

胰腺癌中FXVD6蛋白的表达及临床意义

刘军桂, 周宁新, 夏洪天, 李成刚, 李亚卓, 李崇辉

■背景资料

胰腺癌发病率在世界范围内呈明显上升趋势,在美国和日本其病死率占全部肿瘤病死率的第4位,也是我国十大恶性肿瘤之一。胰腺癌早期缺乏敏感及特异性的诊断方法,不易被早期发现,一旦临床确诊,多属中晚期,手术切除率低。FXVD6是一种新近发现的离子通道相关的单跨膜小分子蛋白,由于其对肿瘤的作用机制尚不清楚,是否可以作为肿瘤早期诊断的分子标志物还需要进一步研究。

刘军桂, 夏洪天, 李成刚, 李崇辉, 中国人民解放军总医院肝胆外科研究所 北京市 100853

周宁新, 中国人民解放军第二炮兵总医院肝胆胃肠研究所 北京市 100088

李亚卓, 中国人民解放军总医院病理科 北京市 100853

作者贡献分布: 本课题由刘军桂, 周宁新设计; 研究过程由刘军桂, 夏洪天, 李成刚, 李崇辉操作完成; 实验试剂及实验设备由李亚卓提供; 数据分析由刘军桂, 李成刚完成; 论文写作由刘军桂, 夏洪天, 李成刚完成。

国家自然科学基金资助项目, No. 39970724

通讯作者: 周宁新, 100088, 北京市, 中国人民解放军第二炮兵总医院肝胆胃肠研究所. zhounx301@163.com

电话: 010-66936602

收稿日期: 2007-11-05 修回日期: 2008-01-02

Expression of FXVD6 in pancreatic adenocarcinoma and its clinical significance

Jun-Gui Liu, Ning-Xin Zhou, Hong-Tian Xia, Cheng-Gang Li, Ya-Zhuo Li, Chong-Hui Li

Jun-Gui Liu, Hong-Tian Xia, Cheng-Gang Li, Chong-Hui Li, Institute of Hepatobiliary Surgery, General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100853, China

Ning-Xin Zhou, Institute of Hepatobiliary and Gastrointestinal Surgery, the Second Artillery Forces General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100088, China

Ya-Zhuo Li, Department of Pathology, General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100853, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 39970724

Correspondence to: Ning-Xin Zhou, Institute of Hepatobiliary and Gastrointestinal Surgery, the Second Artillery Forces General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100088, China. zhounx301@163.com

Received: 2007-11-05 Revised: 2008-01-02

Abstract

AIM: To investigate the expression of FXVD6 in pancreatic carcinoma and its clinical significance.

METHODS: Immunohistochemistry was used to detect the expression of FXVD6. The relation between the expression of FXVD6 and the clinical pathological factors was analyzed.

RESULTS: FXVD6 was expressed in 42 of 47 pancreatic carcinoma tissue samples. The positive expression rate of FXVD6 in 47 pancreatic cancer tissue samples was 89.34% (42/47). Compared to the expression of FXVD6 in normal pancreatic tissue samples, the expression of FXVD6

in pancreatic carcinoma tissue samples had a statistically significant difference ($\chi^2 = 10.8631$, $P = 0.0125$). According to the FXVD6 expression level, 47 patients were divided into high expression group and low expression group. There was no statistically significant difference in age, gender, tumor size and distant metastasis between the two groups, while there were statistical significances in tumor-differentiation degree ($\chi^2 = 11.562$, $P = 0.0031$), lymphatic metastasis ($\chi^2 = 4.1947$, $P = 0.0406$), TNM staging ($\chi^2 = 9.5995$, $P = 0.0223$). The expression level of FXVD6 protein was related to tumor size ($r = 0.2991$), differentiation degree ($r = 0.6980$), lymphatic metastasis ($r = 0.4971$) and distant metastasis ($r = 0.4967$).

CONCLUSION: FXVD6 protein plays an important role in the development and progression of pancreatic cancer.

Key Words: Pancreatic carcinoma; Immunohistochemistry; FXVD6 protein

Liu JG, Zhou NX, Xia HT, Li CG, Li YZ, Li CH. Expression of FXVD6 in pancreatic adenocarcinoma and its clinical significance. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(5): 540-543

摘要

目的: 探讨FXVD6蛋白在胰腺癌中的表达及临床意义。

方法: 应用免疫组化法检测FXVD6蛋白在胰腺癌中的表达, 并分析其与临床病理因素的关系。

结果: 47例胰腺癌病例中, FXVD6蛋白阳性表达42例, 阳性表达率为89.34%, 而正常胰腺组织中不表达或低表达, 两组相比有显著性差异($\chi^2 = 10.8631$, $P = 0.0125$)。按FXVD6蛋白表达程度将47例胰腺癌病例分为高表达组和低表达组, 两组年龄、性别、肿瘤大小及远处转移之间的差异无统计学意义, 而肿瘤分化程度($\chi^2 = 11.562$, $P = 0.0031$)、淋巴转移($\chi^2 = 4.1947$, $P = 0.0406$)、TNM分期($\chi^2 = 9.5995$, $P = 0.0223$)之间的差异有显著统计学意义, 肿瘤分化程度低、出现淋巴转移、TNM分期为Ⅲ

■同行评议者

沈柏用, 副教授, 上海交通大学医学院附属瑞金医院肝胆胰外科中心

-IV期的胰腺癌组织中FXYP6蛋白表达明显增高。Spearman等级相关分析显示, FXYP6蛋白表达程度与肿瘤大小($r = 0.2991$)、分化程度($r = 0.6980$)、淋巴转移($r = 0.4971$)、远处转移相关($r = 0.4967$)。

结论: FXYP6蛋白在胰腺癌发病机制中发挥重要作用。

关键词: 胰腺癌; 免疫组织化学; FXYP6蛋白

刘军桂, 周宁新, 夏洪天, 李成刚, 李亚卓, 李崇辉. 胰腺癌中FXYP6蛋白的表达及临床意义. 世界华人消化杂志 2008; 16(5): 540-543
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/540.asp>

0 引言

FXYP6(FXYP domain-containing ion transport regulator 6, FXYP6)是一种新近发现的离子通道相关的单跨膜小分子蛋白。我们在前期的研究中发现FXYP6蛋白在胆管癌的演变过程中发挥重要作用^[1-2], 鉴于胰腺和肝外胆管有着共同的胚胎学起源, 发生于这些部位的胰腺导管上皮癌和胆管癌具有相似的组织学特征, 我们推测FXYP6蛋白在胰腺癌的发生和发展中也可能具有重要的作用。本研究旨在通过检测FXYP6蛋白在胰腺癌中的表达情况, 初步探讨其临床意义。

1 材料和方法

1.1 材料 收集2006-01/2006-11中国人民解放军总医院肝胆外科因胰头导管腺癌行胰十二指肠切除手术的标本47例, 所有标本均经病理学证实, 其中男28例, 女19例, 年龄26-71(平均54.1)岁。术前未经过任何化疗和放疗。临床病理特征按年龄、性别、肿瘤大小、淋巴转移、远处转移、肿瘤分化程度和临床分期进行分组, 临床分期采用胰腺癌TNM分期。正常胰腺组织6例, 男5例, 女1例, 年龄21-56(平均43.2)岁, 由我科器官移植供体获得。FXYP6兔抗人多克隆抗体由本课题组前期研究制备, 通用型二步法免疫组化检测试剂盒由福建迈新生物技术公司提供。

1.2 方法 采用PV 6000二步法检测FXYP6蛋白的表达。标本经40 g/L甲醛固定, 石蜡包埋, 4 μ m连续切片, 常规脱蜡、枸橼酸盐抗原修复, 滴加内源性过氧化物酶阻断剂室温孵育10 min, 滴加一抗FXYP6(1:100), 4℃过夜, 滴加通用型IgG抗体37℃孵育30 min, DAB显色, 苏木精复

表 1 FXYP6蛋白在正常胰腺和胰腺癌中的表达

分组	n	FXYP6(n)				P
		-	+	++	+++	
胰腺癌	47	5	13	18	11	0.0125
正常胰腺	8	3	5	0	0	

染, 中性树胶封片后镜下观察。以PBS代替一抗作为阴性对照。以胞质和(或)胞膜出现明显的深棕色或棕黄色颗粒为FXYP6染色阳性。每例标本随机取2张切片进行高倍镜观察($\times 400$), 每张切片分别随机选10个视野, 每个视野计数100个肿瘤细胞中的染色阳性细胞数, 计算阳性细胞平均百分数, 并根据肿瘤细胞中FXYP6蛋白染色的范围, 将染色分为“0-3+”4级(3+: $>50\%$; 2+: $10\%-50\%$; +: $<10\%$; 0: 无染色)。“2+”与“3+”级归为高表达组, “0”与“+”归为低表达组。

统计学处理 应用SPSS13.0统计分析软件进行数据分析, 包括 χ^2 检验或Fisher确切概率检验, 并进行Spearman等级相关分析。

2 结果

2.1 FXYP6蛋白在正常胰腺组织、胰腺癌中的表达 FXYP6蛋白棕黄色染色颗粒位于胞膜和(或)胞质, 以胞膜为主。胰腺癌中FXYP6呈阳性表达, 阳性表达率为89.34%(42/47), 正常胰腺组织中不表达或微弱表达, 两种组织中的表达程度差异有显著统计学意义($\chi^2 = 10.8631$, $P = 0.0125$)(表1)。

2.2 FXYP6蛋白表达与临床病理特征之间的关系 FXYP6低表达组与高表达组之间, 年龄、性别、肿瘤大小及远处转移的差异无统计学意义($\chi^2 = 0.1325$, 1.1634, 3.1006, 1.0475; $P = 0.7159$, 0.2808, 0.0783, 0.3061), 而肿瘤分化程度、淋巴转移、TNM分期的差异有统计学意义($\chi^2 = 11.562$, 4.1947, 9.5995; $P = 0.0031$, 0.0406, 0.0223)(表2)。Spearman等级相关分析显示, FXYP6蛋白表达程度与肿瘤大小、分化程度、淋巴转移、远处转移相关($r = 0.2991$, 0.6980, 0.4971, 0.4967; $P < 0.05$)。

3 讨论

目前认为胰腺癌的发生发展是一个多基因、多步骤、多阶段的复杂过程, 在不同的发展阶段有不同的基因改变和肿瘤标志物的表达。研究

■创新盘点

本文应用免疫组化法检测FXYP6蛋白在胰腺癌中的表达, 并分析其与临床病理因素的关系。

■应用要点

FXYP6蛋白可能是一个潜在的肿瘤相关蛋白,其对于肿瘤临床分期的判断、手术方式的选择及手术范围具有指导作用。

表 2 FXYP6蛋白表达与胰腺癌临床病理特征的关系

临床病理因素		FXYP6		χ^2	P
		低表达(n)	高表达(n)		
年龄	≤60岁	9	23	0.1325	0.7159
	>60岁	5	10		
性别	男	10	18	1.1634	0.2808
	女	4	15		
肿瘤大小	≤3 cm	9	12	3.1006	0.0783
	>3 cm	5	21		
淋巴转移	有	1	12	4.1947	0.0406
	无	13	21		
远处转移	有	0	5	1.0475	0.3061
	无	14	28		
分化程度	高	1	0	11.5620	0.0031
	中	13	14		
	低	1	19		
TNM分期	I	3	13	9.5995	0.0223
	II	6	8		
	III	5	7		
	IV	0	15		

发现FXYP蛋白家族的多个成员在胰腺癌的发病机制中发挥着重要作用,如FXYP3在胰腺癌中的表达不仅远远高于正常胰腺组织,而且也高于慢性胰腺炎组织。体外实验显示FXYP3的过表达可以增加胰腺癌组织的分裂增殖能力^[3-5];另外FXYP5与胰腺癌的浸润及淋巴转移密切相关,FXYP5强阳性表达被认为是两个独立危险预后因素之一,其作用机制可能是通过影响E-钙黏蛋白实现的^[6-7]。

FXYP6蛋白是FXYP家族新成员,其mRNA由Yamaguchi *et al*^[8]首先在大鼠脑和肾脏中克隆获得。染色体比较基因组杂交结果表明,11号染色体长臂是包括胆管癌、胰腺癌在内的多种肿瘤细胞最常见的异常区域^[9],主要表现为11号染色体长臂的部分或全部获得,而人fxyp6基因正是定位于11号染色体长臂(11q23.3)。初步的研究表明FXYP6只在脑中表达,并作用于成年大鼠中枢神经元的兴奋。我们前期发现,从正常胆管上皮细胞、高分化胆管癌细胞到低分化胆管癌细胞,FXYP6 mRNA含量依次递增,其表达与胆管癌分化程度呈负性相关^[10-12];hFXYP6反义核酸可以明显抑制人胆管癌细胞的体外增殖能力,推测FXYP6基因及其表达产物在胆管癌的发生和发展中可能具有重要的作用^[2]。

本实验研究显示FXYP6蛋白在胰腺癌组织中呈高表达,而在正常胰腺组织中不表达或低

表达,提示FXYP6在胰腺癌的发病机制中发挥一定作用。在对FXYP6蛋白与临床病理特征之间关系的分析中,我们发现随着胰腺癌分化程度的由高到低,FXYP6蛋白免疫反应强度逐渐增强;在出现淋巴转移的胰腺癌组织中,FXYP6蛋白表达也明显增强。上述结果表明,FXYP6蛋白高表达者,其肿瘤细胞的分化程度较差,恶性程度较高,易发生淋巴结转移,这提示我们对于临床中FXYP6蛋白高表达的胰腺癌病例,即使术中未见有明显的淋巴转移,也要扩大手术范围,进行周围淋巴清扫。另外,我们还发现不同TNM分期FXYP6蛋白的表达有明显的差异,II-IV期胰腺癌组织中的FXYP6蛋白表达要明显高于在I-II期的表达,因此术中测定FXYP6蛋白的表达程度有助于术中胰腺癌的正确分期,对于手术方式及范围具有指导意义。

FXYP6蛋白与胰腺癌的发生、发展密切相关,可能是一个潜在的肿瘤相关蛋白,但是其作用机制还不是很清楚。鉴于FXYP6是Na⁺/K⁺-ATP酶的组织特异性调节蛋白^[13-16],推测FXYP6可能通过调节Na⁺/K⁺-ATP酶的活性而影响肿瘤细胞的分化和增殖,具体机制有待于进一步探讨。

4 参考文献

- 1 万涛,倪彬,刘建伟,叶玲,周宁新.人胆管癌相关基因CCR-L2/FXYP6大片段克隆与鉴定.中华实验外科杂志 2003; 20: 393-395
- 2 窦春青,岳鑫,周宁新. hFXYP6反义核酸对胆管癌细胞体外增殖和侵袭能力的影响. 世界华人消化杂志 2007; 15: 929-935
- 3 Kaye H, Kleeff J, Kolb A, Ketterer K, Keleg S, Felix K, Giese T, Penzel R, Zentgraf H, Buchler MW, Korc M, Friess H. FXYP3 is overexpressed in pancreatic ductal adenocarcinoma and influences pancreatic cancer cell growth. *Int J Cancer* 2006; 118: 43-54
- 4 Iacobuzio-Donahue CA, Maitra A, Olsen M, Lowe AW, van Heek NT, Rosty C, Walter K, Sato N, Parker A, Ashfaq R, Jaffee E, Ryu B, Jones J, Eshleman JR, Yeo CJ, Cameron JL, Kern SE, Hruban RH, Brown PO, Goggins M. Exploration of global gene expression patterns in pancreatic adenocarcinoma using cDNA microarrays. *Am J Pathol* 2003; 162: 1151-1162
- 5 Friess H, Ding J, Kleeff J, Fenkell L, Rosinski JA, Guweidhi A, Reidhaar-Olson JF, Korc M, Hammer J, Buchler MW. Microarray-based identification of differentially expressed growth- and metastasis-associated genes in pancreatic cancer. *Cell Mol Life Sci* 2003; 60: 1180-1199
- 6 Shimamura T, Yasuda J, Ino Y, Gotoh M, Tsuchiya A, Nakajima A, Sakamoto M, Kanai Y, Hirohashi S. Dysadherin expression facilitates cell motility and metastatic potential of human pancreatic cancer cells. *Cancer Res* 2004; 64: 6989-6995
- 7 Izumi T, Oda Y, Hasegawa T, Nakanishi Y, Iwasaki H, Sonobe H, Goto H, Kusakabe H, Takahira T, Kobayashi C, Kawaguchi K, Saito T, Yamamoto H,

- Tamiya S, Iwamoto Y, Tsuneyoshi M. Prognostic significance of dysadherin expression in epithelioid sarcoma and its diagnostic utility in distinguishing epithelioid sarcoma from malignant rhabdoid tumor. *Mod Pathol* 2006; 19: 820-831
- 8 Yamaguchi F, Yamaguchi K, Tai Y, Sugimoto K, Tokuda M. Molecular cloning and characterization of a novel phospholemman-like protein from rat hippocampus. *Brain Res Mol Brain Res* 2001; 86: 189-192
- 9 Rijken AM, Hu J, Perlman EJ, Morsberger LA, Long P, Kern SE, Hruban RH, Yeo CJ, Griffin CA. Genomic alterations in distal bile duct carcinoma by comparative genomic hybridization and karyotype analysis. *Genes Chromosomes Cancer* 1999; 26: 185-191
- 10 张效东, 周宁新, 卢柏松, 贾熙华, 黄培堂. 不同分化胆管癌差异表达基因的分离、克隆和功能研究. *中华外科杂志* 2002; 40: 399
- 11 张效东, 周宁新, 卢柏松, 贾熙华, 黄培堂. 不同分化胆管癌间差异表达基因的研究. *消化外科* 2002; 1: 13-15
- 12 张效东, 周宁新, 卢柏松, 黄培堂. 应用基因芯片技术比较两种不同表型的胆管癌组织中基因表达的差异. *消化外科* 2002; 1: 181-184
- 13 Delprat B, Bibert S, Geering K. FXYP proteins: novel regulators of Na,K-ATPase. *Med Sci (Paris)* 2006; 22: 633-638
- 14 Geering K. FXYP proteins: new regulators of Na-K-ATPase. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006; 290: F241-F250
- 15 Geering K, Beguin P, Garty H, Karlsh S, Fuzesi M, Horisberger JD, Crambert G. FXYP proteins: new tissue- and isoform-specific regulators of Na,K-ATPase. *Ann N Y Acad Sci* 2003; 986: 388-394
- 16 Lindzen M, Gottschalk KE, Fuzesi M, Garty H, Karlsh SJ. Structural interactions between FXYP proteins and Na⁺,K⁺-ATPase: alpha/beta/FXYP subunit stoichiometry and cross-linking. *J Biol Chem* 2006; 281: 5947-5955

■同行评价

本研究设计科学, 统计方法合理, 结论可靠, 但结果不够具体, 讨论需进一步深入。

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 ●

欢迎订阅 2008 年《世界华人消化杂志》

本刊讯 《世界华人消化杂志》为中国科技核心期刊、2003年百种中国杰出学术期刊、《中文核心期刊要目总览》2004年版内科学类的核心期刊、中国科技论文统计源期刊,《世界华人消化杂志》发表的英文摘要被美国《化学文摘(Chemical Abstracts)》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica)》, 俄罗斯《文摘杂志(Abstracts Journals)》收录。

《世界华人消化杂志》综合介绍以下内容: 消化基础研究、消化临床研究、消化内科、消化内镜、消化外科、消化肿瘤、消化介入治疗、消化护理、消化医学影像、消化病理、消化预防医学、消化误诊误治、消化中西医结合、消化检验、消化新技术应用、消化病诊断、消化病治疗、消化新药应用。

《世界华人消化杂志》2008年由北京报刊发行局发行, 国际标准刊号 ISSN 1009-3079, 国内统一刊号 CN 14-1260/R, 邮发代号82-262, 出版日期每月8, 18, 28日, 月价72.00, 年价864元。欢迎广大消化科医务工作者及科教人员、各大图书馆订阅。联系地址: 100023, 北京市2345信箱。联系电话: 010-85381901-1020; 传真: 010-85381893; E-mail: wjcd@wjgnet.com; <http://www.wjgnet.com>。