

Mina53 在人胰腺癌中的表达及其临床意义

艾明华 董卫国 谭小平 张庆 艾彪

【摘要】 目的 研究 Mina53 表达与人胰腺癌临床病理资料的关系,探讨 Mina53 基因表达与胰腺癌肿瘤发生、侵袭的相关性。方法 对包含 76 例胰腺癌、7 例胰腺慢性炎症组织、5 例正常胰腺组织的组织芯片应用免疫组化 SP 法检测 Mina53 基因的表达情况。结果 胰腺癌组织中 Mina53 基因的表达率为 80.3% (61/76),而在正常及慢性炎症组织中无表达(0/12),胰腺癌组织中 Mina53 表达率显著高于正常及慢性炎症组织($P < 0.001$)。Kruskal-Wallis 检验发现胰腺癌组织中 Mina53 基因表达水平与肿瘤 TNM 分期($P = 0.001$)、分化程度($P = 0.013$)有关,Mann-Whitney U 检验发现胰腺癌组织中 Mina53 基因表达水平与组织学分类($P = 0.003$)、淋巴结转移程度($P = 0.001$)存在相关性,而与患者的性别($P = 0.722$)、年龄($P = 0.333$)无关。结论 Mina53 表达的升高与胰腺癌的发生、发展有关,可作为反映胰腺癌恶性生物学行为的一个较有价值的指标。

【关键词】 胰腺肿瘤; 原癌基因蛋白质 c-myc; 免疫组织化学; Mina53

Expression of Mina53 in pancreatic cancer and its clinical significance AI Ming-hua, DONG Wei-guo, TAN Xiao-ping, ZHANG Qing, AI Biao. Department of Gastroenterology, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China

Corresponding author: DONG Wei-guo, Email: dwg@whu.edu.cn

【Abstract】 Objective To assess the correlation of the expression of Mina53 gene with various clinicopathologic parameters in pancreatic cancer. **Methods** The expression of Mina53 gene in one tissue chip including 76 pancreatic cancer, 7 chronic inflammation and 5 normal pancreatic samples was assayed by immunohistochemical SP method. The differences of Mina53 expression in pancreatic cancer, chronic inflammation and normal pancreatic samples were analyzed with the χ^2 test. The correlations between Mina53 expression and clinicopathologic characteristics were analyzed with Mann-Whitney U test and Kruskal-Wallis test. **Results** The expression rate of Mina53 gene was significantly higher in pancreatic cancer tissues (80.3%, 61/76) than that in normal and chronic inflammation tissues (0%, $P < 0.001$). The expression of Mina53 was closely related to histological classification, TNM stages, differentiation and lymph node involvement in pancreatic cancer ($P = 0.003$, 0.001, 0.013, 0.001 respectively) and not related to sex and age ($P = 0.722$, 0.333 respectively). **Conclusions** High expression of Mina53 in pancreatic cancer may affect cell hyperplasia, and may be related to the pathogenesis and development of pancreatic cancer.

【Key words】 Pancreatic neoplasms; Proto-oncogene proteins c-myc; Immunohistochemistry; Mina53

胰腺癌是人类较常见的恶性肿瘤,随着我国生活水平的提高和饮食结构的改变,近年来胰腺癌的发病率呈现上升的趋势,并且有年轻化的倾向。原癌基因 Myc 家族广泛参与和调控细胞的增殖,并可激活多种基因的转录与表达,c-myc 在该家族中最具代表性,而 Mina53 (Myc 诱导核抗原, Myc-induced nuclear antigen 53) 为一种近年新发现的 c-myc 下游直接靶基因之

一^[1],它编码一种分子量为 53 kD 的蛋白质。研究发现 Mina53 在胃癌中的表达增高,且与肿瘤的发生、发展以及预后密切相关^[2]。由于胰腺导管细胞癌常表现出胃上皮样特征^[3],本研究采用免疫组化 SP 法检测 Mina53 在胰腺癌和正常胰腺组织中的表达和分布情况,分析 Mina53 与胰腺癌临床病理特征间的关系,旨在探讨 Mina53 在胰腺癌发生、发展中的作用和临床病理意义。

材料与方法

一、材料

1. 标本来源及临床资料:标本来自西安艾丽娜生物科技有限公司生产的 PA961a 胰腺癌组织芯片,其中

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2012.15.092

作者单位:430060 武汉大学人民医院消化内科(艾明华、董卫国、谭小平);长江大学第一附属医院消化内科(谭小平、张庆),检验科(艾彪)

通讯作者:董卫国,Email: dwg@whu.edu.cn

含 68 例胰腺腺癌, 8 例其他类型胰腺癌(肉瘤样癌、鳞状细胞癌及腺泡细胞癌各 1 例, 腺鳞癌 3 例, 实性假乳头状癌 2 例), 7 例胰腺慢性炎症组织及 5 例正常胰腺组织。癌组织中女 28 例, 男 48 例, 年龄 23 ~ 78 岁, 平均(53.16 ± 10.49)岁; 根据 2000 年 WHO 胰腺外分泌肿瘤 TNM 分类标准进行分期, I 期 21 例, II 期 44 例, III 期 10 例, IV 期 1 例; 组织病理学分化程度: 高分化腺癌 19 例, 中分化腺癌 24 例, 低分化腺癌 26 例(有 7 例其他类型胰腺癌未做病理分级); 有淋巴结转移者 11 例。所有组织经 10% 甲醛缓冲液固定 24 h, 按统一标准的方法加工。组织芯片被固定于美国 Superfrost Plus 处理的 Superfrost 防脱载玻片上, 4 °C 保存。

2. 主要试剂: 鼠抗人 Mina53 单克隆抗体购自美国 invitrogen 公司, 工作浓度为 1:50, 即用型免疫组化超敏 SP 试剂盒均购自北京中杉金桥公司。

二、方法

1. 染色方法: 采用免疫组化 SP 法, 严格按试剂盒说明书进行操作。以已知的阳性标本作为阳性对照, 用 PBS 液代替一抗作为阴性对照。室温下操作: 切片脱蜡、水化; 0.5 mol/L pH 8.0 的 EDTA 隔水高压修复; 3% 过氧化氢溶液室温处理 10 min; 非免疫血清作用 10 min; 加一抗(1:50)37 °C 湿盒孵育 2 h 后转至 4 °C 过夜; 生物素标记的第二抗体孵育 30 min; 链霉亲和素-过氧化酶孵育 30 min; 每步用 PBS 工作液洗 3 次 × 5 min; DAB 显色 5 min, 自来水终止; 苏木素复染, 酒精梯度脱水, 二甲苯透明, 中性树胶封片, 免疫组化完成 24 h 内光镜下阅片。

2. 免疫组化结果判断: 采用 Olympus BX-53 图像截取测量系统。显微镜下观察试验结果, Mina53 阳性染色主要定位于肿瘤细胞的胞核和核仁。阳性染色呈黄色或黄褐色, 在高倍镜视野(×400)下计数, 根据阳性细胞分布范围分级, 阳性细胞占视野中肿瘤细胞 < 1% 判定为阴性“-”; 1% ~ 33% 记为低表达“+”; > 34% 记为高表达“++”^[4]。

三、统计学分析

采用 SPSS 17.0 统计软件进行数据处理。Mina53 的表达与胰腺癌临床病理参数之间的关系用等级资料的非参数检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 免疫组化检测 Mina53 表达结果: 76 例胰腺癌组织中, 有 61 例有表达, 阳性率为 80.3%, 其中有 40 例呈高表达(图 1A), 高表达率为 52.6%, 有 21 例呈低表达(图 1B); 其中除腺癌外其他类型癌仅 1 例腺泡细胞癌高表达, 2 例腺鳞癌低表达, 12 例胰腺慢性炎症及

正常组织均为阴性(图 1C, 1D), 表明 Mina53 未表达, 胰腺腺癌组织中 Mina53 表达水平与正常及胰腺慢性炎症组织中表达水平差异具有统计学意义($P < 0.001$)。

2. Mina53 表达与临床及病理因素的关系: 胰腺癌组织中 Mina53 基因表达水平与组织学分类、肿瘤 TNM 分期、分化程度、淋巴结转移与否存在相关性($P < 0.05$), 与患者的性别、年龄无关($P > 0.05$), 见表 1。

表 1 胰腺癌组织中 Mina53 的表达与临床病理特征间的关系(例)

临床病理特征	例数	Mina53 的表达			P 值
		-	+	++	
年龄					0.333 ^a
≤60 岁	60	13	17	30	
>60 岁	16	2	4	10	
性别					0.722 ^a
男	48	9	15	24	
女	28	6	6	16	
组织学分类					0.003 ^a
胰腺腺癌	68	10	19	39	
其他类型胰腺癌	8	5	2	1	
淋巴结转移					0.001 ^a
无	65	15	21	29	
有	11	0	0	11	
TNM 分期					0.001 ^b
I	21	6	9	6	
II	44	9	12	23	
III 和 IV	11	0	0	11	
分化程度					0.013 ^b
高分化	19	10	1	8	
中分化	24	1	10	13	
低分化	26	0	8	18	

注:^a: Mann-Whitney Test, U 值分别为 411、642、112.5 和 159.5;^b: Kruskal-Wallis Test, χ^2 值分别为 13.017、8.661, $df=2$

讨 论

胰腺癌因其恶性程度高、发展较快、早期诊断困难, 一般手术切除率不高, 致使 5 年生存率极低。与大多数肿瘤一样, 胰腺癌的生长和转移是一个多因素、多步骤、多阶段参与的复杂过程, 它的发生发展与癌基因/抑癌基因平衡失调有关, 涉及多个基因突变及表达异常, 但到目前为止, 其具体发病机制仍不十分清楚。在大量分子生物学研究过程中, 一些与肿瘤细胞增殖失控和转移高度相关的基因及其蛋白逐渐成为研究的

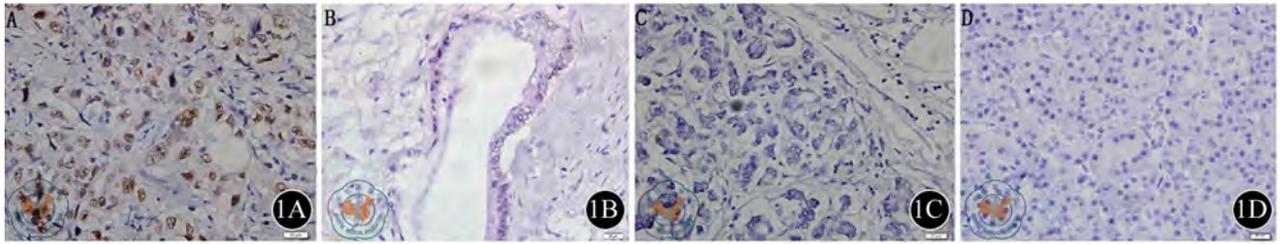


图1 Mina53的表达(DAB染色+苏木素复染, $\times 400$): 1A: Mina53在胰腺癌组织中呈高表达(++); 1B: Mina53在胰腺癌组织中呈低表达(+); 1C: Mina53在胰腺慢性炎症组织中不表达(-); 1D: Mina53在胰腺正常组织中不表达(-)

热点。原癌基因 *myc* 家族包括 *c-myc*、*N-myc* 和 *L-myc* 三种主要基因,它们控制着细胞的凋亡、分化和增殖,对该家族表达调节功能的丧失与多种肿瘤的发生有关。原癌基因 *c-myc* 是一种广泛存在的介导细胞增殖的因子,在分化成熟和静止期细胞中低表达,它编码的转录因子与特异性配体结合形成异源二聚体,再与靶基因的 E-box 位点结合后通过转录激活结构域激活下游靶基因^[1],Mina53 就是其中一个被 *c-myc* 诱导的下游直接靶基因之一。

Mina53 近年来被证实其表达异常与多种肿瘤的发生、发展及预后密切相关。核仁中的 Mina53 蛋白可能参与染色体重构以及核糖体和某些 RNA 的合成,从而影响正常基因的表达^[1]。Zhang 等^[2]对 79 例胃癌、21 例异型增生和 20 例正常胃黏膜样本进行 Mina53 免疫染色,发现 Mina53 的表达与肿瘤的浸润深度、TNM 分期呈正相关,并且还研究比较了它与增殖细胞核抗原 PCNA 的相关性,提示 Mina53 可能与肿瘤细胞增殖活性有关。在食管癌、肾细胞癌和神经母细胞瘤中^[5-7],Mina53 在具有侵袭性和转移性的肿瘤中的表达较强,并且它的高表达与肿瘤的预后差有关,患者的存活时间短于低表达者。Ogasawara 等^[4]在肝癌的 Mina53 表达实验中得出 Mina53 在肝癌组织的表达强度和范围均高于正常组织,且肿瘤分化程度越低,表达量越高,但 Mina53 的表达与患者生存率无关。而 Komiya 等^[8]在肺癌的 Mina53 表达的研究中却发现 Mina53 在早期肺癌组织中的表达比晚期表达量要高,且患者生存时间长,特别是对于 I 期或鳞状细胞癌的患者;由此说明 Mina53 在不同类型的肿瘤细胞中行使着不同的作用,在肺癌中 Mina53 可能起着抑制肿瘤进展和诱导肿瘤细胞凋亡的作用。目前国内外有关胰腺癌中 Mina53 表达的研究还较少,本实验采用免疫组化的方法检测 76 例胰腺癌组织、7 例慢性炎性及 5 例正常胰腺组织中 Mina53 表达情况。结果表明,12 例慢性炎性及正常胰腺组织中, Mina53 没有表达,而 76 例胰腺癌组织中 Mina53 有 61 例表达,阳性率为 80.3%,两者差异有统计学意义($P < 0.001$),Mina53 在胰腺腺癌中的阳性率

(85.3%)与 8 例其他类型胰腺癌的阳性率(37.5%)相比差异有统计学意义($P < 0.05$),提示 Mina53 可能在促进胰腺癌的发生和进展中具有一定的作用。随着胰腺癌分化程度的降低,TNM 分期的增高,Mina53 基因的表达也逐渐增多,即在胰腺癌组织中 Mina53 基因的表达可能对肿瘤细胞的侵袭转移具有重要作用。有淋巴结转移者明显高于无淋巴结转移者,且其表达与患者年龄、性别无显著相关,说明其表达反映出了肿瘤的自主性并有一定的预后价值。另外,胰腺癌患者预后极差,即使表达阴性,也应该积极治疗。

Mina53 参与肿瘤发生、进展、转移的机制目前尚未完全清楚。有研究^[5,9]表明在大多数食管癌以及肺癌组织中 Mina53 的表达与 *c-myc* 没有相关关系,这说明 Mina53 在肿瘤增殖和预后过程中还受到除 *c-myc* 以外的其他因素调控的影响,比如增殖细胞核抗原 PCNA、Ki-67 等^[2,6]。Komiya 在肺癌的研究中发现 Mina53 基因启动子中包含与 NF- κ B 结合位点一致的序列,所以 Mina53 的表达可能与肺癌相关的 NF- κ B 信号通路以及该信号通路诱导的环加氧酶 2 (COX-2) 的激活有关^[9]。而 Teye 等^[10]在结肠癌的早期事件之一结肠腺瘤中也发现了 Mina53 的高表达,从而推测 Mina53 表达增高可能与肿瘤发生的早期信号通路 Wnt/APC/ β -catenin 受损有关。由于各研究结果不一,Mina53 的作用机制仍需进一步研究,明确它的特征后将会为肿瘤的诊断和靶向治疗提供新的理论依据。

参 考 文 献

- [1] Tsuneoka M, Koda Y, Soejima M, et al. A novel *myc* target gene, *mina53*, that is involved in cell proliferation. *J Biol Chem*, 2002, 277: 35450-35459.
- [2] Zhang Q, Hu CM, Yuan YS, et al. Expression of Mina53 and its significance in gastric carcinoma. *Int J Biol Markers*, 2008, 23: 83-88.
- [3] Tanaka M, Shibahara J, Fukushima N, et al. Claudin-18 is an early-stage marker of pancreatic carcinogenesis. *J Histochem Cytochem*, 2011, 59: 942-952.
- [4] Ogasawara S, Komuta M, Nakashima O, et al. Accelerated expression of a *Myc* target gene *Mina53* in aggressive hepatocellular carcinoma. *Hepatol Res*, 2010, 40: 330-336.
- [5] Tsuneoka M, Fujita H, Arima N, et al. *Mina53* as a potential prognostic factor for esophageal squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res*, 2004, 10: 7347-7356.

- [6] Ishizaki H, Yano H, Tsuneoka M, et al. Overexpression of the myc target gene Mina53 in advanced renal cell carcinoma. *Pathol Int*, 2007, 57:672-680.
- [7] Fukahori S, Yano H, Tsuneoka M, et al. Immunohistochemical expressions of Cap43 and Mina53 proteins in neuroblastoma. *J Pediatr Surg*, 2007, 42:1831-1840.
- [8] Komiya K, Sueoka-Aragane N, Sato A, et al. Expression of Mina53, a novel c-Myc target gene, is a favorable prognostic marker in early stage lung cancer. *Lung Cancer*, 2010, 69:232-238.
- [9] Komiya K, Sueoka-Aragane N, Sato A, et al. Mina53, a novel c-Myc target gene, is frequently expressed in lung cancers and exerts oncogenic property in NIH/3T3 cells. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2010, 136:465-473.
- [10] Teye K, Tsuneoka M, Arima N, et al. Increased expression of a Myc target gene Mina53 in human colon cancer. *Am J Pathol*, 2004, 164:205-216.

(收稿日期:2012-03-28)

(本文编辑:马超)

艾明华,董卫国,谭小平,等. Mina53 在人胰腺癌中的表达及其临床意义[J/CD]. 中华临床医师杂志:电子版, 2012, 6(15):4272-4275.

