位有经验的病理科医师分别计数 20 个高倍镜视野下的阳性细胞,根据染色强度评分:无为 0 分;弱为 1 分;中为 2 分;强为

收稿日期:2008-04-28; 修订日期:2008-07-15。

作者简介:向志钢,男,湖南吉首大学医学院副教授,主要从事外科学临床教学及肝胆胰疾病方面的研究。

通讯作者:向志钢 E-mail:xiangzhigang@126.com

3分。阳性细胞率评分: ≤5% 为 0 分; >5% ~ 10% 为 1 分; >10% ~ 20% 为 2 分; >20% ~ 50% 为 3 分; >50% 为 4 分。两种评分之和为该病例评分,将 0 ~ 2 分定为阴性病例, >2 分定为阳性病例^[3]。

1.4 统计学处理

将所得数据输入 SPSS13.0 统计软件包进行 *t* 检验、 χ^2 检验和 Spermman 相关分析。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 Arom 和 elastin 在 HCC 中的表达

Arom 和 elastin 在癌组织和癌旁组织中均有表达, Arom 的免疫反应物主要定位于细胞胞浆及基

质细胞(图 1); elastin 的免疫反应物主要定位于细胞胞浆,偶可见胞核着色(图 2)。Arom 和 elastin 在 HCC 组织中的阳性表达率和表达评分均高于癌旁组织,差异有统计学意义 ($P < 0.05, P < 0.01$) (表 1)。

2.2 Arom 和 elastin 的表达与 HCC 临床病理特征的关系

Arom 和 elastin 在 HCC 组织中的表达与分化程度、血清 AFP、肝硬化、转移、癌栓、癌块的大体形态及肿块最大径均无统计学关系(表 2)。

2.3 Arom 和 elastin 在 HCC 组织中表达的相关性

Spermman 相关性分析显示, HCC 组织中 Arom 与 elastin 的表达评分呈正相关 ($r = 0.466, P = 0.002$)。

表 1 Arom 和 elastin 在 HCC 癌组织及癌旁组织中的表达

组织类型	例数	Arom					elastin						
		阳性率(%)	χ^2	<i>P</i>	($\bar{x} \pm s$)	<i>t</i>	<i>P</i>	阳性率(%)	χ^2	<i>P</i>	($\bar{x} \pm s$)	<i>t</i>	<i>P</i>
癌组织	42	43.90	4.131	0.042	1.53 ± 1.69	2.188	0.032	45.20	6.256	0.012	1.64 ± 1.85	2.819	0.006
癌旁组织	42	21.40			0.79 ± 1.41			19.00			0.66 ± 1.28		

表 2 Arom 和 elastin 在 HCC 中的表达及其与临床病理特征的关系

病理特征	例数	Arom					elastin						
		阳性率(%)	χ^2	<i>P</i>	阳性评分($\bar{x} \pm s$)	<i>t</i>	<i>P</i>	阳性率(%)	χ^2	<i>P</i>	阳性评分($\bar{x} \pm s$)	<i>t</i>	<i>P</i>
分化程度													
高、中分化	25	48.0	0.667	0.414	1.60 ± 1.61	0.01	0.983	48.0	0.190	0.663	1.80 ± 1.90	0.665	0.510
低分化	17	35.3			1.59 ± 1.94			41.2			1.41 ± 1.81		
血清 AFP													
-	6	66.7	1.620	0.203	2.23 ± 1.86	1.136	0.263	50.0	0.064	0.800	2.17 ± 2.48	0.747	0.460
+	36	38.9			1.47 ± 1.70			44.4			1.56 ± 1.75		
肝硬化													
无-轻	18	50.0	0.656	0.418	1.72 ± 1.64	0.409	0.685	50.0	0.288	0.591	1.89 ± 2.06	0.744	0.461
中-重	24	37.5			1.50 ± 1.82			41.7			1.46 ± 1.69		
有无转移													
无	15	40.0	0.078	0.780	1.60 ± 1.96	0.13	0.990	40.0	0.258	0.611	1.40 ± 1.84	0.631	0.532
有	27	44.4			1.96 ± 1.62			48.1			1.78 ± 1.87		
有无癌栓													
无	23	47.8	0.513	0.474	1.78 ± 1.88	0.770	0.446	52.2	0.987	0.320	1.74 ± 1.76	0.368	0.715
有	19	36.8			1.37 ± 1.54			38.6			1.53 ± 1.98		
大体形态													
巨块型	36	38.9	1.620	0.203	1.50 ± 1.73	0.873	0.388	47.2	0.400	0.527	1.75 ± 1.89	0.920	0.363
弥漫型及结节型	6	66.7			2.17 ± 1.72			33.3			1.00 ± 1.55		
肿块最大径(cm)													
≥ 5 cm	37	40.5	0.681	0.409	1.43 ± 1.54	1.701	0.097	43.2	0.499	0.480	1.54 ± 1.79	0.977	0.335
< 5 cm	5	60.0			2.80 ± 2.68			60.0			2.40 ± 2.30		

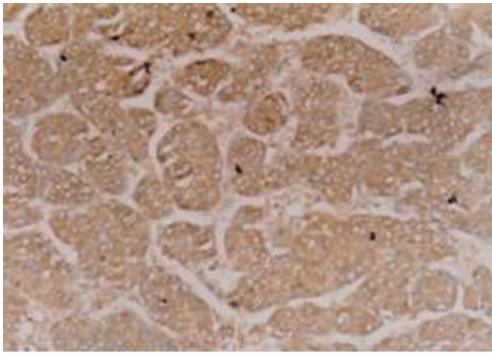


图1 Arom 在肝细胞癌组织中的阳性表达评分5分,表现为胞浆中的棕黄色颗粒(ABC免疫组化法,×200)

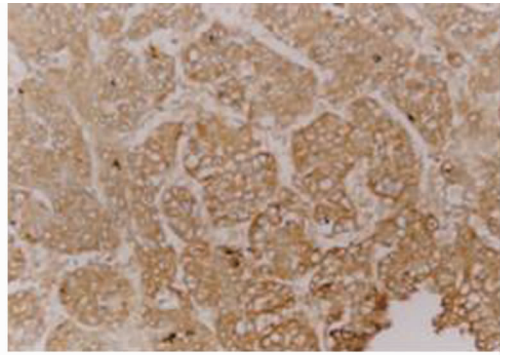


图2 elastin 在肝细胞癌组织中的阳性表达评分5分,表现为胞浆中的棕黄色颗粒(ABC免疫组化法,×200)

3 讨论

Arom 作为雌激素合成的关键酶,一系列的研究都显示 Arom 与乳腺癌的发生、发展关系密切^[4]。本研究发现 Arom 在 HCC 组织中的阳性表达率和阳性评分均显著高于癌旁组织 ($P < 0.05$),与国内外的文献报道近似。说明 Arom 在 HCC 的发生和发展中可能起着重要作用,其可能的机制是肿瘤细胞通过自分泌和旁分泌增高 Arom 在 HCC 中的表达,增加雌激素的合成从而促进肝细胞增殖而导致肿瘤形成。本组资料未发现其在 HCC 组织中的表达与 HCC 临床病理特征之间有明显关系,说明 Arom 在 HCC 发生和发展中作用的复杂性。因为 Arom 的作用还取决于 NADPH-细胞色素 p450 还原酶的活性以及 Arom 的降解等,其作用机制尚有待进一步证实。

elastin 是弹性纤维的重要组成部分,主要由平滑肌细胞、成纤维细胞及软骨细胞合成,以一种分子质量约 72 kD 的可溶性弹性蛋白原前体分泌到细胞外基质 (ECM) 的微环境中。ECM 中的 elastin 主要被中性粒细胞弹性蛋白酶和基质金属蛋白酶 (MMP)-2 和 MMP-9 所降解^[5]。ECM 作为一种细胞外的基质蛋白,能与许多恶性肿瘤细胞产生特定的反应,促进肿瘤的转移和扩散,且与恶性肿瘤的进展密切相关^[2];且 elastin 多肽以及 elastin 的降解产物还具有对肿瘤细胞的趋化作用。某些肿瘤细胞自身也能合成 elastin 并与 ECM 中的 elastin 受体互相吸引,有助于转移的发生^[6]。研究显示肿瘤细胞能与一种分子质量为 67kD 的

elastin-层粘连蛋白 (elastin-laminin) 受体相互作用,介导肿瘤细胞对 ECM 中 elastin 的黏附,同时产生大量 MMPs;通过对 elastin 的降解从而易使肿瘤发生浸润和转移^[7-8]。本研究发现,elastin 在 HCC 组织中的阳性表达率和阳性评分均显著高于癌旁组织 ($P < 0.05$, $P < 0.01$),与文献报道^[6]较一致。说明 elastin 与 HCC 的发生发展有密切关系。其机制可能与肿瘤细胞的自身合成有关,也可能与肿瘤细胞表达大量 MMPs 对基质中 elastin 降解从而刺激 elastin 的合成有关。但上述观点尚有待研究证实。本实验未发现 elastin 在 HCC 组织中的表达与 HCC 临床病理特征之间存在关系,可能与 elastin 在肿瘤的演进中所起的复杂作用以及其中包含众多调节因素有关。已有报道证实多种细胞因子及理化因素都可以参与对 elastin 基因表达的调控^[5],其在肿瘤演进中的许多机制仍不完全明了。

关于雌激素与细胞外基质蛋白 elastin 的关系很早已引起学者们的注意。研究显示雌激素能显著增加 ECM 中 elastin 的合成,提高 elastin 在 ECM 中的含量^[9];还能提高 MMP-2 mRNA 的表达,加速对 ECM 中 elastin 的降解从而易化肿瘤的转移^[10]。本组相关性分析显示,Arom 与 elastin 在 HCC 组织中的表达呈正相关 ($r = 0.466$, $P < 0.01$)。可能是 Arom 可以增加 HCC 组织 ECM 中 elastin 的含量。其机制可能与 Arom 通过增加雌激素的合成而促进 ECM 中 elastin 含量有关,也可能是 ECM 中 elastin 的降解产物刺激其合成增加。对此仍有待进一步证实。

参考文献:

- [1] Meinhardt U, Mullis PE. The aromatase cytochrome p-450 and its clinical impact [J]. *Horm Res*, 2002, 57(5-6):145-152.
- [2] Lapis K, Timar J. Role of elastin-matrix interactions in tumor progression [J]. *Semin Cancer Biol*, 2002, 12(3):209-217.
- [3] 胡淳玲,喻伦银,陈德基,等. 大鼠试验性肺鳞癌癌变各阶段间质微血管密度及 VEGF、FLK-1 表达的动态变化 [J]. *癌症*, 2001, 20(10):713-717.
- [4] Yamaguchi Y, Takei H, Suemasu K, *et al.* Tumor-stromal interaction through the estrogen-signaling pathway in human breast cancer [J]. *Cancer Res*, 2005, 65(11):4653-4662.
- [5] Isnard N, Peterszegi G, Robert AM, *et al.* Regulation of elastase-type endopeptidase activity, MMP-2 and MMP-9 expression and activation in human dermal fibroblasts by fucose and a fucose-rich polysaccharide [J]. *Biomed Pharmacother*, 2002, 56(5):258-264.
- [6] Grosso LE, Scott M. PGAIIPG, a repeated hexapeptide of bovine and human tropoelastin, is chemotactic for neutrophils and Lewis lung carcinoma cells [J]. *Arch Biochem Biophys*, 1993, 305(2):401-404.
- [7] Fulop T, Larbi A. Putative role of 67 kDa elastin-laminin receptor in tumor invasion [J]. *Semin Cancer Biol*, 2002, 12(3):219-229.
- [8] 朱立新,刘弋,范上达. vWF 和 IV 型胶原纤维及层粘连蛋白在肝细胞肝癌中的表达及意义 [J]. *中国普通外科杂志*, 2003, 12(3):176-179.
- [9] Ewies AA, Al-Azzawi F, Thompson J. Changes in extracellular matrix proteins in the cardinal ligaments of post-menopausal women with or without prolapse: a computerized immunohistomorphometric analysis [J]. *Hum Reprod*, 2003, 18(10):2189-2195.
- [10] Tushaus L, Hopert AC, Strunck E, *et al.* Estrogenic and antiestrogenic regulation of MMP-2 and MMP-13 mRNA in RUCa-I endometrial tumor cells in vitro and in vivo [J]. *Cancer Lett*, 2003, 198(1):99-101.

《中国医药导刊》征稿函

《中国医药导刊》以下简称《导刊》杂志是由中华人民共和国卫生部(国家食品药品监督管理局)主管,国家食品药品监督管理局信息中心主办。系经国家科技部和国家新闻出版总署批准的国内外公开发行的国家级医药综合性专业核心期刊,中国科技论文核心期刊。

本刊为月刊(每月10号出版),开本为16开,国内统一刊号:CN11-4395/R,国际标准刊号:ISSN1009-0959,1999年9月创刊。其全文收录在《中国核心期刊数据库》,《中国期刊全文数据库》,《中文科技期刊数据库》,《中国学术期刊综合评价数据库》,《中国学术期刊(光盘版)》,《中国科技核心期刊》,《中国科技论文统计源期刊》等一系列检索系统。

《导刊》对国家医药行业的技术交流和企业及产品的宣传具有行业主流强势媒体的功能。多年来,在国家食品药品监督管理局的管理和领导下,在国家食品药品监督管理局信息中心领导的支持和编辑部全体同仁,作者和读者共同努力下,近10来《导刊》一直高质量按时出版,2008年6月又被科技部正式评为“中国科技核心期刊”、“中国科技论文统计源核心期刊”。同时,《导刊》也迎来了新的发展机遇和挑战。

《导刊》经北京新闻出版局批准,从2008年7月正式由双月刊变更为月刊。欢迎广大医务者、专家、读者、医药工作者积极向本刊投稿,并提出宝贵意见。

投稿电话:010-62214715; 62214665; 投稿传真:010-62214866; 62214715; 投稿邮箱:yydk@sfd. gov. cn; zggydk2008@sina. com zggydk@163. com。

《中国医药导刊》编辑部

二〇〇八年八月