

iASPP 在结直肠癌组织中的表达及意义

张晶焱¹, 潘月龙²

(¹江苏省中医院肿瘤科, 江苏 南京 210029; ²杭州市肿瘤医院肿瘤内科, 浙江 杭州 310006)

[摘要] 目的:探讨结直肠癌及癌旁组织中 iASPP 的表达及其临床意义。方法:采用免疫组化法检测 iASPP 在 55 例结直肠癌组织及 47 例癌旁组织中的表达情况,分析 iASPP 表达与肿瘤浸润深度、分化程度、淋巴结转移的相互关系。结果:①结直肠癌组织中 iASPP 的阳性表达率高于癌旁组织($P < 0.01$);②在高、中和低分化结直肠癌组织中 iASPP 阳性表达与肿瘤细胞的分化程度有关($P < 0.01$);③在 T1~T4 期结直肠癌中, iASPP 阳性表达与肿瘤浸润深度有关($P < 0.01$);④结直肠癌组织中 iASPP 的表达与淋巴结是否转移有关($P < 0.01$)。结论:结直肠癌组织中 iASPP 的阳性表达率高于癌旁组织,且其表达与肿瘤的分化、肿瘤浸润深度及淋巴结是否转移有关,可能为结直肠癌恶性肿瘤的诊断提供帮助。

[关键词] 结直肠癌; iASPP; 免疫组化

[中图分类号] R735.3

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2016)08-983-04

doi: 10.7655/NYDXBNS20160818

Expression of iASPP in colorectal cancer tissue and its significance

Zhang Jingyan¹, Pan Yuelong²

(¹Department of Internal Medicine-oncology, Jiangsu Province Hospital of TCM, Nanjing 210029; ²Department of Internal Medicine-Oncology, Hangzhou Cancer Hospital, Hangzhou 310006, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the significance and expression of iASPP in colorectal cancer and its adjacent tissues. **Methods:** We used immunohistochemical method to detect the expression of iASPP in 54 cases of colorectal cancer tissue and 47 cases of para colorectal cancer tissues, and analyzed the correlations between the expressions of iASPP and the pathologic typing, infiltrative depth, clinical stage and lymph node metastasis of colorectal cancer. **Results:** The positive expression rate of iASPP was significantly higher in colorectal cancer tissues than that in adjacent tissues ($P < 0.01$). The expressions of iASPP in colorectal cancer tissues were related to the degree of tumor cells, infiltrative depth of tumor and lymph node metastasis (all $P < 0.01$). **Conclusion:** The expression levels of iASPP in colorectal cancer tissues was higher than that in colorectal cancer adjacent tissues. It may be related with tumor differentiation, infiltrative depth and lymph node metastasis. This may be useful for the diagnosis of colorectal malignant tumor.

[Key words] colorectal cancer; iASPP; immunohistochemistry

[Acta Univ Med Nanjing, 2016, 36(08):983-986]

结直肠癌是最常见的恶性肿瘤之一,流行病学研究显示其地域分布明显、发病率和病死率持续升高、女性比例增加、发病年龄趋老年化、结肠癌比例增加且有“右移”趋向,发病率和病死率一直呈上升趋势^[1]。P53 基因是现公认的重要的抑癌基因,其功能是诱导细胞凋亡和细胞周期阻滞。P53 基因缺失或突变及功能丧失在多种肿瘤的发生发展中发挥了重要的作用。P53 凋亡刺激蛋白(apoptosis stimulating protein of P53, ASPP)是近期发现的一种肿瘤抑制基因家族,包含 iASPP(inhibitory member of the ASPP family)、ASPP1 和 ASPP2 3 个

成员,其均可通过各自 C 端与 P53 进行结合。其中抑制成员 iASPP 能与 ASPP1、ASPP2 竞争性结合 P53,从而抑制 P53 的功能^[2]。研究发现 iASPP 在肺癌、宫颈癌、肝癌等恶性肿瘤中表达增高,抑制抑癌基因 P53 及 P63、P73 的凋亡作用,促进肿瘤的发生发展。因此抑制 iASPP 的表达可以促进 P53 诱导细胞凋亡,抑制肿瘤生长。本研究运用免疫组化法检测 iASPP 在结直肠癌组织及癌旁组织中的表达程度,分析其与结直肠癌分化程度、浸润深度、淋巴结转移关系,探讨 iASPP 在结直肠癌中的表达及意义。

1 对象和方法

1.1 对象

选取 2014 年 4—10 月在杭州市第一人民医院普外科行结直肠癌根治术后病理证实为结直肠癌的标本 55 例,按标本临床病理组织学分级:其中高分化腺癌 3 例,中分化腺癌 30 例,低分化腺癌 22 例;按 TNM 分期:其中 I 期 7 例,II 期 16 例,III 期 31 例,IV 期 1 例,并取得 47 例标本癌旁组织,取标本前患者均未行放射治疗及化学药物治疗。

试剂为免疫组化检测试剂盒(兔)、DAB 显色试剂盒 EDTA 抗原修复液、兔抗人 iASPP 抗体(北京博奥森生物技术有限公司)。

1.2 方法

取研究结直肠癌组织及癌旁组织石蜡标本,制作成石蜡切片 2 张,通过脱蜡,脱苯、水化,用免疫组化的方法测定 iASPP 的表达程度。观察癌组织及癌旁组织中 iASPP 的表达。实验结果的判定通过阳性细胞百分率及染色强度两方面进行。阳性细胞百分率即标本在高倍镜任意 5 个视野中各计 200 个细胞中含有棕黄色颗粒的细胞所占比例(< 5%:0 分;5%~25%:1 分;26%~50%:2 分;51%~75%:3 分;>75%:4 分)。染色强度即阳性细胞中棕黄色颗粒颜色的深浅(无染

色:0 分;弱染色:1 分;中染色:2 分;强染色:3 分)。二者的乘积作为最终判定标准,对癌组织 iASPP 表达和癌旁组织 iASPP 表达分别进行评分,以 ≤4 分作为 iASPP 低表达组,判定为 iASPP 阴性表达。≥6 分作为 iASPP 高表达组,判定为 iASPP 阳性表达。

所有切片染色结果的判定均采用统一的评分标准,遵从双盲原则,由 2 名病理科医生在完全不知道样本临床资料的情况下,对染色结果进行评分。当评分出现异议时,由 2 人复阅切片并进行商议,达成相同意见后给出最后的评分。

1.3 统计学方法

实验数据通过 SPSS19.0 统计软件进行分析。采用配对卡方检验 iASPP 在结直肠癌癌旁组织和结直肠癌组织中的表达的差异,用秩和检验分析 iASPP 在结直肠癌组织中的表达程度与结直肠癌的组织分化程度、浸润深度、淋巴结转移的关系, $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 iASPP 在结直肠癌组织和癌旁组织中的表达

图 1 可见 iASPP 主要在结直肠细胞的胞浆中表达,胞浆内可见粗细不一的棕黄色颗粒,部分在细胞核中表达。iASPP 在结直肠癌组织中的表达高于癌旁组织($\chi^2=35.03, P < 0.01$,表 1)。

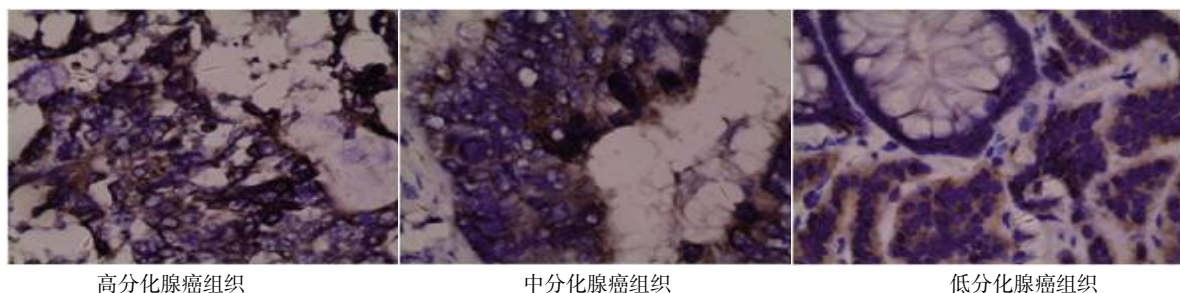


图 1 iASPP 在不同分化癌组织中的表达(HE, ×400)

Figure 1 Expression of iASPP in different differentiation degrees of tumor cells(HE, ×400)

表 1 iASPP 在结直肠癌癌旁组织和结直肠癌组织中的表达
Table 1 Expression of iASPP in colorectal cancer and its adjacent tissues

	iASPP 阳性	iASPP 阴性	(n) 合计
iASPP 阳性	5	37	42
iASPP 阴性	0	5	5
合计	5	42	47

$\chi^2=35.03, P < 0.01$ 。

2.2 结直肠癌组织中 iASPP 表达与肿瘤病理分级、浸润深度和淋巴结转移的关系

在高、中和低分化结直肠癌组织中 iASPP 阳性

表达与肿瘤细胞的分化程度存在相关性 ($H=15.521, P < 0.01$,图 1,表 2)。在 T1~T4 期结肠直肠癌中,iASPP 阳性表达与肿瘤浸润深度存在相关性 ($H=31.888, P < 0.01$,表 3)。结直肠癌组织中 iASPP 的表达均与淋巴结转移存在相关性 ($Z=-4.520, P < 0.01$,表 4)。

3 讨论

iASPP 作为 ASPP 家族中的抗凋亡成员,由于其羧基端与 ASPP1 和 ASPP2 羧基端的 P53 结合区域具有广泛的相似性,因而竞争性地和 P53 结合,

表 2 iASPP 染色评分与结直肠癌组织分化程度的关系
Table 2 Correlation between the expression of iASPP in colorectal cancer tissues and differentiation degree of tumor cells (n)

染色评分(分)	高分化	中分化	低分化	合计
4	0	3	3	6
6	1	9	8	18
8	1	9	2	12
9	1	5	7	13
12	0	4	2	6
合计	3	30	22	55

$H=15.521, P < 0.01$ 。

表 3 iASPP 染色评分与结直肠癌浸润深度的关系
Table 3 Correlation between the expression of iASPP in colorectal cancer tissues and infiltrative depth of tumor (n)

染色评分(分)	T1	T2	T3	T4	合计
4	0	0	6	0	6
6	0	2	14	2	18
8	1	2	8	1	12
9	0	2	9	2	13
12	0	1	4	1	6
合计	1	7	41	6	55

$H=31.888, P < 0.01$ 。

表 4 iASPP 染色评分与结直肠癌淋巴结转移的关系
Table 4 Correlation between the expression of iASPP in colorectal cancer tissues and lymph node metastasis (n)

染色评分(分)	淋巴结无转移	淋巴结有转移	合计
4	4	2	6
6	7	11	18
8	4	8	12
9	5	8	13
12	2	4	6
合计	22	33	55

$Z=-4.520, P < 0.01$ 。

从而影响 P53 的促凋亡作用。此外, iASPP 还能与 RelA/p65 结合, 并抑制它们的转录活性^[3]。因而 iASPP 具有抑制 P53 诱导细胞凋亡的功能。

Kou 等^[4]发现在食管癌中 iASPP 的表达率较正常食管组织明显增高, 且 iASPP mRNA 的表达水平与浸润程度、组织分化、TNM 分期及淋巴结转移相关。Liu 等^[5]发现在头颈鳞状细胞癌的癌组织及癌细胞中 iASPP 的蛋白及 mRNA 表达均升高, 多变量分析发现胞浆 iASPP 是头颈鳞状细胞癌预后的独立预测因素。在宫颈癌中的相关研究表明, iASPP 在癌组织中高度表达, 过表达的核 iASPP 与不良预后及化疗和放疗抵抗相关^[6]。在对肝癌的研究发现, 与正

常肝细胞或组织相比, iASPP 水平在肝癌细胞株和肝细胞肝癌、肝硬化、乙型肝炎组织中显著上升。iASPP 通过促进细胞增殖及抑制凋亡而促进肿瘤的进展^[7]。这些研究和发现进一步证实与正常组织相比 iASPP 在癌组织中表达较为活跃, 与本实验的结果一致, iASPP 有望成为恶性肿瘤诊断和预后判断的一个非常有意义的标志物。

本研究结果表明 iASPP 的表达在结直肠癌组织中显著高于癌旁组织, 且其表达与肿瘤分化、T 分期、肿瘤浸润程度及淋巴结转移方面都具有相关性。国内也有部分学者进行了相关实验, 王海莉等^[8]发现与正常结肠组织相比, iASPP 在结肠癌组织中的阳性表达率更高 ($P < 0.01$)。未发现 iASPP 的表达与肿瘤细胞的分化程度、肿瘤浸润深度及淋巴结转移具有相关性。徐洪军等^[9]发现与正常结肠组织相比, iASPP 在结肠癌组织中的表达率更高 ($P < 0.05$)。iASPP 的表达与肿瘤细胞的分化程度有关, 而与浸润深度及淋巴结转移无关。付丽娜等^[10]在 P53 未突变的大肠癌中实验发现 iASPP 蛋白在大肠腺癌组织中的阳性表达率显著高于正常大肠组织 ($P < 0.01$)。iASPP 蛋白在大肠腺癌组织中的表达与患者性别、年龄、肿瘤大小、肿瘤部位无关 ($P > 0.05$), 而与低分化程度和 Dukes 分期有关 ($P < 0.05$)。

iASPP 表达与结直肠癌分化程度、分期的关系在各个实验中存在差异, 可能与抑癌基因 P53 有关。在肿瘤患者中, 导致肿瘤进展的重要原因之一是 P53 基因的突变^[11]。研究发现 iASPP 在 P53 野生型和突变型患者乳腺癌组织中的 mRNA 含量水平平均高于癌旁组织, 但 P53 野生型乳腺癌标本的 mRNA 升高程度高于变异型乳腺癌标本^[12]。另有研究发现 iASPP 和 P53 的表达和活化之间存在负反馈调节环路, iASPP 的表达取决于 P53 的活性^[13]。

肿瘤细胞中 iASPP 抑制细胞的凋亡, 促进肿瘤生长的机制很可能是通过 P53 通路和非 P53 通路。非 P53 通路中, 最有可能的是 P63 和 P73 凋亡通路。iASPP 可能通过抑制了 P63/P73 激活凋亡基因转录的能力, 引起细胞凋亡的减少^[14]。为阐述 iASPP 在结直肠癌发生发展及预后中作用的分子机制仍需要更多的实验研究。

随着对肿瘤中 iASPP 的深入研究, 其很有可能成为具有广泛应用前景的诊断或治疗靶点, 即可以考虑通过抑制 iASPP 的表达来提高野生型 P53 诱导细胞凋亡的功能, 达到促进肿瘤细胞凋亡、抑制

肿瘤的作用。例如过度表达的 miR-124 通过抑制 iASPP 蛋白表达来抑制癌细胞的增殖^[15-16], P53 链接区衍生而来的多肽 A34 可通过与 iASPP 结合达到促进细胞凋亡和延缓肿瘤生长目的^[17]。这些研究将为今后肿瘤的治疗提供新的方法和思路。

[参考文献]

- [1] 万德森. 结直肠癌流行病学与预防[J]. 中国中西医结合外科杂志, 2011, 17(1): 3-7
- [2] Bergamaschi D, Samuels Y, O'Neil N J, et al. iASPP oncoprotein is a key inhibitor of p53 conserved from worm to human[J]. Nat Genet, 2003, 33(2): 162-167
- [3] Flores ER, Tsai KY, Crowley D, et al. p63 and p73 are required for p53-dependent apoptosis in response to DNA damage[J]. Nature, 2002, 416(6880): 560-564
- [4] 寇伟, 窦春江, 兰咏梅, 等. iASPP 和 caspase-9 在食管癌组织中的表达及临床意义[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2014, 30(1): 79-81
- [5] Liu Z, Zhang X, Huang D, et al. Elevated expression of iASPP in head and neck squamous cell carcinoma and its clinical significance[J]. Med Oncol, 2012, 29(5): 3381-3388
- [6] Cao L, Huang Q, He J, et al. Elevated expression of iASPP correlates with poor prognosis and chemoresistance/radioresistance in FIGO Ib1-IIa squamous cell cervical cancer[J]. Cell Tissue Res, 2013, 352(2): 361-369
- [7] Lu B, Guo H, Zhao J, et al. Increased expression of iASPP, regulated by hepatitis B virus X protein-mediated NF-kappaB activation, in hepatocellular carcinoma [J]. Gastroenterology, 2010, 139(6): 2183-2194
- [8] 王海莉, 李晓莹, 韩笑, 等. ASPP 家族在结肠癌组织中的表达及其临床意义[J]. 吉林大学学报(医学版), 2014(3): 659-663
- [9] 徐洪军, 李晓莹, 韩笑, 等. iASPP 蛋白抗体的制备及 iASPP 在结肠癌组织中的表达及意义[J]. 中国老年学杂志, 2013, 33(23): 5914-5916
- [10] 付丽娜, 王艳荣, 张秋瓚, 等. P53 未突变型大肠癌组织中 ASPP2 和 iASPP 的表达及意义[J]. 广东医学, 2014, 35(21): 3363-3365
- [11] Petitjean A, Mathe E, Kato S, et al. Impact of mutant p53 functional properties on TP53 mutation patterns and tumor phenotype: lessons from recent developments in the IARC TP53 database[J]. Hum Mutat, 2007, 28(6): 622-629
- [12] 赵燕仪. 癌基因 iASPP-SV/iASPP 在乳腺癌中的表达及其与 P53 关系的实验研究[D]. 天津: 天津医科大学, 2007
- [13] Laska MJ, Vogel UB, Jensen UB, et al. p53 and PPP1R13L (alias iASPP or RAI) form a feedback loop to regulate genotoxic stress responses [J]. Biochim Biophys Acta, 2010, 1800(12): 1231-1240
- [14] 蔡云. iASPP 在 p53 家族凋亡通路中的作用及机制研究[D]. 重庆: 第三军医大学, 2012
- [15] Liu K, Zhao H, Yao H, et al. MicroRNA-124 regulates the proliferation of colorectal cancer cells by targeting iASPP [J]. Biomed Res Int, 2013, 2013: 867537
- [16] Chen J, Xiao H, Huang Z, et al. MicroRNA124 regulate cell growth of prostate cancer cells by targeting iASPP [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2014, 7(5): 2283-2290
- [17] Qiu S, Cai Y, Gao X, et al. A small peptide derived from p53 linker region can resume the apoptotic activity of p53 by sequestering iASPP with p53 [J]. Cancer Lett, 2015, 356(2 Pt B): 910-917

[收稿日期] 2015-11-03