



doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2017.02.009
http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.1005-6947.2017.02.009
Chinese Journal of General Surgery, 2017, 26(2):185-189.

· 基础研究 ·

配对相关同源框 -1 蛋白在胆囊癌组织中的表达及意义

白明辉, 刘海潮

(郑州大学附属洛阳中心医院 肝胆疝外科二病区, 河南 洛阳 471009)

摘要

目的: 探讨配对相关同源框 -1 蛋白 (Prrx-1) 在胆囊癌组织中的表达及意义。

方法: 用免疫组化方法测定 Prrx-1 在 45 例胆囊癌及 35 例胆囊良性病变组织中的表达情况, 并分析 Prrx-1 和胆囊癌临床病理特征之间的关系。

结果: Prrx-1 在胆囊癌组织中表达率为 55.6% (25/45), 而在胆囊良性病变组织中的表达率 5.7% (2/35), 两者差异有统计学意义 ($\chi^2=21.87, P<0.05$)。统计分析显示, Prrx-1 表达与胆囊癌的组织分化程度、临床分期有关 ($P<0.05$), 而与胆囊癌患者的年龄、性别及胆囊癌的组织学类型无关 (均 $P>0.05$)。

结论: Prrx-1 在胆囊癌组织中表达增高, 其表达可能在胆囊癌的发生、发展中起重要作用。

关键词

胆囊肿瘤; 同源盒结构域蛋白质类; 肿瘤标记, 生物学

中图分类号: R735.8

Expression and significance of paired-related homeobox 1 protein in gallbladder carcinoma tissue

BAI Minghui, LIU Haichao

(The Second Department of Hepatobiliary and Hernia Surgery, Affiliated Luoyang Central Hospital, Zhengzhou University, Luoyang, Henan 471009, China)

Abstract

Objective: To investigate the expression of paired-related homeobox 1 protein (Prrx-1) in gallbladder cancer tissue and its significance.

Methods: The Prrx-1 expressions in 45 specimens of gallbladder cancer tissues and 35 specimens of gallbladder tissues with benign diseases were determined by immunohistochemical staining, and the relations of Prrx-1 expression with clinicopathologic profiles of gallbladder cancer were analyzed.

Results: The expression rate of Prrx-1 was 55.6% (25/45) in gallbladder cancer tissue, and was 5.7% (2/35) in gallbladder tissue with benign diseases, and the difference between them had statistical significance ($\chi^2=21.87, P<0.05$). Statistical analysis indicated that the Prrx-1 expression was closely associated with the degree of differentiation and clinical stage of gallbladder cancer (both $P<0.05$), but irrelevant to the sex and age of the patients and histological type of gallbladder cancer (all $P>0.05$).

Conclusion: Prrx-1 expression is increased in gallbladder cancer and its expression may be closely connected to the occurrence and development of gallbladder cancer.

收稿日期: 2016-12-04; 修订日期: 2017-01-04。

作者简介: 白明辉, 郑州大学附属洛阳中心医院副主任医师, 主要从事肝胆疝外科方面的研究。

通信作者: 白明辉, Email: bmh96290@163.com

Key words Gallbladder Neoplasms; Homeodomain Proteins; Tumor Markers, Biological

CLC number: R735.8

胆囊癌 (gallbladder carcinoma, GBC) 是最常见的胆道系统恶性肿瘤, 占胆道恶性肿瘤的80%~95%^[1-2], 且在在我国有增高的趋势^[3]。其5年生存率<5%^[4], 平均中位生存期<6个月^[5]。主要原因是其早期诊断困难, 手术切除率低, 因此预后极差^[6-7]。胆囊癌早期缺乏特异的症状及体征, 而生物标志物能够客观的测量和评价生物过程、病理过程及治疗反应, 因此人们对于胆囊癌的生物标志物进行了大量的研究, 希望能为胆囊癌的早期诊断及治疗提供相应的帮助^[8]。配对相关同源框-1蛋白 (paired-related homeobox 1, Prrx-1) 已被证实在多种恶性肿瘤中起着作用^[9-10]。但目前鲜见有Prrx-1与胆囊癌关系的研究。本研究通过免疫组化的方法测定Prrx-1在胆囊癌中的表达, 并探讨其与胆囊癌临床病理参数之间的关系。

1 资料与方法

1.1 一般材料

选取郑州大学附属洛阳中心医院病理科2010年10月—2015年12月存档的蜡块, 经病理证实胆囊癌组45例, 男20例, 女25例; 年龄32~84岁, 平均56.7岁。Nevein分期: I期4例, II期6例, III期12例, IV期15例, V期8例。组织学类型分类: 腺癌38例, 鳞癌7例。据病理分级: 高分化癌8例, 中分化癌26例, 低分化癌11例。所有入选的胆囊癌患者术前均未接受放疗、化疗及生物治疗等, 均可以找到完整的临床病例资料。同时随机选取我院同期胆囊良性病变 (慢性胆囊炎及胆囊腺瘤样息肉) 35例作为对照组。兔抗人Prrx-1单克隆抗体购自美国Cell Signaling Technology公司, PBS缓冲液, S-P试剂盒, DAB显色试剂盒及抗原修复液均购自福州迈新生物技术开发有限公司。其他试剂及设备由郑州大学附属洛阳中心医院病理科及中心实验室提供。

1.2 免疫组化 SP 法及结果判定

将蜡块制成4 μm厚度的切片, 常规脱蜡脱水, PBS洗涤5 min; 3% H₂O₂阻断灭活内源性过氧化物酶, 室温孵育30 min, PBS溶液洗涤3次;

修复抗原, 自然冷却至室温, PBS溶液洗涤3次; 10%山羊血清封闭抗原, 37 °C孵育90 min; 加入适量一抗 (浓度1:100), 4 °C过夜, PBS洗涤3次; 加生物素化二抗, 37 °C反应30 min, PBS洗涤3次; 加入S-A-HRP工作液置于湿盒, 37 °C反应40 min, PBS洗涤3次; DAB显色, PBS洗涤3次, 终止显色; 苏木素染核1 min, PBS洗涤3次, 封片。显微镜下阅片。每张切片随机取5个视野, 每个视野计数200个细胞左右, 在相同放大倍数 (×400) 及相同光强度等条件下由2名经验丰富的病理科医师阅片判定评分。参照方帆等^[11]对Prrx1阳性表达结果进行判定。染色强度的评分标准为: 不着色0分, 淡黄色1分, 棕黄色2分, 黄褐色3分。显微镜下阳性细胞数所占百分比的评分标准: 无阳性细胞0分, ≤10%为1分, 10%~50%为2分, 50%~75%为3分, >75%为4分。将染色强度分数和阳性细胞百分比的分数相乘的结果作为最后评分, 其中≤2分为阴性, >2分为阳性。

1.3 统计学处理

应用SPSS 17.0统计学软件进行分析。采用 χ^2 检验分析计数资料, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Prrx-1 在胆囊癌组织及胆囊良性病变组织中的表达

Prrx-1阳性颗粒为棕褐色, 位于细胞核中 (图1)。Prrx-1在胆囊癌组织中的表达比在胆囊良性病变中强。Prrx-1在45例胆囊癌组织中阳性表达率为55.6% (25/45), 35例胆囊良性病变组织中Prrx-1的阳性率为5.7% (2/35), Prrx-1在胆囊癌组织中的表达明显高于胆囊良性病变组织, 差异有统计学意义 ($\chi^2=21.87$, $P < 0.05$) (表1)。

2.2 Prrx-1 表达与胆囊癌临床病理指标的关系

胆囊癌Nevein分期I、II期Prrx-1阳性表达率20% (2/10), III、IV、V期Prrx-1阳性表达率65.7% (23/35); 两组差异有统计学意义 ($\chi^2=6.58$, $P < 0.05$)。Prrx-1在中低分化癌中的阳性表达为64.9% (24/37), 在高分化腺癌中的

阳性表达为 12.5% (1/8); 两组差异有统计学意义 ($\chi^2=7.31, P<0.05$)。而在胆囊癌患者的年

龄、性别及胆囊癌组织学类型分组间差异无统计学意义 (均 $P>0.05$) (表 2)。

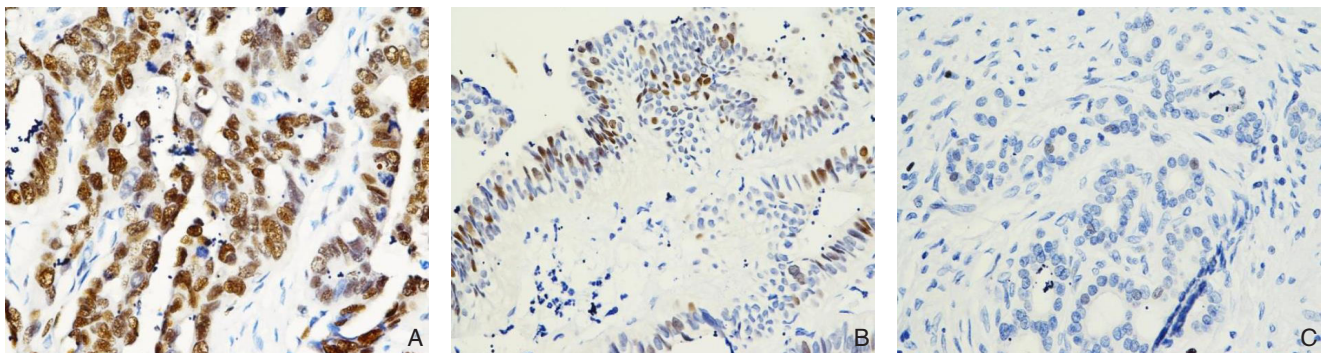


图 1 免疫组化检测 Prrx-1 的表达 (×400) A: Prrx-1 在胆囊癌组织中的阳性表达; B: Prrx-1 在胆囊腺瘤样息肉组织中的阳性表达; C: Prrx-1 在慢性胆囊炎组织中的阳性表达

Figure 1 Immunohistochemical staining for Prrx-1 expression (×400) A: Prrx-1 positive expression in gallbladder cancer tissue; B: Prrx-1 positive expression in tissue of gallbladder adenomatous polyps; C: Prrx-1 positive expression in tissue of chronic cholecystitis

表 1 Prrx-1 在胆囊癌组织及胆囊良性病变组织中的表达比较 [n (%), n=45]

Table 1 Comparison of Prrx-1 expressions between gallbladder cancer tissues and gallbladder tissues with benign diseases [n (%), n=45]

组织	阴性	阳性
胆囊癌组织	20 (44.4)	25 (55.6)
胆囊良性病变组织	33 (94.3)	2 (5.7)
χ^2	21.87	
P	0.00	

表 2 Prrx-1 表达与胆囊癌临床病理指标的关系 [n (%)]

Table 2 Relations of Prrx-1 expression with clinicopathologic variables of gallbladder cancer [n (%)]

临床病理指标	n	阴性	阳性	χ^2	P
年龄 (岁)					
< 60	13	6 (46.2)	7 (53.8)	0.02	0.88
≥ 60	32	14 (43.7)	18 (56.3)		
性别					
男	20	8 (40.0)	12 (60.0)	0.29	0.59
女	25	12 (48.0)	13 (52.0)		
组织类型					
腺癌	38	17 (44.7)	21 (55.3)	0.01	0.93
鳞癌	7	3 (42.9)	4 (57.1)		
临床分期					
I-II	10	8 (80.0)	2 (20.0)	6.58	0.01
III-V	35	12 (34.3)	23 (65.7)		
病理分级					
中低分化	37	13 (35.1)	24 (64.9)	7.31	0.01
高分化	8	7 (87.5)	1 (12.5)		

3 讨论

研究^[12]表明, Prrx-1 是一种 DNA 相关的蛋白, 其功能是转录共激活, 通过增加血清反应因子的 DNA 结合活性转录活化 Prrx-1 通过调控内皮细胞分化进而参与肌腱蛋白-C 表达与肺血管形成过程。Prrx-1 作为转录因子可调控多种基因的表达^[13], 在成人脑中 Prrx-1 在成人神经干细胞的自我更新中起着重要的作用^[14]。近年来关于 Prrx-1 与肿瘤关系的研究越来越被人们重视^[15-18]。但 Prrx-1 与胆囊癌的研究国内外少见有报道。

本研究结果显示, Prrx-1 在胆囊癌组织中阳性表达率为 55.6% (25/45), 高于在胆囊良性病变组织中的表达 5.7% (2/35), 差异有统计学意义。提示 Prrx-1 在胆囊癌的发生过程中起着一定的作用。Prrx-1 在不同临床分期及不同病理分级中的表达差异显著, 有统计学意义。提示 Prrx-1 可能与胆囊癌的恶性生物学行为有关, 可能促进了胆囊癌的侵袭能力。范钰等^[19]研究显示 Prrx-1 可促进胰腺癌细胞迁移和侵袭能力, 其机制可能与促进上皮-间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 有关。因此, 笔者推测 Prrx-1 可能促进 EMT, 进而促进了胆囊癌细胞的迁移和侵袭能力, 导致了胆囊癌的发生, 发展及侵袭转移等。通过本研究的观察, 本研究发现 Prrx-1 的表达与胆囊癌的分化程度, 临床分期等有关, 因此其可以作为分析胆囊癌预后的重要生物学指标。

Prrx-1 是最近发现的 EMT 调节剂和诱导剂^[20-22]。而研究^[20-21,23-24]已经表明在人类肿瘤细胞中,如细胞发生 EMT 可以引起辐射抵抗,因此如果能阻断 Prrx-1 在胆囊癌中的表达就可以增强胆囊癌细胞对于放疗的敏感性,为胆囊癌的治疗提供新的思路。而 Prrx-1 在胆囊癌组织中的表达与胆囊癌患者的年龄,性别等无统计学意义。

综上所述, Prrx-1 与胆囊癌的发生、发展密切相关。其具体作用机理有待进一步研究。

参考文献

- [1] Hundal R, Shaffer EA. Gallbladder cancer: epidemiology and outcome[J]. *Clin Epidemiol*, 2014, 6:99-109. doi: 10.2147/CLEP.S37357.
- [2] Lazcano-Ponce EC, Miquel JF, Muñoz N, et al. Epidemiology and molecular pathology of gallbladder cancer[J]. *CA Cancer J Clin*, 2001, 51(6):349-364.
- [3] 张明迪, 龚伟, 郑莹, 等. 上海市胆囊癌流行状况和趋势分析[J]. *中国实用外科杂志*, 2013, 33(8):691-694.
Zhang MD, Gong W, Zheng Y, et al. Prevalence and temporal trend of gallbladder cancer in Shanghai[J]. *Chinese Journal of Practical Surgery*, 2013, 33(8):691-694.
- [4] Duffy A, Capanu M, Abou-Alfa GK, et al. Gallbladder cancer (GBC): 10-year experience at Memorial Sloan-Kettering Cancer Centre (MSKCC)[J]. *J Surg Oncol*, 2008, 98(7):485-489. doi: 10.1002/jso.21141.
- [5] Lai CH, Lau WY. Gallbladder cancer--a comprehensive review[J]. *Surgeon*, 2008, 6(2):101-110.
- [6] Li M, Zhang Z, Li X, et al. Whole-exome and targeted gene sequencing of gallbladder carcinoma identifies recurrent mutations in the ErbB pathway[J]. *Nat Genet*, 2014, 46(8):872-876. doi: 10.1038/ng.3030.
- [7] Shu YJ, Weng H, Bao RF, et al. Clinical and prognostic significance of preoperative plasma hyperfibrinogenemia in gallbladder cancer patients following surgical resection: a retrospective and in vitro study [J]. *BMC Cancer*, 2014, 14:566. doi: 10.1186/1471-2407-14-566.
- [8] 张华洋, 孔棣, 马波. 胆囊癌生物学标志物研究进展[J]. *中国普通外科杂志*, 2014, 23(8):1112-1115. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2014.08.020.
Zhang HY, Kong D, Ma B. Advances in biomarkers of gallbladder carcinoma[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2014, 23(8):1112-1115. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2014.08.020.
- [9] Hirata H, Sugimachi K, Takahashi Y, et al. Downregulation of PRRX1 Confers Cancer Stem Cell-Like Properties and Predicts Poor Prognosis in Hepatocellular Carcinoma[J]. *Ann Surg Oncol*, 2015, 22(Suppl 3):S1402-1409. doi: 10.1245/s10434-014-4242-0.
- [10] Sugiyama M, Hasegawa H, Ito S, et al. Paired related homeobox 1 is associated with the invasive properties of glioblastoma cells[J]. *Oncol Rep*, 2015, 33(3):1123-1130. doi: 10.3892/or.2014.3681.
- [11] 方帆, 邓亚平, 李晶, 等. PRRX1 蛋白在乳腺癌中的表达及其临床意义[J]. *现代生物医学进展*, 2015, 15(3):467-470. doi:10.13241/j.cnki.pmb.2015.03.016.
Fang F, Deng YP, Li J, et al. Expression and Clinicopathological Significance of PRRX1 in the Breast Cancer[J]. *Progress in Modern Biomedicine*, 2015, 15(3):467-470. doi:10.13241/j.cnki.pmb.2015.03.016.
- [12] Takimoto A, Mohri H, Kokubu C, et al. Pax1 acts as a negative regulator of chondrocyte maturation[J]. *Exp Cell Res*, 2013, 319(20):3128-3139. doi: 10.1016/j.yexcr.2013.09.015.
- [13] Lu X, Beck GR Jr, Gilberl LC, et al. Identification of the homeobox protein Prxl(MHox, Prrx-1) as a regulator of ostedx expression and mediator of tumor necrosis factor α action in osteoblast differentiation[J]. *J Bone Miner Res*, 2011, 26(1):209-219. doi: 10.1002/jbmr.203.
- [14] Shimozaki K, Clemenson GD Jr, Gage FH. Paired related homeobox protein 1 is a regulator of stemness in adult neural stem/progenitor cells[J]. *J Neumsci*, 2013, 33(9):4066-4075. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4586-12.2013.
- [15] Takahashi Y, Sawada G, Kurashige J, et al. Paired related homeobox 1, a new EMT inducer, is involved in metastasis and poor prognosis in colorectal cancer[J]. *Br J Cancer*, 2013, 109(2):307-311. doi: 10.1038/bjc.2013.339.
- [16] Regadas I, Matos MR, Monteiro FA, et al. Several cis-regulatory elements control mRNA stability, translation efficiency, and expression pattern of Prrxl1 (paired related homeobox protein-like 1)[J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(51):36285-36301. doi: 10.1074/jbc.M113.491993.
- [17] Zhang Y, Zheng L, Huang J, et al. MiR-124 Radiosensitizes human colorectal cancer cells by targeting PRRX1[J]. *PLoS One*, 2014, 9(4):e93917. doi: 10.1371/journal.pone.0093917.
- [18] Takano S, Reichert M, Bakir B, et al. Prrx1 isoform switching regulates pancreatic cancer invasion and metastatic colonization[J]. *Genes Dev*, 2016, 30(2):233-247. doi: 10.1101/gad.263327.115.
- [19] 范钰, 蒋孟林, 满昌峰, 等. 配对相关同源框-1 基因过表达对胰腺癌细胞侵袭及上皮-间充质转化的影响[J]. *中华实验外科杂志*, 2016, 33(7):1789-1791. doi:10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2016.07.026.
Fan Y, Jiang ML, Man CF, et al. Effects of overexpression of paired-related homeobox 1 gene on invasion and epithelial mesenchymal transition of human pancreatic cancer cells[J]. *Chinese Journal of Experimental Surgery* 2016, 33(7):1789-1791. doi:10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2016.07.026.
- [20] Ansieau S. EMT in breast cancer stem cell generation[J]. *Cancer*

Lett, 2013, 338(1):63–68. doi: 10.1016/j.canlet.2012.05.014.

[21] Theys J, Jutten B, Habets R, et al. E-Cadherin loss associated with EMT promotes radioresistance in human tumor cells[J]. Radiother Oncol, 2011, 99(3):392–397. doi: 10.1016/j.radonc.2011.05.044.

[22] Mani SA, Guo W, Liao MJ, et al. The epithelial- mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells[J]. Cell, 2008, 133(4):704–715. doi: 10.1016/j.cell.2008.03.027.

[23] Guo J, Wang B, Fu Z, et al. Hypoxic Microenvironment Induces EMT and Upgrades Stem-Like Properties of Gastric Cancer Cells[J]. Technol Cancer Res Treat, 2016, 15(1):60–68. doi: 10.1177/1533034614566413.

[24] Marie- Egyptienne DT, Lohse I, Hill RP. Cancer stem

cells, the epithelial to mesenchymal transition (EMT) and radioresistance:potential role of hypoxia[J]. Cancer Lett, 2013, 341(1):63–72. doi: 10.1016/j.canlet.2012.11.019.

(本文编辑 姜晖)

本文引用格式: 白明辉, 刘海潮. 配对相关同源框-1蛋白在胆囊癌组织中的表达及意义[J]. 中国普通外科杂志, 2017, 26(2):185–189. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2017.02.009

Cite this article as: Bai MH, Liu HC. Expression and significance of paired-related homeobox 1 protein in gallbladder carcinoma tissue[J]. Chin J Gen Surg, 2017, 26(2):185–189. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2017.02.009

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	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	HBeAb
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	HBeAg
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-κB	NF-κB	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		