

PRR11蛋白在人胰腺癌中的表达及其意义

陶家寿, 李云峰, 罗晓, 陈梅福

湖南师范大学第一附属医院肝胆外科, 湖南 长沙 410005

[摘要] 背景与目的: 近期研究发现, 新基因 $PRR11$ 在肺癌和胃癌中表达异常, 推测可能与肿瘤进展有关。本研究探讨 $PRR11$ 蛋白在人胰腺癌中的表达, 并探讨其与胰腺癌临床病理参数之间的关系。方法: 采用免疫组织化学SP法检测32例人胰腺癌组织、20例癌旁组织和6例正常胰腺组织中的 $PRR11$ 蛋白的表达, 并采用 χ^2 检验分析 $PRR11$ 蛋白的表达水平与临床病理参数(年龄、性别、肿瘤大小、肿瘤部位、分化程度、淋巴结转移和TNM分期)之间的关系。结果: $PRR11$ 蛋白在胰腺癌组、癌旁组织组和正常胰腺组织组的阳性表达率分别为78.1%(25/32)、5.0%(1/20)和0.0%(0/6), 胰腺癌组的表达显著高于癌旁组织组及正常胰腺组织组($P<0.05$), 其在胰腺癌组织中的表达情况与分化程度、TNM分期有关($P<0.05$), 但与年龄、性别、肿瘤大小、肿瘤部位、有无淋巴结转移无关($P>0.05$)。生存分析显示, $PRR11$ 蛋白阳性组患者的生存率低于阴性组($P<0.05$)。结论: 检测 $PRR11$ 蛋白在胰腺癌中的表达, 有望成为判断胰腺癌预后的一个指标。

[关键词] 胰腺癌; $PRR11$ 蛋白; 免疫组化

DOI: 10.3969/j.issn.1007-3969.2015.03.004

中图分类号: R735.9 文献标志码: A 文章编号: 1007-3639(2015)03-0179-05

The expression and significance of PRR11 protein in human pancreatic carcinoma TAO Jiashou, LI Yunfeng, LUO Xiao, CHEN Meifu (Department of Hepatobiliary Surgery, the First Affiliated Hospital of Hunan Normal University, Changsha Hunan 410005, China)

Correspondence to: CHEN Meifu E-mail: chen_meifu@126.com

[Abstract] **Background and purpose:** Recent studies have shown that, the new gene $PRR11$ had abnormal expression in lung cancer, stomach cancer, speculated that it might be correlated with tumor progression. This study aimed to detect the expression of $PRR11$ protein in human pancreatic carcinoma, and to analyze the relationship between $PRR11$ protein level and the clinical pathological parameters of pancreatic carcinoma. **Methods:** Immunohistochemistry (SP) method was used to detect the expression of $PRR11$ protein in 32 cases of human pancreatic cancer tissues, 20 cases of paracancerous tissues and 6 cases of normal pancreatic tissue. Chi Square test was used to analyze the relationship between the expression levels of $PRR11$ protein and the clinical pathological parameters (age, gender, the size of tumor, the location of tumor, differentiation, lymph node metastasis and TNM stage). **Results:** The positive expression rates of $PRR11$ protein in pancreatic cancers, paracancerous tissues and normal pancreatic tissues were 78.1% (25/32), 5.0% (1/20) and 0.0% (0/6), respectively. The expression level of $PRR11$ in pancreatic cancer tissues was significantly higher than those in paracancerous tissues or normal tissues. The positive expression rate of $PRR11$ protein in pancreatic carcinoma was significantly associated with cell differentiation degree and TNM stage ($P<0.05$), but not associated with patient age, gender, the size of tumor, the location of tumor and lymph node metastasis ($P>0.05$). Survival analysis demonstrated that the survival rate in the patients with $PRR11$ protein positive expression was significantly lower than the patients with negative expression ($P<0.05$). **Conclusion:** $PRR11$ protein can be a possible prognostic indicator of pancreatic cancer.

[Key words] Pancreatic carcinoma; $PRR11$ protein; Immunohistochemistry

胰腺癌是消化道肿瘤中非常致命的恶性肿瘤之一。在全球, 胰腺癌的发病率不断上升, 且5

年生存率只有5%, 这个数字在过去的25年大致维持不变^[1-2]。我国胰腺癌的发病率和确诊率也在逐年增加^[3], 由于受胰腺解剖学和胰腺癌生

物学特征的影响, 胰腺癌早期易侵犯周围组织器官并发生远处转移, 而且临床确诊时, 大多数患者已失去根治性手术的机会^[4], 而能行根治性手术的患者有80%会在2年之内发生局部复发或远处转移^[5]。

PRR11是位于染色体17q22的新基因, 而该基因位于17q23扩增区, 17q23的拷贝区在脑瘤、肺癌、乳腺癌及卵巢癌等多种肿瘤上显著增加且其扩增与多种肿瘤的发展、恶化和预后有关^[6]。其在肺癌、胃癌中高表达, 且与疾病进展存在相关性^[7-8], 但其与胰腺癌的关系尚不明确。本研究应用免疫组织化学SP法检测PRR11蛋白在胰腺癌中的表达情况, 并探讨其与胰腺癌临床病理各参数之间的关系。

1 材料和方法

1.1 一般情况

收集2010年1月—2014年7月在湖南省人民医院32例经手术切除并经病理证实为胰腺癌的蜡块组织标本, 所有病例术前均未行放化疗; 另选取20例癌旁组织(距离肿瘤边缘2 cm以上的组织, 经病理学证实无癌组织)标本及6例正常组织(距良性肿瘤边缘1 cm以上的胰腺组织)标本作为对照。胰腺癌患者的年龄范围为24~79岁, 中位年龄为60岁; 根据国际抗癌联盟(Union for International Cancer Control, UICC)2002年第六版TNM分期: I期和II期29例, III期3例; 按病理组织学将分化程度分为: 高分化4例, 中分化20例, 低分化8例; 有淋巴结及远处转移7例, 无淋巴结及远处转移25例。

1.2 试剂和方法

手术标本经5 μm 厚连续切片, PRR11为兔抗人多克隆抗体(购自美国Sigma公司, HPA023923), SP免疫组化染色试剂盒(购自北京康为世纪生物科技有限公司, 06062012), 具体操作步骤严格按照说明书进行, PRR11抗体工作浓度为1:50, 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜。每张切片随机取5个视野, 每个视野计数200个细胞左右, 在相同光强度及放大倍数($\times 400$)等条件下由两位有丰

富经验的相关专业人员进行判定评分。具体参考Richardson等^[9]提倡的评分标准, 采用染色强度及阳性细胞数进行半定量判定。染色强度的评分标准: 不着色为0分; 淡黄色为1分; 棕黄色为2分; 黄褐色为3分。显微镜下阳性细胞数所占百分比的评分标准: 无阳性细胞为0分; $\leq 10\%$ 为1分; $10\% \sim 50\%$ 为2分; $50\% \sim 75\%$ 为3分; $> 75\%$ 为4分。将染色强度分数和阳性细胞百分比的分数相乘为最后评分, 其中 ≤ 3 分为阴性, > 3 分为阳性。

1.3 统计学处理

实验数据采用SPSS 19.0软件进行统计分析, 采用 χ^2 检验分析PRR11蛋白在胰腺癌组、癌旁组和正常胰腺组织组3个分组中的表达情况, 再用 χ^2 分割法进行两两比较; 采用 χ^2 检验分析PRR11蛋白的表达与胰腺癌临床病理参数之间的关系。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 免疫组织化学检测PRR11蛋白表达结果

PRR11蛋白主要定位在细胞质, 少量在细胞膜(图1); 在32例人胰腺癌组织中, 25例为阳性, 阳性率为78.1%; 在20例癌旁组织中, 1例为阳性, 阳性率为5.0%; 在6例正常胰腺组织中均无表达。胰腺癌组与癌旁组、正常胰腺组织组分别两两比较发现, 差异均有统计学意义($P < 0.05$); 而癌旁组与正常胰腺组织组比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$, 表1)。

2.2 PRR11蛋白表达水平与人胰腺癌组中各临床病理参数之间的关系

在人胰腺癌组中, PRR11蛋白表达水平与患者的性别、年龄、肿瘤大小、肿瘤部位及有无淋巴结转移均无相关性($P > 0.05$); 与细胞分化程度和TNM分期有相关性($P < 0.05$, 表2)。

2.3 胰腺癌中PRR11蛋白表达与其预后的关系

根据生存分析显示, PRR11蛋白阳性组患者预后明显差于阴性组, 差异有统计学意义($P < 0.005$, 图2)。

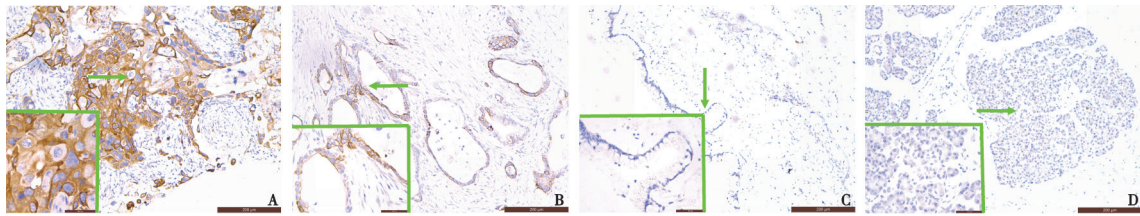


图 1 PRR11蛋白在不同组织中的表达

Fig. 1 The degree of expression of PRR11 protein in different tissues

A: It was positive staining in poorly differentiated pancreatic cancer cells (SP, ×100), and the lower left corner of the figure was the green arrow designated areas (SP, ×400); B: It was positive staining in highly differentiated pancreatic cancer cells (SP, ×100), and the lower left corner of the figure was the green arrow designated areas (SP, ×400); C: It was positive staining in normal pancreas cells of benign tumor distance above the 1 cm (SP, ×100), and the lower left corner of the figure was the green arrow designated areas (SP, ×400); D: It was positive staining in pancreas cells of pancreatic cancer distance above the 2 cm (SP, ×100), and the lower left corner of the figure was the green arrow designated areas (SP, ×400).

表 1 PRR11蛋白在胰腺癌组织、癌旁组织和正常胰腺组织中的表达

Tab. 1 The expression of PRR11 protein in pancreatic cancer tissues, paracancerous tissues and normal pancreatic tissues

Group	Case	Positive	Negative	Positive rate/%	χ^2 value	P value
Pancreatic cancer tissues	32	25	7	78.1	32.047	0.000 0
Paracancerous tissues	20	1	19	5.0		
Normal pancreatic tissues	6	0	6	0.0		

Pancreatic cancer tissues vs paracancerous tissues: $\chi^2=26.325, P<0.05$; Pancreatic cancer tissues vs normal pancreatic tissues: $\chi^2=13.702, P<0.05$; Paracancerous tissues vs normal pancreatic tissues: $\chi^2=0.312, P>0.05$.

表 2 PRR11蛋白的表达与临床病理参数的特征性关系

Tab. 2 The characteristic relationship between the expression of PRR11 protein and the clinical pathological parameters

Factor	Case	Positive (n=25)	Negative (n=7)	Positive rate/%	χ^2 value	P value
Age/year					1.013	0.314 2
≥60	19	16	3	84.21		
<60	13	9	4	69.23		
Gender					0.058	0.809 7
Male	17	13	4	76.47		
Female	15	12	3	80.00		
Tumor size/cm					0.012	0.912 8
≤2	5	4	1	80.00		
>2	27	21	6	77.78		
Location of tumor					0.012	0.912 8
Head	27	21	6	77.78		
Body or tail	5	4	1	80.00		
Differentiation degree					8.887	0.011 8
High	4	1	3	25.00		
Moderate	20	16	4	80.00		
Low	8	8	0	100.00		
TNM stage					10.440	0.005 4
I	8	3	5	37.50		
II	21	19	2	90.48		
III	3	3	0	100.00		
Lymph node metastasis					0.302	0.582 6
Yes	7	6	1	85.71		
No	25	19	6	76.00		

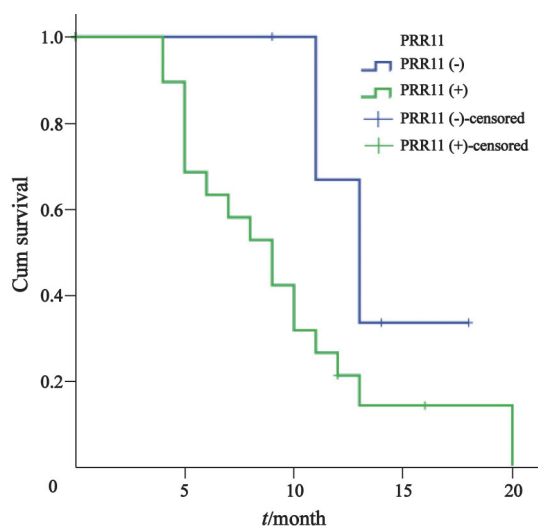


图2 PRR11蛋白阳性组患者与阴性组患者生存曲线比较

Fig. 2 Comparison of the survival curves between patients with PRR11 protein positive expression and negative expression

3 讨 论

胰腺癌恶性程度高, 早期易发生侵袭和转移, 预后非常差。胰腺癌的发生是一个极其复杂的生物过程, 是多种因素共同参与、多个基因协同作用, 综合发生、发展的结果^[10-11]。有学者研究后指出, 恶性肿瘤最基本的生物学特征之一是肿瘤细胞的失控性增殖, 而肿瘤细胞的失控性增殖的生物学基础在于细胞周期调控发生紊乱^[12]。在细胞周期中S期最为关键。*PRR11*是一种新型的可以调节S期和细胞有丝分裂过程的细胞周期相关基因^[7]。该基因是位于17q23扩增区的G₂/M期肿瘤相关基因, 由9个内含子和10个外显子组成, 翻译起始密码子位于第2个外显子, 终止密码子位于最后1个外显子^[6]。目前已经发现肿瘤相关基因如*RPS6KB1*、*BRIPI*、*TRIM37*及*PPMID*等均位于17q23区^[13-14]。Ji等^[7]通过实验证实*PRR11*基因能促进肺癌细胞增殖并参与细胞周期的调控, 推测其可能在DNA复制、推动S期向G₂/M期转换以及分裂期发挥作用, 并研究发现在肺癌组织中比正常组织表达升高, 与肺癌患者预后相关。Weinmann等^[15]研究发现, PRR11蛋白

可以与控制肿瘤发生过程中起到关键性作用的转录因子(如E2F1、E2F4等)相互结合; 同时叶建新等^[8]通过研究发现, PRR11蛋白在胃癌组织中也高表达, 主要高表达于晚期胃癌患者和胃癌细胞恶性生物学行为较高的患者中。根据对胃癌患者预后的生存分析判断, 在胃癌患者中, PRR11蛋白阳性表达的程度高、低是判断预后的重要指标和独立因素, 证实PRR11蛋白在胃癌的发生、发展中发挥了重要的作用, 并推测可能与PRR11蛋白影响了细胞周期有关。综上所述, PRR11蛋白对肿瘤的发生、发展、预后及生物细胞周期有着一定的影响。

本实验通过研究PRR11蛋白在胰腺癌中的表达情况, 并分析探讨其与临床病理参数的相关性意义。结果发现, 在实验中的32例人胰腺癌中PRR11蛋白表达的强度明显高于癌旁组织及正常胰腺组织, 而在癌旁组织中阳性表达, 推测可能是胰腺癌细胞、癌旁组织细胞的细胞周期已发生改变, 致使细胞增殖异常、分化程度受阻的结果; 同时还发现其在胰腺癌组织中的表达强度与肿瘤细胞的分化程度、TNM分期有相关性, 而与患者的性别、年龄、肿瘤大小、肿瘤部位及有无淋巴结转移无相关性; 根据生存分析显示, PRR11蛋白阳性组患者预后比阴性组差。这与既往文献报导大致符合^[7-8]。也有文献报道显示, 抑制H1299细胞中的PRR11蛋白表达, 会显著增强某些基因的表达, 而出现显著表达的基因主要集中在细胞周期和MAPK通路上^[16]; 在细胞周期调控过程中, 通过敲减*PRR11*基因的表达, 会使细胞不能正常进行有丝分裂和DNA的复制及合成, 进一步诱发相关基因组出现不稳定性, 从而判断PRR11蛋白表达异常可能会导致细胞周期调控发生紊乱, 致使肿瘤的发生、发展^[17]。以上数据提示, PRR11蛋白在胰腺癌的发生、发展、侵袭及转移中可能扮演着重要角色, 推测PRR11蛋白可能推动胰腺癌细胞的S期, 向G₂/M期转换, 致使细胞增殖异常, 对细胞周期呈正相关性调节。虽然其具体机制及意义还有待进一步研究及分析, 但本研究的结果

表明, PRR11蛋白有望作为预判胰腺癌预后的一个指标。

[参 考 文 献]

- [1] SIEGEL R, WARD E, BRAWLEY O, et al. Cancer statistics, 2011: the impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths [J]. *CA Cancer J Clin*, 2011, 61(4): 212-236.
- [2] MALVEZZI M, ARFÉ A, BERTUCCIO P, et al. European cancer mortality predictions for the year 2011 [J]. *Ann Oncol*, 2011, 22(4): 947-956.
- [3] 顾凯, 吴春晓, 鲍萍萍, 等. 上海市胰腺癌流行现状、回顾与比较分析 [J]. *外科理论与实践*, 2009, 14(5): 510-515.
- [4] VINCENT A, HERMAN J, SCHULICK R, et al. Pancreatic cancer [J]. *Lancet*, 2011, 378(9791): 607-620.
- [5] STATHIS A, MOORE M J. Advanced pancreatic carcinoma: current treatment and future challenges [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2010, 7(3): 163-172.
- [6] AI Q, BU Y Q, LIU Z, et al. Structural and functional analysis of human PRR11 promoter [J]. *Chin J Biochem Mol Biol*, 2011, 27(4): 356-363.
- [7] JI Y, XIE M, LAN H, et al. PRR11 is a novel gene implicated in cell cycle progression and lung cancer [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2013, 45(3): 645-656.
- [8] 叶建新, 郑炜, 赵新泰, 等. PRR11在胃癌中的表达及预后的关系 [J]. *中国细胞生物学学报*, 2014, 36(2): 200-204.
- [9] RICHARDSON M M, JENNINGS J K, ZHANG X A, et al. Tetraspanins and tumor progression [J]. *Clin Exp Metastasis*, 2011, 6(4): 229-231.
- [10] 江建新, 刘勇, 高珊, 等. 14-3-3 σ 对胰腺癌PANC-1细胞侵袭能力的影响 [J]. *中国普通外科杂志*, 2013, 22(3): 294-299.
- [11] 肖卫东, 李勇, 邹叶青, 等. 沉默DNMT1和DNMT3b基因对胰腺癌BxPC-3细胞p16/RASSF1A基因启动子甲基化的影响 [J]. *中国普通外科杂志*, 2012, 21(3): 322-326.
- [12] 詹启敏, 陈杰. 细胞周期与肿瘤转化医学 [J]. *中国肿瘤临床*, 2014, 41(1): 1-7.
- [13] ANDERSEN C L, MONNI O, WAGNER U, et al. High-throughput copy number analysis of 17q23 in 3520 tissue specimens by fluorescence in situ hybridization to tissue microarrays [J]. *Am J Pathol*, 2002, 161(1): 73-79.
- [14] PÄRSSINEN J, KUUKASJ RVI T, KARHU R, et al. High-level amplification at 17q23 leads to coordinated overexpression of multiple adjacent genes in breast cancer [J]. *Br J Cancer*, 2007, 96(8): 1258-1264.
- [15] WEINMANN A S, YAN P S, OBERLEY M J, et al. Isolating human transcription factor targets by coupling chromatin immunoprecipitation and CpG island microarray analysis [J]. *Genes Dev*, 2002, 16(2): 235-244.
- [16] 龙银江, 吉颖, 翁华莉, 等. siRNA介导的PRR11表达抑制导致肺癌细胞系基因表达谱变化的分析 [J]. *中国细胞生物学学报*, 2013, 35(2): 196-202.
- [17] 张春冬, 王义涛, 张莹, 等. 抑制PRR11的表达在H1299细胞周期的影响 [J]. *中国细胞生物学学报*, 2013, 35(8): 1133-1140.

(收稿日期: 2014-12-10 修回日期: 2015-02-11)

《抗癌》杂志2015年征订启事

《抗癌》杂志于1988年创刊, 主管单位为上海市科学技术协会, 主办单位为上海市抗癌协会。《抗癌》杂志是供癌症患者及其家属阅读的公益性科普期刊, 树立了为科研服务的思想意识, 坚持以读者为导向, 架起读者和医院之间的桥梁。杂志刊号: CN31-1664/R ISSN 1008-3065。欢迎广大读者订阅。

杂志为季刊, 每期48页。本刊季末出版, 每期8元, 全年共32元整。征订方式请通过邮局汇款。

通讯地址: 上海市东安路270号6号楼3楼《抗癌》杂志社。

邮 编: 200032

电 话: 021-64043766

传 真: 021-64043766

电子邮件: anti-cancer@163.com