

Peroxiredoxin 1 与 EMT 相关蛋白在胰腺癌组织中的表达及其临床意义

蔡重阳¹, 汤志刚¹, 黄强¹, 陈炯¹, 潘婷婷², 翟路路¹

摘要 目的 探讨过氧化物还原酶 1 (Prx1) 与上皮细胞间质转化 (EMT) 相关蛋白在胰腺癌组织中的表达及其临床意义。方法 采用免疫组化法分别检测 Prx1、E-钙黏素 (E-cadherin)、波形蛋白 (Vimentin) 在 66 例胰腺癌组织和 11 例正常胰腺组织中的表达, 并分析三者之间的关系及与临床病理因素间的关系。结果 Prx1、E-cadherin 和 Vimentin 分别在 66 例胰腺癌组织中的阳性表达率为 69.70% (46/66)、40.91% (27/66)、56.06% (37/66); Prx1、E-cadherin 和 Vimentin 分别在 11 例正常胰腺组织中的阳性表达率为 18.18% (2/11)、90.90% (10/11)、18.18% (2/11)。Prx1、E-cadherin 和 Vimentin 在胰腺癌组织中的表达均与 TNM 分期、淋巴结转移和肿瘤分化程度显著相关 ($P < 0.05$), 而与性别、年龄、肿瘤大小、病变部位均无关; Prx1 与神经侵犯显著相关 ($P < 0.05$), 而 E-cadherin 和 Vimentin 与神经侵犯无关。Prx1 的表达与 Vimentin 表达呈正相关 ($P < 0.05$), Prx1 和 Vimentin 的表达均与 E-cadherin 表达呈负相关 ($P < 0.05$)。结论 Prx1 与 EMT 相关蛋白在胰腺癌组织中的表达呈显著相关性, 并与其侵袭转移能力相关, 提示 Prx1 的高表达可能为预测胰腺癌患者预后不良的辅助指标之一。

关键词 胰腺癌; 过氧化物还原酶 1; E-钙黏素; 波形蛋白

中图分类号 R 735.7

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2015)03-0368-05

胰腺癌是消化系统恶性程度最高的肿瘤之一, 在我国其发病率呈逐年上升趋势, 早期易侵袭转移的生物学特性是影响胰腺癌临床预后不良的重要因素, 但目前尚缺乏有效特异的预测指标。过氧化物还原酶 1 (Peroxiredoxin 1, Prx1) 是一种含硫醇的抗氧化剂, 与细胞分化、增殖、凋亡和调节信号转导通路密切相关。近期研究^[1-3]表明, Prx1 在多种肿瘤中异常表达, 如在肺癌、胆管癌和肝癌等表达上调, 但目前国内外关于 Prx1 在胰腺癌组织中的表达及其临

床意义尚未有报道。该研究通过免疫组化法联合检测 Prx1、上皮细胞间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 相关 E-钙黏素 (E-cadherin) 和波形蛋白 (Vimentin) 在胰腺癌和正常胰腺组织中的表达, 探讨其与胰腺癌临床特征和生物学行为的关系。

1 材料与方法

1.1 病例资料 选择安徽医科大学附属省立医院普通外科 2007 年 ~ 2013 年手术切除并经病理证实为胰腺癌的患者 66 例, 其临床和病理资料均齐全, 术前均未行放疗或化疗。其中男 24 例, 女 42 例; 年龄 40 ~ 76 (64.03 ± 9.09) 岁, < 60 岁 20 例, ≥ 60 岁 46 例; 胰头癌 29 例, 胰体尾癌 37 例; 肿瘤直径 < 2 cm 者 8 例, 2 ~ 4 cm 者 33 例, > 4 cm 者 25 例。病理组织学分型: 高分化腺癌 3 例, 中分化腺癌 31 例, 低分化腺癌 32 例; 有淋巴结转移 30 例, 无淋巴结转移 36 例; 有神经侵犯 26 例, 无神经侵犯 40 例。以国际抗癌协会 (UICC) 2013 年胰腺癌 TNM 分期为标准, 其中 I 期 6 例, II 期 27 例, III 期 22 例, IV 期 11 例。正常胰腺组织 11 例, 标本取自胰腺非恶性肿瘤或胰腺外伤手术时所切胰腺组织, 均经组织学检查证实。

1.2 试剂与方法

1.2.1 主要试剂 兔抗人 Prx1 单克隆抗体购自北京博奥森生物技术有限公司; 鼠抗人 E-cadherin、Vimentin 抗体工作液和 DAB 显色试剂盒均购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.2.2 试验方法 采用免疫组化法检测相关蛋白的表达。组织切片, 经脱蜡、枸橼酸盐微波抗原修复、过氧化氢消除内源性过氧化物酶活性, 分别滴加一抗 Prx1 (浓度 1 : 100)、E-cadherin、Vimentin, 4 °C 过夜, 复温后滴加二抗, 37 °C 孵育 30 min, 最后 DAB 显色、苏木精复染、封片。

1.3 结果判定 由两名未参加实验的病理医师观察所有切片, 随机选取 10 个高倍镜视野, 每个视野计数 100 个细胞。Prx1、Vimentin 按胞质内棕黄色染色的强度分为“-”、“+”、“++”;“-”代表任意视野下无棕黄色染色或者染色面积 < 10% 的为阴

2014-11-23 接收

基金项目: 国家自然科学基金 (编号: 81272740)

作者单位: ¹ 安徽医科大学附属省立医院普通外科, 肝胆胰外科安徽省重点实验室, 合肥 230001

² 天津医科大学研究生院, 天津 300070

作者简介: 蔡重阳, 男, 硕士研究生;

汤志刚, 男, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: tzg7031@163.com

性表达 “+”代表染色面积 10% ~ 30% ,表示弱阳性 “+ +”代表染色面积 > 30% ,代表强阳性。“+”、“+ +”均属于阳性表达。E-cadherin 染色主要在细胞膜 ,阳性、阴性表达判定标准: < 90% 的胞膜均质染棕黄色被判定为 E-cadherin 阴性表达 ,胞膜中出现棕黄色染色同时 , > 90% 的胞膜均质染棕黄色为 E-cadherin 阳性表达。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 17.0 统计软件进行分析 ,运用 χ^2 检验及 Fisher 精确概率法进行检验分析数据 ,分类变量的关联性分析采用在 χ^2 检验的基础上计算 Pearson 列联系数。

2 结果

2.1 Prx1 与 E-cadherin、Vimentin 的表达 Prx1、Vimentin 在胰腺癌中阳性表达率为 69.70% (46/66)、56.06% (37/66) ,在正常胰腺组织中 Prx1、Vimentin 的阳性表达率均为 18.18% (2/11) ,差异均有统计学意义 ($\chi^2 = 10.658$, $P = 0.002$; $\chi^2 = 5.412$, $P = 0.025$)。E-cadherin 在胰腺癌中的阳性表达率为 40.91% (27/66) ,正常胰腺组织中 E-cadherin 阳性表达率为 90.90% (10/11) ,差异有统计学意义 ($\chi^2 = 9.443$, $P = 0.003$) ,见图 1、2。

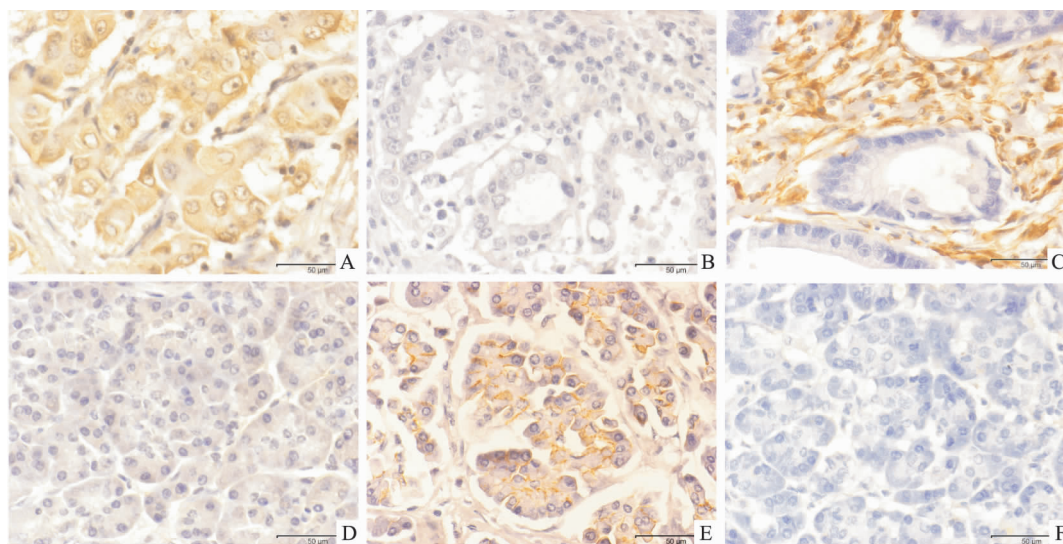


图1 Prx1、E-cadherin、Vimentin 在胰腺癌与正常胰腺组织中的表达 SP × 400

A: Prx1 在胰腺癌组织中阳性表达; B: E-cadherin 在胰腺癌组织中阴性表达; C: Vimentin 在胰腺癌组织中阳性表达; D: Prx1 在正常胰腺组织中阴性表达; E: E-cadherin 在正常胰腺组织中阳性表达; F: Vimentin 在正常胰腺组织中阴性表达

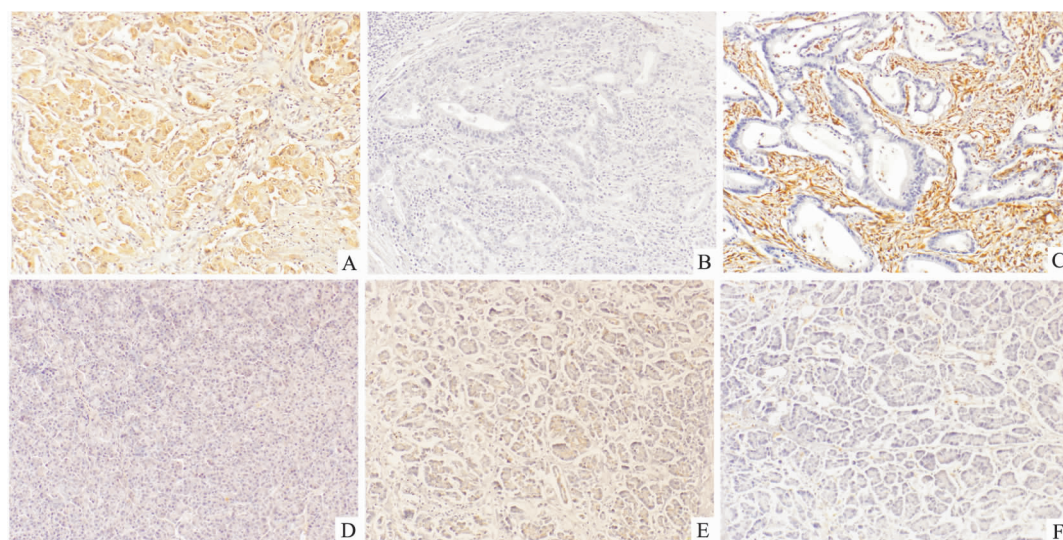


图2 Prx1、E-cadherin、Vimentin 在胰腺癌与正常胰腺组织中的表达 SP × 100

A: Prx1 在胰腺癌组织中阳性表达; B: E-cadherin 在胰腺癌组织中阴性表达; C: Vimentin 在胰腺癌组织中阳性表达; D: Prx1 在正常胰腺组织中阴性表达; E: E-cadherin 在正常胰腺组织中阳性表达; F: Vimentin 在正常胰腺组织中阴性表达

表1 Prx1、E-cadherin、Vimentin 的表达与临床病理参数之间的关系($n=66$)

项目	n	Prx1			E-cadherin			Vimentin		
		阳性[n (%)]	χ^2 值	P 值	阳性[n (%)]	χ^2 值	P 值	阳性[n (%)]	χ^2 值	P 值
性别										
男	24	20(83.33)	3.320	0.096	11(45.83)	0.378	0.608	12(50.00)	0.562	0.607
女	42	26(61.90)			16(38.10)			25(59.52)		
年龄(岁)										
≥ 60	46	34(73.91)	1.278	0.382	17(36.96)	0.981	0.416	29(85.29)	3.005	0.108
< 60	20	12(60.00)			10(50.00)			8(40.00)		
肿瘤大小(cm)										
< 2	8	3(37.50)	5.252	0.072	6(75.00)	4.698	0.095	3(37.50)	2.842	0.241
2~4	33	26(78.79)			13(39.39)			17(51.52)		
> 4	25	17(68.00)			8(32.00)			17(68.00)		
病变部位										
胰头	29	23(79.31)	2.264	0.180	13(44.83)	0.329	0.620	20(68.97)	3.497	0.082
体尾	37	23(62.16)			14(37.84)			17(45.95)		
神经侵犯										
有	26	23(88.46)	7.152	0.012	7(26.92)	3.471	0.077	18(69.23)	3.021	0.127
无	40	23(57.50)			20(50.00)			19(47.50)		
淋巴结转移										
有	30	20(66.67)	7.499	0.008	8(26.67)	4.615	0.045	21(70.00)	4.338	0.048
无	36	26(72.22)			19(52.78)			16(44.44)		
肿瘤分化										
高	3	0(0.00)	9.316	0.009	2(66.67)	9.393	0.009	1(33.33)	6.389	0.041
中	31	20(64.52)			18(58.06)			13(41.94)		
低	32	26(81.25)			7(81.25)			23(71.88)		
TNM 分期										
1+2	33	17(51.52)	10.330	0.003	18(54.55)	5.077	0.024	14(42.42)	4.982	0.046
3+4	33	29(87.88)			9(27.27)			23(69.70)		

2.2 Prx1、E-cadherin、Vimentin 的表达与临床病理资料的相关性 Prx1、E-cadherin 和 Vimentin 在胰腺癌组织中的表达均、TNM 分期、淋巴结转移和肿瘤分化程度显著相关($P < 0.05$), Prx1 与神经侵犯显著相关($P < 0.05$); Prx1、E-cadherin、Vimentin 的表达与性别、年龄、肿瘤大小、肿瘤部位无关, 差异无统计学意义。同时 E-cadherin、Vimentin 的表达与神经侵犯也无关, 差异无统计学意义, 见表 1。

2.3 Prx1 与 E-cadherin、Vimentin 表达的相关性

胰腺癌中 Prx1 的表达与 Vimentin 的表达呈正相关($P < 0.05$), 与 E-cadherin 表达呈负相关($P < 0.05$), 见表 2。

表2 Prx1 与 E-cadherin、Vimentin 在胰腺癌中表达的相关性($n=66$)

Prx1	E-cadherin				χ^2 值	r 值	P 值	Vimentin				χ^2 值	r 值	P 值
	-	+	合计					-	+	合计				
-	6	14	20					13	7	20				
+	33	13	46	10.046	0.363	0.002		16	30	46	5.167	0.269	0.023	
合计	39	27	66					29	37	66				

2.4 E-cadherin 与 Vimentin 表达的相关性

胰腺癌中 E-cadherin 的表达与 Vimentin 的表达呈负相关

($P < 0.05$), 见表 3。

表3 E-cadherin 与 Vimentin 在胰腺癌中表达的相关性($n=66$)

E-cadherin	Vimentin		合计	χ^2 值	r 值	P 值
	-	+				
-	11	28	39	9.581	0.356	0.002
+	18	9	27			
合计	29	37	66			

3 讨论

Prx1 属于过氧化物还原酶家族中重要的一员, 具有抗氧化作用, 能够清除活性氧自由基和 H_2O_2 , 被称为“清道夫蛋白”^[4]。有研究显示 Prx1 在肝细胞癌^[3]、胆管癌^[2]、胆囊癌^[5] 中明显高表达, 并且与淋巴结转移、神经侵犯转移相关, 但国内外在胰腺癌中研究却罕有报道, 本研究结果表明, Prx1 在胰腺癌中呈高表达, 并与胰腺癌的分化程度、TNM 分期、淋巴结转移、神经侵犯相关, 而与年龄、性别、肿瘤大小、肿瘤部位无关。提示 Prx1 与胰腺癌的侵袭、转移有一定的相关性, 可能成为预测胰腺癌患者预后的新指标。

EMT 指上皮细胞通过特定的程序转化为具有

间质表型细胞的生物学过程,上皮细胞通过 EMT 失去了细胞的极性,失去与基底膜的连接等上皮表型,获得了较高的侵袭与迁徙、抗凋亡和降解细胞外基质的能力等间质表型,是肿瘤发生、侵袭和转移的分子基础^[6],E-cadherin 和 Vimentin 都是反映 EMT 转化过程的重要蛋白指标,EMT 的转化主要标志是 E-cadherin 在肿瘤中低表达和 Vimentin 在肿瘤中高表达,E-cadherin 存在于上皮的细胞黏附分子,通过组织的细胞内连环蛋白、肽段蛋白与细胞骨架肌动蛋白相连而聚集,参与细胞黏附、生长、增殖等一系列过程并维持上皮细胞形态和结构完整性,Vimentin 是存在于间质细胞中的一种主要的中间丝蛋白,通过调节细胞骨架蛋白、细胞黏附分子等蛋白间的相互作用,参与肿瘤细胞的黏附、迁移、侵袭和细胞信号转导。研究结果显示,E-cadherin 在胰腺癌中的表达与肿瘤分化程度、TNM 分期、淋巴结转移高度相关,而与年龄、性别、肿瘤大小、肿瘤部位、神经侵犯无关。Vimentin 在胰腺癌中呈高表达并与胰腺癌的分化程度、TNM 分期、淋巴结转移相关,而与年龄、性别、肿瘤大小、肿瘤部位、神经侵犯无关。胰腺癌组织中 Vimentin 表达上调的同时 E-cadherin 的表达下调,这与国内外研究报道^[7-8]基本一致。

Ha et al^[1]在肺癌中的研究显示,Prx1 高表达能够下调 E-cadherin 的表达,Prx1 低表达又能够上调 E-cadherin 的表达,研究结果也同样显示在胰腺癌中 Prx1 的表达与 Vimentin 表达呈正相关,与 E-cadherin 表达呈负相关,说明 Prx1 的表达与 EMT 相关,

但 EMT 转化过程有多种转导通路存在,未来仍需进一步深入探索,详细解析其具体的相关分子机制。

参考文献

- [1] Ha B, Kim E K, Kim J H, et al. Human peroxiredoxin 1 modulates TGF- β 1-induced epithelial-mesenchymal transition through its peroxidase activity [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 421 (1): 33-7.
- [2] Yonglithipagon P, Pairojkul C, Chamgramol Y, et al. Prognostic significance of peroxiredoxin 1 and ezrin-radixin-moesin-binding phosphoprotein 50 in cholangiocarcinoma [J]. *Hum Pathol* 2012, 43(10): 1719-30.
- [3] Sun Q K, Zhu J Y, Wang W, et al. Diagnostic and prognostic significance of peroxiredoxin 1 expression in human hepatocellular carcinoma [J]. *Med Oncol*, 2014, 31(1): 786.
- [4] Neumann C A, Cao J, Manevich Y, et al. Peroxiredoxin 1 and its role in cell signaling [J]. *Cell Cycle*, 2009, 8(24): 4072-8.
- [5] Li J, Yang Z L, Ren X, et al. ILK and PRDX1 are prognostic markers in squamous cell/adenosquamous carcinomas and adenocarcinoma of gallbladder [J]. *Tumour Biol*, 2013, 34(1): 359-68.
- [6] De Craene B, Berx G. Regulatory networks defining EMT during cancer initiation and progression [J]. *Nat Rev Cancer*, 2013, 13(2): 97-110.
- [7] Handra-Luca A, Hong S M, Walter K, et al. Tumour epithelial vimentin expression and outcome of pancreatic ductal adenocarcinomas [J]. *Br J Cancer*, 2011, 104(8): 1296-302.
- [8] Roy L D, Sahraei M, Subramani D B, et al. MUC1 enhances invasiveness of pancreatic cancer cells by inducing epithelial to mesenchymal transition [J]. *Oncogene*, 2011, 30(12): 1449-59.

Clinical significance of expression of Peroxiredoxin 1 and EMT related factors in pancreatic carcinoma

Cai Chongyang, Tang Zhigang, Huang Qiang, et al

(Dept of General Surgery, The Affiliated Provincial Hospital of Anhui Medical University, Anhui Province)

Key Laboratory of Hepatopancreatobiliary Surgery, Hefei 230001)

Abstract Objective To investigate the expression clinical significance of Peroxiredoxin 1 (Prx1) and epithelial mesenchymal transition (EMT)-related factors in pancreatic carcinoma. **Methods** The expression of Prx1, E-cadherin and Vimentin were detected in 66 pancreatic carcinoma samples and 11 normal pancreatic tissues by immunohistochemical method. The correlation between Prx1, E-cadherin, Vimentin and clinicopathologic characteristics was also analyzed. **Results** The positive expression rates of Prx1, E-cadherin and Vimentin were 69.70% (46/66), 40.91% (27/66) and 56.06% (37/66) in pancreatic carcinoma, and 18.18% (2/11), 90.90% (10/11) and 18.18% (2/11) in normal pancreatic tissue, respectively. The expression rates of Prx1, E-cadherin and Vimentin were correlated with TNM stage, lymph node metastasis, degree of differentiation ($P < 0.05$). Prx1 expression was correlated with nerve invasion in pancreatic carcinoma tissue ($P < 0.05$). The expression rates of

体外受精-胚胎移植后异位妊娠 86 例临床分析

田 婷 韩 丹 刘书华 周 平 曹云霞

摘要 目的 探讨辅助生殖技术中异位妊娠(EP)的发生率、影响因素和早期诊疗、防治的方法。方法 回顾性分析体外受精-胚胎移植(IVF-ET)、卵胞浆内单精子显微注射(ICSI)、胚胎植入前遗传学诊断(PGD)和冻融胚胎移植(F-ET)治疗后 86 例 EP 患者的临床资料。结果 共有 2 903 个周期获临床妊娠, 86 例 EP 发生率 2.96%, 其中包括宫内宫外同时妊娠 4 例(4.65%)。患者年龄、不孕年限、体重指数、是否合并排卵障碍、男方因素不孕、染色体异常、既往分娩史、获卵数、移植胚胎数目、移植管进入宫腔深度对 EP 的发生影响不大。输卵管盆腔病变、子宫内膜异位症及其术后与 EP 的发生有显著的关联($OR = 11.457, P = 0.000; OR = 3.479, P = 0.002$)。子宫内膜厚度 ≥ 7.5 mm 时, 输卵管妊娠风险则有所下降($OR = 10.463, P = 0.002$)。结论 输卵管盆腔病变、子宫内膜异位症及其术后, 移植日子宫内膜厚度是 EP 发生的重要影响因素。妊娠早期血人绒毛膜促性腺激素(HCG)监测结合阴道 B 超检查是 EP 主要的早期诊断方法。

关键词 体外受精; 胚胎移植; 异位妊娠

中图分类号 R 713

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2015)03-0372-04

经体外受精助孕治疗获得的妊娠结果不同于自然妊娠, 其异位妊娠(ectopic pregnancy, EP)率明显增高, 而且世界上报道的第一例体外受精-胚胎移植(*in vitro* fertilization and embryo transfer, IVF-ET)助孕的结局即是 EP^[1]。在诱发排卵中子宫内妊娠合并 EP 也较常见, 这类 EP 发生率增加至 1.2%。

2015-01-06 接收

作者单位: 安徽医科大学第一附属医院生殖医学中心, 合肥 230022

作者简介: 田 婷, 女, 硕士研究生;

周 平, 女, 副教授, 副主任医师, 硕士生导师, 责任作者,

E-mail: zhoup-325@aliyun.com

IVF-ET 将胚胎连同不等数量的培养介质放在子宫底部附近, 使某些抵达输卵管和子宫的胚胎同时植入^[2]。该研究回顾性分析安徽医科大学第一附属医院生殖医学中心经辅助助孕治疗后发生 EP 的 86 例临床资料, 以探究 EP 的高危影响因素和早期诊断方法, 从而降低 IVF 助孕发生 EP 的风险。

1 材料与方法

1.1 病例资料 收集 2011 年 1 月~2013 年 12 月接受辅助生育技术(assisted reproductive techniques, ART)助孕患者的临床资料 2 903 例获临床妊娠, 新鲜周期组 1 560 例(包括 62 例 EP 和 1 498 例宫内妊娠患者), 冻融周期组 1 343 例; EP 组 86 例。患者年龄 21~40(30.12 $\pm$ 4.20)岁, 不孕年限 1~15(4.71 $\pm$ 3.34)年, 原发不孕占 33.7%, 继发不孕占 66.3%。单纯随机抽取同一时期在我中心行 ART 助孕获宫内妊娠并分娩的患者 314 例作为对照组, 患者年龄 21~41(30.11 $\pm$ 4.32)岁, 不孕年限 1~15(4.11 $\pm$ 3.07)年, 原发不孕占 54.8%, 继发不孕占 45.2%。助孕指征包括输卵管及盆腔因素、子宫内膜异位症(endometriosis, EMs)、排卵障碍、男方因素、染色体异常等。助孕方式包括 IVF-ET, 卵胞浆内单精子显微注射(intracytoplasmic sperm injection-embryo transfer, ICSI-ET), 胚胎植入前遗传学诊断(preimplantation genetic diagnosis, PGD)和冻融胚胎移植(frozen-thawed embryo transfer, F-ET)。

1.2 试剂 达菲林(法国益普生生物技术公司); 达必佳(瑞士辉凌国际制药有限公司); 卵泡刺激素(follicle-stimulating hormone, FSH)(瑞士默克雪兰诺公司); 尿促性素(human menopausal gonadotropin,

Prx1, E-cadherin and Vimentin were not correlated with sex, age, size, site of tumor. E-cadherin and Vimentin expression were not correlated with nerve invasion in pancreatic carcinoma tissue. Prx1 expression in pancreatic carcinoma was positively correlated with Vimentin expression ($P < 0.05$); Prx1 and Vimentin were negatively correlated with E-cadherin expression ($P < 0.05$). **Conclusion** Prx1, E-cadherin and Vimentin expressions are associated with the ability of invasion and metastasis in pancreatic carcinoma, Prx1 abnormal expression maybe serve as a potential poor prognostic marker of patients with pancreatic carcinoma.

Key words pancreatic carcinoma; Peroxiredoxin 1; E-cadherin; Vimentin