

论著 · 临床研究

肾透明细胞癌分化抑制因子-1、膜联蛋白 A1、黑色素瘤凋亡抑制蛋白表达特点及与临床病理相关性

杜 然¹, 曾 光^{2△}

(恩施土家族苗族自治州中心医院; 1. 肾内科; 2. 泌尿外科, 湖北恩施 445000)

摘 要:目的 探讨肾透明细胞癌分化抑制因子-1(Id-1)、膜联蛋白 A1(ANXA1)、黑色素瘤凋亡抑制蛋白(Livin)表达特点及与临床病理的相关性。**方法** 选取 2015 年 1 月至 2018 年 1 月在该院就诊的 150 例肾透明细胞癌患者作为研究对象,免疫组化法检测组织中 Id-1、ANXA1 和 Livin 蛋白的表达水平。**结果** 肾透明细胞癌组 Id-1、ANXA1 和 Livin 蛋白表达阳性率高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。统计分析证实 Id-1 表达与肾透明细胞癌患者肿瘤转移密切相关,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。ANXA1 表达与肾透明细胞癌患者组织学分级密切相关,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。Livin 表达与肾透明细胞癌患者肿瘤直径密切相关,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。Id-1 阳性肾透明细胞癌患者无进展生存期(PFS)、总生存期(OS)和患者生活质量评分(QOL)低于阴性患者,差异有统计学意义($P<0.05$);ANXA1 阳性肾透明细胞癌患者的 PFS、OS 和 QOL 低于阴性患者,差异有统计学意义($P<0.05$);Livin 阳性肾透明细胞癌患者的 PFS、OS 和 QOL 低于阴性患者,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** Id-1、ANXA1 和 Livin 在肾透明细胞癌中表达显著增高,且可能与肾透明细胞癌发生、发展及预后相关。

关键词:肾透明细胞癌; 分化抑制因子-1; 膜联蛋白 A1; 黑色素瘤凋亡抑制蛋白
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.20.023 **中图法分类号:**R737.11;R730.43
文章编号:1673-4130(2019)20-2525-04 **文献标识码:**A

The expression characteristics of differentiation inhibitor-1,annexin A1 and apoptosis inhibitor in renal clear cell carcinoma and their correlation with clinicopathology
DU Ran¹, ZENG guang^{2△}
(1. *Department of nephrology*; 2. *Department of urology*; *Enshi Tujia and Miao Autonomous Prefecture Central Hospital, Enshi, Hubei 445000, China*)

Abstract: Objective To investigate the expression characteristics of differentiation inhibitor-1 (Id-1), annexin A1 (ANXA1) and melanoma apoptosis inhibitor protein (Livin) in renal clear cell carcinoma (RCCC) and their correlation with clinicopathology. **Methods** A total of 150 cases of renal clear cell carcinoma from January 2015 to January 2018 in Enshi Tujia and Miao Autonomous Prefecture Central Hospital were selected as the study subjects. The expression levels of Id-1, ANXA1 and Livin protein in tissues were detected by immunohistochemistry. **Results** The positive rates of Id-1, ANXA1 and Livin protein expression in renal clear cell carcinoma group were significantly higher than those in control group ($P<0.05$). Statistical analysis confirmed that the expression of Id-1 was closely related to the metastasis of renal clear cell carcinoma (all $P<0.05$). The expression of ANXA1 was closely related to the histological grade of renal clear cell carcinoma patients (all $P<0.05$). The expression of Livin was closely related to the diameter of renal clear cell carcinoma (RCCC) (all $P<0.05$). PFS, OS and QOL in Id-1 positive patients with clear cell renal cancer were lower than those in negative patients ($P<0.05$); PFS, OS and QOL in ANXA1 positive patients with clear cell renal cancer were lower than those in negative patients ($P<0.05$); PFS, OS and QOL in Livin positive patients with clear cell renal cancer were lower than those in negative patients ($P<0.05$). **Conclusion** The expression of Id-1, ANXA1 and Livin in renal clear cell carcinoma is significantly increased, which may be related to the occurrence, development and prognosis of renal clear cell carcinoma.

Key words:clear cell renal carcinoma; differentiation inhibitor-1; annexin A1; melanoma apoptosis

作者简介:杜然,女,主治医师,主要从事胃病方面的研究。 △ 通信作者, E-mail:530342078@qq.com。
本文引用格式:杜然,曾光.肾透明细胞癌分化抑制因子-1、膜联蛋白 A1、黑色素瘤凋亡抑制蛋白表达特点及与临床病理相关性[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(20): 2525-2528.

inhibitor protein

肾透明细胞癌是临床上较为常见的泌尿系统癌症疾病,其具有较高的发病率,在我国泌尿系统癌症疾病中,肾透明细胞癌的发病率仅次于膀胱癌,居于第二位^[1-3],严重影响着人们的生活质量和生命健康。临床上对于肾透明细胞癌的放疗治疗,其疗效和预后较差,至今尚未发现有效的生物标志物用于评估肾透明细胞癌预后。肾透明细胞癌的发生与发展与细胞周期的增殖、异常分化、凋亡息息相关。分化抑制因子-1(Id-1)在细胞增殖和分化过程中起着重要的作用,它调控着细胞周期调控,因此与多种肿瘤的发生和发展密切相关。有研究发现 Id-1 在结肠癌、乳腺癌、肝癌等恶性肿瘤中存在高表达^[4-6]。而膜联蛋白 A1(ANXA1)、黑色素瘤凋亡抑制蛋白(Livin)参与调控细胞的凋亡,与多种肿瘤如乳腺癌、肝癌等的发生和发展密切相关^[7-9]。但关于 Id-1、ANXA1 和 Livin 在肾透明细胞癌中的表达及意义的研究极少,因此,本文将探讨肾透明细胞癌中 Id-1、ANXA1 和 Livin 的表达水平分析及与肾透明细胞癌临床病理特征的关系,以期对临床上肾透明细胞癌的诊断、治疗及预后判断提供实验依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2015 年 1 月至 2018 年 1 月本院就诊的 150 例肾透明细胞癌患者作为研究对象。其中男 78 例,女 72 例;年龄 21~65 岁,平均(37.30±2.90)岁;肿瘤直径 0.40~6.80 cm,平均(3.32±0.22)cm。肾透明细胞癌组(实验组)为肾透明细胞癌组标本,对照组为其相应的临近非肿瘤组织样本(距离肿瘤组织 2 cm 以上)。排除标准:合并重大恶性肿瘤者;合并精神疾病、心理疾病患者。本研究获得医院伦理委员会批准,所有患者自愿签署知情同意书。

1.2 免疫组化检测 Id-1、ANXA1 和 Livin 蛋白表达水平 所有肾透明细胞癌患者的肿瘤组织作为肾透明细胞癌组标本,其相应的临近非肿瘤组织样本(距离肿瘤组织 2 cm 以上)作为非肿瘤组织组标本。取病理石蜡标本,切片 6 张。用 5%血清进行室温封闭 40 min 后,加入 1:1 000 的 Id-1、ANXA1 和 Livin 单克隆抗体 4℃过夜孵育。隔天加入 1:1 000 的二抗,在 37℃孵育 30 min,显色,封片。显微镜下拍照,收集数据并计算图片中 Id-1、ANXA1 和 Livin 蛋白表达的平均光密度。

1.3 术后随访 随访两年,分析患者的总生存期(OS)、无进展生存期(PFS)和患者生活质量评分(QOL)。

1.4 统计学处理 实验数据应用 SPSS17.0 软件进行统计分析。采用 *t* 检验分析 2 组间计量资料的比

较。采用 χ^2 检验分析两组间计数资料的比较。以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 免疫组化检测 Id-1、ANXA1 和 Livin 蛋白水平 采用免疫组化方法检测病例组织中 Id-1、ANXA1 和 Livin 表达阳性率,肾透明细胞癌组 Id-1、ANXA1 和 Livin 蛋白表达阳性率高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1 和图 1。

表 1 免疫组化检测 Id-1、ANXA1 和 Livin 蛋白水平[n(%)]

组别	<i>n</i>	Id-1 阳性表达	ANXA1 阳性表达	Livin 阳性表达
肾透明细胞癌组	150	80(53.33)*	68(45.33)*	69(46.00)*
对照组	150	55(36.66)	40(26.67)	40(26.67)

注:与对照组相比,* $P<0.05$

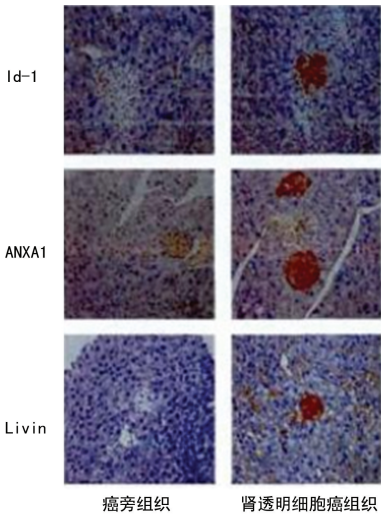


图 1 免疫组化检测 Id-1、ANXA1 和 Livin 蛋白水平(放大倍数×400)

2.2 Id-1、ANXA1 和 Livin 表达与临床病理因素的关系 统计分析证实 Id-1 表达与肾透明细胞癌患者肿瘤转移密切相关,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。ANXA1 表达与肾透明细胞癌患者组织学分级密切相关,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。Livin 表达与肾透明细胞癌患者肿瘤直径密切相关,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。见表 2。

2.3 Id-1、ANXA1 和 Livin 表达与肾透明细胞癌患者疾病预后分析 Id-1 阳性肾透明细胞癌患者 PFS、OS 和 QOL 低于阴性患者,差异有统计学意义($P<0.05$);ANXA1 阳性肾透明细胞癌患者的 PFS、OS 和 QOL 低于阴性患者,差异有统计学意义($P<0.05$);Livin 阳性肾透明细胞癌患者的 PFS、OS 和 QOL 低于阴性患者,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

表 2 Id-1、ANXA1 和 Livin 与患者临床病理学特征关系分析[n(%)]

病理特征	n	Id-1 表达		ANXA1 表达		Livin	
		阳性	P	阳性	P	阳性	P
肿瘤直径(cm)							
≤4	78	40(51.28)	0.054	38(48.72)	0.054	19(24.36)	0.020
>4	72	40(55.55)		30(41.67)		50(69.44)	
组织学分级							
I~II	50	25(50.00)	0.056	30(60.00)	0.022	39(50.00)	0.054
III~IV	100	55(55.00)		38(38.00)		30(41.67)	
肿瘤转移							
否	78	20(25.64)	0.004	38(48.72)	0.054	39(50.00)	0.054
是	72	60(76.92)		30(41.67)		30(41.67)	

表 3 Id-1、ANXA1 和 Livin 表达与肾透明细胞癌患者疾病预后分析(±s)

项目		PFS(月)	OS(月)	QOL(分)
Id-1	—	14.92±1.32	22.82±1.32	84.72±1.17
	+	10.91±1.32*	18.81±1.17*	63.71±1.62*
ANXA1	—	14.12±1.14	23.68±1.32	88.72±1.38
	+	11.91±1.81*	19.81±1.15*	61.71±1.62*
Livin	—	14.22±1.14	23.58±1.32	88.62±1.38
	+	11.81±1.81*	19.91±1.15*	61.61±1.62*

注:与阴性相比,*P<0.05

3 讨 论

近些年来,肾透明细胞癌的发病率和病死率在全球范围内均不断升高,对于肾透明细胞临床上的治疗,大部分患者的放疗治疗效果并不理想。其主要原因在于肾透明细胞癌患者的肿瘤细胞对放化疗不敏感,且缺乏肾透明细胞癌诊断、治疗及预后判断的生物学特异性指标^[10-12],故探索有效的肾透明细胞癌诊断、治疗及预后判断的生物学特异性指标成为临床学术研究者的重点和热点。

Id-1 是螺旋—环—螺旋蛋白家族,又称 DNA 结合抑制蛋白-1,Id-1 与肿瘤细胞的增殖分化密切相关,是一种与胰腺癌、胆囊癌、结肠癌和胃癌相关的肿瘤标志物。有研究发现 Id-1 在多种恶性肿瘤中存在高表达^[13-15]。Id-1 促进肿瘤的机制有以下几种:(1)磷酸化 p53,促进 G1-S 期进行,进而调控细胞周期^[16];(2)激活 MAPK 下游信号,促进肿瘤细胞的增生^[17];(3)上调 MMP 的表达,增强癌细胞转移能力和侵袭力^[18]。魏灿等^[19]研究结果表明,肾透明细胞癌中 Id-1 水平升高。本研究进一步对肾透明细胞癌中 Id-1 水平进行研究。结果表明,与非肿瘤组织相比,肾透明细胞癌组 Id-1 的表达阳性率均升高,提示肾透明细胞癌患者肿瘤组织中 Id-1 高表达。统计分析证实 Id-1 表达与肾透明细胞患者肿瘤转移密切相关。ANXA

膜联蛋白家族与肿瘤的发生发展密切相关,ANXA1 是研究较多的,也是第一个人类发现的 ANXA 膜联蛋白成员。本研究结果表明,与非肿瘤组织相比,肾透明细胞癌组 ANXA1 表达阳性率均升高,提示肾透明细胞癌患者肿瘤组织中 ANXA1 高表达。该研究结果与高栩等^[19]研究报道基本一致。统计分析证实 ANXA1 表达与肾透明细胞癌患者组织学分级密切相关。除了 ANXA 膜联蛋白家族,凋亡抑制蛋白也是近年来备受瞩目的一类与肿瘤相关的蛋白家族,Livin 是研究较多的凋亡抑制蛋白之一,其参与结肠癌、胃癌等多种癌症细胞的凋亡^[21-22]。本研究结果表明,与非肿瘤组织相比,肾透明细胞癌组 Livin 的表达阳性率均升高,提示肾透明细胞癌患者肿瘤组织中 Livin 高表达。统计分析证实 Livin 表达与肾透明细胞癌患者肿瘤直径密切相关,结果提示 Livin 可以作为肾透明细胞癌患者病情评估的标志物。较多研究表明 ANXA 和 Livin 与胰腺癌、胆囊癌、结肠癌和胃癌相关的肿瘤等息息相关^[23-25]。但关于 Id-1、ANXA1 和 Livin 在肾透明细胞癌中的表达及与临床病理特征的关系研究较少。本文中进一步的生存分析结果也证实了 Id-1、ANXA1 和 Livin 对肾透明细胞癌患者预后的评估重要意义,Id-1、ANXA1 和 Livin 阳性肾透明细胞癌患者 PFS、OS 和 QOL 低于阴性患者,提示 Id-1、ANXA1 和 Livin 可以作为肾透明细胞癌患者预后评估指标。

4 结 论

Id-1、ANXA1 和 Livin 在肾透明细胞癌中表达显著增高,且可能与肾透明细胞癌发生、发展及预后相关,但还需要更多大样本的临床研究、前瞻性研究来验证。

参考文献

[1] 高栩,王亚轩,李景东,等. ANXA2 及 t-PA 在肾透明细胞癌中的表达及临床意义[J]. 临床误诊误治,2016,29(6):

52-55.

[2] 王浦,刘勇. pT1a 期肾细胞癌及癌旁组织 Livin 和 Smac 的表达及临床意义[J]. 中华实验外科杂志,2016,33(1): 260-262.

[3] 贺华勇,朱小勇,乔士兴,等. 膜细胞骨架连接蛋白和 α -连接蛋白在胃癌组织中的表达及临床意义[J]. 现代医院, 2017,15(12):120-122.

[4] YAGIHASHI A, A SANUMA K, KOBAYASHI D, et al. Detection of autoantibodies to Livin and Survivin in sera from lung cancer patients[J]. Lung Cancer, 2016, 48 (2):217-221.

[5] HIROYUKI H, YOSHIHIKO H, TOSHIHIKO T, et al. Aberrant expression and potency as a cancer immunotherapy target of inhibitor of apoptosis protein family, LIVIN /ML-IAP in lung cancer[J]. Clin Cancer Res, 2018, 11 (3):1000-1009.

[6] LIU H B, KONG C Z, ZENG Y. LIVIN may serve as a marker for prognosis of bladder cancer relapse and a target of bladder cancer treatment[J]. Urol Oncol, 2016, 27 (3):277-283.

[7] NEDELCO T, KUBISTA T, KOLLER A. Livin and Bcl-2 expression in high-grade osteosarcoma[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2018, 134(2):237-244.

[8] KIM D K, A LVARADO C S, ABRAMOWSKY C R. Expression of inhibitor-of-apoptosis protein (IAP) livin by neuroblastoma cells correlation with prognostic factors and outcome[J]. Pediatr Dev Pathol, 2016, 8 (6): 621-629.

[9] WANG T S, DING Q Q, GUO R H, et al. Expression of livin in gastric cancer and induction of apoptosis in SGC-7901 cells by shRNA-mediated silencing of livin gene[J]. Biomed Pharmacother, 2018, 63 (5):326-327.

[10] 张娜,樊杨,李熳,等. 雌激素、胰岛素诱导子宫内膜癌细胞中 VEGF 和 bFGF 的表达及临床意义[J]. 世界肿瘤研究, 2016, 6(3):21-26.

[11] 董云虹. p16 蛋白、细胞分化抑制因子-1(Id-1)、Cav3. 1、Cav3. 2、p-GSK3 β ser9 和 p-GSK3 β Tyr216 在宫颈癌组织中的表达及其意义[J]. 陕西医学杂志, 2017, (4): 492-493.

[12] 庞雪莲,徐建丽,马志萍,等. 侵袭性 B 细胞淋巴瘤中分化抑制因子 3 和 T 细胞因子 3 蛋白的表达及预后[J]. 中华病理学杂志 2018, 47(3):120-122.

[13] SUN C H, CHANG Y H, PAN. Activation of the PI3K/Akt/mTOR pathway correlates with tumour progression and reduced survival in patients with urothelial carcinoma of the urinary bladder[J]. Histopathology, 2018, 7 (7): 1054-1063.

[14] HUANG J, KONTOS C D. PTEN modulates vascular endothelial growth factor-mediated signaling and angiogenic effects[J]. J Biol Chem, 2016, 13(13):10760-10766.

[15] 张建国,王晓辉,刘刚,等. PTEN 和 Livin 在肾透明细胞癌中的表达及临床意义[J]. 中国肿瘤外科杂志, 2016, 4 (1):15-18.

[16] 王凤龙,周林玉,谈宜傲,等. Livin 在肾透明细胞癌中的表达意义[J]. 安徽医药, 2018, 16(11):1617-1618.

[17] 倪建华,辛军,伍伯聪,等. Livin 和 PTEN 在肾细胞癌中的表达及其临床意义[J]. 实用癌症杂志, 2017, 26(1):42-44.

[18] 吴剑,史子敏,朱安义,等. 分化抑制因子 4、转录因子 1 在肾透明细胞癌中的表达及关系探讨[J]. 实用医学杂志, 2016, 13(13):107-110.

[19] 魏灿,杨晓亮,席俊华,等. Id-1 蛋白在肾透明细胞癌中的表达及临床意义[J]. 现代泌尿生殖肿瘤杂志, 2018, (4): 247-248.

[20] 高翔. ANXA2 与 t-PA 在肾透明细胞癌中的表达及临床意义[D]. 石家庄:河北医科大学, 2016.

[21] 李日恒. Livin 和 PTEN 在结直肠癌组织中的表达及意义[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2012, 19(4):247-248.

[22] TATENHORST L. Knockdown of annexin 2 decreases migration of human glioma cells in vitro[J]. Neuropathol Appl Neurobiol, 2016, 32(3):271-277.

[23] KWON M, MACLEOD T J, ZHANG Y, et al. S100A10, annexin A2, and annexin a2 heterotetramer as candidate plasminogen receptors[J]. Front Biosci, 2017, 10(1):300-325.

[24] MUSHOLT T J, HANACK J, BREHM C, et al. Searching for non-RET molecular alterations in medullary thyroid carcinoma: expression analysis by mRNA differential display[J]. World J Surg, 2017, 29(4):472-476.

[25] CHIANG Y, SCHNEIDERMAN M H, VISHWANATHA J K. Annexin II expression is regulated during mammalian cell cycle[J]. Cancer Res, 2016, 53(24):6017-6021.

(收稿日期:2019-03-04 修回日期:2019-05-16)

(上接第 2524 页)

[17] 苗同国,王立静,马立伟,等. 射频消融治疗对原发性肝癌患者 T 细胞免疫功能的影响[J]. 中国微创外科杂志, 2016, 16(6):538-540.

[18] 徐春华,刘越,肖利民,等. 不同级别脑胶质瘤患者手术前后外周血 T 淋巴细胞免疫细胞水平变化及意义[J]. 重庆医学, 2016, 45(2):180-182.

[19] 王春飞,陈战. 一种基于模型的机械通气模糊逻辑决策系统[J]. 生物医学工程学报, 2016, 33(4):786-793.

(收稿日期:2019-02-26 修回日期:2019-05-10)