

自身抗体与食管癌相关性的检测与分析92例

陈志刚, 李宏, 周迪, 杨军, 周婷, 秦江梅

■背景资料

20多年来国内外陆续报道了肿瘤患者体内存在抗细胞质或(和)细胞核成分的自身抗体, 这些自身抗体有望成为鉴别诊断正常人与肿瘤患者的标志物。但目前对于食管癌患者体内自身抗体的系统研究的文献还很少, 对抗体谱的研究将有助于深入认识食管癌患者的自身免疫现象。

陈志刚, 李宏, 周迪, 杨军, 周婷, 新疆石河子大学医学院一附院医学实验室 新疆维吾尔自治区石河子市 832000
秦江梅, 新疆石河子大学医学院预防医学系 新疆维吾尔自治区石河子市 832000
国家自然科学基金资助项目, No. 30660161
石河子大学自然科学与技术创新资助项目, No. ZRXX2005123
作者贡献分布: 陈志刚, 秦江梅对此文所做贡献均等; 此课题由陈志刚、秦江梅设计; 研究过程由陈志刚, 李红, 周迪, 杨军, 周婷操作完成; 研究所用试剂及分析工具由陈志刚提供; 数据分析由陈志刚、李宏及秦江梅完成; 本论文写作由陈志刚完成。
通讯作者: 秦江梅, 832000, 新疆维吾尔自治区石河子市, 新疆石河子大学医学院预防医学系. czg113126@163.com
电话: 0993-2850234
收稿日期: 2007-11-22 修回日期: 2008-01-13

Correlation between auto-antibodies and esophageal cancer: an analysis of 92 cases

Zhi-Gang Chen, Hong Li, Di Zhou, Jun Yang, Ting Zhou, Jiang-Mei Qin

Zhi-Gang Chen, Hong Li, Di Zhou, Jun Yang, Ting Zhou, Medical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Medical College, Shihezi University, Shihezi 832000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Jiang-Mei Qin, Department of Preclinical Medicine, Shihezi Medical University, Shihezi 832000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30660161, the Natural Science and Technological Innovation Program of Shihezi University, No. ZRXX2005123
Correspondence to: Jiang-Mei Qin, Department of Preclinical Medicine, Shihezi Medical University, Shihezi 832000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. czg113126@163.com
Received: 2007-11-22 Revised: 2008-01-13

Abstract

AIM: To study the positive rate of auto-antibodies, locations of their target antigens in esophageal cancer patients and correlation between auto-antibodies and esophageal cancer.

METHODS: Auto-antibodies in sera of 92 esophageal cancer patients and 135 healthy controls were detected with indirect immunofluorescence (IIF).

RESULTS: The positive rate of auto-antibodies

in esophageal cancer patients was significantly higher than that in normal controls (55.43% vs 20.00%, $P < 0.01$). A significant difference was found in the fluorescence pattern and location of target antigens between the two groups. Although the positive rate of auto-antibodies increased with increasing age ($P < 0.05$, $\chi^2 = 4.68$, $\chi^2 = 3.93$; $P < 0.05$, $\chi^2 = 5.93$, $\chi^2 = 3.86$), it was significantly higher in esophageal cancer patients than in normal controls ($P < 0.05$, $\chi^2 = 5.01$; $P < 0.01$, $\chi^2 = 9.43$, $\chi^2 = 18.1$). The positive rate of auto-antibodies was significantly higher in normal controls and in women with esophageal cancer than in males with esophageal cancer ($P < 0.01$, $\chi^2 = 8.34$, $\chi^2 = 6.90$).

CONCLUSION: The spectra of auto-antibodies in esophageal cancer patients are different from those in normal controls and patients with autoimmune disease, thus contributing to the differentiation between healthy persons and cancer patients.

Key Words: Esophageal neoplasm; Auto-antibody; Indirect immunofluorescence

Chen ZG, Li H, Zhou D, Yang J, Zhou T, Qin JM. Correlation between auto-antibodies and esophageal cancer: an analysis of 92 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(5): 526-529

摘要

目的: 了解食管癌患者体内自身抗体阳性率、细胞内定位及荧光模式特点, 分析自身抗体与食管癌的相关性。

方法: 应用间接免疫荧光法(indirect immunofluorescence, IIF)检测92例食管癌以及135例不同年龄段正常人血清中自身抗体。

结果: 92例经IIF检查的食管癌患者中, 51例自身抗体阳性, 显著高于正常对照组27例的检出率(55.43% vs 20.00%, $P < 0.01$)。两者在荧光模式、靶抗原细胞内定位上均有显著差异。两组人群的自身抗体阳性率随年龄增长而增高($P < 0.05$, $\chi^2 = 4.68$, $\chi^2 = 3.93$; $P < 0.05$, $\chi^2 = 5.93$,

■同行评议者

王健生, 副教授,
西安交通大学医学院第一附属医院
肿瘤外科

$\chi^2 = 3.86$), 在不同年龄段食管癌组皆显著高于对照组($P < 0.05$, $\chi^2 = 5.01$; $P < 0.01$, $\chi^2 = 9.43$, $\chi^2 = 18.1$). 在正常人及食管癌患者中女性自身抗体阳性率均明显高于男性($P < 0.01$, $\chi^2 = 8.34$, $\chi^2 = 6.90$).

结论: 食管癌患者中的自身抗体谱与正常人生理性自身抗体谱和自身免疫性疾病中的自身抗体谱不同, 有助于鉴别诊断健康人与癌症患者.

关键词: 食管癌; 自身抗体; 间接免疫荧光法

陈志刚, 李宏, 周迪, 杨军, 周婷, 秦江梅. 自身抗体与食管癌相关性的检测与分析92例. 世界华人消化杂志 2008; 16(5): 526-529
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/526.asp>

0 引言

食管癌的发病率在我国逐年增加, 且预后极差, 中晚期患者5年生存率仅10%左右^[1], 是一种恶性程度高、预后差, 严重危害人民健康的疾病. 其早期诊断异常困难, 由于早期患者缺乏特异症状, 首次就诊时约90%为中晚期^[2]. 而肿瘤患者体内查及自身抗体, 始报道于1972年, Whitehouse发现肿瘤患者体内存在抗平滑肌抗体. 20多年来国内外陆续报道了肿瘤患者体内存在抗细胞质或(和)细胞核成分的自身抗体^[3], 同时这很可能是一种肿瘤发生发展过程中的早期事件. 这些自身抗体有望成为鉴别诊断正常人与肿瘤患者的标志物^[4]. 国内外学者也曾研究食管癌, 并在食管癌患者血清检测到P53抗体^[1,5-9], 还有报道认为增殖细胞核抗原(PCNA)阳性表达与食管癌发生相关^[10-12]. 但目前对于食管癌患者体内自身抗体谱的系统研究的文献还很少, 对抗体谱及其靶抗原本质的研究将有助于深入认识食管癌患者的自身免疫现象, 为自身抗体应用于肿瘤诊断、治疗的潜在可能性提供更多信息. 我们用间接免疫荧光(indirect immunofluorescence, IIF)法分析食管癌患者及正常人血清中的自身抗体, 以探讨自身抗体与食管癌的相关性, 并为今后更深入认识食管癌中的自身免疫现象提供理论依据.

1 材料和方法

1.1 材料 经临床确诊的原发性食管癌患者92例, 男52例, 女40例, 年龄31-84(平均59.78)岁, 正常对照组源于正常体检者, 共135例, 其中男80例,

女55例, 年龄23-83(平均53.89)岁, IIF检测自身抗体试剂盒购自德国欧盟公司.

1.2 方法 IIF检测自身抗体试剂盒联合使用为已固定在载玻片上的人类上皮细胞(Hep-2)和灵长类肝脏组织切片这两种基质. 荧光二抗为FITC标记的羊抗人IgG. 实验步骤按试剂盒所附说明书进行, 滴度高于1:100者报告为阳性. 结果判定在石河子大学医学院一附院医学实验室进行, 同时, 由石河子大学医学院病理教研室及新疆医科大学病理教研室的专家对结果进行确定, 一致率达到90%以上.

统计学处理 阳性率间比较均采用性 χ^2 检验.

2 结果

2.1 IIF检验 血清由1:100稀释后, 92份经IIF检测的食管癌患者中, 51份(55.43%)自身抗体阳性, 显著高于正常对照组27(20.00%)的检出率($P < 0.01$, $\chi^2 = 30.46$). 将食管癌和对照组按年龄分为3组, 结果显示: 随着年龄增高, 两组阳性率都有增高趋势, 而各年龄段食管癌组皆显著高于对照组(表1).

2.2 荧光显微镜下观察自身抗体细胞内定位 食管癌组自身抗体阳性中以抗核质为主 52.94%(27/51), 其次为抗核仁35.29%(18/51), 胞质11.76%(6/51). 与此相比较, 对照组抗核质为77.78(21/27), 抗核仁18.52(5/27); 抗胞质3.70(1/27), 对照组抗核仁、抗胞质阳性率明显低于食管癌组. 分析银光图形, 肺癌组自身抗体显示出多种荧光图形, 包括核质细颗粒18份35.29%, 核质均质型4份(7.84%), 核质粗颗粒2份3.92%, Jo-1型3份5.88%. 抗胞质包括抗着丝点2例、抗溶酶体2例、抗高尔基体1例, 抗线粒体1份, 抗核仁阳性包括抗核仁形成区抗体14份, 抗核点型2份, 抗核少点型2份. 对照组抗体荧光类型不如食管癌组多样, 27份正常人阳性血清中, 细颗粒17份, 均质型2份, 粗颗粒2份, 抗着丝点1份, 看核仁形成区抗体5份. 另外本研究发现食管癌患者中女性阳性率72.50%(29/40), 男性40.38(22/52); 正常男性12.5(10/80), 女性30.90(17/55), 在食管癌患者及正常人中女性自身抗体阳性率均明显高于男性($\chi^2 = 8.34$, $\chi^2 = 6.90$, $P < 0.01$).

3 讨论

吕顺 *et al*^[13]报道, 肿瘤细胞能直接诱导机体产生抗核抗体(antinuclear antibody, ANA), 其没有种

■研究前沿

目前对食管癌的研究主要集中在相关基因及蛋白上, 对于食管癌患者体内自身抗体谱的系统研究还很少.

■相关报道

刘保池 *et al* 检测了河南食管癌高发区391例无症状居民的血清自身抗体, 得出结论: 血清肿瘤相关自身抗体检测有助于提高食管癌高发区无症状居民食管癌前和早期食管癌的检出率, 血清肿瘤相关自身抗体与食管上皮组织中相应肿瘤抗原的表达变化明显相关。

表 1 食管癌组和对照组不同年龄段自身抗体阳性率比较

年龄分组	食管癌		对照组	
	<i>n</i>	阳性率(%)	<i>n</i>	阳性率(%)
20-40	20	20.00 ^a	38	2.63
41-60	32	50.00 ^{bc}	38	15.79 ^c
≥ 61	40	75.50 ^{bce}	59	33.89 ^d

^a $P < 0.05$, $\chi^2 = 5.01$; ^b $P < 0.01$, $\chi^2 = 9.43$, $\chi^2 = 18.1$ vs 对照组;

^c $P < 0.05$, $\chi^2 = 4.68$, $\chi^2 = 3.93$ vs 20-40; ^d $P < 0.05$, $\chi^2 = 5.93$, $\chi^2 = 3.86$ vs 41-60。

属、构象和序列特异性; 癌症患者有较高的自身抗体检出率。但有关食管癌患者体内自身抗体的检出率国内外鲜见报道。为探讨自身抗体与食管癌的相关性, 为自身抗体应用于食管癌的潜在的潜在可能性提供更多的信息, 我们以人喉癌上皮细胞(Hep-2)及猴肝组织冰冻切片为基质, 采用IIF法对正常人和食管癌患者体内自身抗体进行研究。Hep-2细胞为目前国际通用的检测自身抗体的基质, 他具有以下优点: 作为人喉癌上皮细胞株, Hep-2含有人类的抗原, 其抗原谱较其他非人源性抗原更适合检测人的特异性抗体; 具有大而明显的细胞核, 镜下容易区分各种细胞核蛋白、核内细胞器抗体的银光模式; 细胞有丝分裂的比例较高, 容易检测到有丝分裂特异性蛋白及细胞器, 如着丝点、中间体等; 此外该细胞容易大规模培养, 制作基质片方便, 容易被标准化等。采用猴肝组织冰冻切片为基质的IIF, 其灵敏度虽低于前者, 但对抗可溶性肝抗原(SLA)等抗肝胆组织特异性抗体以及抗核仁成分抗体的灵敏度高, 同时其银光模式的观察, 有助于鉴别在Hep-2细胞中银光模式相似的自身抗体, 如SS-A/SS-B与RNP抗体等。

本研究结果证实, 食管癌中存在以自身抗体为表现的自身免疫现象。一定比例正常人存在着生理性自身抗体, 且随着年龄增长阳性率增加, 这与肿瘤发病率随年龄增长而增加相似, 因此, 对肿瘤患者的自身抗体是否具有肿瘤相关性, 或只是反映肿瘤的高龄发病性也存有争论。我们将正常对照组与食管癌组分为20-40, 41-60, 61岁以上3个年龄段。IIF检测结果显示, 两组在3个年龄段皆查及针对细胞不同成分的自身抗体随年龄增长阳性率皆增高, 但各年龄段食管癌组阳性率皆显著高于相应对照组。比较两组自身抗体的荧光图形和细胞内定位, 值得注意的是食管癌组荧光图形比对照组类型丰富, 特别是抗胞质、核仁阳性率高于对照组,

已知核仁、胞质内含有核糖体蛋白等, 是与细胞生长、增值过程密切相关的蛋白质, 这提示食管癌患者体内自身抗体相应的靶抗原可能是某些与细胞的生物合成或增值有关的蛋白质。国外学者曾报道肝癌中抗核仁抗体阳性率(6.56%)较正常人增高, 并鉴定出3种核仁内靶抗原: NOR-90/人类上游结合因子(Hubf)、原纤维蛋白、B23蛋白, 他们均参与核糖体RNA的处理过程, 在细胞生长和增值过程中这些蛋白质含量或活性均有明显升高^[14]。我们的研究说明食管癌组的抗体谱较正常人宽, 表明食管癌患者自身免疫反应不同于正常人生理性自身免疫反应。这些扩大的抗体谱可能是由于细胞转化或肿瘤进展过程中异常出现的某些新的胞内抗原, 诱发机体免疫系统针对这些新的抗原产生免疫反应; 也可能是由于癌基因在转化过程中伴随着某些正常蛋白质的过量表达, 刺激那些在胸腺发育过程中由于低量表达而逃开清除从而进化到外周的正常状态下无反应性T淋巴细胞, 导致非生理性的自身抗体产生。这就为用自身抗体鉴别诊断正常人与肿瘤患者, 甚至治疗肿瘤提供了理论上的可能性^[15]。另外我们发现在正常人及食管癌患者中女性自身抗体阳性率均明显高于男性($P < 0.01$), 具体原因有待于进一步探讨。刘保池 *et al*^[2]检测了河南食管癌高发区391例无症状居民的血清自身抗体, 得出结论: 血清肿瘤相关自身抗体检测有助于提高食管癌高发区无症状居民食管癌前和早期食管癌的检出率, 血清肿瘤相关自身抗体与食管上皮组织中相应肿瘤抗原的表达变化明显相关。李颖 *et al*^[16]对117例慢性丙型肝炎患者和30例健康体检者的血清中自身抗体进行检测, 阳性率分别为27.35%和3.33%。

目前, 自身免疫在不同疾病中的作用日益得到重视, 关于食管癌与自身抗体相关性的研究还不多见, 自身抗体的检测是否有助于食管癌的早期诊断和治疗, 这些自身抗体相对应靶抗原的阐明及其生物学和临床意义, 还有待今后继续探讨。

4 参考文献

- 1 杜芳, 王立东, 齐义军, 孙哲, 江亚南, 郭涛, 吕晓东, 李苹娟, 常志伟, 范宗民, 高珊珊, 何欣, 李吉林, 常扶保, 张建营. 食管和贲门癌及癌前病变患者血清中多个自身抗体的检测及其临床意义. 中华肿瘤防治杂志 2006; 13: 1289-1292
- 2 刘保池, 王立东, 杜芳, 冯常炜, 张延瑞, 刘宾, 杨孟选, 郭涛, 宋昕, 王茜, 何欣, 范宗民, 杜娟娟, 张建营, 张梅, 吴爱群. 肿瘤相关抗原与自身抗体检测对食管癌

■创新盘点

本文首次对食管癌患者血清自身抗体谱进行研究, 探讨自身抗体作为肿瘤标志物的可能性。

- 早期发现和高危人群预警的意义. 中华肿瘤防治杂志 2007; 14: 645-649
- 3 Lu F, Kalman B. Autoreactive IgG to intracellular proteins in sera of MS patients. *J Neuroimmunol* 1999; 99: 72-81
- 4 Okano HJ, Park WY, Corradi JP, Darnell RB. The cytoplasmic Purkinje onconeural antigen cdr2 down-regulates c-Myc function: implications for neuronal and tumor cell survival. *Genes Dev* 1999; 13: 2087-2097
- 5 季萍. 肿瘤患者血清中肿瘤自身抗体的产生及意义. 临床输血与检验 2005; 7: 76-78
- 6 王铭辉, 李艳萍, 王旭东, 张华, 熊利华, 黄洪铮. 血清 p53抗体与食管癌化疗敏感性的关系. 癌症 2004; 23: 467-470
- 7 Sato S, Kigawa J, Minagawa Y, Okada M, Shimada M, Takahashi M, Kamazawa S, Terakawa N. Chemosensitivity and p53-dependent apoptosis in epithelial ovarian carcinoma. *Cancer* 1999; 86: 1307-1313
- 8 Nasierowska-Guttmejer A, Szawlowski A, Jastrzebska M, Jeziorski K, Radziszewski J. p53 Protein accumulation as a prognostic marker of preoperative radiotherapy and/or chemotherapy in advanced squamous cell esophageal carcinoma--preliminary report. *Dis Esophagus* 1999; 12: 128-131
- 9 Zhang JY, Casiano CA, Peng XX, Koziol JA, Chan EK, Tan EM. Enhancement of antibody detection in cancer using panel of recombinant tumor-associated antigens. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003; 12: 136-143
- 10 符宝敏, 谭红文, 张庆远. PCNA和C-erbB-2食管癌的表达及临床意义. 中国实用医药 2007; 2: 61-62
- 11 赵光明, 赵卫星, 和瑞芝, 苏蔚, 张丽娟. 食管癌p53和PCNA的表达与局部体液免疫. 世界华人消化杂志 2001; 9: 714-715
- 12 周连亚, 段俊峰, 石彦涛, 李永军, 刘瑞林, 李书军. 食管鳞状细胞癌中p16、PCNA表达研究. 中国肿瘤 2005; 14: 345-346
- 13 吕顺, 恽小婧, 吴瑾, 郑秀娟, 吴厚生, 熊思东. 肿瘤细胞诱导抗双链DNA自身抗体的产生及其生物学特性. 现代免疫学 2004; 24: 9-12
- 14 Imai H, Ochs RL, Kiyosawa K, Furuta S, Nakamura RM, Tan EM. Nucleolar antigens and autoantibodies in hepatocellular carcinoma and other malignancies. *Am J Pathol* 1992; 140: 859-870
- 15 Ganss R, Limmer A, Sacher T, Arnold B, Hammerling GJ. Autoaggression and tumor rejection: it takes more than self-specific T-cell activation. *Immunol Rev* 1999; 169: 263-272
- 16 李颖, 徐鑫, 刘沛, 王雪莲, 王贵新. 慢性丙型肝炎患者自身抗体检测的临床意义. 肝脏 2007; 12: 17-19

■应用要点

本研究证明食管癌患者中的自身抗体谱与正常人生理性自身抗体谱不同, 为食管癌的早期诊断和治疗提供了新的思路, 也为自身抗体相对应靶抗原的阐明及其生物学和临床意义的研究打下基础。

■同行评价

本文研究内容新颖, 设计合理, 统计方法正确, 具有一定的科学性和可读性。

编辑 李军亮 电编 郭海丽

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2008年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

WCJD 和 WJG 即将开始实行网络版文章 与该文章发表前纪录的链接

本刊讯 WCJD和WJG即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传. 读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文. 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程. (总编辑: 马连生 2008-02-10)