

# APE表达与胃癌患者预后的关系

徐世平, 黄海力, 吴本俨, 王孟薇, 尤纬缔

## ■背景资料

无嘌呤无嘧啶核酸内切酶(APE)是人体内一种重要的多功能蛋白,与多种肿瘤的发生、发展和预后相关,国内对此研究不多,胃癌组织中APE表达状况更是未见报道。本文对胃癌患者胃黏膜组织、正常胃黏膜组织和转移淋巴结APE表达状况进行初步研究,并结合临床资料进行了临床病理因素、生存状况的相关性分析,以期对胃癌的临床研究有所帮助。

徐世平, 黄海力, 吴本俨, 王孟薇, 尤纬缔, 中国人民解放军总医院老年消化科 北京市 100853  
国家自然科学基金资助项目, No. 30370635  
作者贡献分布: 徐世平和黄海力对此文所作贡献均等; 此课题由徐世平, 黄海力, 吴本俨及王孟薇设计; 研究过程由徐世平, 黄海力及尤纬缔操作完成; 临床病例资料的收集和构建由黄海力完成; 免疫组化的研究由徐世平完成; 研究用新试剂由吴本俨与王孟薇提供; 数据分析由徐世平与黄海力完成; 本文写作由徐世平与吴本俨完成。

通讯作者: 吴本俨, 100853, 北京市复兴路28号, 中国人民解放军总医院老年消化科. benyanwu@vip.sina.com

电话: 010-66876265/66876225

收稿日期: 2007-12-25 修回日期: 2008-03-23

接受日期: 2008-04-02 在线出版日期: 2008-07-18

## Relation of APE/Ref-1 expression with gastric cancer prognosis

Shi-Ping Xu, Hai-Li Huang, Ben-Yan Wu, Meng-Wei Wang, Wei-Di You

Shi-Ping Xu, Hai-Li Huang, Ben-Yan Wu, Meng-Wei Wang, Wei-Di You, Department of Gastroenterology, General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100853, China  
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30370635

Correspondence to: Dr. Ben-Yan Wu, Department of Gastroenterology, General Hospital of Chinese PLA, 28 Fuxing Road, Beijing 100853, China. benyanwu@vip.sina.com  
Received: 2007-12-25 Revised: 2008-03-23  
Accepted: 2008-04-02 Published online: 2008-07-18

## Abstract

**AIM:** To determine apurinic/aprimidinic endonuclease (APE/Ref-1) expression and to investigate relationship between its expression changes and prognosis in patients with gastric cancer.

**METHODS:** Two hundred and eight tissue chips of gastric tumor lesions, nonneoplastic mucosa and metastatic lymph nodes were accessed and their APE/Ref-1 protein expression was detected using immunohistochemistry. All patients were followed-up for an average of 48 months. Relationship between APE/Ref-1 expression changes with prognosis was analyzed in detail.

**RESULTS:** Forty-eight-month-follow-up showed 64 deaths, 139 survival and 5 patients missing. The positive ratio of nucleus, cytoplasm

and quality of both positive rates were 96.6%, 71.8%, 71.4%, 97.1%, 21.4%, 21.4% and 98.9%, 10.0%, 10.0% in nonneoplastic mucosa, tumor lesion and metastatic lymph node groups, respectively. In nonneoplastic mucosa, tumor lesion and metastatic lymph nodes groups, APE/Ref-1 expression level and expression changes were not statistically correlated with survival rates.

**CONCLUSION:** Our data indicate that the expression level or the expression changes in different mucosa are of no statistical significance to prognosis.

**Key Words:** APE/Ref-1; Gastric cancer; Immunohistochemistry; Tissue array; Prognosis

Xu SP, Huang HL, Wu BY, Wang MW, You WD. Relation of APE/Ref-1 expression with gastric cancer prognosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(20): 2308-2311

## 摘要

**目的:** 研究胃癌患者不同胃黏膜组织无嘌呤无嘧啶核酸内切酶(APE)的表达水平及其变化与预后的相关性。

**方法:** 利用已构建好的包含208例胃癌患者胃癌、正常胃黏膜和转移淋巴结的组织芯片,用免疫组化方法检测不同组织APE表达水平,结合患者的生存资料分析APE表达水平和表达水平的变化与预后的关系。

**结果:** 患者平均随访时间为48 mo, 死亡64例, 存活139例, 失访5例。在正常胃组织、肿瘤组织和转移淋巴结中, 胞核, 胞质阳性率以及质核均阳性率分别为96.6%、71.8%、71.4%、97.1%、21.4%、21.4%和98.9%、10.0%、10.0%。正常胃组织、肿瘤组织和转移淋巴结中APE的表达水平以及肿瘤组织和正常组织比较表达水平的变化与患者预后也未显示统计学相关。

**结论:** 目前资料未显示APE在不同胃黏膜组织的表达水平和表达水平的变化与胃癌患者预后相关。

## ■同行评议者

黄颖秋, 教授, 本溪钢铁(集团)有限责任公司总医院消化内科

**关键词:** 无嘌呤无嘧啶核酸内切酶; 胃癌; 组织芯片; 免疫组化; 预后

徐世平, 黄海力, 吴本严, 王孟薇, 尤纬缔. APE表达与胃癌患者预后的关系. 世界华人消化杂志 2008; 16(20): 2308-2311  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/2308.asp>

## 0 引言

无嘌呤无嘧啶核酸内切酶(apurinic/aprimidinic endonuclease, APE)是人体内一种重要的多功能蛋白, 与多种肿瘤的发生、发展和预后相关. 我们研究了胃癌患者胃癌组织和正常胃黏膜组织 APE表达状况<sup>[1]</sup>, 结果表明: 胃癌组织同正常组织比较, APE胞质和胞核的表达水平均降低, 胞质降低水平更明显. 为了进一步分析 APE表达水平及表达水平的变化是否与患者预后相关, 我们对患者的生存资料进行了分析.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** APE抗体购自R&D Systems Inc., PV-9000二步法免疫组化试剂盒和辣根酶标记羊抗兔IgG购自北京中杉金桥生物技术有限公司.

### 1.2 方法

**1.2.1 组织芯片的构建和免疫组化检测:** 选择208例术后有完整临床资料的胃癌患者, 其中114例无淋巴结转移患者的石蜡标本肿瘤病灶选择两个区域打孔, 对应的切缘作为正常配对黏膜选择两个区域打孔; 94例有淋巴结转移病灶患者再选择两个淋巴结转移灶打孔. 总共点数为 $114 \times 4 + 94 \times 6 = 1020$ 点, 每个点直径1 mm, 点与点之间的间隔为0.4 mm. 免疫组化检测按照PV-9000二步法免疫组化染色试剂盒说明操作.

**1.2.2 图像分析及结果判断:** 胞质或胞核淡黄色至棕褐色为阳性细胞标志, 光学显微镜下分析细胞阳性着色范围和程度. 阳性程度的判别: (1)按细胞免疫组化染色着色深浅打分: 无显色为0分, 淡黄色为1分, 棕黄色为2分, 棕褐色为3分; 高倍镜下计数500个肿瘤细胞或者正常胃上皮细胞, 每两个点不足500个细胞者, 计算每2个点包含的全部有效细胞, 有效细胞不足50个者为无效点; (2)按阳性细胞率打分: 阴性为0分, 阳性细胞率 $\leq 10\%$ 为1分,  $11\% - 50\%$ 为2分,  $> 50\%$ 为3分; (3)染色强度与阳性细胞率的乘积: 0分为阴性(-), 1-2分为弱阳性(+), 3-4分为阳性(++), 6-9分为强阳性(+++).

表达变化的判别: 在胃癌和转移淋巴结组织中, APE表达水平同正常组织比较, 如果在同

一级别则视为表达无变化, 相差1个级别视为表达轻度增强或减弱, 相差2个级别以上视为表达明显增强或减弱.

**统计学处理** 采用SPSS10.0统计软件, APE在不同表达状态下生存率曲线的绘制用Kaplan-Meier法, 对生存率影响的单因素分析用Log-rank检验.  $P \leq 0.05$ 为差异具有显著性.

## 2 结果

**2.1 组织芯片中208例患者的背景资料** 208例患者均为首次发现胃癌, 均行胃癌根治性切除, 术前没有经过放化疗或免疫治疗, 影像学检查均未发现有远隔脏器转移; 手术切除彻底, 手术标本残端及切缘均未见有残留癌细胞. 患者平均随访时间为48 mo, 所有患者中死亡64例, 存活139例, 失访5例, 最长生存时间为153 mo. 患者一般情况见表1(其中肿瘤部位: 上-肿瘤位于贲门或胃底, 中-肿瘤位于胃体, 下-肿瘤位于胃窦或幽门; 肿瘤浸润深度: I-肿瘤浸至黏膜或黏膜下层, II-肿瘤浸至肌层或浆膜层). 按照UICC1997年胃癌TNM分期, 患者分期情况见表2.

**2.2 组织芯片免疫组化染色结果** 组织芯片免疫组化封片后观察, 部分组织有脱片, 以每个病灶的两个点至少有一个满足研究需求为标准, 否则剔除. 208例患者有2例由于组织脱落不能进行分析, 其余患者均能进行有效分析. 在胃正常组织中, 胞核阳性率为96.6%, 胞质阳性率为71.8%, 质核均阳性率为71.4%; 在胃癌组织中, 胞核阳性率为97.1%, 胞质阳性率为21.4%, 质核均阳性为21.4%; 在转移淋巴结中, 胞核阳性率为98.9%, 胞质阳性率为10.0%, 质核均阳性为10.0%. 胃癌组织同正常组织比较阳性程度明显较正常组织低, 有35.9%(74/206)患者核表达轻度减弱, 11.2%(23/206)患者核表达明显减弱; 胞质表达在胃癌组织也明显较正常组织弱, 有42.4%(87/206)患者质表达轻度减弱, 21.4%(44/206)患者质表达明显减弱.

**2.3 APE表达与胃癌预后之间的关系** 生存分析显示: APE在正常胃组织、肿瘤组织和转移淋巴结中的表达状况与患者预后未显示统计学相关(图1). 肿瘤组织和正常组织比较APE表达程度的变化与患者预后亦未显示统计学相关(图2).

## 3 讨论

APE是人类细胞中唯一修复DNA上无嘌呤无嘧啶(apurinic/aprimidinic, AP)位点的双功能

**■ 研发前沿**  
APE在不同肿瘤中表达变化的不一致性原因目前尚不清楚.

■相关报道

国内吕嘉春 *et al* 对肺癌的研究未发现肺癌患者的性别、年龄、吸烟和肿瘤家族史等因素与 APE/Ref-1 细胞定位之间有联系。

表 1 胃癌患者的一般情况

	性别		年龄(岁)		部位			浸润深度		淋巴结转移	
	男	女	< 60	≥60	上	中	下	I	II	有	无
<i>n</i>	171	37	93	115	58	40	110	58	150	94	114
%	82.2	17.8	44.7	55.3	27.9	19.2	52.9	27.9	72.1	45.2	54.8

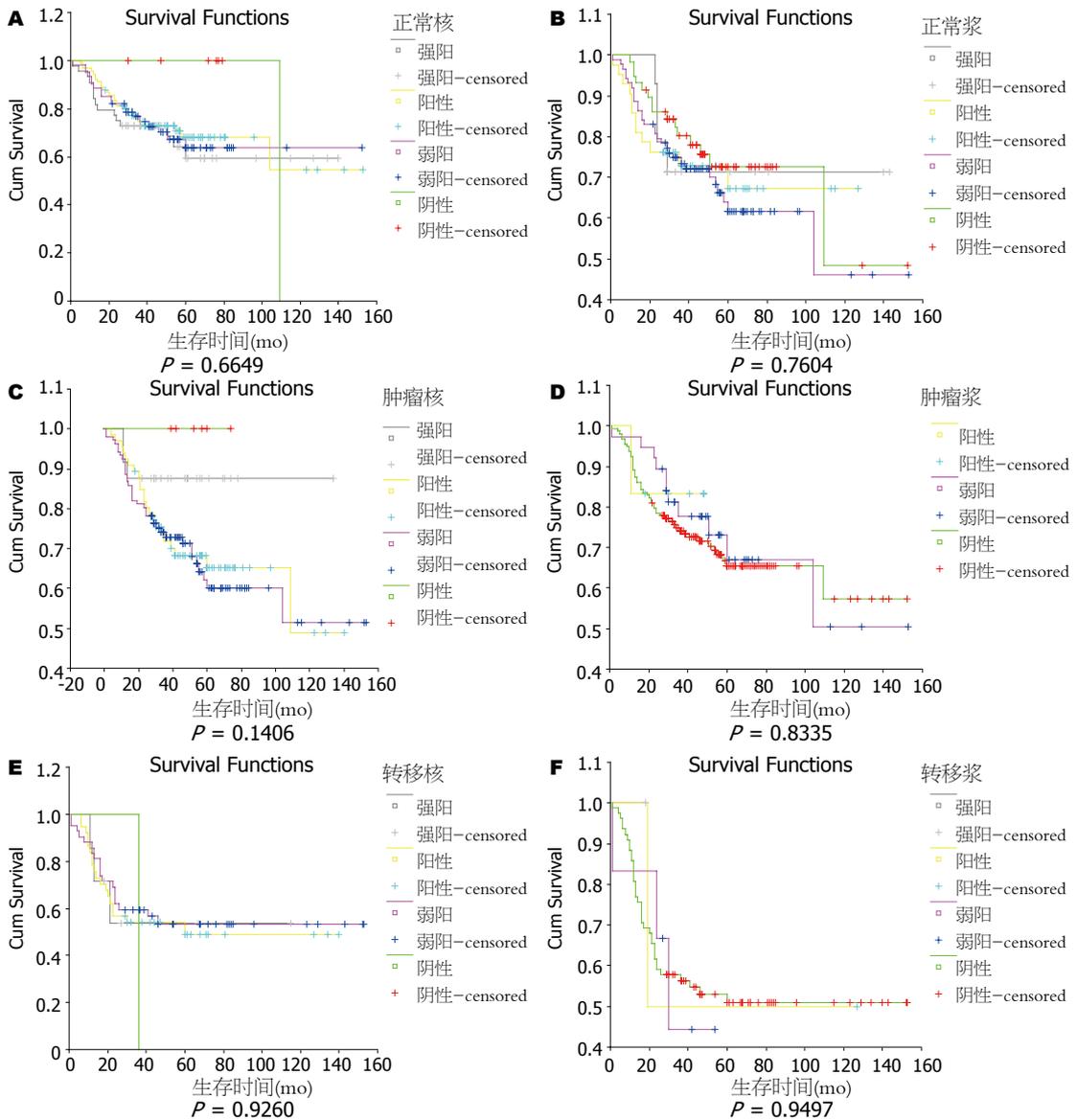
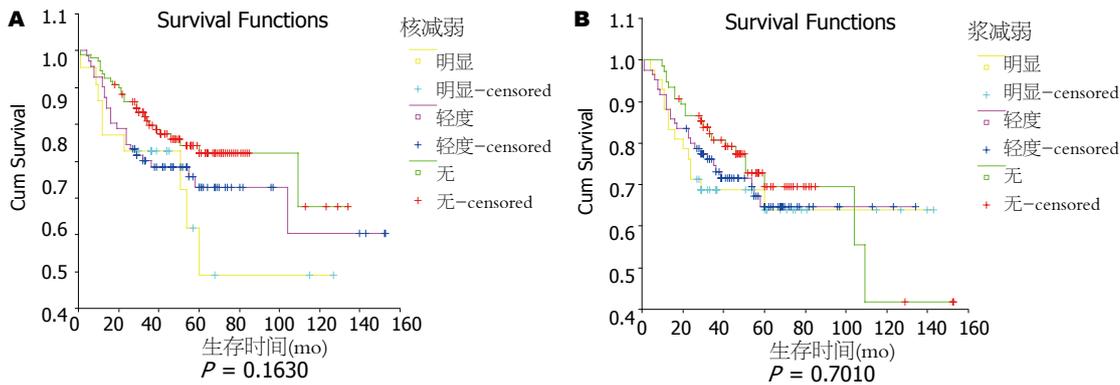


图 1 三种组织中APE表达与胃癌患者预后的关系。A: 正常核; B: 正常浆; C: 肿瘤核; D: 肿瘤浆; E: 转移核; F: 转移浆。

酶, APE蛋白的不正常表达、分布及功能改变与细胞凋亡、肿瘤发生和老年化等病理过程密切相关<sup>[2-4]</sup>。Tanner *et al*<sup>[5]</sup>为了检测APE/Ref-1表达是否和卵巢癌组织病理学和存活相关, 对141患者用APE/Ref-1单抗检测, 结果表明核表达明显和肿瘤进展相关, III、IV期患者核表达明显比I、II期强, 核APE/Ref-1表达也明显与组织学分级相关, 而胞质和间质表达与病情

进展无关, 单变量比率危险模型分析APE/Ref-1阳性率、核染色强度或两者联合均与患者预后相关, 但多变量分析则提示APE/Ref-1不是一个独立的典型的预后因素, APE/Ref-1的核表达和质表达呈反变关系, 胞质强阳性的肿瘤核阴性的比率明显高于胞质阴性或弱阳性肿瘤, 表明在卵巢癌形成过程中APE/Ref-1核转位削弱。但Freitas *et al*<sup>[6]</sup>用mAb免疫组化检测卵巢癌上皮,



**同行评价**  
本文选题较新, 研究目的明确, 实验方法科学, 实验数据客观, 有一定的学术价值, 为APE与胃癌预后相关性的研究提供了一定的实验数据。

图2 胃癌组织同正常组织比较核、浆表达减弱程度与患者预后的关系. A: 核表达; B: 浆表达.

表2 肿瘤患者TNM分期

分期	n	%
0	27	13.0
I	74	35.6
II	61	29.3
III	46	22.1
合计	208	100.0

结果发现所有卵巢癌上皮均表达APE/Ref-1, 在原发肿瘤早期和进展期肿瘤、原发部位和转移灶表达阳性率和核染色强度均无差异, 对化疗药物铂类敏感和抵抗的肿瘤表达也无明显差异. Koukourakis *et al*<sup>[3]</sup>对头颈部鳞癌研究发现, APE/Ref-1在正常上皮和基细胞中为核表达, 在肿瘤细胞中无核表达非常常见, 核表达阳性率高(阳性细胞比率超过平均值11%)的肿瘤分化较好, 但常常伴有进展的结节病灶, 且对放化疗反应差, 局部无复发时间短, 生存时间短. Kakolyris *et al*<sup>[4]</sup>对乳腺肿瘤研究发现, 在乳腺腺癌中, 单纯核表达的肿瘤组织, 血管增生活力低下, 无淋巴结肿大, 预后较好, 在胞质表达的病例中血管增生显著, 淋巴结肿大明显, 预后不好, 认为单纯核表达提示组织分化好, 预后好, 而胞质表达预示代谢活跃及高蛋白合成, 病变预后差. 国内吕嘉春 *et al*<sup>[7]</sup>对肺癌研究未发现肺癌患者的性别、年龄、吸烟和肿瘤家族史等因素与APE/Ref-1细胞定位之间有联系. APE在不同肿瘤中表达变化的不一致性的原因目前尚不清楚.

我们的研究提示胃癌组织中APE表达水平和表达减弱的程度与肿瘤浸润深度、有无淋巴结转移、TNM分期有明显相关<sup>[8]</sup>, 但APE表达与胃癌患者的预后关系研究显示: 在正常胃组

织、肿瘤组织和转移淋巴结中的表达状况与患者预后未显示统计学相关, 肿瘤组织和正常组织比较表达程度的变化与患者预后亦未显示统计学相关. 该结果提示APE表达可能与胃癌患者的预后没有直接的关系, 但由于统计资料中不完全数据(至随访结束时仍存活或失访的患者)较多, 在一定程度上可能影响了结果的分析.

#### 4 参考文献

- 徐世平, 黄海力, 吴本俨. 胃癌组织中APE的表达特征. 解放军医学杂志 2006; 10: 951-953
- Kakolyris S, Kaklamanis L, Engels K, Turley H, Hickson ID, Gatter KC, Harris AL. Human apurinic endonuclease 1 expression in a colorectal adenoma-carcinoma sequence. *Cancer Res* 1997; 57: 1794-1797
- Koukourakis MI, Giatromanolaki A, Kakolyris S, Sivridis E, Georgoulas V, Funtzilias G, Hickson ID, Gatter KC, Harris AL. Nuclear expression of human apurinic/aprimidinic endonuclease (HAP1/Ref-1) in head-and-neck cancer is associated with resistance to chemoradiotherapy and poor outcome. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2001; 50: 27-36
- Kakolyris S, Kaklamanis L, Engels K, Fox SB, Taylor M, Hickson ID, Gatter KC, Harris AL. Human AP endonuclease 1 (HAP1) protein expression in breast cancer correlates with lymph node status and angiogenesis. *Br J Cancer* 1998; 77: 1169-1173
- Tanner B, Grimme S, Schiffer I, Heimerdinger C, Schmidt M, Dutkowski P, Neubert S, Oesch F, Franzen A, Kilbl H, Fritz G, Kaina B, Hengstler JG. Nuclear expression of apurinic/aprimidinic endonuclease increases with progression of ovarian carcinomas. *Gynecol Oncol* 2004; 92: 568-577
- Freitas S, Moore DH, Michael H, Kelley MR. Studies of apurinic/aprimidinic endonuclease/ref-1 expression in epithelial ovarian cancer: correlations with tumor progression and platinum resistance. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 4689-4694
- 吕嘉春, 何敏, 廖永德, 王孝养, 黎银燕, 曾波航, 陈家堃, 吴中亮, 施倡元. 氧化/还原因子ref-1在肺癌组织中的细胞定位表达与8-OH-dG的关系. *肿瘤* 2004; 24: 35-37
- 徐世平, 黄海力, 吴本俨, 王孟薇, 王卫华, 尤纬缔. APE表达水平与胃癌临床病理因素的相关性分析. *中华肿瘤防治杂志* 2007; 14: 584-586

编辑 李军亮 电编 吴鹏联