

doi:10.3971/j.issn.1000-8578.2012.10.019

SPARC 蛋白在食管鳞癌组织中的表达及临床意义

杨锡贵¹,姜超²,刘封³,杨香山⁴

SPARC Protein Expression and Clinical Significance in Esophageal Squamous Cell Carcinoma

Yang Xigui¹,Jiang Chao²,Liu Feng³,Yang Xiangshan⁴

1. Department of Internal Medicine Oncology,Shandong Cancer Hospital,Shandong Academy of Medical Sciences,Ji'nan 250117,China;2. Department of Internal Medicine Oncology,The Affiliated Hospital of Shandong Academy of Medical Sciences/Shandong Cancer Hospital(East District),Shandong Academy of Medical Sciences;3. Department of Internal Medicine Oncology,Qufu People's Hospital;4. Department of Pathology,The Affiliated Hospital of Shandong Academy of Medical Sciences/Shandong Cancer Hospital(East District),Shandong Academy of Medical Sciences

Abstract: Objective To investigate the role of secreted protein acidic and rich in cysteine(SPARC)in invasion,metastasis of esophageal squamous cell carcinoma(ESCC). **Methods** The differential protein expression of SPARC between esophageal squamous cell carcinoma and its corresponding normal esophageal mucosa was detected by immunohistochemistry(IHC)analysis. And the relationship between the expression of SPARC and invasion,metastasis was analyzed. **Results** Positive expression(+ / + +) of SPARC protein was detected in one hundred sixty-two cases,and negetive expression(-) was detected in 38 cases. The expression of SPARC protein was significantly upregulated in ESCC compared to that in corresponding normal esophageal mucosa($P<0.01$). SPARC was positive expression in tumor stromal in most cases. High levels of SPARC in tumor cytolymph could be seen in few cases(21 cases). And the immuno-activity was detected mainly in the cancer cells localized at the tumor-stroma interface. SPARC protein expression and stage,metastasis was correlated significantly($P<0.05$). The SPARC protein expression was higher in patients with later stages metastasis,and was not related with gender,age,differentiation,depth of invasion,related habits (drinking,eating pickled foods,etc.),family history,etc($P>0.05$). **Conclusion** SPARC expression as a marker can be used to predict stage and metastasis of ESCC.

Key words: Secreted protein acidic and rich in cysteine; Esophageal squamous cell carcinoma; Metastasis; Immunohistochemistry

摘要:目的 探讨酸性富含半胱氨酸分泌型蛋白(SPARC)在食管鳞癌组织中的表达及临床意义。**方法** 免疫组织化学法检测 200 例食管鳞癌及癌旁组织中 SPARC 蛋白的表达,分析其与食管癌患者临床特征的关系。**结果** 200 例食管癌标本 162 例表达(+ / + +),38 例表达(-)。所有癌旁正常组织均表达(-),两者差异有统计学意义($P<0.01$)。SPARC 蛋白阳性表达颗粒大都定位于细胞间质、仅 21 例标本 SPARC 蛋白阳性表达颗粒可见于食管癌细胞的细胞质。食管癌组织中 SPARC 蛋白的表达与分期、转移相关,差异有统计学意义($P<0.05$)。分期越晚,SPARC 蛋白阳性表达率越高。在有转移的患者 SPARC 蛋白阳性表达率高;与性别、年龄、分化程度、浸润深度、相关生活习惯(饮酒、喜食腌制食品等)、家族史等均无相关性,差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 食管癌组织中 SPARC 蛋白的表达可作为预测食管鳞癌分期、转移的指标之一。

关键词: 酸性富含半胱氨酸分泌型蛋白;食管鳞癌;转移;免疫组织化学

中图分类号:R735.1 文献标识码:A 文章编号:1000-8578(2012)10-1240-03

0 引言

我国是食管癌高发国家,早期食管癌诊断滞后,死亡率高,确诊时 80%病例为中晚期,主要依靠化

放疗与其他学科综合治疗,预后较差。酸性富含半胱氨酸分泌型蛋白(secreted protein acidic and rich in cysteine,SPARC)已被证实在多种肿瘤中高表达并与疗效、预后相关^[1-3]。食管癌鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma,ESCC)是食管癌的主要组织类型。中国医学科学院肿瘤医院通过对 ESCC 组织及其配对的相邻正常黏膜组织标本分析发现 SPARC 在食管鳞癌组织中过表达^[4]。针对 SPARC 蛋白在食管鳞癌组织中的表达及相关的临床意义,本研究进行了探讨分析。

收稿日期:2011-10-24;**修回日期:**2012-03-22
作者单位:1. 250117 济南,山东省肿瘤医院内科,山东省医学科学院;2. 山东省医学科学院附属医院(山东省肿瘤医院东院区)内科,山东省医学科学院;3. 山东省曲阜市人民医院肿瘤科;4. 山东省医学科学院附属医院(山东省肿瘤医院东院区)病理科,山东省医学科学院
作者简介:杨锡贵(1958-),男,本科,研究员,主要从事肿瘤内科治疗工作

1 资料和方法

1.1 资料

200例食管鳞癌组织标本来自2000年1月—2005年1月山东省肿瘤医院住院患者手术切除的组织标本,同时取距癌组织4 cm处组织作为正常组织对照。所有患者术前均未行放疗、化疗或其他针对肿瘤的治疗,术后病理其切缘为阴性。

1.2 试剂

SPARC鼠抗人单克隆抗体(ab89739)购于Abcam公司;DAB(二氨基联苯胺)显色剂、0.01 mol/L枸橼酸盐缓冲液、赖氨酸白乳胶、0.01 mol/L磷酸盐缓冲液、PV-9000通用试剂盒购于北京中山金桥生物技术有限公司。

1.3 方法

经过取材,固定、脱水、石蜡包埋、切片、HE染色和封片、采用免疫组织化学PV法,检测SPARC蛋白的表达。SPARC鼠抗人单克隆抗体(ab89739)的稀释倍数1:50。

1.4 结果判定标准

由两位病理医师分别采用半定量评分系统,评估SPARC蛋白免疫组织化学染色的强度。针对食管癌细胞、正常组织细胞细胞间质中的阳性颗粒进行评估。染色评分标准参考文献^[5],具体分为:阴性(-):没有阳性颗粒表达;弱阳性(+):阳性颗粒<30%;强阳性(++):阳性颗粒≥30%。

1.5 统计学方法

所有数据采用SPSS17.0软件进行统计分析。采用 χ^2 检验,全部统计方法均采用双侧检验,将 $P<0.05$ 定义为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SPARC蛋白在食管癌及癌旁组织中的表达

SPARC蛋白阳性表达颗粒大都定位于细胞间质,见图1A,仅21例标本SPARC蛋白阳性表达颗粒定位于食管癌细胞的细胞质,见图1B。200例食管癌标本162例表达(+ / + +),见图1A、1B,38例表达(-)见图1C,所有癌旁正常组织均表达(-),见图1D,两者差异有统计学意义($P<0.01$)。

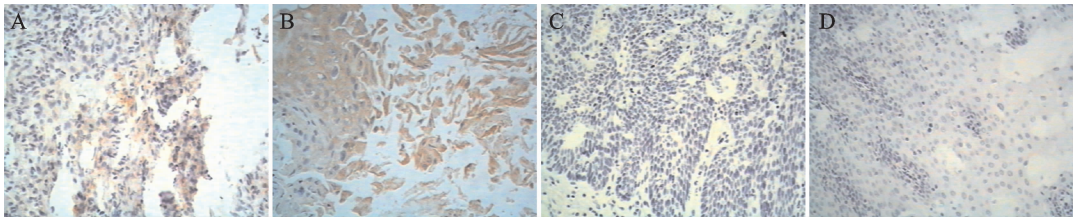
2.2 SPARC蛋白表达与临床特征的相关性

食管癌组织中SPARC蛋白的表达与性别、年龄、分化程度、浸润深度、相关生活习惯(饮酒、喜食腌制食品等)、家族史等均无相关性,差异无统计学意义($P>0.05$)。SPARC蛋白的表达与分期、转移有相关性,差异有统计学意义($P<0.05$)。分期越晚,SPARC蛋白阳性表达率越高;有转移的患者SPARC蛋白阳性表达率高,见表1。

表1 SPARC蛋白表达与主要临床特征的相关性分析
Table 1 The analysis of SPARC protein expression and main clinical characteristics of patients in Esophageal squamous cell carcinoma

Items	<i>n</i>	−	+ / + +	χ^2	<i>P</i>
Gender					
Male	128	26	102	0.398	0.528
Female	72	12	60		
Age(years)					
<60	105	25	80	3.322	0.068
>60	95	13	82		
Differentiation					
Poor	35	7	28	0.316	0.854
Moderate	110	20	90		
Well	55	12	43		
Stage					
I	17	12	5	35.43	<0.001
II	78	16	63		
III / IV	105	10	94		
Metastasis					
Yes	81	8	73	8.366	0.004
No	119	30	89		
Invasion					
Mucosa and submucosa	26	5	21	0.065	0.968
Muscularis	60	12	48		
Out of the adventia	114	21	93		
Drinking					
Yes	50	10	40	0.043	0.835
No	150	28	122		
Pickled foods					
Yes	33	6	27	0.017	0.896
No	167	32	135		
Family history					
Yes	15	3	12	0.1	0.919
No	185	35	150		

Note:SPARC;secreted protein acidic and rich in cysteine



A:SPARC protein express positive in stroma;B:SPARC protein express positive in tumor cell and stroma;C:SPARC protein express negative in tumor cell;D:SPARC protein express negative in normal cell
图1 SPARC蛋白在食管癌和癌旁组织中的表达(HE×200)
Figure 1 The expression of SPARC protein inesophageal squamous cell carcinoma and normal cell(HE×200)

3 讨论

研究表明 SPARC 在人体中分布广泛,尤其在 与组织修复和侵袭性恶性肿瘤相关的组织中高表 达^[1-2]。2006 年,国内研究检测了 36 例食管癌组 织,得出结论 SPARC 蛋白主要表达于食管癌细胞 胞质,仅少数标本检测显示表达于食管癌细胞胞 核^[5]。国外在食管癌和乳腺癌方面的研究^[4,6]表 明 SPARC 蛋白阳性表达颗粒主要表达于肿瘤细 胞间质,少量表达于肿瘤细胞。本研究表明 SPARC 蛋白阳性表达颗粒大都定位于细胞间质、 仅少数标本 SPARC 蛋白阳性表达颗粒可见于食 管癌细胞的细胞质内。本研究的成果与国外研究 成果相同。无论是本研究还是国外的研究样本数 均远远大于国内相关研究。因此,我们认为 SPARC 蛋白阳性表达颗粒主要表达于肿瘤细胞间 质,少量表达于肿瘤细胞。

食管癌细胞内与增生、凋亡和分化及转移相 关的多种基因的表达都有改变。这些改变最终都会 导致细胞内蛋白表达水平的变化,从而影响细胞的 生命活动。这些与食管癌相关的蛋白质的改变或多 或少会在肿瘤组织、血液或其他体液中留下一些可 以找到的证据,即肿瘤标志物。近年来的研究结果显 示:虽然食管癌肿瘤标志物的研究和报道较多,但是 目前真正具有诊断、预测转移作用的标志物甚少。 目前,研究较多的是 p53、SCC-Ag、CYFRA21-1,但 p53^[7-10]、SCC-Ag^[11-12]敏感度差,单独用于预测食管 癌转移的意义不大。CYFRA21-1^[13-14]作为一个较 敏感的中晚期食管癌患者复发和转移的追踪标志 物,具有很好的应用前景。但是,CYFRA21-1 在早 期或病灶较小的患者中敏感度较差。本研究结果显 示 SPARC 蛋白的表达与食管癌患者的分期、转移 密切相关($P<0.001$ 、 $P=0.004$),但与肿瘤的分化 程度和浸润深度无关(P 均 >0.05)。SPARC 蛋白 的表达与食管癌患者的性别、年龄、饮酒、喜食腌制 食品和家族史等无相关性(P 均 >0.05)。SPARC 蛋白在食管癌组织中显著上调且又为分泌蛋白,这 就为通过检测 SPARC 蛋白来预测食管癌的转移、 预后指明了研究方向。

本研究通过检测 SPARC 蛋白在食管鳞癌中的 表达、显示其与分期、转移具有相关性,从而为食管 癌的诊断、治疗和追踪复查提供特异性更高的分子 标志物奠定了基础。

参考文献:

[1] Podhajcer OL, Benedetti L, Girotti MR, et al. The role of the matricellular protein SPARC in the dynamic interaction between the tumor and the host[J]. Cancer Metastasis Rev, 2008,27(3):523-37.

[2] Nagaraju GP, Sharma D. Anti-cancer role of SPARC, an inhibitor of adipogenesis[J]. Cancer Treat Rev, 2011,37(7):559-66.

[3] Witkiewicz AK, Freydin B, Chervoneva I, et al. Stromal CD10 and SPARC expression in ductal carcinoma in situ (DCIS) patients predicts disease recurrence[J]. Cancer Biol Ther, 2010, 10(4):391-6.

[4] Xue LY, Hu N, Song YM. Tissue microarray analysis reveals a tight correlation between protein expression pattern and progression of esophageal squamous cell carcinoma[J]. BMC Cancer, 2006,6:296.

[5] Che YQ, Wang H, Qi J, et al. The analysis of the SPARC protein expression and clinical significance in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Zhongguo Zhong Liu Lin Chuang, 2006,33 (2):61-3. [车秩群,王海,齐军,等.食管鳞癌组织中 SPARC 蛋白表达的临床意义[J].中国肿瘤临床,2006,33(2):61-3.]

[6] Nagai MA, Gerhard R, Fregnani JH, et al. Prognostic value of NDRG1 and SPARC protein expression in breast cancer patients[J]. Breast Cancer Res Treat, 2011,126(1):1-14.

[7] Luo KJ, Hu Y, Wen J, et al. CyclinD1, p53, E-cadherin, and VEGF discordant expression in paired regional metastatic lymph nodes of esophageal squamous cell carcinoma: A tissue array analysis[J]. J Surg Oncol, 2011,104(3):236-43.

[8] Piao JM, Kim HN, Song HR, et al. p53 codon 72 polymorphism and the risk of esophageal cancer: a Korean case-control study [J]. Dis Esophagus, 2011,24(8):596-600.

[9] Jiang DK, Yao L, Wang WZ, et al. TP53 Arg72Pro polymorphism is associated with esophageal cancer risk: a meta-analysis[J]. World J Gastroenterol, 2011,17(9):1227-33.

[10] Umar M, Upadhyay R, Khurana R, et al. Role of p53 and p73 genes polymorphisms in susceptibility to esophageal cancer: a case control study in a northern Indian population[J]. Mol Biol Rep, 2012,39(2):1153-62.

[11] Tanaka K, Yano M, Motoori M, et al. CEA-antigen and SCC-antigen mRNA expression in peripheral blood predict hematogenous recurrence after resection in patients with esophageal cancer[J]. Ann Surg Oncol, 2010,17(10):2779-86.

[12] Łukaszewicz-Zajac M, Mroczko B, Kozłowski M, et al. Elevated levels of serum metalloproteinase 9 in patients with esophageal squamous cell carcinoma[J]. Pol Arch Med Wewn, 2009,119 (9):558-63.

[13] Yi Y, Li B, Wang Z, et al. CYFRA21-1 and CEA are useful markers for predicting the sensitivity to chemoradiotherapy of esophageal squamous cell carcinoma[J]. Biomarkers, 2009,14 (7):480-5.

[14] Dong J, Zeng BH, Xu LH, et al. Anti-CDC25B autoantibody predicts poor prognosis in patients with advanced esophageal squamous cell carcinoma[J]. J Transl Med, 2010,8:81.

[编辑:刘红武;校对:周永红]