

HSP90 α 蛋白在人结肠癌中的表达

李海军, 戴 洁, 张林西, 金春亭, 李玉珍

李海军, 张林西, 金春亭, 李玉珍, 河北北方学院病理学教研室 河北省
张家口市 075029
戴洁, 首都医科大学教务处 北京市 100054
河北省科技攻关计划项目, No. 00276162D
河北省自然科学基金课题, No. 301427
项目负责人: 戴洁, 100054, 北京右安门外西头条 10 号, 首都医科大学教
务处: sydaijie@cpums.edu.cn
电话: 010-63051169
收稿日期: 2004-11-09 接受日期: 2004-11-25

摘要

目的: 探讨 HSP90 α 在我国结肠癌中的表达特点, 为应用 HSP90 α 抑制剂治疗结肠癌提供依据。

方法: 应用免疫组化 SP 方法对 88 例人结肠癌组织中 HSP90 α 的表达进行检测。

结果: HSP90 α 在结肠癌细胞质表达, 胞质被染成深浅不一的棕黄色。HSP90 α 表达在不同 Dukes 分期阳性率差异显著 ($P < 0.01$)。其在 Dukes B 期及 C 期的阳性率分别为 47.17%、80.0%。HSP90 α 表达分别与患者性别、年龄、癌发部位、癌细胞分化程度及浸润深度等无显著相关性 ($P > 0.05$)。

结论: HSP90 α 的表达与结肠癌的浸润进展密切相关, HSP90 α 抑制剂可用于结肠癌的辅助治疗。

李海军, 戴洁, 张林西, 金春亭, 李玉珍. HSP90 α 蛋白在人结肠癌中的表达.
世界华人消化杂志 2005;13(4):567-569
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/567.asp>

0 引言

结肠癌是消化系统最常见的恶性肿瘤之一, 其发生机制目前仍不清楚。随着对结肠癌研究的深入, 目前已发现多种基因表达异常与其形成有密切关系, 可能是多种基因突变的结果。近年来, 热休克蛋白 (heat shock protein, HSP) 与肿瘤的关系是研究的热点之一。已有研究表明, HSP90 α 表达异常与消化道系统恶性肿瘤^[1-4]、肺癌^[5-6]及乳腺癌^[7-9]等有关。而较少有对结肠癌中 HSP90 α 表达状况的研究。我们应用免疫组化 SP 方法对 88 例结肠癌组织中 HSP90 α 的表达进行检测, 探讨其与临床病理特征的关系, 为结肠癌的临床治疗及深入研究提供重要资料。

1 材料和方法

1.1 材料 收集河北北方学院附属第一医院 1999-06/2003-07 间结肠癌手术切除标本 88 例。其中男性 54 例, 女性 34 例, 平均年龄 54.8 岁。≥ 60 岁 51 例, < 60 岁 37 例。左半结肠癌 63 例, 右半结肠癌 25 例。高分化腺癌 41 例, 中分化腺癌 36 例, 低分化腺癌 11 例。浅肌层 8 例, 深肌

层 34 例, 浆膜层 46 例。Dukes A 期 0 例, B 期 53 例, C 期 35 例。所有病例均无同时患其他恶性肿瘤。患者手术前均未经放疗或化疗。HSP90 α 抗体为兔抗人多克隆抗体, 美国 Santa Cruz 公司产品。SP 免疫组织化学染色试剂盒及 DAB 显色剂购自北京中山生物技术有限公司。

1.2 方法 手术切除结肠癌标本及时取材, 常规切取癌组织, 同时对区域淋巴结进行取材。标本经 40 g/L 中性甲醛溶液固定, 梯度酒精脱水、石蜡包埋, 每个检测蜡块进行连续切片 6-8 张, 厚度为 5 μ m。每例取一张做 HE 染色常规病理组织检查, 进行病理学诊断及分类, 剩余行免疫组化染色。切片用医用微波炉进行抗原修复, 按说明书进行免疫组化染色, DAB 显色, 苏木素复染, 常规脱水、透明及中性树胶封片。每批实验均设有已知阳性切片对照及 PBS 替代 I 抗的阴性对照。阳性对照片充分显色后终止显色。光镜下观察, 细胞质被染成大小不等、深浅不一的棕黄色颗粒的为阳性细胞。癌组织间质不着色。每张切片随机观察 6-8 个高倍视野, 阳性细胞数超过 5% 时即确定为染色阳性病例。染色结果判定参照 1996 年全国免疫组织化学技术与诊断标准化专题研讨会意见, 将染色结果分为: 阴性 (-), < 5% 的细胞着色; 弱阳性 (+), 细胞质或膜内有 5-24% 的细胞着色, 为浅黄色颗粒; 阳性 (++), 25-50% 的细胞着色, 为黄色颗粒; 强阳性 (+++), > 50% 的细胞着色, 为棕黄色颗粒。

统计学处理 实验资料应用 SPSS10.0 统计软件进行统计分析, HSP90 α 阳性率的比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 认为差异具有显著性。

2 结果

HSP90 α 蛋白在结肠癌中的表达主要表现为癌细胞胞质呈棕黄色颗粒状 (图 1), 其表达的阳性率为 60.23% (53/88)。HSP90 α 阳性表达分别与患者性别、年龄、癌发部位、分化程度及浸润深度无显著相关性 ($P > 0.05$)。但是其表达随浸润深度的增加有逐渐增高趋势。HSP90 α 的表达与 Dukes 分期有关 (表 1)。HSP90 α 在 Dukes B 期阳性率为 47.17%; Dukes C 期的阳性率为 80%, 组间差异具有显著性 ($P < 0.01$)。

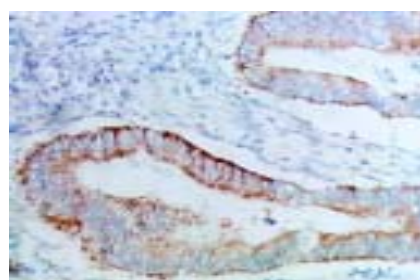


图 1 HSP90 α 蛋白在结肠癌中的表达 (+++).

表1 HSP90 α 蛋白在结肠癌中的表达

临床病理特征		n	HSP90 α 表达	
			阳性例数(%)	P
性别	男	54	32(59.26)	0.815
	女	34	21(61.76)	
年龄	≥ 60	51	33(64.71)	0.314
	<60	37	20(54.05)	
部位	左半结肠	63	39(61.90)	0.610
	右半结肠	25	14(56.00)	
分化程度	高分化	41	25(60.98)	0.590
	中分化	36	20(55.56)	
	低分化	11	8(72.73)	
浸润深度	浅肌层	8	3(37.50)	0.328
	深肌层	34	20(58.82)	
	浆膜层	46	30(65.22)	
Dukes 分期	A	0	0	0.002
	B	53	25(47.17)	
	C	35	28(80.00)	

3 讨论

热休克蛋白(heat shock protein, HSP)是指细胞在应激原特别是环境高温诱导下所生成的一组高度保守性蛋白质,这一现象被称为热休克应答(heat shock response, HSR). HSP 的生成是普遍存在于从细菌直至人类的整个生物界的一种现象. 一般根据其同源程度以及分子量的大小可分为 HSP110、HSP90、HSP70、HSP60、小分子 HSP 及泛素等几个家族. HSP 在进化过程中具有高度保守性,说明他们具有普遍存在的重要生理功能. 其主要是通过应激状态下生成保护细胞生命活动必需的蛋白质以维持细胞的生存. HSP 通常与具有不同功能的多种蛋白质在细胞中形成复合体,并通过复合体的形成或者解离而参与有关蛋白的折叠、亚基的组成、细胞内运输以及蛋白质降解等过程,以调节靶蛋白的活性和功能,但又不参与靶蛋白的组成. 因此, HSP 又被认为是一种“分子伴侣(molecular chaperone)”或“伴侣蛋白”^[10].

近年研究发现, HSP 与肿瘤的发生、发展以及肿瘤患者的预后等都有密切关系. 但不同家族的 HSP 及同一家族内 HSP 的不同成员在肿瘤发生中各自所起的作用尚有待进一步研究. 目前, 在众多 HSP 中对 HSP70 研究较多. 一些学者报道^[11-12], HSP70 在一些肿瘤组织中表达增加. 但关于 HSP90 与肿瘤的关系特别是与结肠癌的关系的研究报道较少. HSP90 以是否含有丰富的谷氨酰胺片段而分为 HSP90 α 和 HSP90 β 两类. HSP90 多以 α - α 和 β - β 同源二聚体形式存在. 在胰腺癌中, HSP90 α 呈选择性高表达^[3]. 在本研究中, 我们应用免疫组化方法, 对 HSP90 α 在结肠癌细胞中的表达进行了研究. HSP90 α 在结肠癌组织中表达的阳性率为 60.23% (53/88), 提示其可能与结肠癌的形成及发展有关.

HSP90 α 可通过调节细胞周期而促进细胞增生^[12-13]. 本研究中, HSP90 α 在结肠癌组织中的表达分别与患者性别、年龄、癌的发生部位、分化程度及浸润深度无显著相关性 ($P>0.05$). 但 HSP90 α 的表达随癌细胞浸润深度的增加阳性率有增高趋势. 我们还发现, HSP90 α 表达与 Dukes 分期密切相关. 随 Dukes 分期的增高, HSP90 α 表达阳性率明显增高. Dukes B 期为 47.17%, Dukes C 期为 80%. 说明结肠癌的浸润进展及转移与 HSP90 α 表达显著相关. HSP90 α 表达阳性率愈高, 患者病期可能愈晚, 可能已经发生了淋巴结转移, 提示患者预后较差. 有研究认为^[11, 13-14], HSP 可能是判断患者预后的标志物. HSP90 在乳腺癌中高表达往往预示着预后较差^[12].

研究发现, HSP90 α 可能是新的抗癌药物治疗恶性肿瘤的新的分子靶点^[15-17]. 目前, HSP90 抑制剂如 17AAG 已经进入 I 期临床试验^[17-18], 针对 HSP90 分子靶点的对不同肿瘤的研究正在进行中^[19-22]. 不久的将来 HSP90 抑制剂用来治疗结肠癌等恶性肿瘤将成为现实. 因此, 对恶性肿瘤中 HSP90 表达水平的检测就显得尤为重要.

总之, 机体在应答各种环境压力刺激时所产生的 HSP 对机体具有保护作用. HSP90 α 与肿瘤的关系尤其是在结肠癌的发生、预后评估和抗肿瘤治疗等方面的具体作用及机制有待更深入的研究.

4 参考文献

- Liu XL, Xiao B, Yu ZC, Guo JC, Zhao QC, Xu L, Shi YQ, Fan DM. Down-regulation of Hsp90 could change cell cycle distribution and increase drug sensitivity of tumor cells. *World J Gastroenterol* 1999;5:199-208
- Zuo DS, Dai J, Bo AH, Fan J, Xiao XY. Significance of expression of heat shock protein 90 α in human gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2003;9:2616-2618
- Ogata M, Naito Z, Tanaka S, Moriyama Y, Asano G. Overexpression and localization of heat shock proteins mRNA in pancreatic carcinoma. *J Nippon Med Sch* 2000;67:177-185
- Schueler G, Paolini P, Friedl J, Stift A, Dubsky P, Bachleitner-Hofmann T, Jakesz R, Gnant M. Heat treatment of hepatocellular carcinoma cells: increased levels of heat shock proteins 70 and 90 correlate with cellular necrosis. *Anticancer Res* 2001;21:295-300
- Zhong L, Peng X, Hidalgo GE, Doherty DE, Stromberg AJ, Hirschowitz EA. Antibodies to HSP70 and HSP90 in serum in non-small cell lung cancer patients. *Cancer Detect Prev* 2003;27:285-290
- Luo LY, Herrera I, Soosaipillai A, Diamandis EP. Identification of heat shock protein 90 and other proteins as tumour antigens by serological screening of an ovarian carcinoma expression library. *Br J Cancer* 2002;87:339-343
- Beliakoff J, Whitesell L. Hsp90: an emerging target for breast cancer therapy. *Anticancer Drugs* 2004;15:651-662
- Beliakoff J, Bagatell R, Paine-Murrieta G, Taylor CW, Lykkesfeldt AE, Whitesell L. Hormone-refractory breast cancer remains sensitive to the antitumor activity of heat shock protein 90 inhibitors. *Clin Cancer Res* 2003;9:4961-4971
- Solit DB, Basso AD, Olshen AB, Scher HI, Rosen N. Inhibition of heat shock protein 90 function down-regulates Akt kinase and sensitizes tumors to Taxol. *Cancer Res* 2003;63:2139-2144
- Gething MJ, Sambrook J. Protein folding in the cell. *Nature* 1992;355:33-45
- Lazaris AC, Theodoropoulos GE, Davaris PS, Panoussopoulos

- D, Nakopoulou L, Kittas C, Golematis BC. Heat shock protein 70 and HLA-DR molecules tissue expression. Prognostic implications in colorectal cancer. *Dis Colon Rectum* 1995;38:739-745
- 12 Yano M, Naito Z, Tanaka S, Asano G. Expression and roles of heat shock proteins in human breast cancer. *Jpn J Cancer Res* 1996;87:908-915
- 13 Ciocca DR, Clark GM, Tandon AK, Fuqua SA, Welch WJ, McGuire WL. Heat shock protein hsp70 in patients with axillary lymph node-negative breast cancer:prognostic implications. *J Natl Cancer Inst* 1993;85:570-574
- 14 Hettinga JV, Lemstra W, Meijer C, Los G, de Vries EG, Konings AW, Kampinga HH. Heat-shock protein expression in cisplatin-sensitive and -resistant human tumor cells. *Int J Cancer* 1996;67:800-807
- 15 Solit DB, Scher HI, Rosen N. Hsp90 as a therapeutic target in prostate cancer. *Semin Oncol* 2003;30:709-716
- 16 Banerji U, Judson I, Workman P. The clinical applications of heat shock protein inhibitors in cancer - present and future. *Curr Cancer Drug Targets* 2003;3:385-390
- 17 Kamal A, Thao L, Sensintaffar J, Zhang L, Boehm MF, Fritz LC, Burrows FJ. A high-affinity conformation of Hsp90 confers tumour selectivity on Hsp90 inhibitors. *Nature* 2003;425:407-410
- 18 Burger AM, Fiebig HH, Stinson SF, Sausville EA. 17-(Allylamino)-17-demethoxygeldanamycin activity in human melanoma models. *Anticancer Drugs* 2004;15:377-387
- 19 Vasilevskaya IA, Rakitina TV, O'Dwyer PJ. Quantitative effects on c-Jun N-terminal protein kinase signaling determine synergistic interaction of cisplatin and 17-allylamino-17-demethoxygeldanamycin in colon cancer cell lines. *Mol Pharmacol* 2004;65:235-243
- 20 Braga-Basaria M, Hardy E, Gottfried R, Burman KD, Saji M, Ringel MD. 17-Allylamino-17-demethoxygeldanamycin activity against thyroid cancer cell lines correlates with heat shock protein 90 levels. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:2982-2988
- 21 Bisht KS, Bradbury CM, Mattson D, Kaushal A, Sowers A, Markovina S, Ortiz KL, Sieck LK, Isaacs JS, Brechbiel MW, Mitchell JB, Neckers LM, Gius D. Geldanamycin and 17-allylamino-17-demethoxygeldanamycin potentiate the in vitro and in vivo radiation response of cervical tumor cells via the heat shock protein 90-mediated intracellular signaling and cytotoxicity. *Cancer Res* 2003;63:8984-8995
- 22 Enmon R, Yang WH, Ballangrud AM, Solit DB, Heller G, Rosen N, Scher HI, Sgouros G. Combination treatment with 17-N-allylamino-17-demethoxy geldanamycin and acute irradiation produces supra-additive growth suppression in human prostate carcinoma spheroids. *Cancer Res* 2003;63:8393-8399

编辑 张海宁

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2005 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

2005北京协和国际消化疾病论坛征文通知

本刊讯 “北京协和国际消化疾病论坛”由北京协和医院主办，中华医学会北京分会、中华医学会继续教育部、中国医学论坛报、《中国卫生人才》、中国全科医学杂志社协办，现定于2005-10-20/2005-10-23在北京召开。会议将邀请国内外众多此领域具有较深造诣的知名专家参会作专题报告吉内镜操作表演。国家继续教育委员会将授予与会人员Ⅰ类继续教育学分8分。论坛期间还将举办药品及器械展览活动。

1 会议具体安排

地点：中国·北京京都信苑饭店（五星级）（暂定）。会务费：2005-08-15 前付费¥800 元；2005-08-15 后（含）付费¥900 元。付款方式：Bank Remittance（汇款），开户行：中国建设银行北京广安门直航，户名：北京世纪安德广告有限公司，账号：11001042200053000033。地址：北京市丰台区方城园一区17号楼A座1603室（组委会），邮编：100078。电话：010-58075131、58075132、58075088、58075099，传真：010-58075138，电子信箱：puiddf@163.com。请在汇款时务必表明款项的用途为：2005 北京协和国际消化疾病论坛会务费，2005 北京协和国际消化疾病论坛秘书处 2005-1。

2 会议议题

会议的议题包括：（1）消化系统疾病的发病机制、诊断和治疗的研究进展；（2）消化系统肿瘤的发病机制、治疗及预防的进展；（3）消化系统内镜的应用现状及操作表演；（4）肝病及肝癌的研究进展；（5）消化系统疾病的外科治疗及研究现状。

3 其他事项

截稿日期：2005-07-15。大会秘书处联系人：李景南，北京协和医院消化内科 100730。电话：010-65295017，电子信箱：ljndr@yahoo.com。大会组委会联系人：王双、白雪。