

NJ001 识别抗原在多种肿瘤组织中的表达及其与肿瘤分化的关系

荆俊鹏,王悦,吴蕾,余汉中,蒋欣华,李月梅,王芳,徐建,顾春荣,孙瑞红,潘世扬*

(南京医科大学第一附属医院检验学部,江苏 南京 210029)

[摘要] 目的:研究 NJ001 识别抗原在人体内多种恶性肿瘤组织中的表达情况,并评估其与肿瘤分化的关系。方法:采用免疫组化的方法对肺腺癌、肺鳞癌、胰腺癌、乳腺癌、食管癌、胃癌、肝癌和对应的良性病变组织中 NJ001 识别抗原的表达进行检测,同时与肿瘤分化程度进行比较,通过半定量的方法判定结果,使用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法进行相关性分析。结果:NJ001 识别抗原在肺腺癌(88.0%)、肺鳞癌(82.2%)、胰腺癌(73.3%)和乳腺癌(57.8%)中均呈现出高表达,并且均与肿瘤分化程度显著相关(肺腺癌 $P < 0.001$,肺鳞癌 $P=0.002$,胰腺癌 $P=0.002$,乳腺癌 $P=0.024$)。结论:NJ001 识别抗原有望为临床诊断肺腺癌、肺鳞癌、胰腺癌和乳腺癌及判断其分化程度提供一个新的肿瘤标志物。

[关键词] 单克隆抗体;肿瘤标志物;肿瘤;分化;免疫组化

[中图分类号] R730.3

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2016)07-826-04

doi: 10.7655/NYDXBNS20160713

Expression of NJ001 recognized antigen and its association with tumor differentiation in multiple neoplasms

Jing Junpeng, Wang Yue, Wu Lei, Yu Hanzhong, Jiang Xinhua, Li Yuemei, Wang Fang, Xu Jian, Gu Chunrong, Sun Ruihong, Pan Shiyang*

(Department of Laboratory Medicine, the First Affiliated Hospital of NJMU, Nanjing 210029, China)

[Abstract] **Objective:** To examine NJ001 recognized antigen expression in surgically resected human malignant tumor tissues, and to evaluate the relationship between its expression and tumor differentiation. **Methods:** NJ001 recognized antigen expression was immunohistochemically studied in lung adenocarcinoma, lung squamous carcinoma, pancreatic cancer, breast cancer, esophageal cancer, gastric cancer, liver cancer and matched non-neoplastic tissues, and all positive cases were compared on tumor differentiation. The results were scored by semiquantitative analysis, and statistical analysis was evaluated by chi-square test or Fisher exact test. **Results:** Expression of NJ001 recognized antigen was significantly high in lung adenocarcinoma (88.0%), lung squamous carcinoma (82.2%), pancreatic cancer (73.3%) and breast cancer (57.8%), and was significantly correlated with lower differentiation degree in all these tumors ($P < 0.001$ in lung adenocarcinoma; $P=0.002$ in lung squamous carcinoma; $P=0.002$ in pancreatic cancer; and $P=0.024$ in breast cancer). **Conclusion:** NJ001 recognized antigen is expected to be a tumor marker in lung adenocarcinoma, lung squamous carcinoma, breast cancer and pancreatic cancer, as well as a remarkable biomarker for identification of differentiation degree in multiple neoplasms.

[Key words] monoclonal antibody; tumor markers; neoplasm; differentiation; immunohistochemistry

[Acta Univ Med Nanjing, 2016, 36(07): 826-829]

人类的大多数恶性肿瘤均能异常表达或分泌一些蛋白抗原,这些蛋白抗原可以作为肿瘤诊断的

标志物,目前,已有大量的肿瘤标志物用于临床诊断^[1]。NJ001 是本实验室前期用人肺腺癌细胞株 SPC-A1 免疫小鼠制备的针对人非小细胞肺癌的单克隆抗体,它所识别的抗原称为 NJ001 识别抗原,相对分子质量为 70 kDa,单克隆抗体 NJ001 与该识别抗原结合以后,可诱导肿瘤细胞的凋亡,并且能够抑制肿瘤细胞增殖^[2],显示 NJ001 识别抗原在肿

[基金项目] 国家自然科学基金(81371894);江苏省实验诊断学重点实验室(XK201114);江苏高校优势学科建设工程基金项目;教育部博导基金(20113234110012);国家临床重点专科建设项目

*通信作者(Corresponding author),E-mail:sypan@njmu.edu.cn

瘤的发展过程中起了重要作用。然而,NJ001 识别抗原在恶性肿瘤中的表达情况尚不清楚,因此本研究对该抗原在中国常见恶性肿瘤^[3]中的表达情况进行了筛查,并且对该抗原与肿瘤分化的关系进行了评估。

1 对象和方法

1.1 对象

随机选择 2011 年 11 月—2014 年 12 月在南京医科大学第一附属医院和南京医科大学附属南京医院进行手术的肿瘤患者 365 例,包括肺腺癌 50 例,肺鳞癌 45 例,肺部良性疾病 30 例,胰腺癌 45 例,胰腺良性疾病 30 例,乳腺癌 45 例,乳腺良性疾病 30 例,食管癌 30 例,胃癌 30 例,肝癌 30 例。按照 2004 年 WHO 分类标准进行分化程度评估。

1.2 方法

免疫组织化学染色步骤按文章所述^[2]。以良性病变组织作为阴性对照,用确诊肺腺癌的组织切片作为阳性对照。单克隆抗体 NJ001 由本实验室自制;进口羊血清工作液购自北京中杉金桥生物技术有限公司;快捷型酶标羊抗鼠/兔 IgG 聚合物及 DAB 显色试剂盒均购自福建迈新生物技术有限公司。

结果判定:NJ001 识别抗原表达以细胞浆中出现黄色或棕黄色颗粒为阳性反应。根据染色细胞百分率和染色程度进行评定和分析。先在低倍($\times 200$)光学显微镜下寻找肿瘤区域,随机观察 5 个高倍视野($\times 400$),每个视野记数 200 个细胞中阳性细胞所占百分率。阳性细胞率计分标准:0%为 0 分,1%~33%为 1 分,34%~66%为 2 分,67%~100%为 3 分;染色强度:无着色为 0 分,浅黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分。按两者得分的乘积分为 3 个等级:0 分为(-),1~2 分为(+),3~4 分为(++),6~9 分为(+++)。结果判断:将(-)和(+)判为阴性表达,(++)和(+++)判为阳性表达。

1.3 统计学方法

应用 SPSS20.0 统计软件进行数据分析。定性分类资料采用 χ^2 检验,计数资料采用 χ^2 检验或 Fisher's 确切概率法进行数据分析。 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NJ001 识别抗原在多种肿瘤组织中的表达情况

NJ001 识别抗原在肺腺癌、肺鳞癌、胰腺癌和乳腺癌中的阳性率分别为:88.0%、82.2%、73.3%和

57.8%(表 1),而在其他肿瘤和良性病变组织中,仅有少量 NJ001 识别抗原的表达(图 1),差异有统计学意义($P < 0.001$)。

表 1 NJ001 识别抗原在多种组织中的表达情况

Table 1 NJ001 recognized antigen expressions in multiple neoplasm tissues

病理类型	例数 (n=365)	阴性		阳性		阳性率 (%)
		(-)	(+)	(++)	(+++)	
肺腺癌	50	2	4	27	17	88.0**
肺鳞癌	45	3	5	24	13	82.2**
肺部良性疾病	30	18	10	2	0	6.7
胰腺癌	45	4	8	16	17	73.3**
胰腺良性疾病	30	12	15	3	0	10.0
乳腺癌	45	9	10	22	4	57.8**
乳腺良性疾病	30	17	11	2	0	6.7
食管癌	30	21	5	4	0	13.3
胃癌	30	18	7	5	0	16.7
肝癌	30	21	6	3	0	10.0

与对应良性病变组织比较,** $P < 0.001$ 。

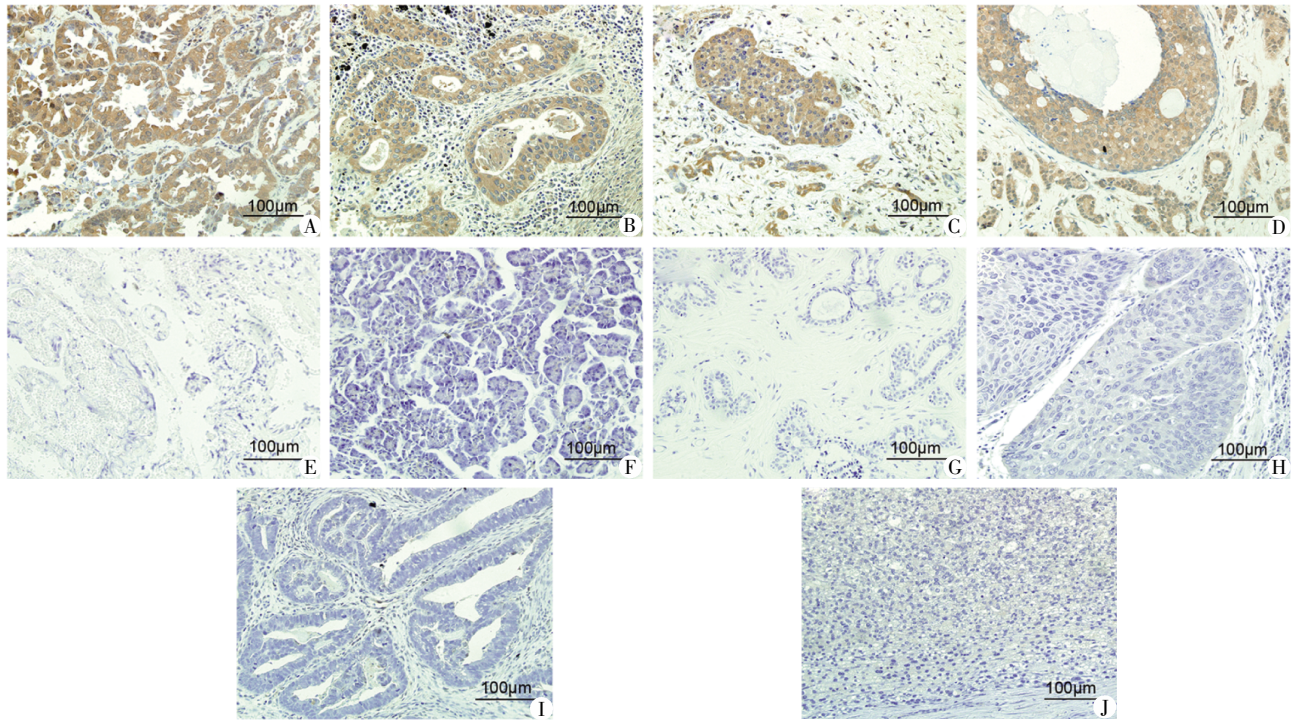
2.2 NJ001 识别抗原的表达与肿瘤分化的关系

NJ001 识别抗原的表达与肿瘤分化之间的关系如表 2,NJ001 识别抗原在高分化肺腺癌和肺鳞癌组织中阳性率均为 37.5%,而在中低分化组织中阳性率分别为 97.6%和 91.9%,差异均具有统计学意义;NJ001 识别抗原在胰腺癌和乳腺癌高分化组织中的阳性率分别为 33.3%和 22.2%,在中低分化组织中阳性率分别为 86.2%和 66.7%,差异均具有统计学意义。

3 讨论

本研究通过免疫组化的方法检测了 NJ001 识别抗原的表达情况,并且与患者的肿瘤分化程度进行了比较,结果证明,NJ001 识别抗原在肺腺癌、肺鳞癌、胰腺癌和乳腺癌这 4 种阳性率较高的肿瘤中均与肿瘤分化程度显著相关。

在临床工作中,病理学的诊断结果对于肿瘤的治疗方案有指导意义,在术前穿刺诊断过程中,肿瘤分化程度的判读是导致诊断误差的主要因素^[4]。因为目前肿瘤的分化程度主要是基于肿瘤细胞的形态学变化,病理医生的个人经验对结果影响很大^[5]。在肺癌中,TTF-1 是经常用于临床诊断的肿瘤标志物,但是 TTF-1 与肿瘤分化并没有相关性^[6];HER2 是常用于胰腺癌诊断的标志物,但是研究发现该标志物与临床病理特征并没有显著联系^[7];而且肿瘤分化程度是影响乳腺癌患者预后的独立影响因



A:肺腺癌;B:肺鳞癌;C:胰腺癌;D:乳腺癌;E:肺部良性疾
病;F:胰腺良性疾
病;G:乳腺良性疾
病;H:食管癌;I:胃癌;J:肝癌(免疫组化染
色, ×200)。

图 1 NJ001 识别抗原在不同组织中的表达情况

Figure 1 Immunohistochemical analysis of NJ001 recognized antigen expressions in different neoplasm tissues

表 2 NJ001 识别抗原与肿瘤分化的关系

Table 2 Relationship between NJ001 recognized antigen expression and tumor differentiation

病理参数	肺腺癌			肺鳞癌			胰腺癌			乳腺癌		
	例数	阳性	P 值	例数	阳性	P 值	例数	阳性	P 值	例数	阳性	P 值
性别			0.683			1.000			1.000			-
男	28	24		43	35		26	19		-	-	
女	22	20		2	2		19	14		45	26	
年龄			0.576			0.435			0.502			0.281
< 65 岁	43	37		25	22		25	17		35	22	
≥ 65 岁	7	7		20	15		20	16		10	4	
TNM 分期			0.071			0.656			0.296			0.286
I~II	31	25		33	26		34	23		35	22	
III~IV	19	19		11	10		5	5		4	1	
肿瘤分化			<0.001			0.002			0.002			0.024
高分化	8	3		8	3		12	4		9	2	
中低分化	42	41		37	34		29	25		36	24	

因部分数据缺失,有些变量的和并不等于总数。

素^[4],因此肿瘤分化程度的判断对于治疗方法的选择有很大影响,但是乳腺癌诊断常用的标志物雌激素受体(ER)和孕激素受体(PR)与肿瘤的分化程度并无关系^[8]。

低分化的肿瘤更容易复发和转移,这主要是由于肿瘤分化与肿瘤细胞侵袭能力之间的相关性。在低分化的肿瘤中,肿瘤细胞侵袭的前端细胞间的细

胞间质发生退化,有些肿瘤细胞之间的连接甚至消失^[5],这导致肿瘤细胞很容易从原发病灶中转移出来,进入血液循环系统或者淋巴结。Vergote 等^[9]的研究小组甚至建议在肿瘤治疗过程中慎重考虑肿瘤分化的因素,并且可以将肿瘤分化程度加入到 FIGO 的分类中,作为评判患者肿瘤分期的一个指数。但是目前,肿瘤分化程度的评估并没有统一的

标准,并且很少有标志物能够有效鉴定肿瘤的分化程度。本研究证实,NJ001 识别抗原在中低分化肿瘤中的阳性率能达到 90%以上,而在高分化肿瘤中阳性率仅 30%左右,有较高的特异性。因此,在肿瘤的临床诊疗过程中,NJ001 识别抗原有望作为一个临床指标,与现行的临床病理诊断标准相结合,成为一个辅助判断肿瘤分化程度的诊断指标。

[参考文献]

[1] Liu W, Peng B, Lu Y, et al. Autoantibodies to tumor-associated antigens as biomarkers in cancer immunodiagnosis [J]. *Autoimmun Rev*, 2011, 10(6):331-335

[2] Pan SY, Wang F, Huang PJ, et al. The study on newly developed McAb NJ001 specific to non-small cell lung cancer and its biological characteristics [J]. *PLoS One*, 2012, 7(3):e33009

[3] Chen W, Zheng R, Zeng H, et al. Annual report on status of cancer in China, 2011 [J]. *Chin J Cancer Res*, 2015, 27(1):2-12

[4] Rakha EA, El-Sayed ME, Menon S, et al. Histologic grading is an independent prognostic factor in invasive lobular

carcinoma of the breast [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2008, 111(1):121-127

[5] Gabbert H, Wagner R, Moll R, et al. Tumor dedifferentiation: an important step in tumor invasion [J]. *Clin Exp Metastasis*, 1986, 3(4):257-279

[6] Tan D, Li Q, Deeb G, et al. Thyroid transcription factor-1 expression prevalence and its clinical implications in non-small cell lung cancer: a high-throughput tissue microarray and immunohistochemistry study [J]. *Hum Pathol*, 2003, 34(6):597-604

[7] Aumayr K, Soleiman A, Sahara K, et al. HER2 gene amplification and protein expression in pancreatic ductal adenocarcinomas [J]. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2014, 22(2):146-152

[8] 李文婷,王 莹,张银华,等. 年轻女性乳腺癌中 ER、PR、HER-2 和 Ki67 的表达与临床病理意义 [J]. *重庆医科大学学报*, 2012, 37(9):783-786

[9] Vergote I, De Brabanter J, Fyles A, et al. Prognostic importance of degree of differentiation and cyst rupture in stage I invasive epithelial ovarian carcinoma [J]. *Lancet*, 2001, 357(9251):176-182

[收稿日期] 2016-04-18

(上接第 801 页)

smoke-induced airway inflammation in mice [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(2):2001-2008

[11] Gagliardo R, Chanez P, Mathieu M, et al. Persistent activation of nuclear factor-kappaB signaling pathway in severe uncontrolled asthma [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2003, 168(10):1190-1198

[12] Das J, Chen CH, Yang L, et al. A critical role for NF-kappa B in GATA3 expression and TH2 differentiation in allergic airway inflammation [J]. *Nat Immunol*, 2001, 2(1):45-50

[13] Zhou E, Fu Y, Wei Z, et al. Inhibition of allergic airway inflammation through the blockage of NF-kappaB activation by ellagic acid in an ovalbumin-induced mouse asthma model [J]. *Food Funct*, 2014, 5(9):2106-2112

[14] Choi IW, Kim DK, Ko HM, et al. Administration of anti-sense phosphorothioate oligonucleotide to the p65 subunit of NF-kappaB inhibits established asthmatic reaction in mice [J]. *Int Immunopharmacol*, 2004, 4(14):1817-1828

[15] Jiang Y, Gong FL, Zhao GB, et al. Chrysin suppressed inflammatory responses and the inducible nitric oxide synthase pathway after spinal cord injury in rats [J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(7):12270-12279

[16] Bae Y, Lee S, Kim SH. Chrysin suppresses mast cell-mediated allergic inflammation: involvement of calcium, caspase-1 and nuclear factor-kappaB [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2011, 254(1):56-64

[17] During A, Larondelle Y. The O-methylation of chrysin markedly improves its intestinal anti-inflammatory properties: Structure-activity relationships of flavones [J]. *Biochem Pharmacol*, 2013, 86(12):1739-1746

[18] Dou W, Zhang J, Zhang E, et al. Chrysin ameliorates chemically induced colitis in the mouse through modulation of a PXR/NF-kappaB signaling pathway [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2013, 345(3):473-482

[收稿日期] 2015-09-28