

DOI:10.3971/j.issn.1000-8578.2009.01.016

胆囊良恶性病变组织中 MUC1 和 MUC5AC 表达及其临床病理意义

杨竹林, 兰思根, 刘洁琼, 苗雄鹰

Expressive Levels of MUC1 and MUC5AC and Its Clinicopathological Significances in Benign and Malignant Lesions of Gallbladder

YANG Zhu-lin, LAN Si-gen LIU Jie-qing, MIAO Xiong-ying

Research Laboratory of Hepatobiliary Diseases, The Second Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410011, China

Abstract: Objective To study the expressive levels of mucin core proteins (MUC1 and MUC5AC) and detect their clinicopathological significances in the benign and malignant lesions of gallbladder. **Methods** Envision immunohistochemistry for determining the expressions of MUC1 and MUC5AC was used in routine paraffin-embedded sections of surgical resected specimens from gallbladder adenocarcinoma ($n = 108$), peri-tumor tissues ($n = 46$), adenoma ($n = 15$), and chronic cholecystitis ($n = 35$). **Results** The positive rate of MUC1 expression was significantly higher in gallbladder adenocarcinoma than that in peri-tumor tissues ($\chi^2 = 16.49, P < 0.01$), adenoma ($\chi^2 = 7.40, P < 0.01$) and chronic cholecystitis ($\chi^2 = 28.57, P < 0.01$); The positive rate of MUC5AC expression was significantly lower in gallbladder adenocarcinoma than that in peri-tumor tissues ($\chi^2 = 12.83, P < 0.01$), adenoma ($\chi^2 = 4.22, P < 0.05$) and chronic cholecystitis ($\chi^2 = 20.25, P < 0.01$); The positive cases of MUC1 and/or negative ones of MUC5AC in the benign lesions showed moderately-or severe-atypical hyperplasia of gallbladder epithelia. The positive rate of MUC1 was significantly lower in the maximal diameter of mass < 2 cm, no-metastasis of lymph node, and no-invasiveness of regional tissues than those in the maximal diameter of mass ≥ 2 cm, metastasis of lymph node, and invasiveness of regional tissues in gallbladder adenocarcinoma ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The positive rate of MUC5AC was significantly higher in the well-differentiated adenocarcinoma and the maximal diameter of mass < 2 cm than those in the low-differentiated adenocarcinoma and maximal diameter of mass ≥ 2 cm in gallbladder adenocarcinoma ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion** The expression of MUC1 and(or) MUC5AC might be closely related to the carcinogenesis, clinical biological behaviors, and prognosis of gallbladder adenocarcinoma.

Key words: Gallbladder neoplasms; Chronic cholecystitis; Mucinous proteins; Immunohistochemistry

摘要:目的 研究胆囊良恶性病变组织中黏液蛋白(MUC1 和 MUC5AC)表达水平及其临床病理意义。**方法** 108 例胆囊腺癌、46 例癌旁组织、15 例腺瘤和 35 例慢性胆囊炎手术切除标本常规制作石蜡包埋切片, MUC1 和 MUC5AC 染色方法为 Envision 免疫组化法。**结果** 胆囊腺癌 MUC1 阳性表达率明显高于癌旁组织($\chi^2 = 16.49, P < 0.01$)、腺瘤($\chi^2 = 7.40, P < 0.01$)和慢性胆囊炎($\chi^2 = 28.57, P < 0.01$)。胆囊腺癌 MUC5AC 阳性表达率明显低于癌旁组织($\chi^2 = 12.83, P < 0.01$)、腺瘤($\chi^2 = 4.22, P < 0.05$)和慢性胆囊炎($\chi^2 = 20.25, P < 0.01$)。MUC1 阳性表达和(或)MUC5AC 阴性表达的良性病例的胆囊上皮均呈中至重度不典型增生。肿块最大径 < 2 cm、无淋巴结转移、未侵犯周围组织的病例 MUC1 阳性表达率明显低于肿块最大径 ≥ 2 cm、淋巴结转移和侵犯周围组织的病例($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);高分化腺癌、肿块最大径 < 2 cm 病例 MUC5AC 阳性表达率明显高于低分化腺癌和肿块最大径 ≥ 2 cm 病例($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。**结论** MUC1 和 MUC5AC 的表达与胆囊腺癌的发生、临床生物学行为及预后有密切关系。

关键词: 胆囊肿瘤;慢性胆囊炎;黏液蛋白类;免疫组织化学

中图分类号: R735.8 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-8578(2009)01-0054-04

0 引言

黏蛋白是由分泌型上皮细胞合成的高分子量糖蛋白,目前至少有 14 种黏蛋白基因被鉴定。它广泛

收稿日期:2007-12-12;修回日期:2008-09-18

作者单位:410011 长沙,中南大学湘雅二医院肝胆胰疾病研究室

作者简介:杨竹林(1962-),男,博士,教授,主要从事肝胆胰疾病的病理学研究

分布于机体各种正常黏膜表面,对正常上皮起保护作用,同时还介导信号转导和细胞黏附。在肿瘤组织中多表现为质和量的异常表达。近年研究发现一些黏蛋白的异常表达与一些上皮性恶性肿瘤发生、进展、临床生物学行为及预后密切相关^[1-3]。MUC1 在正常上皮不表达,但一些恶性肿瘤细胞及其癌前病变呈高水平表达,且与其恶性肿瘤临床生物学行为及预后密切相关^[4-6]。MUC5AC 是一种胃型分泌型黏蛋白,正常胃黏膜及胆囊黏膜上皮等正常上皮高表达,而其来源的恶性肿瘤及其癌前病变部分呈低表达,且与恶性程度有关^[2,5,7-12]。我们应用 Envision 免疫组化方法研究胆囊良恶性病变组织中 MUC1 和 MUC5AC 表达水平及其临床病理意义。

1 资料与方法

1.1 临床病理资料

收集湘雅二医院、湘雅医院和湖南省人民医院 1996 年 6 月~2006 年 6 月胆囊癌手术切除标本 108 例,男 31 例(28.7%),女 77 例(71.3%)。病理类型均为腺癌,其中高分化腺癌 36 例(33.3%),中分化腺癌 31 例(28.7%),低分化腺癌 30 例(27.8%),黏液腺癌 11 例(10.2%);术中未发现侵犯胆囊外周围组织器官 59 例(54.6%);共有 59 例发生区域淋巴结转移(54.6%);58 例伴有胆囊结石(53.7%);手术方式包括根治性切除 34 例(31.5%),姑息手术 48 例(44.4%)和因广泛转移不能手术 26 例(24.1%)。从以上 108 例胆囊腺癌中选择 46 例癌旁组织(距癌组织 ≥ 3 mm,肉眼观察无癌变),按 Yamagiwa^[13]提供的胆囊上皮不典型增生的诊断标准。

病理证实其中正常 10 例、轻度不典型增生 10 例,中度不典型增生 12 例和重度不典型增生 14 例。选择湘雅二医院 1996 年 6 月~2006 年 6 月胆囊腺癌手术切除标本 15 例,男 5 例(33.3%),女 10 例(66.7%),年龄范围 42~60 岁,平均(51.8 \pm 11.6)岁,肿瘤大小为 8~15 mm;病理证实均为腺癌,其中中至重度不典型增生 5 例(33.3%)。另选择 35 例慢性胆囊炎标本作为对照,其中正常胆囊黏膜 11 例、轻度不典型增生 12 例、中度不典型增生 7 例及重度不典型增生 5 例。

1.2 主要试剂

兔抗人 MUC1 和 MUC5AC 多克隆抗体购自北京金桥中杉生物技术公司,EnvisionTM 染色试剂盒购自上海基因技术有限公司。

1.3 方法

MUC1 和 MUC5AC 染色方法均为 Envision 免

疫组化法,主要步骤如下:切片脱蜡至水洗 \rightarrow 3% H_2O_2 甲醇液 10 min \rightarrow 胰蛋白酶消化 15 min \rightarrow 滴一抗 37 $^{\circ}C$ 孵育 60 min \rightarrow 滴 A 液 37 $^{\circ}C$ 孵育 30 min \rightarrow 显色液显色 15 min \rightarrow 苏木精浅染 1 min \rightarrow 脱水、透明和中性树胶封固。细胞浆内含棕黄色颗粒者为阳性细胞,随机观察切片中 10 个高倍视野阳性细胞率,其阳性细胞率均值 $\geq 25\%$ 为阳性病例, $< 25\%$ 为阴性病例,图 1、2。以北京中杉生物技术公司提供的阳性切片作为阳性对照,以 0.01 mol/L PBS 液(pH 7.4)代替一抗作为染色的阴性对照。

1.4 统计学方法

将所得数据输入 SPSS13.0 统计软件包行 χ^2 检查及 Fisher's 精确概率法,检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 MUC1 和 MUC5AC 在胆囊良恶性病变中的表达

MUC1 和 MUC5AC 免疫组化阳性产物定位胞浆,偶见胞核着色,见图 1、2。108 例胆囊腺癌 MUC1 和 MUC5AC 阳性表达病例分别为 62 例(57.4%)和 56 例(51.9%);46 例癌旁组织 MUC1 和 MUC5AC 阳性表达病例分别为 10 例(21.7%)和 38 例(82.6%),MUC1 阳性和(或)MUC5AC15 阴性表达病例胆囊上皮均呈中至重度不典型增生;15 例腺癌 MUC1 和 MUC5AC 阳性表达病例分别为 3 例(20.0%)和 12 例(80.0%),MUC1 阳性和(或)MUC5AC 阴性病例分别为 2 例(5.7%)和 33 例(94.3%),MUC1 阳性和(或)MUC5AC15 阴性表达病例胆囊上皮均呈中至重度不典型增生。胆囊腺癌 MUC1 阳性表达率明显高于癌旁上皮($\chi^2 = 16.49, P < 0.01$)、腺癌($\chi^2 = 7.40, P < 0.01$)和慢性胆囊炎($\chi^2 = 28.57, P < 0.01$);而胆囊腺癌 MUC5AC 阳性表达率明显低于癌旁上皮($\chi^2 = 12.83, P < 0.01$),腺癌($\chi^2 = 4.22, P < 0.05$)和慢性胆囊炎($\chi^2 = 20.25, P < 0.01$)。

2.2 MUC1 和 MUC5AC 表达与胆囊腺癌临床病理特征的关系

肿块最大径 < 2 cm、无淋巴结转移和未侵犯周围组织器官病例的 MUC1 阳性表达率明显低于肿块最大径 ≥ 2 cm、淋巴结转移及侵犯周围组织器官病例($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),MUC1 表达与患者性别、年龄、病理类型及有无胆囊结石无明显关系($P > 0.05$);高分化腺癌及肿块最大径 < 2 cm 病例 MUC5AC 阳性表达率明显高于低分化腺癌及肿块最大径 ≥ 2 cm 病例($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),MUC5AC 与患者性别、年龄、有无转移,有无侵犯

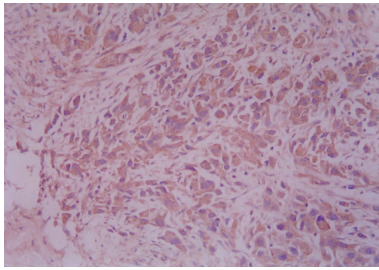


图 1 MUC1 在胆囊低分化腺癌中的阳性表达
(Envision, ×200)

Fig 1 The positive expression of MUC1, poor-differentiated adenocarcinoma(Envision, ×200)

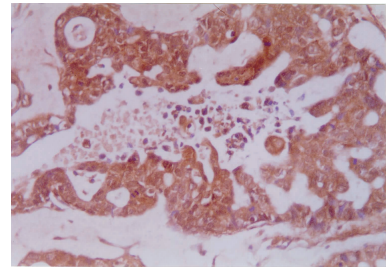


图 2 MUC5AC 在胆囊中分化腺癌中的阳性表达
(Envision, ×200)

Fig 2 The positive expression of MUC5AC in moderately-differentiated adenocarcinoma
(Envision, ×200)

周围组织及有无胆囊结石无明显关系 ($P > 0.05$), 见表 1。

3 讨论

MUC1 是黏蛋白家族中的 I 型跨膜蛋白, 由胞外段, 跨膜段和胞内段 3 部分组成, 正常腺上皮细胞有较低水平的 MUC1 表达, 主要起物理屏障和维护

环境的稳定及信号转导作用, 并可释放某些活性分子参与细胞免疫。在肿瘤组织 MUC1 常出现异常表达, 表现为质和量的改变, 并与肿瘤发生、浸润、转移及预后密切相关, 近年国外学者在此方面进行了较深入研究^[1-6, 11-12]。Hinoda 等^[14]报道 MUC1 在正常胰腺组织低表达, 但在胰腺癌组织中高表达, 且

表 1 MUC1 和 MUC5AC 表达与胆囊腺癌临床病理特征的关系

Tab 1 Relationship among the expression of MUC1 and MUC5AC and the clinicopathological features of gallbladder adenocarcinoma

Clinicopathological features	Case number	MUC1			MUC5AC		
		positive rate(%)	χ^2	P	positive rate(%)	χ^2	P
Sex							
Male	31	16(51.6)			15(48.4)		
Female	77	46(59.7)	0.60	>0.05	41(53.3)	0.21	>0.05
Age							
≤45	24	13(54.2)			13(54.2)		
>45	84	49(58.3)	0.13	>0.05	43(51.2)	0.07	>0.05
Pathological type							
Well-differentiated	36	15(41.7)			25(69.4)		
Middle-differentiated	31	19(61.3)	4.88	>0.05	14(45.2)	9.72	<0.05
Poorly-differentiated	30	20(66.7)			10(33.3)		
Mucinous adenocarcinoma	11	8(72.7)			7(63.6)		
Maxial diameter of mass							
<2 cm	31	12(38.7)			21(67.7)		
≥2 cm	77	50(64.9)	6.22	<0.05	35(45.5)	4.40	<0.05
Metastasis of lymph nodes							
no	49	21(42.9)			24(49.0)		
yes	59	41(69.5)	7.77	<0.01	32(54.2)	0.30	>0.05
Invasion of regional tissues							
no	49	20(40.8)			21(42.9)		
yes	59	42(71.2)	10.10	<0.01	35(59.3)	2.91	>0.05
Gallstone							
no	50	25(50.0)			22(44.0)		
yes	58	37(63.8)	2.09	>0.05	34(58.6)	2.30	>0.05

comparasion between well-differentiated adenocarcinoma and poorly-differentiated adenocarcinoma, $\chi^2_{MUC1} = 4.01, P \leq 0.05$; $\chi^2_{MUC5AC} = 8.56, P < 0.01$

MUC1 表达与胰腺癌 TNM 分期、淋巴结转移、患者生存期有显著相关。Lee 等^[4]在胃良恶性肿瘤中、Rakha 等^[3]在乳腺癌中及 Chang 等^[5]在胆囊良恶性肿瘤中均报道了相似结果,均发现 MUC1 阳性表达(或高水平)表达的恶性肿瘤进展快、易发生转移及侵袭能力强和预后差。本组资料发现,胆囊腺癌 MUC1 阳性表达率明显高于癌旁组织、腺瘤和慢性胆囊炎,阳性表达癌旁组织,腺瘤和慢性胆囊炎的胆囊上皮均呈中至重度不典型增生,且肿块最大径 <2 cm、无淋巴结转移及未侵犯周围组织的胆囊腺癌 MUC1 阳性表达率明显低于肿块最大径 ≥ 2 cm、淋巴结转移及侵犯周围组织的病例。其结果与国外学者报道较一致^[5-6,15],说明 MUC1 表达与胆囊腺癌发生、进展、临床生物学行为及预后密切相关,胆囊良性病变 MUC1 检测对预防和早期发现胆囊腺癌可能有重要临床价值。

MUC5AC 是一种胃型分泌型黏蛋白,正常情况下,MUC5AC 高度表达于胃窦和胃体的胃小凹细胞,为其特异性标记物。近年研究发现 MUC5AC 在其他正常上皮及其来源的良恶性肿瘤表达将出现质和量的异常改变。Yamasaki 等^[16]发现 MUC5AC 在正常胰腺组织中低表达,但在胰腺导管癌中过量表达,Forgue-lafitte 等^[7]发现结肠腺癌中 MUC5AC 阳性表达率明显低于溃疡性结肠炎和正常结肠黏膜上皮^[7];Chang 等^[5]发现正常胆囊黏膜 MUC5AC 弥漫性高表达,但在腺瘤、间变和腺癌中 MUC5AC 表达逐渐减少。此外,国外学者发现 MUC5AC 表达水平除与恶性程度有关外,与其他临床生物学行为及预后的关系密切程度不如 MUC1^[2-5,7-12,14-16]。本组资料发现,胆囊腺癌 MUC5AC 阳性表达率明显低于癌旁组织、腺瘤和慢性胆囊炎,MUC5AC 阳性表达的良性病变胆囊上皮均呈中至重度不典型增生;且腺瘤癌变或高分化腺癌及肿块最大径 <2 cm 病例 MUC5AC 阳性表达率明显高于低分腺癌和肿块最大径 ≥ 2 cm。其结果与国外学者报道较一致^[5,14],提示 MUC5AC 表达水平与胆囊腺癌发生、分化程度及生长速率等可能有密切关系,检测胆囊良性病变组织 MUC5AC 表达水平对预防和早期发现胆囊腺癌可能有一定的临床价值。

参考文献:

[1] Castillo C, Buob D, Mortuaire G, et al. Signet-ring cell adenocarcinoma

of sinonasal tract: an immunohistochemical study of the mucins profile [J]. Arch Pathol Lab Med, 2007, 131(6):961-964.

- [2] Nagata K, Horinouchi M, Saitou M, et al. Mucin expression profile in pancreatic cancer and the precursor lesions [J]. J Hepatobiliary Pancreat Surg, 2007, 14(3):243-253.
- [3] Rakha EA, Bovec RW, Abd El-Rehim D, et al. Expression of mucins (MUC1, MUC2, MUC3, MUC4, MUC5 and MUC6) and their prognostic significances, in human breast cancer [J]. Mod Pathol, 2005, 18(10):1295-1304.
- [4] Lee HS, Lee HK, Kim HS, et al. MUC1, MUC2, MUC5AC, and MUC6 expressions in gastric carcinomas: their roles as prognostic indicators [J]. Cancer, 2001, 92(6):1427-1434.
- [5] Chang HJ, Kim SW, Lee BL, et al. Phenotypic alterations of mucins and cytokeratins during gallbladder carcinogenesis [J]. Pathol Int, 2004, 54(8):576-584.
- [6] Ghosh M, Kamma H, Kawamoto T, et al. MUC1 core protein as a marker of gallbladder malignancy [J]. Eur J Surg Oncol, 2005, 31(8):891-896.
- [7] Forgue-Lafitte ME, Fabiani B, Levy PP, et al. Abnormal expression of M1/MUC5AC mucin in distal colon of patients with diverticulitis, ulcerative colitis and cancer [J]. Int J Cancer, 2007, 121(7):1543-1549.
- [8] Liegl B, Leibl S, Gogg-kamerer M, et al. Mammary and extramammary paget's disease: and immunohistochemical study of 83 cases [J]. Histopathology, 2007, 50(4):439-447.
- [9] Mori Y, Kataoka H, Miura Y, et al. Subcellular localization of ATBF1 regulates MUC5AC transcription in gastric cancer [J]. Int J Cancer, 2007, 121(2):241-247.
- [10] Kato S, Hokari R, Crawley S, et al. MUC5AC mucin gene regulation in pancreatic cancer cells [J]. Int J Oncol, 2006, 29(1):33-40.
- [11] Cozzi PJ, Wang J, Delprado W, et al. MUC1, MUC2, MUC3, MUC4, MUC5AC and MUC6 expression in the progression of prostate cancer [J]. Clin Exp Metastasis, 2005, 22(7):565-573.
- [12] Baker AC, Eltoun I, Curry RO, et al. Mucinous expression in benign and neoplastic glandular lesions of the uterine cervix [J]. Arch Pathol Lab Med, 2006, 130(10):1510-1515.
- [13] Yamagiwa H. Mucosal dysplasia of gallbladder; isolated and adjacent lesion to carcinoma [J]. Jpn J Cancer Res, 1989, 80(3):238-243.
- [14] Hinoda Y, Ikematsu Y, Horinouchi M, et al. Increased expression of MUC1 in advanced pancreatic cancer [J]. J Gastroenterol, 2003, 38(12):1162-1166.
- [15] Takaguwa M, Mugurma N, Oguri K, et al. Prediction of prognosis in gallbladder carcinoma by mucin and p53 immunohistochemistry [J]. Dig Dis Sci, 2005, 50(8):1410-1413.
- [16] Yamasaki H, Ikeda S, Okajima M, et al. Expression and localization of MUC1, MUC2, MUC5AC and small intestinal mucin antigen in pancreatic tumors [J]. Int J Oncol, 2004, 24(1):107-113.

[编辑:安 凤;校对:马福元]