

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2019.12.006
文章编号: 1005-8982 (2019) 12-0027-05

PTPRS 在食管腺癌中的表达水平及临床意义*

张国亮, 朱奇坤, 曾辉, 王涛, 高峰, 王瑞

(河北医科大学第四医院 胸外科, 河北 石家庄 050011)

摘要: 目的 探讨蛋白酪氨酸磷酸酶受体 S (PTPRS) 在食管腺癌组织中的表达及临床意义。**方法** 应用组织芯片技术和免疫组织化学法检测 71 例食管腺癌患者的癌组织、癌旁组织及食管正常黏膜中 PTPRS 蛋白的表达情况, 分析 PTPRS 蛋白与食管腺癌患者临床病理特征和预后的关系。**结果** PTPRS 蛋白在食管腺癌组织中表达量低于食管正常黏膜组织 ($P < 0.05$)。不同临床分期、浸润深度、淋巴结转移状态、分化程度、神经受侵及脉管瘤栓的食管腺癌患者的 PTPRS 蛋白表达水平比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。Kaplan-Meier 生存分析显示, PTPRS 低表达患者生存率低于高表达患者 ($P < 0.05$); 多因素 Cox 回归分析显示, PTPRS 为食管腺癌患者预后不良的独立危险因素 [$\hat{HR} = 2.265$, (95% CI: 1.050, 4.887), $P = 0.037$]。**结论** PTPRS 蛋白低表达与食管腺癌患者的复发和预后密切相关。PTPRS 可能是潜在的抑癌基因, 在食管癌的发生、发展中发挥重要的调控作用。

关键词: 食管腺癌; 蛋白酪氨酸磷酸酶受体 S; 组织芯片; 免疫组织化学

中图分类号: R735.1

文献标识码: A

Expression levels and clinical implications of PTPRS in esophageal adenocarcinoma*

Guo-liang Zhang, Qi-kun Zhu, Hui Zeng, Tao Wang, Feng Gao, Rui Wang

(Department of Thoracic Surgery, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang, Hebei 050011, China)

Abstract: Objective To study the clinical significance and expression level of protein tyrosine phosphatase receptor S (PTPRS) in human esophageal adenocarcinoma tissues. **Methods** Clinicopathological and prognostic roles of PTPRS in 71 cases of esophageal adenocarcinoma were investigated. Paraffin embedded tissue with immunohistochemistry methods and tissue microarrays (TMAs) were adopted to exam PTPRS expression in esophageal adenocarcinoma, paired normal esophageal mucosa and adjacent tissues. **Results** PTPRS was significantly down-regulated in esophageal adenocarcinoma compared to normal tissues ($P < 0.05$). Statistical analysis revealed that PTPRS expression was significantly associated with TNM stage, invasion depth, local lymph node metastasis, tumor differentiation, nerves invaded and vascular invasion ($P < 0.05$). Furthermore, Kaplan-Meier survival analysis revealed that low expression of PTPRS significantly was correlated with shorter overall survival of esophageal adenocarcinoma patients ($P < 0.05$). Cox regression analysis confirmed PTPRS expression as an independent predictor of the overall survival of ESCC patients [$\hat{HR} = 2.265$, (95% CI: 1.050, 4.887), $P = 0.037$]. **Conclusions** PTPRS may be a new potential tumor suppressor gene, plays an important role in tumor development and may serve as a reliable indicator for prognostic prediction in esophageal adenocarcinoma patients.

Keywords: adenocarcinoma of esophagus; protein tyrosine phosphatase receptor type S; tissue array analysis; immunohistochemistry

收稿日期: 2018-12-24

* 基金项目: 河北省医学科学研究课题计划项目 (No: 20180539)

[通信作者] 王瑞, E-mail: hbssywr@sohu.com; Tel: 13933193150

食管癌是危及人类健康的恶性肿瘤^[1],具有早期转移、侵袭、浸润等特点。因此,研究食管癌侵袭、转移的基因,能为精准治疗提供理论依据。*PTPRS*是抑制基因,与肝癌、肺腺癌的预后相关^[2-3],但关于*PTPRS*在食管腺癌的表达,国内外相关报道较少。本研究采用组织芯片和免疫组织化学法对 71 例配对的食管黏膜组织、癌组织及癌旁组织中*PTPRS*蛋白的表达水平进行检测,探讨其与食管腺癌患者临床病理特征和预后的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2010 年 2 月—2016 年 5 月河北医科大学第四医院行根治性切除的 71 例食管腺癌患者的癌组织及配对的癌旁组织、食管正常黏膜组织。其中,癌旁组织是由有经验的手术医师和病理科医师确定距离肿瘤病灶 2 cm 处组织,食管正常黏膜组织是其距离癌组织 ≥ 5 cm 组织。纳入患者为首次诊疗且术前无放疗化疗或者合并其他肿瘤。其中,男性 51 例,女性 20 例;年龄 34 ~ 71 岁,平均 59.6 岁。具有完整的病例资料,肿瘤分级、TNM 分期按照国际抗癌联盟 2009 年第七版食管腺癌分期标准^[4]。术后随访次 /3 个月,随访终点为死亡、失访或生存至截止日期,随访截止时间为 2017 年 1 月 1 日,平均随访时间 29.5 个月。本研究通过医院伦理委员会批准,患者及家属签订知情同意书。

1.2 组织芯片的制备

取癌组织、癌旁组织及食管正常黏膜组织以 10% 中性甲醛固定,常规脱水浸蜡,石蜡包埋;苏木精-伊红染色、切片、病理诊断,标记出肿瘤组织及正常黏膜组织范围。按照实验设计出组织芯片的阵列排列方式和组织类型,用 10 mm 组织穿刺针在每个标本的标记点取样;然后将其依次排列于模具内预融的石蜡中,构成组织微阵列蜡块,待石蜡凝固后切成 4 μ m 微阵列切片,将其贴附于载玻片上,封蜡备用。

1.3 免疫组织化学 SP 法

采用免疫组织化学 SP 法检测*PTPRS*蛋白的表达,具体步骤如下:组织芯片置于 60℃ 烤箱中烘烤 30 min 后,经二甲苯脱蜡及乙醇水化,浸泡于 3% 过氧化氢 H_2O_2 抑制内源性过氧化物酶,置于柠檬酸缓

冲液 (pH6.0) 中高压加热抗原修复 3 min,羊血清室温封闭 30 min,滴加*PTPRS*一抗(美国 Sigma 公司,稀释度 1 : 100),37℃ 温箱孵育 1 h,加二抗酶标抗小鼠 / 羊 IgG 聚合物(上海基因科技有限公司),37℃ 温箱孵育 30 min,3-二氨基联苯胺显色 3 min,流水洗,苏木精复染,脱水、透明、中性树胶封片,镜下阅片。

1.4 结果判定

切片由 2 位独立观察员采用双盲法对所有切片进行评估。*PTPRS*蛋白主要表达在细胞膜,根据细胞膜染色强度作为评判标准。高倍镜下随机选取 5 个不同的视野,观察细胞染色强度及计数阳性细胞数所占细胞总数的百分比。评分标准,①按染色强度计分:无色为 0 分;淡黄色为 1 分;棕黄色为 2 分;棕褐色为 3 分。②按阳性细胞百分比计分:阴性为 0 分;阳性细胞数 $\leq 10\%$ 为 1 分;11% ~ 50% 为 2 分;51% ~ 75% 为 3 分; >75% 为 4 分。最后将 2 项得分结果相乘:总分 ≤ 4 分为低表达; >4 分为高表达。

1.5 统计学方法

数据分析采用 SPSS 21.0 统计软件。计数资料以率 (%) 表示,比较用 χ^2 检验;采用 Kaplan-Meier 法绘制生存曲线和复发曲线,比较用 Log-rank χ^2 检验,采用 Cox 回归模型评估各变量对预后的影响, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

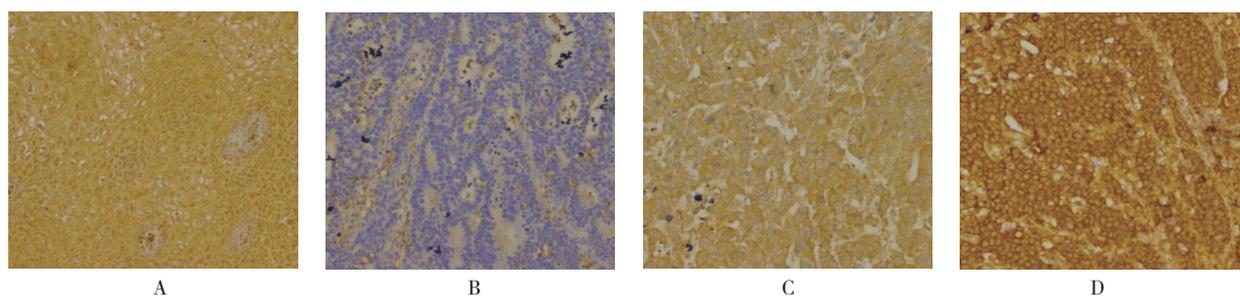
2 结果

2.1 食管腺癌、癌旁组织及食管正常黏膜组织中*PTPRS*蛋白表达率比较

*PTPRS*蛋白在食管正常黏膜组织和食管腺癌组织中表达(见图 1)。*PTPRS*蛋白在正常食管黏膜组织、癌旁组织、癌组织中表达率分别为 60.56%、52.11% 和 36.62%,经 χ^2 检验,差异有统计学意义($\chi^2=8.376$, $P=0.015$);*PTPRS*蛋白在食管腺癌组织中表达量低于正常食管黏膜组织($P < 0.05$);癌旁组织中*PTPRS*蛋白表达水平与正常食管黏膜比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2 *PTPRS*表达水平与食管腺癌临床病理特征的关系

不同临床分期、浸润深度、淋巴结转移状态、分化程度、神经受侵及脉管瘤栓的食管腺癌患者的*PTPRS*蛋白高表达率比较,差异有统计学意义



A: 食管正常黏膜中阳性表达; B: 食管腺癌组织中阴性表达; C: 食管腺癌组织中弱阳性表达; D: 食管腺癌组织中阳性表达 (SP × 200)

图 1 食管正常黏膜组织及食管腺癌组织中 PTPRS 蛋白的表达

($P < 0.05$), 而其他临床病理特征比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。PTPRS 蛋白在临床分期为 III、IV 期的食管腺癌组织中的低表达率 [76.92%(30/39)] 高于 I、II 期 [46.88%(15/32)] ($P < 0.05$); 高分化食管腺癌患者的 PTPRS 高表达率高于中、低分化食管癌患者 ($P < 0.05$); 有淋巴结转移患者 PTPRS 高表达率低于无淋巴结转移 ($P < 0.05$); 浸润至纤维膜及周围组

织患者 PTPRS 蛋白低表达率 [75.56%(34/45)] 高于浸润肌层以下的患者 [42.31%(11/26)] ($P < 0.05$)。PTPRS 蛋白表达水平与神经受侵、脉管瘤栓相关 ($P < 0.05$)。食管腺癌组织中 PTPRS 高表达率在不同年龄、性别、饮酒史、吸烟史、肿瘤家族史、手术方式、肿瘤大小及肿瘤位置方面比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 食管腺癌临床病理特征与 PTPRS 表达水平的关系 [n = 71, 例 (%)]

临床病理特征	n	高表达	χ^2 值	P 值	临床病理特征	n	高表达	χ^2 值	P 值
性别					脉管瘤栓				
男	51	15 (29.41)	4.053	0.058	无	48	22 (45.83)	5.420	0.034
女	20	11 (55.00)			有	23	4 (17.39)		
年龄					神经受侵				
≤ 60 岁	35	14 (40.00)	0.340	0.627	无	46	22 (47.83)	7.069	0.010
>60 岁	36	12 (33.33)			有	25	4 (16.00)		
肿瘤家族史					浸润深度				
有	25	8 (32.00)	0.355	0.613	pT1+2	26	15 (57.69)	7.848	0.010
无	46	18 (39.13)			pT3+4	45	11 (24.44)		
吸烟					肿瘤大小				
有	42	13 (30.95)	1.423	0.317	<40 mm	34	16 (47.06)	3.063	0.091
无	29	13 (44.83)			≥ 40 mm	37	10 (27.03)		
饮酒					淋巴结转移				
有	45	13 (28.89)	3.164	0.124	无	31	16 (51.61)	5.329	0.027
无	26	13 (50.00)			有	40	10 (25.00)		
肿瘤位置					分化程度				
颈段 + 上段	13	4 (30.77)	0.235	0.756	高	19	11 (57.89)	5.059	0.030
中段 + 下段	58	22 (37.93)			中、低	52	15 (28.85)		
手术方式					临床分期				
胸腔镜	26	8 (30.77)	0.605	0.610	I、II	32	17 (53.13)	6.838	0.013
开胸	45	18 (40.00)			III、IV	39	9 (23.08)		

2.3 PTPRS 蛋白表达与预后的关系

Kaplan–Meier 生存分析显示，PTPRS 低表达患者生存率与高表达患者生存率比较，经 Log-rank χ^2 检验，差异有统计学意义 ($\chi^2=10.764, P=0.002$)；食管腺癌患者 PTPRS 蛋白低表达组生存率低于高表达组 (见图 2)。两组患者的中位生存时间分别为 24 和 58 个月，两组患者总生存率分别为 33.33% 和 57.69%。两组患者中位复发时间分别为 20 和 50 个月，两组患者总复发率分别为 73.33% 和 50.00%。PTPRS 蛋白低表达患者复发率与高表达患者比较，差异有统计学意义 ($\chi^2=11.468, P=0.001$)；PTPRS 蛋白低表达患者复发率高于 PTPRS 蛋白高表达患者 (见图 3)。经单因素 Cox 回归分析显示，脉管瘤栓、神经受侵、肿瘤大小、浸润深度、淋巴结转移、分化程度、临床分期及 PTPRS 是影响食管腺癌患者预后的危险因素 ($P<0.05$)；进一步多因素 Cox 回归分析显示，分化程度、PTPRS 表达是影响食管腺癌患者预后的独立危险因素 ($P<0.05$)。见表 2、3。

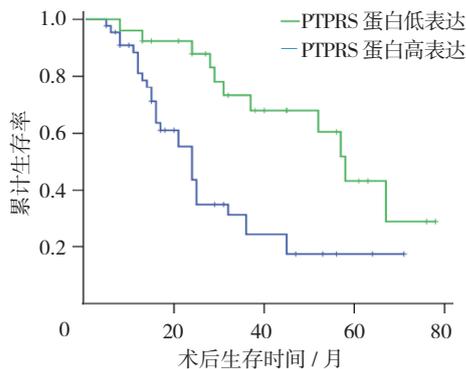


图 2 食管腺癌患者术后生存时间与 PTPRS 蛋白表达的关系

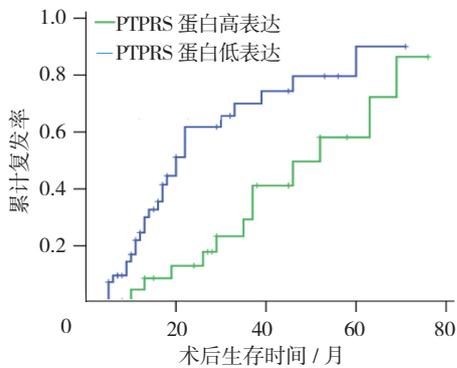


图 3 食管腺癌患者术后复发时间与 PTPRS 蛋白表达的关系

表 2 食管腺癌预后的单因素 Cox 回归分析参数

变量	\hat{HR}	95% CI		P 值
		下限	上限	
性别	0.483	0.214	1.093	0.081
年龄	0.783	0.421	1.457	0.440
肿瘤家族史	1.458	0.737	2.884	0.279
吸烟	0.638	0.329	1.237	0.183
饮酒	0.560	0.279	1.126	0.104
肿瘤位置	0.577	0.294	1.134	0.111
手术方式	0.894	0.467	1.714	0.737
脉管瘤栓	0.394	0.200	0.779	0.007
神经受侵	0.427	0.219	0.835	0.013
肿瘤大小	1.439	1.129	1.833	0.003
浸润深度	0.438	0.222	0.867	0.018
淋巴结转移	0.277	0.136	0.564	0.000
分化程度	0.313	0.136	0.721	0.006
临床分期	0.249	0.125	0.498	0.000
PTPRS	3.098	1.528	6.283	0.002

表 3 食管腺癌预后的多因素 Cox 回归分析参数

变量	\hat{HR}	95% CI		P 值
		下限	上限	
脉管瘤栓	0.915	0.425	1.973	0.821
神经受侵	0.493	0.229	1.061	0.071
肿瘤大小	1.323	0.956	1.829	0.091
浸润深度	0.868	0.363	2.076	0.750
淋巴结转移	0.833	0.284	2.446	0.739
分化程度	0.386	0.152	0.978	0.045
临床分期	0.527	0.174	1.596	0.257
PTPRS	2.265	1.050	4.887	0.037

3 讨论

PTPRS 基因是 1988 年从人胎盘基因组 DNA 文库首次被发现，位于染色体 19p13.3^[5]。其编码的蛋白 PTPRS 和蛋白酪氨酸磷酸酶受体 F^[6]、蛋白酪氨酸磷酸酶受体 D^[7] 一样，是 PTPR 家族中 II a 亚型成员^[8]，其胞外区由多种免疫球蛋白和纤维结合素 III 重复片段等组成^[9]。最初发现 PTPRS 在神经再生、突触形成中发挥重要作用^[10]。王智超等^[2] 研究发现，PTPRS 在肝癌的发生、发展及转移中起重要作用，被认为是一个新型抑癌基因。MORRIS 等^[11] 发现，在头颈部鳞状细胞癌

中 *PTPRS* 基因的缺失可达 26%, 其编码的 *PTPRS* 缺失与细胞增殖、肿瘤发生和转移相关。同时 MORRIS 等^[3]发现, *PTPRS* 蛋白的低表达与肺腺癌预后密切相关。全基因组测序发现 *PTPRS* 基因突变, 如胆管细胞癌 A1384T^[12], 结直肠癌 V224M^[13] 和恶性黑色素瘤 P141S^[14]。DAVIS 等^[15]发现, *PTPRS* 与结直肠癌的发生密切相关。提示 *PTPRS* 可能是肿瘤潜在的抑癌基因, 其表达的 *PTPRS* 蛋白可能参与肿瘤的发生、侵袭及转移。

目前, 关于 *PTPRS* 在食管腺癌中的表达及复发转移的研究较少。笔者对 71 例食管腺癌患者研究发现, *PTPRS* 蛋白在食管腺癌组织的表达低于正常黏膜组织和癌旁组织, 提示 *PTPRS* 可能是肿瘤的抑癌基因, 在食管腺癌发生过程中起一定的作用。笔者进一步分析 *PTPRS* 蛋白的表达与食管腺癌患者临床病理特征的关系发现, *PTPRS* 蛋白在早期食管腺癌组织中的表达高于晚期患者, 在侵犯组织广泛及伴有淋巴结转移的患者中表达较低, 提示 *PTPRS* 可能参与食管腺癌的复发转移, 并与肿瘤的发生、发展密不可分。本组实验发现, *PTPRS* 蛋白表达与肿瘤分化程度、神经受累及脉管瘤栓相关, 其在有神经浸润、脉管瘤栓的组织中的低表达率分别高达 84.00%、82.61%, 提示 *PTPRS* 不仅与肿瘤的恶性程度密切相关, 而且与肿瘤血管形成及组织侵袭有关。*PTPRS* 的表达量与肿瘤位置、大小无关, 可能与样本量相对较少有关。

本组实验进一步探讨 *PTPRS* 蛋白表达与食管腺癌患者的生存关系。Kaplan-Meier 生存曲线显示, 随着时间的推移, *PTPRS* 蛋白低表达患者生存率低于高表达患者。Cox 单因素及多因素回归分析显示, *PTPRS* 蛋白表达水平与食管腺癌患者预后相关, 与 *PTPRS* 在头颈部鳞癌、肝癌及肺腺癌研究结果一致^[2-3, 11]。

综上所述, *PTPRS* 可能是肿瘤的抑癌基因, 其在食管腺癌的发生、发展中起着非常重要的调控作用。*PTPRS* 在食管腺癌中确切的生物影响和分子机制仍不清楚, 因此, 笔者将继续增加样本量, 完成术后长期随访, 明确 *PTPRS* 在食管腺癌中扮演的角色, 以便为食管腺癌的靶向治疗及预后监测等方面提供参考。

参 考 文 献:

- [1] TORRE L A, BRAY F, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2): 87-108.
- [2] WANG Z C, GAO Q, SHI J Y, et al. Protein tyrosine phosphatase

- receptor S acts as a metastatic suppressor in hepatocellular carcinoma by control of epidermal growth factor receptor-induced epithelial-mesenchymal transition[J]. Hepatology, 2015, 62(4): 1201-1214.
- [3] MORRIS L G, CHAN T A. Resistance to EGFR inhibitors: molecular determinants and the enigma of head and neck cancer[J]. Oncotarget, 2011, 2(12): 894-895.
- [4] 李浩森, 孙海波, 郑燕, 等. AJCC/UICC 第八版食管及食管胃交界部癌 TNM 分期解读及中文版主要内容 [J]. 中国胸心血管外科临床杂志, 2017, 24(2): 87-92.
- [5] STEWART K, UETANI N, HENDRIKS W, et al. Inactivation of LAR family phosphatase genes *Ptprs* and *Ptprf* causes craniofacial malformations resembling pierre-robin sequence[J]. Development, 2013, 140(16): 3413-3422.
- [6] SOULIÈRES D, HIRSCH F R, SHEPHERD F A, et al. *PTPRF* expression as a potential prognostic/predictive marker for treatment with erlotinib in non-small-cell lung cancer[J]. J Thorac Oncol, 2015, 10(9): 1364-1369.
- [7] ACUN T, DEMIR K, OZTAS E, et al. *PTPRD* is homozygously deleted and epigenetically downregulated in human hepatocellular carcinomas[J]. OMICS, 2015, 19(4): 220-229.
- [8] WILJAN H, ANNIKA B, WILLIAM L, et al. Proteinaceous regulators and inhibitors of protein tyrosine phosphatases[J]. Molecules, 2018, 23(2): 1-22.
- [9] KIM M, MORALES L D, JANG I S, et al. Protein tyrosine phosphatases as potential regulators of STAT3 signaling[J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(9): 1-19.
- [10] BUNIN A, SISIRAK V, GHOSH H S, et al. Protein tyrosine phosphatase *PTPRS* is an inhibitory receptor on human and murine plasmacytoid dendritic cells[J]. Immunity, 2015, 43(2): 277-288.
- [11] MORRIS L G, TAYLOR B S, BIVONA T G, et al. Genomic dissection of the epidermal growth factor receptor (EGFR)/PI3K pathway reveals frequent deletion of the EGFR phosphatase *PTPRS* in head and neck cancers[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2011, 108(47): 19024-19029.
- [12] GAO Q, ZHAO Y J, WANG X Y, et al. Activating mutations in *PTPN3* promote cholangiocarcinoma cell proliferation and migration and are associated with tumor recurrence in patients[J]. Gastroenterology, 2014, 146(5): 1397-1407.
- [13] KUDRYAVTSEVA A V, LIPATOVA A V, ZARETSKY A R, et al. Important molecular genetic markers of colorectal cancer[J]. Oncotarget, 2016, 7(33): 53959-53983.
- [14] WALIA V, PRICKETT T D, KIM J S, et al. Mutational and functional analysis of the tumor-suppressor *PTPRD* in human melanoma[J]. Hum Mutat, 2014, 35(11): 1301-1310.
- [15] DAVIS T B, YANG M, SCHELL M J, et al. *PTPRS* regulates colorectal cancer RAS pathway activity by inactivating erk and preventing its nuclear translocation[J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 92-96.

(唐勇 编辑)