

α -1-酸性糖蛋白在结直肠癌组织中的 诊断和预后意义

韩璐 江勇 韩东兴

上海建工医院普外科, 上海 200083

[关键词] α -1-酸性糖蛋白; 结直肠癌; 免疫组化

DOI: 10.3969/j.issn.1007-3969.2014.01.012

中图分类号: R735.3+5 文献标志码: A 文章编号: 1007-3639(2014)01-0069-04

据文献报道, 2008年全世界新发结直肠癌病例有120万例, 死亡60万例^[1], 是发生率和死亡率较高的恶性肿瘤之一。 α -1-酸性糖蛋白(alpha-1-acid glycoprotein, AGP)是一种非特异性急性时相反应蛋白, 相对分子质量为 44×10^3 , 是人类血清中含糖量最高(约45%)、酸性最强(PI: 2.7~3.5)的糖蛋白。近年来, 有报道称AGP或其异型体在结直肠癌患者血清和组织中的浓度及表达水平增高, 可作为诊断标志物^[2-3]。本研究通过检测结直肠癌患者癌组织中AGP的水平, 旨在阐明AGP与结直肠癌的临床病理学参数和预后的关系。

1 材料和方法

1.1 研究对象

2005年8月—2011年9月, 上海建工医院普外科收治的结直肠癌患者40例, 其中男性23例, 女性17例。所有患者均经术后病理确诊, 其临床资料与病理资料完整, 且术前未接受放疗、化疗及其他针对肿瘤的治疗。40例患者具有完整的随访资料。其中26例患者有配对的黏膜, 本研究将其作为对照。

1.2 试剂和方法

血清CEA和血清CA19-9阳性依据检验科报告判断。AGP鼠抗人多克隆抗体(PA1-26225)购于Thermo Scientific公司, 免疫组化采用EnVision两步法, 显色采用基因科技公司的二步法抗兔/鼠通用免疫组化

检测试剂盒(EnVision试剂盒, GK500705)。苏木精复染后经水洗, 分化, 梯度酒精和二甲苯后风干, 封片。实验步骤按试剂盒说明进行, 用磷酸盐缓冲液代替一抗作为阴性对照, 以已知阳性片作为阳性对照。

1.3 结果判定

AGP的表达以细胞质出现棕黄色颗粒为阳性, 评分标准根据Croce等^[2]报道的方法, 稍作改进, 简述如下。染色反应强度及阳性细胞数分为4级: 阴性(-)为细胞不着色或阳性细胞数 $< 10\%$; 弱阳性(+)为细胞内出现浅棕黄色颗粒或阳性细胞数为 $10\% \sim 25\%$; 阳性(++)为细胞内出现棕黄色颗粒或阳性细胞数为 $26\% \sim 50\%$; 强阳性(+++)为细胞内出现深棕黄色颗粒或阳性细胞数 $> 50\%$ 。每张切片选取4个视野观察后进行评分, 并计算平均值作为评分结果。结直肠癌组织中AGP蛋白的表达(-)和(+)定义为低表达, (++)和(+++)定义为高表达。

1.4 统计学处理

采用 χ^2 检验和四格表的精确概率法, 在统计软件SPSS 13.0上对各指标表达与临床参数之间进行统计学处理, 采用Kaplan-Meier法进行生存分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 结直肠癌组织和黏膜组织中AGP的表达

AGP主要在结直肠癌组织的细胞质中表达, 而在黏膜组织的细胞质中基本不表达(图1)。AGP在40例结直肠癌组织中(-)表达1例(2.5%), (+)表达9例(22.5%), (++)表达17例(42.5%), (+++)表达13例(32.5%)。AGP在26例黏膜

组织中(-)表达14例(53.8%), (+)表达5例(19.2%), (++)表达6例(23.1%), (+++)表达1例(3.8%)。根据上述方法中的AGP表达的分类标准, 40例结直肠癌组织中AGP高表达占75.0%, 低表达占25.0%, 而在26例黏膜组织中AGP高表达占26.9%, 低表达占73.1%, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。

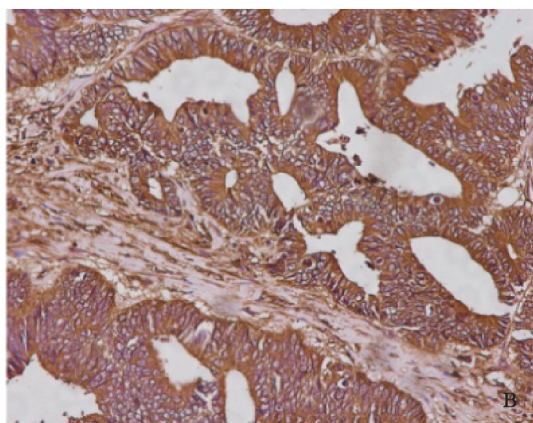
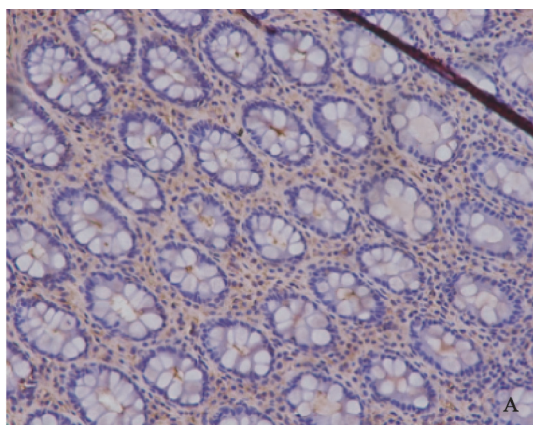


图1 AGP在结直肠癌和黏膜组织中的表达情况

Fig. 1 Expression of AGP in mucosa and colorectal cancer by immunohistochemistry staining

($\times 200$)

A: AGP was negative in mucosa. B: AGP was positive in colorectal cancer tissue.

2.2 结直肠癌组织中AGP的表达水平与临床病理参数的关系

结直肠癌组织中AGP表达与患者年龄($P=0.002$)、T分期($P=0.038$)相关, 而与性别、血清CEA、血清CA19-9、

分化程度、N分期、M分期、肿瘤大小均无关($P > 0.05$, 表1)。

2.3 血清CEA、CA19-9及结肠癌组织AGP表达水平与预后的关系

Kaplan-Meier法生存分析结果发现, 血清CEA虽然有提示预后的趋势, 但不具有统计学意义($P=0.081$, 图2A)。血清CA19-9表达阳性患者的预后比阴性患者差, 且差异有统计学意义($P=0.004$, 图2B)。AGP在结直肠癌组织中的表达水平与预后不相关($P=0.654$, 图2C)。

表1 AGP在结直肠癌中的表达水平与临床病理参数的关系

Tab. 1 The correlation of expression of AGP with clinicopathologic characteristic of colorectal cancer patients

Characteristics	AGP		P value
	Low	High	
Gender			0.58
Female	5	12	
Male	5	18	
Age/year			0.002
≤ 57	9	10	
> 57	1	20	
CEA			0.426
Normal	8	20	
High	2	10	
CA199			0.853
Normal	6	17	
High	4	13	
Deferentiation			1.000
Moderate	9	27	
Poor	1	3	
T-stage			0.038
T ₂	2	0	
T ₃	8	29	
T ₄	0	1	
N-stage			1.000
N ₀	5	15	
N ₁	5	15	
M-stage			1.000
M ₀	4	12	
M ₁	6	18	
TNM			1.000
II	2	6	
III	2	6	
IV	6	18	
Tumor size/cm			0.346
≤ 3	5	10	
> 3	5	20	

P values were from χ^2 tests.

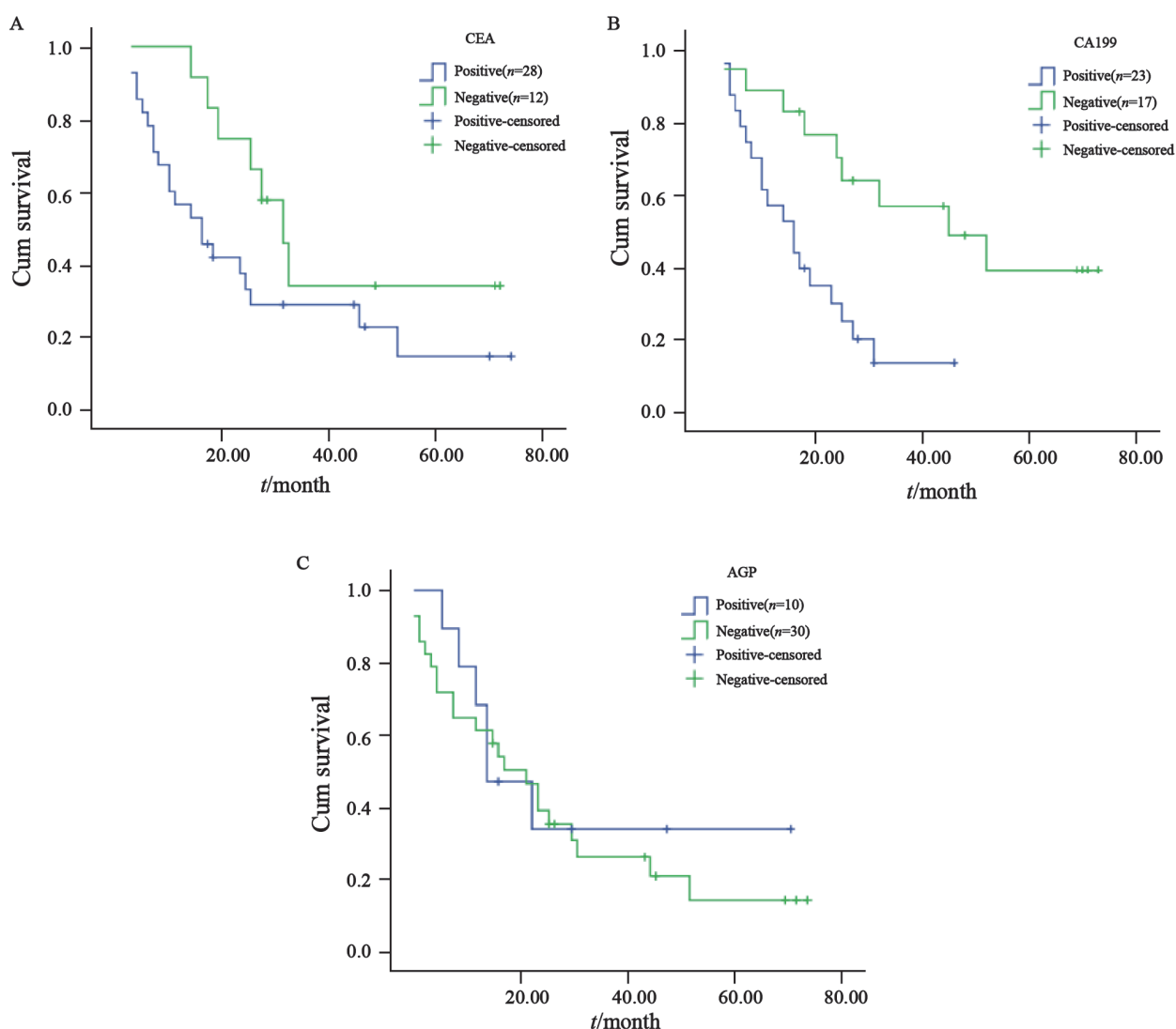


图 2 血清CEA、CA19-9及结直肠癌组织中AGP表达与预后的关系

Fig. 2 Relationship between the serum CA19-9, serum CEA, expression of AGP and overall survival

3 讨 论

AGP是一种非特异性急性时相反应蛋白，其血浆浓度可能会在急性炎症反应或慢性疾病时增加数倍^[4]。AGP主要有两个截然不同的生物学功能，一个是具有结合内源性物质和药物的功能，另一个是具有强力的免疫调节功能^[5]。近年来，对AGP及异型体的结构、生物学功能的研究日益增多^[6-7]。另外，AGP可作为肿瘤标志物的报道也日益增多^[8-10]。结直肠癌是严重威胁人类健康的常见恶性肿瘤之一，全世界每年新增约100万例，仅中国就有15万例。Brock等^[11]报道AGP可作为诊断结直

肠癌的血清标志物组合的一员。而既往对AGP在结直肠癌组织中的表达水平与临床病例参数的相关性分析的报道较少。

本研究探讨了结直肠癌组织和正常黏膜中AGP和临床病理参数和预后的相关性。结果显示，AGP在结直肠癌组织中高表达，在黏膜中低表达，与Croce等^[2]的报道相符。AGP在结直肠癌组织中的表达水平与患者年龄、T分期相关，而与性别、分化程度、肿瘤大小、N分期、M分期、TNM、血清CEA、血清CA19-9无关，提示其可作为独立的诊断因子。AGP在结直肠癌组织中的表达与总生存期不相关。

综上所述，结直肠癌组织中AGP高表达，可作为结

直肠癌的免疫组化标志物, 而结直肠癌组织中AGP表达水平与结直肠癌患者预后的相关性, 有待于进一步大样本量的研究。

[参 考 文 献]

- [1] JEMAL A, BRAY F, CENTER M M, et al. Global cancer statistics [J]. *CA Cancer J Clin*, 2011, 61(2): 69-90.
- [2] CROCE M V, SÁLICE VC, LACUNZA E, et al. Alpha 1-acid glycoprotein (AGP): a possible carrier of sialyl lewis X (slewis X) antigen in colorectal carcinoma [J]. *Histol Histopathol*, 2005, 20(1): 91-97.
- [3] ZHANG X, XIAO Z, LIU X, et al. The potential role of ORM2 in the development of colorectal cancer [J]. *PLoS One*, 2012, 7(2): e31868. doi: 10.1371/journal.pone.0031868.
- [4] CECILIANI F, POCACQUA V. The acute phase protein alpha1-acid glycoprotein: a model for altered glycosylation during diseases [J]. *Curr Protein Pept Sci*, 2007, 8(1): 91-108.
- [5] JOHNSON J A, LIVINGSTON T N. Differences between blacks and whites in plasma protein binding of drugs [J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 1997, 51(6): 485-488.
- [6] IMRE T, SCHLOSSER G, POCSFALVI G, et al. Glycosylation site analysis of human alpha-1-acid glycoprotein (AGP) by capillary liquid chromatography-electrospray mass spectrometry [J]. *J Mass Spectrom*, 2005, 40(11): 1472-1483.
- [7] BUDAI L, OZOHANICS O, LUDÁNYI K, et al. Investigation of genetic variants of alpha-1 acid glycoprotein by ultra-performance liquid chromatography-mass spectrometry [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2009, 393(3): 991-998.
- [8] BISCHOFF R, LUIDER T M. Methodological advances in the discovery of protein and peptide disease markers [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2004, 803(1): 27-40.
- [9] DAVIS M T, AUGER P, SPAHR C, et al. Cancer biomarker discovery via low molecular weight serum proteome profiling-Where is the tumor? [J]. *Proteomics Clin Appl*, 2007, 1(12): 1545-1558.
- [10] PATAI K, DEVENYI L, HUBAY M, et al. Phosphor/sulphur ratio: an indicator of malignant uterus change [J]. *Oncol Res*, 2005, 15(4): 215-217.
- [11] BROCK R, XIONG B, LI L, et al. A multiplex serum protein assay for determining the probability of colorectal cancer [J]. *Am J Cancer Res*, 2012, 2(5): 598-605.

(收稿日期: 2013-09-17 修回日期: 2013-12-15)