



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2014.03.014
http://www.zpwz.net/CN/abstract/abstract3817.shtml

· 基础研究 ·

p28GANK 在胰腺导管癌中表达的临床意义

陈平平, 李灼日

(海南省人民医院肝胆外科, 海南海口 570311)

摘要

目的: 探讨 p28GANK 在胰腺导管癌中表达及其临床意义。

方法: 用免疫组化法检测 p28GANK 在 48 例胰腺导管癌及其癌旁组织中的表达, 分析 p28GANK 胰腺导管癌中表达与患者临床病理因素及术后生存率的关系。

结果: p28GANK 在胰腺导管癌组织中阳性表达率明显高于对应的癌旁组织 ($P < 0.01$); p28GANK 在胰腺导管癌组织中高表达与高 TNM 分期、低级别分化程度、转移有关 (均 $P < 0.05$), 而与患者性别及年龄无关 (均 $P > 0.05$)。p28GANK 阳性患者术后 3 年生存率明显低于阴性表达者 ($P = 0.01$)。

结论: p28GANK 在胰腺导管癌中表达上调, 其高表达与患者恶性进展程度密切相关。

[中国普通外科杂志, 2014, 23(3):333-337]

关键词

胰腺肿瘤; 癌, 胰腺管; 癌基因蛋白质类; 胰腺导管癌; 肿瘤浸润

中图分类号: R735.9

P28GANK expression in pancreatic ductal carcinoma and its clinical significance

CHEN Pingping, LI Zhuori

(Department of Hepatobiliary Surgery, People's Hospital of Hainan Province, Haikou 570311, China)

Corresponding author: LI Zhuori, Email: lizr59@hotmail.com

ABSTRACT

Objective: To investigate the p28GANK expression in pancreatic ductal carcinoma and its clinical significance.

Methods: The p28GANK expression in pancreatic ductal cancer and matched adjacent non-cancerous tissues from 47 patients were determined by immunohistochemical staining. The relations of p28GANK expression in pancreatic ductal cancer with the clinicopathologic factors and postoperative survival of the patients were analyzed.

Results: The p28GANK expression in pancreatic ductal cancer tissues was significantly higher than that in their adjacent non-cancerous tissues ($P < 0.01$). The high p28GANK expression in tumor tissue was significantly associated with advanced TNM stage, low differentiation, and metastases (all $P < 0.05$), but was irrelevant to age and gender of the patients (both $P > 0.05$). The 3-year postoperative survival rate in patients with p28GANK positive expression was significantly lower than that in those with p28GANK negative expression ($P = 0.01$).

Conclusion: p28GANK expression is up-regulated in pancreatic ductal carcinoma, and high p28GANK expression is closely related to the progress of malignancy stage.

[Chinese Journal of General Surgery, 2014, 23(3):333-337]

收稿日期: 2013-12-24; 修订日期: 2014-02-25。

作者简介: 陈平平, 海南省人民医院主治医师, 主要从事肝胆胰外科基础与临床方面的研究。

通信作者: 李灼日, Email: lizr59@hotmail.com

KEYWORDS Pancreatic Neoplasms; Carcinoma, Pancreatic Ductal; Oncogene Proteins; Neoplasm Invasiveness

CLC number: R735.9

胰腺肿瘤中, 导管癌占 70% 以上, 病死率高, 预后差, 5 年生存率仅为 5%^[1-2], 仅 10%~20% 患者被诊断为胰腺导管癌时可以手术切除^[3], 虽然一些分子被报道与胰腺癌恶性进展密切相关^[4-5], 目前胰腺导管癌诊断及预后判断尚缺乏有效的标记物。笔者前期研究^[6]发现 p28GANK 在肝门胆管癌中表达水平显著增高, 本研究将以免疫组化染色方法检测 p28GANK 在胰腺导管癌中表达的临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取海南省人民医院 2008 年 7 月—2012 年 7 月手术切除胰腺导管癌患者 47 例, 分别收集每例肿瘤及癌旁石蜡包埋组织, 其中男 36 例、女 11 例; 手术时年龄 38~65 岁, 平均(48.2±9.3)岁。所有入选患者均满足以下条件: (1) 手术前未接受针对肿瘤放、化疗; (2) 均为首次发现原发性胰腺导管癌; (3) 术后病理诊断确诊; (4) 同意手术切除标本用于研究; (5) 随访资料完整, 以术后 3 年(3 年内病死者以病死时间)为随访重点, 按月计算。本研究通过医院伦理委员会批准。

1.2 试剂与仪器

兔抗人 p28GANK 多克隆抗体购自美国 Santa Cruz 公司, 山羊抗兔二抗购自中山生物技术有限公司。

1.3 实验方法

参照前期研究^[3], 采用免疫组化染色方法检测 p28GANK 在 47 对胰腺导管癌及癌旁表达水平。标本经福尔马林固定、石蜡包埋后保存, 经切片(4 μm)、脱蜡及水化后, 柠檬酸缓冲液抗原修复、山羊血清抗原封闭及 3% H₂O₂ 去除内源性氧化酶活性后, 加入 PBS 稀释的 p28GANK 抗体(1:50) 常温 4 h, 经 PBS-T 充分冲洗后, 加入山羊抗小鼠二抗, 室温静置 1 h, 再次 PBS-T 充分冲洗后, DAB 显色、苏木素复染、脱水及封片。

1.4 结果判定

参照前期研究^[3], 阳性信号为胞浆、胞核呈黄色或棕黄色, 染色结果以着色比例及强度判断,

按着色强度分为 0、1、2 及 3 分; 着色比例计分 0、1、2、3、4 分, 两组分值相加 <3 判阴性(-), ≥4 判为(+)

1.5 统计学处理

所有数据均采用 SPSS 17.0 统计软件分析, $P < 0.05$ 被认为差异具有统计学意义。χ² 检验用于分析 p28GANK 在导管癌及癌旁组织表达差异; Kruskal-Wallis 用于 p28GANK 表达与患者临床参数关系分析; Kaplan-Meier 用于生存分析。

2 结果

2.1 p28GANK 在胰腺导管癌及癌旁组织表达情况

p28GANK 在导管癌与癌旁组织表达结果显示, 其可着色于导管癌细胞核或(和)细胞浆中(图 1)。依据结果判定标准, 在癌旁组织中中共 7 例呈阳性表达, 阳性表达率为 14.9% (7/47), 40 例呈阴性表达, 阴性表达率为 85.1% (40/47); 在胰腺导管癌中 38 例呈阳性表达, 阳性表达率达 80.9% (38/47), 而在导管癌中阴性表达率为 10.1% (9/47), 统计学分析显示 p28GANK 在胰腺导管癌组织中阳性表达水平明显高于癌旁组织 ($P < 0.01$) (表 1)。

2.2 p28GANK 在胰腺导管癌中表达与临床病理因素的关系

进一步分析 p28GANK 在胰腺导管癌中表达与临床病理因素的关系, 结果显示, 其在年龄 ≤ 47 岁及 >47 岁阳性表达率分别为 79.2% (19/24) 及 82.6% (19/23); 在男、女性组阳性表达率分别为 83.3% (30/36) 与 72.7% (8/11); 在 TNMI+II 期、III+IV 期中阳性表达率分别为 69.6% (16/23) 与 91.7% (22/24); 在高、中、低分化组织中阳性表达率分别为 33.3% (2/6)、80.9% (17/21)、95% (19/20); 在手术时是、否发生转移组阳性表达率分别为 90.1% (20/22) 与 72.0% (18/25)。Kruskal-Wallis 分析提示 p28GANK 表达水平与患者手术时 TNM 分期、分化及转移有关 (均 $P < 0.05$), 而与患者性别或年龄无明显关系 (均 $P > 0.05$) (表 2)。

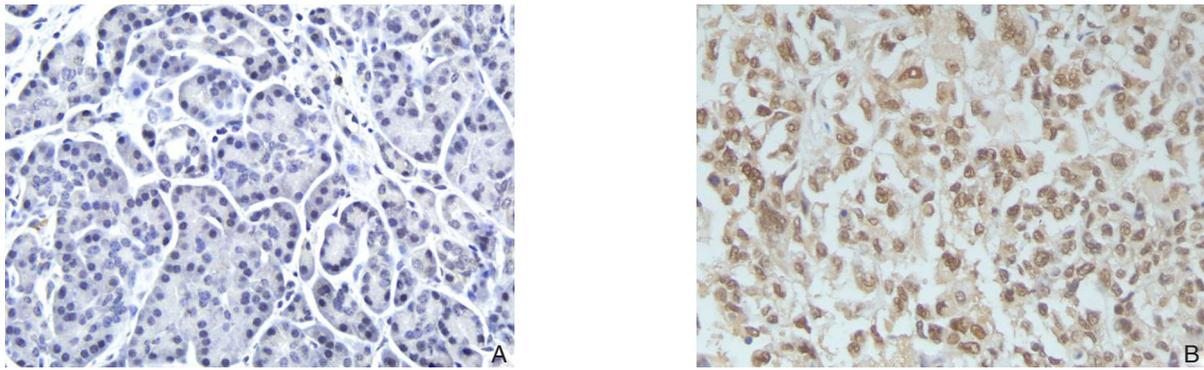


图1 免疫组化检测 p28GANK 的表达 (SP×200) A: p28GANK 在癌旁组织呈阴性表达; B: p28GANK 在胰腺导管癌组织中细胞核呈阳性表达

Figure 1 Immunohistochemical staining for p28GANK expression (SP×200) A: Negative p28GANK expression in the adjacent normal tissue; B: Positive p28GANK expression in the cell nuclei of the pancreatic duct cancer tissue

表1 p28GANK 在胰腺导管癌对应癌旁组织表达情况 [n (%)]

组织	(-)	(+)
肿瘤组织	9 (19.1)	38 (80.6)
癌旁组织	40 (85.1)	7 (14.9)

表2 p28GANK 的表达的临床病理因素的关系

因素	n	(-)	(+)	P
年龄(岁)				
> 47	23	4	19	0.80
≤ 47	24	5	19	
性别				
男	36	6	30	0.59
女	11	3	8	
TNM 分期				
I+II	23	7	16	0.02
III+IV	24	2	22	
分化				
高	6	4	2	0.04
中	21	4	17	
低	20	1	19	
转移				
无	25	7	18	0.04
有	22	2	20	

2.3 p28GANK 表达与患者术后生存的关系

以术后3年为随访终点,共38例病死,9例存活,术后3年生存率为19.1%。其中p28GANK阴性患者5例存活,4例病死,生存率为55.6%; p28GANK阳性患者4例存活,34例病死,生存率为10.5%。Kaplan-Meier生存分析提示,

p28GANK 阳性患者术后生存率明显低于阴性表达者 (P=0.01) (图2)。

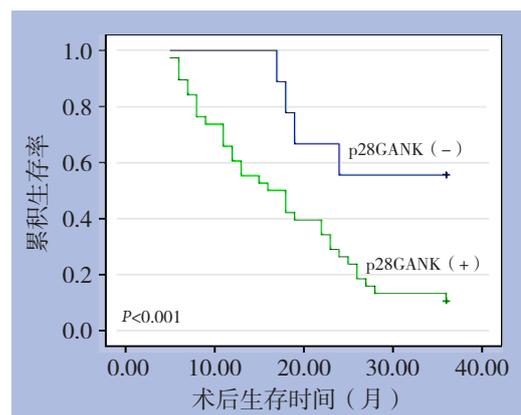


图2 p28GANK 表达阳性与阴性患者术后生存率比较
Figure 2 Comparison of the postoperative survival between the patients with p28GANK positive expression and negative expression

3 讨论

近年来,对于恶性肿瘤诊断及治疗取得了一定的进展,包括化疗、放疗、生物靶向治疗等提高了恶性肿瘤生存时间及质量,尤其是生物靶向治疗给晚期患者带来一线希望。胰腺导管癌是一种恶性程度很高的肿瘤,常规放、化疗对于患者预后影响不大,因此寻求新的生物靶向治疗位点迫在眉睫^[7]。

p28GANK,又名Gankyrin,它是通过杂交削减方法筛选出来的一个肝癌相关基因,其蛋白质含有226个氨基酸,相对分子质量约为25 kD^[8-9]。前期研究发现其在肝癌^[10]、结肠癌^[11]、食管癌^[12]、肺癌^[13]、乳腺癌^[14]、子宫内膜癌^[15]、胰腺癌^[16]

等多种恶性肿瘤中表达显著增强,其高表达与肝癌^[17]、乳腺癌^[18]等转移密切相关,是影响这些肿瘤恶性进展的重要基因。本研究旨在探讨 p28GANK 在胰腺导管癌中表达变化及其临床意义。应用免疫组化染色方法检测 p28GANK 在 47 对胰腺导管癌及对应癌旁组织中表达情况,结果显示, p28GANK 在胰腺导管癌中表达水平显著强于对应的癌旁组织,这一结果与 p28GANK 在肝癌、结肠癌及食管癌中趋势基本一致,说明其在消化道恶性肿瘤中普遍表达上调,也提示其可能在胰腺导管癌恶性进展中可能起重要作用;进一步统计分析发现 p28GANK 在胰腺导管癌组织中表达水平与患者 TNM 分期、分化及转移密切相关,而与患者性别、年龄无明显关系,进一步说明 p28GANK 高表达在胰腺导管癌发生、发展、侵袭及转移过程中其重要作用; p28GANK 高表达患者术后 3 年生存率显著低于阴性表达者。笔者前期研究发现 p28GANK 在肝门胆管癌组织中表达水平显著正常胆管上皮组织,其在胆管癌中表达水平与患者分化、TNM 分期、肝门静脉浸润及淋巴结转移密切相关, p28GANK 阳性表达患者术后五年生存率显著低于阴性表达者^[6]。与在肝门胆管癌中表达趋势相一致, p28GANK 同样是胰腺导管癌恶性进展的重要指标。

据报道^[19], p28GANK 可以通过调节多种信号转导通路来影响肿瘤的恶性进展,它可以通过与 MDM2 结合,活化 MDM2 后,增强其对 p53 泛素化水平,从而导致 p53 核外排及降解,使 p53 调控的下游肿瘤相关基因表达水平发生变化; p28GANK 也可以通过调节 Rb 磷酸化、细胞周期相关蛋白 cyclinD1 等途径来促进细胞从 G₁ 期进入 S 期,调节细胞周期进展来促进细胞恶性增殖^[20]。本研究结果提示 p28GANK 很可能在胰腺导管癌发生、发展、侵袭及转移过程中扮演重要作用,其具体的作用及信号转导通路有待进一步深入研究。

综上所述,本研究发现 p28GANK 在胰腺导管癌中表达普遍上调,其高表达与患者恶性进展指标密切相关,是胰腺导管癌诊断及治疗潜在标记物,接下来我们将扩大样本量,并完善术后随访探讨 p28GANK 对于胰腺导管癌预后价值判断,并在细胞模型中深入研究其作用机制及其作为生物靶向治疗对于胰腺导管癌恶性增殖能力的影响。

参考文献

- [1] Bosetti C, Bertuccio P, Negri E, et al. Pancreatic cancer: overview of descriptive epidemiology[J]. *Mol Carcinog*, 2012, 51(1): 3-13.
- [2] 曾立云, 宋逢林, 彭瑛. 胰腺癌血清 CA19-9 和 CEA 的表达及意义 [J]. *中国普通外科杂志*, 2008, 17(9): 926-928.
- [3] Hawes RH, Xiong Q, Waxman I, et al. A multispecialty approach to the diagnosis and management of pancreatic cancer[J]. *Am J Gastroenterol*, 2000, 95(1):17-31.
- [4] 柳兴其, 杨竹林, 邓星辉, 等. TNF- α 在实验性胰腺癌模型发生发展中的作用 [J]. *中国普通外科杂志*, 2008, 17(8):781-784.
- [5] 杨卫华, 张松柏, 王春友, 等. 胰腺癌中 Plk1 的表达及其临床意义 [J]. *中国普通外科杂志*, 2007, 16(10):1010-1012.
- [6] 陈平平, 刘初平, 李灼日. p28GANK 在肝门胆管癌表达的临床意义及预后的关系 [J]. *中国普通外科杂志*, 2014, 23(1):64-68.
- [7] Hennessy BT, Hanrahan EO, Daly PA. Non-Hodgkin lymphoma: an update[J]. *Lancet Oncol*, 2004, 5(6):341-353.
- [8] Higashitsuj H, Itoh K, Nagao T, et al. Reduced stability of retinoblastoma protein by gankyrin, an oncogenic ankyrin-repeat protein overexpressed in hepatomas[J]. *Nat Med*, 2000, 6(1):96-99.
- [9] Hori T, Kato S, Saeki M, et al. cDNA cloning and functional analysis of p28 (Nas6p) and p40.5 (Nas7p), two novel regulatory subunits of the 26S proteasome[J]. *Gene*, 1998, 216(1):113-122.
- [10] Fu XY, Wang HY, Tan L, et al. Overexpression of p28/gankyrin in human hepatocellular carcinoma and its clinical significance[J]. *World J Gastroenterol*, 2002, 8(4):638-643.
- [11] Tang S, Yang G, Meng Y, et al. Overexpression of a novel gene gankyrin correlates with the malignant phenotype of colorectal cancer[J]. *Cancer Biol Ther*, 2010, 9(2):88-95.
- [12] Ortiz CM, Ito T, Tanaka E, et al. Gankyrin oncoprotein overexpression as a critical factor for tumor growth in human esophageal squamous cell carcinoma and its clinical significance[J]. *Int J Cancer*, 2008, 122(2):325-332.
- [13] Man JH, Liang B, Gu YX, et al. Gankyrin plays an essential role in Ras-induced tumorigenesis through regulation of the RhoA/ROCK pathway in mammalian cells[J]. *J Clin Invest*, 2010, 120(8):2829-2841.
- [14] Kim YH, Kim JH, Choi YW, et al. Gankyrin is frequently overexpressed in breast cancer and is associated with ErbB2 expression[J]. *Exp Mol Pathol*, 2012, 94(2):360-365.
- [15] Zhang J, Yang Y, Zhang Z, et al. Gankyrin plays an essential role in estrogen-driven and GPR30-mediated endometrial carcinoma cell proliferation via the PTEN/PI3K/AKT signaling pathway[J]. *Cancer Lett*, 2013, 339(2):279-287.
- [16] Meng Y, He L, Guo X, et al. Gankyrin promotes the proliferation of human pancreatic cancer[J]. *Cancer Lett*, 2010, 297(1):9-17.
- [17] Fu J, Chen Y, Cao J, et al. p28(GANK) overexpression accelerates hepatocellular carcinoma invasiveness and metastasis via

phosphoinositol 3-kinase/AKT/hypoxia-inducible factor-1 α pathways[J]. Hepatology, 2011, 53(1):181-192.

degradation[J]. Cell Cycle, 2005, 4(10):1335-1347.

- [18] Gao L, Xie H, Dong L, et al. Gankyrin is essential for hypoxia enhanced metastatic potential in breast cancer cells[J]. Mol Med Rep, 2014, 9(3):1032-1036.
- [19] Higashitsuji H, Itoh K, Sakurai T, et al. The oncoprotein gankyrin binds to MDM2/HDM2, enhancing ubiquitylation and degradation of p53[J]. Cancer Cell, 2005, 8(1):75-87.
- [20] Higashitsuji H, Liu Y, Mayer RJ, et al. The oncoprotein gankyrin negatively regulates both p53 and RB by enhancing proteasomal

(本文编辑 宋涛)

本文引用格式: 陈平平, 李灼日. p28GANK 在胰腺导管癌中表达的临床意义[J]. 中国普通外科杂志, 2014, 23(3):333-337. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2014.03.014

Cite this article as: CHEN PP, LI ZR. P28GANK expression in pancreatic ductal carcinoma and its clinical significance[J]. Chin J Gen Surg, 2014, 23(3):333-337. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2014.03.014

本刊常用词汇英文缩写表

C-反应蛋白	CRP	甲型肝炎病毒	HAV	心电图	ECG
Toll 样受体	TLRs	碱性成纤维细胞转化生长因子	bFGF	心脏监护病房	CCU
氨基末端激酶	JNK	聚合酶链反应	PCR	血管紧张素 II	AngII
白细胞	WBC	抗生物素蛋白-生物素酶复合物法	ABC 法	血管内皮生长因子	VEGF
白细胞介素	IL	辣根过氧化物酶	HRP	血管性血友病因子	vWF
半数抑制浓度	IC ₅₀	链霉抗生物素蛋白-生物素酶复合物法	SABC 法	血红蛋白	Hb
变异系数	CV	磷酸盐缓冲液	PBS	肌酐	SCr
标记的链霉抗生物素蛋白-生物素法	SP 法	绿色荧光蛋白	GFP	血尿素氮	BUN
表皮生长因子	EGF	酶联免疫吸附测定	ELISA	血小板	PLT
丙氨酸转氨酶	ALT	美国食品药品监督管理局	FDA	血压	BP
丙二醛	MDA	脑电图	EEG	血氧饱和度	SO ₂
丙型肝炎病毒	HCV	内毒素 / 脂多糖	LPS	烟酰胺腺嘌呤二核苷酸	NADPH
超氧化物歧化酶	SOD	内皮型一氧化氮合酶	eNOS	严重急性呼吸综合征	SARS
磁共振成像	MRI	内生肌酐清除率	CCr	一氧化氮	NO
极低密度脂蛋白胆固醇	VLDL-C	尿素氮	BUN	一氧化氮合酶	NOS
低密度脂蛋白胆固醇	LDL-C	凝血酶时间	TT	乙二胺四乙酸	EDTA
动脉血二氧化碳分压	PaCO ₂	凝血酶原时间	PT	乙酰胆碱	ACh
动脉血氧分压	PaO ₂	牛血清白蛋白	BSA	乙型肝炎病毒	HBV
二甲基亚砜	DMSO	热休克蛋白	HSP	乙型肝炎病毒 e 抗体	HBeAb
反转录-聚合酶链反应	RT-PCR	人类免疫缺陷病毒	HIV	乙型肝炎病毒 e 抗原	HBeAg
辅助性 T 细胞	Th	人绒毛膜促性腺激素	HCG	乙型肝炎病毒表面抗体	HBsAb
肝细胞生长因子	HGF	三磷酸腺苷	ATP	乙型肝炎病毒表面抗原	HBsAg
干扰素	IFN	三酰甘油	TG	乙型肝炎病毒核心抗体	HBcAb
高密度脂蛋白胆固醇	HDL-C	生理氯化钠溶液	NS	乙型肝炎病毒核心抗原	HBcAg
谷胱甘肽	GSH	世界卫生组织	WHO	异硫氰酸荧光素	FLTC
固相 pH 梯度	IPG	双蒸水	ddH ₂ O	诱导型一氧化氮合酶	iNOS
核糖核酸	RNA	丝裂原活化蛋白激酶	MAPK	原位末端标记法	TUNEL
核因子- κ B	NF- κ B	四甲基偶氮唑盐微量酶反应	MTT	杂合性缺失	LOH
红细胞	RBC	苏木精-伊红染色	HE	增强化学发光法	ECL
红细胞沉降率	ESR	胎牛血清	FBS	肿瘤坏死因子	TNF
环氧化酶-2	COX-2	体质量指数	BMI	重症监护病房	ICU
活化部分凝血活酶时间	APTT	天冬氨酸氨基转移酶	AST	转化生长因子	TGF
活性氧	ROS	脱氧核糖核酸	DNA	自然杀伤细胞	NK 细胞
获得性免疫缺陷综合征	AIDS	细胞间黏附分子	ICAM	直接胆红素	DBIL
肌酐	Cr	细胞外基质	ECM	总胆固醇	TC
基质金属蛋白酶	MMP	细胞外调节蛋白激酶	ERK	总胆红素	TBIL
计算机 X 线断层照相技术	CT	纤连蛋白	FN		