

文章编号:1005-6947(2006)10-0806-03

· 简要论著 ·

NCAM 和 DPC4 的表达与胆管癌神经浸润的关系

肖广发, 汤恢煊

(中南大学湘雅医院 普通外科, 湖南 长沙 410008)

摘要:为探讨 NCAM 和 DPC4 在胆管癌神经浸润中的作用,笔者采用免疫组化技术(SP法)对 52 例胆管癌标本及 16 例正常胆管组织中 NCAM 和 DPC4 的表达进行检测,结果显示,NCAM 高表达及 DPC4 低表达的胆管癌神经浸润率高,NCAM 低表达及 DPC4 高表达的胆管癌神经浸润率低。提示 NCAM 高表达及 DPC4 低表达,在胆管癌的神经浸润转移的分子机制中可能有重要的作用;NCAM 可能成为临床预测胆管癌神经倾向的生物学指标,并对判断胆管癌恶性程度与预后后有较重要的临床意义。

关键词:胆管肿瘤;肿瘤浸润;NCAM;DPC4

中图分类号:R735.8 **文献标识码:**B

胆管癌发病率为 0.01%~0.50%。胆管癌呈浸润性生长,以神经浸润为主要特征,神经浸润的发生率为 60%~87.5%^[1-2]。神经浸润是胆管癌预后不良的重要因素之一^[1]。胆管癌的神经浸润机制尚不清楚。神经细胞黏附分子(NCAM)对神经组织有亲嗜性,对胆管癌的发生、转移有重要影响^[3]。

本研究采用免疫组化(SP法)检测胆管癌及正常胆管组织中 NCAM(CD56)和 DPC4 的表达,探讨 NCAM 和 DPC4 的表达变化与胆管癌神经浸润转移之间的关系,为胆管癌的神经浸润倾向及预后分析提供有价值的参考指标。

1 材料与方法

1.1 临床资料

1.1.1 胆管癌组 随机收集中南大学湘雅医院 1988~2002 年间经病理证实的胆管癌石蜡存档标本 52 例,男 28 例,女 24 例;年龄在 26~70(平均 49.8±10.2)岁。乳头状腺癌、管状腺癌、黏液腺癌分别为 13,28,11 例;高、中、低分化癌分别为 27,18,7 例;上、中、下段胆管癌分别为 29,13,10 例;伴有神经浸润者 18 例。所有病例术前均未接受放疗、化疗。

1.1.2 对照组 16 例来源于肝移植供体的正常胆管组织。男 12 例,女 4 例;年龄在 22~32 岁。

收稿日期:2006-07-20; 修订日期:2006-09-10。

作者简介:肖广发,男,湖南汉寿人,中南大学湘雅医院主治医师,主要从事肝胆疾病方面的研究。

通讯作者:肖广发 E-mail:xiaoguangfa@yahoo.com.cn。

1.2 主要试剂

鼠抗人 NCAM(CD56) mAb 123C3(即用型),购自北京中山生物技术有限公司;兔抗人 DPC4/Smad4 抗体(即用型),购自武汉博士德生物工程有限公司。

1.3 实验方法

采用免疫组织化学法,切片脱蜡至水,3%甲醛双氧水溶液中灭活内源性过氧化物酶,胰酶抗原修复,正常山羊血清封闭,滴加一抗(鼠抗人 NCAM 单克隆抗体及兔抗人 DPC4/Smad4 抗体),滴加二抗(生物素化山羊抗小鼠/兔生物素化山羊抗小鼠/兔 IgG),DAB 显色,苏木素染色。以 PBS 代替一抗作阴性对照,小细胞肺癌 NCAM 阳性免疫组化染色片,胰腺癌 DPC4 阳性免疫组化染色片作阳性对照。

1.4 结果判定

1.4.1 NCAM 阳性标准 染色阳性信号为棕黄色,位于细胞膜或细胞胞浆,当 NCAM 染色的胆管癌细胞 <30% 时定为阴性表达;≥30% 为阳性表达。

1.4.2 DPC4 阳性标准 染色阳性信号为棕黄色,位于细胞浆中,部分细胞核及胞膜也有染色反应,当染色的胆管癌细胞 <30% 时定为阴性表达;≥30% 为阳性表达^[3]。

1.5 统计学处理

用医学统计软件包 SPSS10.0 统计分析,检验比较计数资料,规定 $P < 0.05$ 有显著性差异。

2 结果

2.1 NCAM 表达与胆管癌临床病理资料的关系

NCAM 在胆管癌中阳性表达率(42.3%,22/

52) 显著高于正常胆管组织中阳性表达率 (12.5%, 2/16) ($P < 0.05$)。随胆管癌组织分化程度降低, NCAM 表达阳性率升高, 低、中、高分化腺癌表达阳性率分别为 85.7%, 55.6% 和 28.6%, 三者间比较差异均有显著性 (均 $P < 0.05$)。不同病理类型的胆管癌 NCAM 表达率不同, 黏液腺癌、管状腺癌、乳头状腺癌 NCAM 阳性率分别为 70.0%, 33.3% 和 9.0%, 三者间比较差异均有显著性 (均 $P < 0.05$)。胆管癌组有神经浸润转移的 NCAM 阳性率 (12/18, 66.7%) 明显高于无神经浸润组 (4/34, 11.8%) ($P < 0.05$)。NCAM 表达与胆管癌患者的年龄、性别、肿瘤发生部位无关 (表 1-2)。

2.2 DPC4 表达与胆管癌临床病理资料的关系

DPC4 阳性率 (57.7%, 30/52) 显著低于对照组 (93.7%, 15/16) ($P < 0.05$)。DPC4 染色阳性与胆管癌患者年龄、性别、肿瘤部位、大小无关 (均 $P < 0.01$)。DPC4 染色阳性和胆管癌病理组织学类型有关, 乳头状腺癌及管状腺癌的表达阳性率 (28/35) 高于黏液腺癌组 ($P < 0.05$)。DPC4 的表达与胆管癌分化程度相关, 随分化程度降低而减弱, 高分化组与低分化组比较, 有显著性差异 ($P < 0.01$)。神经浸润转移组 DPC4 表达率 (3/18, 16.7%) 低于无神经浸润转移组者 (分别为 27/34, 79.4%, $P < 0.01$) (表 1-2)。

表 1 胆管癌及正常胆管组织中 NCAM 和 DPC4 的表达

类型	例数	MCAM			P 值	DPC4			P 值
		(-)	(+)	阳性率(%)		(-)	(+)	阳性率(%)	
胆管癌组	52	30	22	42.3	0.0291	22	30	57.7	0.0077
正常胆管组织	16	14	2	12.5		1	15	93.7	

表 2 NCAM 和 DPC4 的表达与胆管癌临床病理资料的关系

项目	n	NCAM			P 值	DPC4			P 值
		(-)	(+)	阳性率(%)		(-)	(+)	阳性率(%)	
性别									
男	28	12	16	57.1	0.1772	11	17	60.7	0.6338
女	24	18	6	25.0		11	13	54.2	
年龄(岁)									
<50	23	14	9	39.1	0.6796	10	13	56.5	0.8791
>50	29	16	13	44.8		12	17	58.6	
肿瘤部位									
上	29	14	15	51.7	0.3037	13	16	55.2	0.9157
中	13	9	4	30.8		5	8	61.5	
下	10	7	3	30.0		4	6	60	
肿瘤大小									
<3cm	24	14	10	41.7	0.9310	7	17	70.8	0.0758
>3cm	28	16	12	42.9		15	13	46.4	
分化程度									
高	27	21	6	28.6	0.0004	6	21	77.8	0.0007
中	18	8	10	55.6		9	9	57.1	
低	7	1	6	85.7		7	0	0.0	
病理类型									
乳头状腺癌	13	10	1	9.01	0.0075	2	9	83.3	0.0004
管状腺癌	28	16	8	33.3		5	19	79.2	
黏液腺癌	11	3	7	70		8	2	20.0	
神经浸润									
无	34	24	10	29.4	0.0097	7	27	79.4	0.0089
有	18	6	12	66.7		15	3	16.7	

2.3 NCAM 和 DPC4 在胆管癌及其神经浸润转移中表达的关系

本组资料显示, DPC4 表达越高, 则 NCAM 表达越低, 两者呈现负相关。NCAM 染色阳性且 DPC4 染色阴性者 18 例, 其神经浸润转移率为 66.6% (12/

18); 而 NCAM 阴性染色且 DPC4 阳性染色者 27 例, 其神经浸润转移率为 11.1% (3/27), 两者差异有显著意义 ($P < 0.01$) (表 3-4)。进一步分析表明, DPC4 低表达和 NCAM 高表达在胆管癌神经浸润转移中呈负相关, 即低分化胆管癌, NCAM 表达高,

DPC4 表达低,其神经浸润转移率高,高分化胆管癌则相反。

表3 NCAM与DPC4在胆管癌中的表达

NCAM	DPC4		合计
	(+)	(-)	
(+)	3	18	22
(-)	27	3	30
合计	30	22	52

注: $r = -0.7636, P = 0.000$

表4 NCAM与DPC4在18例胆管癌神经浸润中的表达

NCAM($n = 18$)	DPC4($n = 18$)		合计
	(+)	(-)	
(+)	0	12	12
(-)	3	3	6
合计	3	15	18

注: $r = -0.6325, P = 0.024$

3 讨论

早在1842年Ernst就首先报告肿瘤细胞可沿神经间隙扩散,但肿瘤浸润神经间隙的机制远未明了。肿瘤浸润神经可能的机制包括^[5]:(1)从周围的神经释放与肿瘤相互作用的神经营养因子;(2)肿瘤细胞通过细胞黏附分子与周围神经组织相互作用;(3)肿瘤细胞与神经组织相互作用可能激活蛋白水解酶产生、促进趋化和细胞增生。

NCAM是黏附分子免疫球蛋白家族中的典型分子,NCAM在神经系统的生长、发育过程中通过嗜同结合于靶细胞上,起着“导航”和“停泊”作用^[4]。本研究显示,NCAM在胆管癌有神经浸润组阳性表达率显著高于无神经浸润组,说明NCAM的表达与胆管癌神经浸润有明显关系,在胆管癌的神​​经浸润中可能起重要作用。

本研究发现,不同病理类型的胆管癌NCAM表达率不同,随着胆管癌恶性程度增加,NCAM阳性率随之升高,说明NCAM表达阳性率越高,癌细胞黏附神经的能力可能越强,越易发生神经浸润。临床资料表明,在以浸润神经为主要特征的基础上,黏液腺癌浸润及转移的特征更为明显,这与黏液腺癌预后最差的结论一致。Bhuiga等^[6]分析了70例肝外胆管癌神经浸润与预后的关系,发现乳头状腺癌的神​​经浸润率低于单纯性腺癌,而生存率高于单纯性腺癌。无神经浸润者3,5年生存率为80%和67%,而有神经浸润者分别为40%和30%,明显低于前者,说明胆管癌的神​​经浸润反映了胆管癌恶性呈特征。NCAM的表达与胆管癌神​​经浸润正相关,提示NCAM可能作为判断胆管癌患者预后的生物学指标。

位于染色体18q21.1的抑癌基因DPC4,是由2680个碱基组成,含11个外显子,12个内含子。DPC4基因的缺失或突变是胰腺癌“疯狂”生长和浸润胰腺周围神经丛主要因素之一^[7]。DPC4产物类似于转化生长因子 β (TGF- β),在TGF- β 信号转导途径中,DPC4/Smad4是信号转导的中心环节,肿瘤DPC4基因失活,可使整个Smad-TGF- β 信号转导途径网络破坏,失去对肿瘤细胞增殖的抑制作用,细胞即可“疯狂”生长,转染DPC4基因能部分恢复对TGF- β 的反应性^[3]。本研究结果显示,在高分化腺癌中DPC4表达高于中、低分化腺癌,提示胆管癌恶性程度越高,DPC4表达越低,表明DPC4在调控胆管癌的恶性程度中可能占有重要地位。Schwartz发现,DPC4通过影响尿激酶系统的转录调控而诱导了肿瘤的表现型和致癌潜力的改变,预示DPC4具有调节细胞黏附和侵入的潜在功能。

在胆管癌中,DPC4与NCAM表达呈负相关,可能是DPC4基因通过某种信号转导途径调控NCAM分子的表达,当DPC4基因突变时,引起NCAM RNA转录活性抑制下降,表达增强。由于DPC4表达下调,TGF- β 主信号传导途径阻断,TGF- β 积累,刺激胆管周围的间质细胞分泌更多的胶原纤维,NCAM的高表达又进一步刺激间质细胞合成胶原纤维造成胆管癌周围纤维化^[3]。

在胆管癌细胞中,DPC4的低表达和NCAM的高表达预示神经浸润转移的可能性较高,可能作为临床预测胆管癌神​​经转移倾向的生物学指标。

参考文献:

- [1] Bortolasi L. Adenocarcinoma of the distal bile duct. A clinicopathologic outcome analysis after curative resection [J]. Dig Surg 2000,17(1):36-4115.
- [2] N Iwahashi, N Iwahashi. Expression of glial cell line-derived neurotrophic factor correlates with perineural invasion of bile duct carcinoma [J]. Cancer, 2002; 94(1):167-74.
- [3] Hahn SA, Bartsch D, Schroers A, et al. Mutation of the DPC4/Smad4 gene in biliary tract carcinoma [J]. Cancer Res, 1998, 58(6):1124-1126.
- [4] 王学铭. 钙依黏附蛋白和神经细胞黏附分子的结构与功能 [J]. 生命的化学, 1995, 15(2):18-20.
- [5] 卢旺盛. NCAM与胶质瘤的研究进展 [J]. 国外医学神经病学神经外科学分册, 1999, 26(6):306-308.
- [6] Tezel E, Kawase Y, Takeda S, Oshima K, Nakao A. Expression of neural cell adhesion molecule in pancreatic cancer [J]. Pancreas 2001; 22(2):122-125.
- [7] Hahn SA, Bartsch D, Schroers A, et al. Mutation of the DPC4/Smad4 gene in biliary tract carcinoma [J]. Cancer Res, 1998, 58(6):1124-1126.