

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2019.21.007

文章编号: 1005-8982 (2019) 21-0037-04

去整合素金属蛋白酶 8 在食管鳞癌的表达 及与病理特征的关系

王献, 张灿斌, 郑帅玉

(河南科技大学第一附属医院 胸外科, 河南 洛阳 471000)

摘要: **目的** 探讨去整合素金属蛋白酶 8 (ADAM8) 在食管鳞癌的表达及与病理分级和预后的关系。**方法** 选取河南科技大学第一附属医院因食管鳞癌行手术治疗患者 47 例。免疫组织化学法检测 ADAM8 的表达; 统计患者病理特征并进行术后随访, 分析 ADAM8 与病理特征及预后的关系。**结果** 食管鳞癌组织中 ADAM8 高表达比例与正常组织比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 食管鳞癌组织中 ADAM8 高表达比例大于正常组。肿瘤高分级患者 ADAM8 表达高于低分级肿瘤患者, TNM 分期 III、IV 期患者 ADAM8 表达高于 I、II 期患者, 淋巴结转移患者 ADAM8 表达高于无淋巴结转移患者, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。癌组织中 ADAM8 高表达患者与 ADAM8 低表达患者, 术后 2 年生存率的比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** ADAM8 在食管鳞癌中表达上调, ADAM8 表达水平对判断食管鳞癌病理特征与预后具有一定参考价值。

关键词: 食管肿瘤; 去整合素金属蛋白酶 8; 病理; 预后

中图分类号: R735.1

文献标识码: A

Expression of ADAM8 in esophageal carcinoma and its relationship with pathological features

Xian Wang, Can-bin Zhang, Shuai-yu Zheng

(Department of Thoracic Surgery, The First Affiliated Hospital of Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan 471000, China)

Abstract: **Objective** To investigate the expression of A Disintegrin and Metalloproteinase 8 (ADAM8) in esophageal carcinoma and its relationship with pathological grade and prognosis. **Methods** A total of 47 patients with surgical treatment of esophageal cancer in our hospital were selected. The expression of ADAM8 in esophageal carcinoma tissues was detected by immunohistochemistry and the pathological features were collected. The relationship between ADAM8 and prognosis was analyzed. **Results** Compared with normal esophageal tissues, the expression of ADAM8 in esophageal carcinoma tissues was significantly higher than that in normal esophageal tissues ($P < 0.05$). By χ^2 or rank sum test, ADAM8 expression in high tumor grade, III-IV stage and lymph node metastasis patients was higher than that in low tumor grade, I-II stage, without lymph node metastasis patients respectively, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). By long-rank survival analysis, the mortality of patients was significant different with different expression of ADAM8 ($P < 0.05$). **Conclusions** The expression of ADAM8 is up-regulated in esophageal carcinoma, and has certain reference value in judging the pathological characteristics and prognosis of esophageal carcinoma patients.

Keywords: esophageal neoplasms; ADAM8 protein, human; pathology; prognosis

收稿日期: 2019-04-27

食管鳞癌是消化道第 4 常见肿瘤, 严重威胁人类健康。近年来以手术为主的综合治疗虽然取得很好疗效, 但食管鳞癌患者 5 年生存率仍较低, 其主要原因是食管鳞癌对周围组织极强的侵袭性及容易发生淋巴结转移^[1-2]。因此, 如何有效早期预测食管鳞癌预后, 对于疾病诊疗具有极大意义。

去整合素金属蛋白酶家族成员去整合素金属蛋白酶 8 (A disintegrin and metalloproteinase 8, ADAM8) 已被证实在乳腺癌、前列腺癌等多种癌症组织中高表达, 且在肿瘤发生、发展中发挥关键作用, 与病理分级、预后密切相关。在食管鳞癌 ADAM8 表达谱研究中证实, ADAM8 在食管鳞癌中亦高表达^[3-4]。但是, ADAM8 与食管鳞癌病理、预后的关系尚不明确, 尤其是预测作用仍缺乏研究。因此, 本研究拟探讨 ADAM8 与食管鳞癌病理分级之间的关系及对预后的预测作用。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2014 年 5 月—2016 年 5 月河南科技大学第一附属医院因食管鳞癌行手术治疗的患者 47 例。其中, 男性 37 例, 女性 10 例; 年龄 (63.1 ± 12.4) 岁; 肿瘤直径 0.8 ~ 7.8 cm, 平均 (4.3 ± 1.9) cm; 食管鳞癌组织学分级: I 级 11 例, II 级 24 例, III 级 12 例; TNM 分期: I 期 8 例, II 期 12 例, III 期 16 例, IV 期 11 例; 发生淋巴结转移 24 例。选择同期住院的正常食管黏膜 47 例作为对照。患者及家属对研究内容知情, 自愿参与并签署知情同意书, 研究经本院医学伦理委员会批准。

1.2 纳入与排除标准

纳入标准: ①结合患者术前资料, 并经细胞学或病理组织学诊断为食管鳞癌^[5]; ②有可供检测肿瘤组织标本且不存在坏死。排除标准: ①有接受放疗、化疗及生物细胞免疫治疗病史的患者; ②合并严重心、肝、肾等其他器官功能障碍患者; ③合并血液性、感染性、免疫性疾病或其他恶性肿瘤疾病的患者。统计分析患者性别、年龄、肿瘤大小、肿瘤类别、TNM 分期、淋巴结转移等信息, 并随访至 2018 年 7 月 28 日, 无死亡及失访病例。细胞分化程度根据病理组织学, 由 2 位病理科医生判定。肿瘤分期符合 2002 年国际抗癌联盟第 6 版 TNM 分期标准^[5]。

1.3 方法

所有病理标本均于术中取材, 标本获得后立即置

于 4% 中性甲醛溶液中固定, 经石蜡包埋切片后, 筛选肿瘤细胞成分 >80% 的切片进行检测。

1.4 试剂与仪器

免疫组织化学环保脱蜡液 (中国博士德生物科技有限公司) 脱蜡, 高温修复抗原, 3% 过氧化氢 H₂O₂ 10 min, 10% 山羊血清室温封闭 1 h; Ki-67 抗体 (美国 Proteintech 公司)、ADAM8 多克隆兔抗 (美国 Proteintech 公司) 4℃ 孵育过夜。用抗鼠 / 兔通用型免疫组织化学检测试剂盒 (美国 Proteintech 公司) 检测 Ki-67、ADAM8 抗体结合情况并显色。苏木精复染 2 min 后进行脱水处理, 中性树脂封片。

1.5 结果判定

Ki-67 染色结果由 2 位病理科医生根据食管癌细胞阳性率进行分级: <50% 评判为 Ki-67 指数低; ≥ 50% 评判为 Ki-67 指数高。ADAM8 染色结果由 2 位病理科医生根据食管癌细胞阳性率进行分级: ≤ 1% 为 (-), >1% ~ 25% 为 (+), >25% ~ 50% 为 (++) , >50% ~ 75% 为 (+++) , >75% ~ 100% 为 (++++)。

1.6 统计学方法

数据分析采用 SPSS 17.0 统计软件, 计数资料以例 (%) 表示, 比较采用 χ^2 检验, Kaplan-Meier 法绘制生存曲线, 比较采用 Long-rank χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

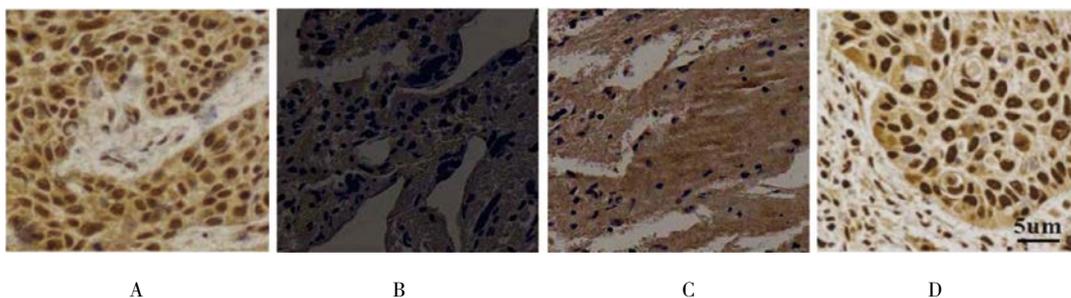
2 结果

2.1 不同组织中 ADAM8 表达比较

47 例患者癌组织 ADAM8 免疫组织化学染色分级为 (-) 7 例 (14.89%), (+) 9 例 (19.15%), (++) 8 例 (17.02%), (+++) 12 例 (25.53%), (++++) 11 例 (23.40%)。将分级 (-) 和 (+) 的免疫组织化学结果归为 ADAM8 低表达, (++) ~ (++++) 归为 ADAM8 高表达 (见图 1)。食管鳞癌组织中 ADAM8 高表达 31 例 (65.96%), 低表达 16 例 (34.04%); 正常黏膜组织中, ADAM8 高表达 10 例 (21.28%), 低表达 37 例 (78.72%)。两者比较, 差异有统计学意义 ($\chi^2=19.077$, $P=0.000$), 食管鳞癌组织中 ADAM8 高表达比例 > 正常组织黏膜。

2.2 ADAM8 表达与病理特征的关系

高分级肿瘤患者 ADAM8 表达高于低分级肿瘤患者, III、IV 期患者 ADAM8 表达高于 I、II 期患者, 淋巴结转移患者 ADAM8 表达高于无淋巴结转移患者, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。



A: IV期患者标本, ADAM8 高表达, (+++); B: III期患者标本, ADAM8 高表达, (+++); C: II期患者标本, ADAM8 高表达, (++)
D: I期患者标本, ADAM8 高表达, (++++).

图 1 癌组织中 ADAM8 表达 (免疫组织化学染色 ×200)

2.3 ADAM8 表达与预后的关系

癌组织中 ADAM8 高表达患者与 ADAM8 低表达患者, 术后 2 年生存率的比较, 经 Long-rank 生存分析,

差异具有统计学意义 ($\chi^2=3.462, P=0.025$), ADAM8 低表达患者生存率高于 ADAM8 高表达患者。见图 2。

表 1 ADAM8 表达水平与临床病理特征的关系 例 (%)

组别	n	男 / 女 / 例	年龄		肿瘤大小		TNM 分期	
			≥ 60 岁	<60 岁	<2 cm	≥ 2 cm	I、II 期	III、IV 期
ADAM8 低表达	16	12/4	9 (56.3)	7 (43.7)	8 (50.0)	8 (50.0)	10 (62.5)	6 (37.5)
ADAM8 高表达	31	25/6	20 (64.5)	11 (35.5)	18 (58.1)	13 (41.9)	7 (22.6)	24 (77.4)
χ^2 值		0.201	0.305		0.278		7.284	
P 值		0.654	0.581		0.598		0.007	

组别	肿瘤分级			淋巴结转移		Ki-67 指数	
	I 级	II 级	III 级	有	无	低	高
ADAM8 低表达	7 (43.7)	8 (50.0)	1 (6.3)	4 (25.0)	12 (75.0)	14 (87.5)	2 (12.5)
ADAM8 高表达	4 (12.9)	16 (51.6)	11 (35.5)	20 (64.5)	11 (35.5)	6 (19.4)	25 (80.6)
χ^2 值	7.828			6.594		20.047	
P 值	0.020			0.010		0.000	

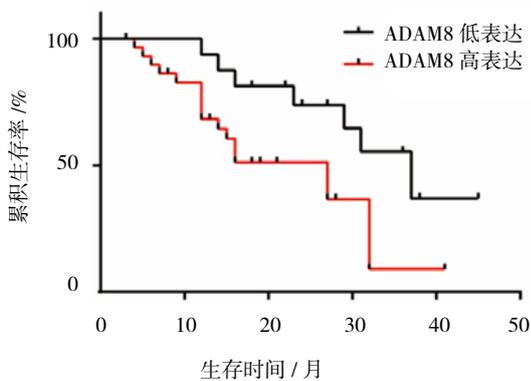


图 2 不同 ADAM8 表达患者术后 2 年生存分析

3 讨论

食管鳞癌细胞高侵袭转移能力是其预后差、病死率高的重要原因之一。近年来, 与食管癌侵袭、淋巴结转移相关的蛋白逐渐被发现, 研究表明这类蛋白对预测患者预后, 辅助病理分级诊断具有重要意义, 因此, 探讨与食管鳞癌病理分级并预测其预后的相关蛋白是近年研究热点^[1-2]。ADAM8 是去整合素金属蛋白酶家族的一员, 有膜型 (ADAM8m) 和分泌型 (ADAM8s) 2 种亚型, 在肿瘤中的作用逐渐受到学者重视。研究表明, ADAM8 可作为恶性黑色素瘤诊

断标志物^[6]。亦有学者在Ⅳ期神经母细胞瘤中观察到 ADAM8 表达上调^[7]。ADAM8 在多种恶性肿瘤中的作用已得到广泛研究,并已经证明可通过多种机制调控肿瘤侵袭转移^[8-9]。但是关于 ADAM8 在食管癌中的作用及机制研究却相对匮乏。本研究表明,ADAM8 表达越高,食管鳞癌分级程度越高、TNM 分期越高、发生淋巴结转移可能性越大、Ki-67 指数越高,预后越差。与乳腺癌、前列腺癌、肝癌等研究结果一致。

ADAM8 与食管鳞癌病理特征相关的机制可能是,ADAM8 通过激活分解多种膜结合配体,如表皮生长因子、胰岛素样生长因子结合蛋白、Notch 配体 δ 样 1 和胎盘亮氨酸氨肽酶等,降解细胞外基质,增加肿瘤细胞侵袭性^[10-11]。本研究表明,在高分级, TNM 分期Ⅲ、Ⅳ期患者,ADAM8 高表达比例更大,提示 ADAM8 可能与食管鳞癌恶性程度及相关生物学行为存在关系。在发生淋巴结转移的患者中进一步证实,ADAM8 高表达患者,更可能发生淋巴结转移。由此推测,ADAM8 可能是参与食管鳞癌恶性转化和侵袭过程的重要分子。另外,在高 Ki-67 指数患者中,ADAM8 高表达比例更大,提示 ADAM8 可能还影响食管鳞癌细胞增殖。但是,在不同肿瘤大小比较中,ADAM8 表达无差异,可能的解释是肿瘤大小受多因素影响,不仅仅与肿瘤的增殖能力相关,食管鳞癌部位、类型等亦可能影响就诊时肿瘤大小^[12]。因此,ADAM8 影响食管鳞癌细胞增殖的作用仍有待进一步探讨。由此可推测,ADAM8 水平可能对判断食管癌分化程度、TNM 分期、淋巴结转移等具有一定参考价值。既往在胶质瘤、肝癌等研究中证实,ADAM8 可通过调控细胞骨架蛋白,调控癌细胞 EMT,进而影响癌细胞侵袭、迁移、增殖^[13]。但 ADAM8 参与影响食管鳞癌病理特征的具体机制尚不明确,ADAM8 是否通过相同机制调控食管癌仍有待进一步探讨。

另外,本研究发现,ADAM8 表达与患者预后密切相关,生存期较短患者中,ADAM8 高表达比例更大,其可能的机制是 ADAM8 参与调控食管癌细胞病理特征。提示术后 ADAM8 检查结果可作为临床预测食管鳞癌患者预后与生存期重要指标,在临床中加以应用。

综上所述,食管鳞癌组织中 ADAM8 表达上调,其表达水平与肿瘤分化程度、TNM 分期、淋巴结转移及 Ki-67 指数有关,并影响预后。通过检测 ADAM8 表达对判断食管鳞癌患者病理特征与预后具有一定参考价值。

参 考 文 献:

- [1] 林东昕. 中国食管癌分子流行病学研究 [J]. 中华流行病学杂志, 2003, 24(10): 939-943.
- [2] 郭鑫, 吴源周, 贾龙飞, 等. 微创和开放食管癌切除术对食管癌患者循环肿瘤细胞的影响 [J]. 南方医科大学学报, 2018(3): 318-323.
- [3] 贾琦, 刘兆国, 余苏云, 等. ADAM8 在恶性肿瘤转移中的作用研究进展 [J]. 中国药理学通报, 2017, 33(8): 1037-1040.
- [4] CONRAD C, GÖTTE M, SCHLOMANN U, et al. ADAM8 expression in breast cancer derived metastases: Functional implications on MMP-9 expression and transendothelial migration in breast cancer cells[J]. International Journal of Cancer, 2017, 142(4): 779-791.
- [5] 邵令方, 陈宇航, 高宗人, 等. 食管癌和贲门癌的外科治疗 (英文) [J]. Oncology and Translational Medicine, 2002, 1(2): 44-46.
- [6] 万钧, 肖爱勤, 高淑珍, 等. 食管癌放疗后近期疗效评价标准 - 附 1000 例分析 [J]. 中华放射肿瘤学杂志, 1989(4): 3-5.
- [7] 黄金桔, 陈飞鹏, 邬勇坚, 等. 非小细胞肺癌患者血清中 ADAM8 和 CEA 的表达及意义 [J]. 中国肺癌杂志, 2008, 11(6): 789-792.
- [8] 张云, 胡本顺, 谈永飞, 等. ADAM8 蛋白在肝细胞癌的表达及其临床意义 [J]. 中华肝胆外科杂志, 2013, 19(2): 116-119.
- [9] 吴国成, 胡华成, 施敏骅. ADAM8, EGFR 在非小细胞肺癌中的表达及其相关性 [J]. 癌症, 2008, 27(8): 874-878.
- [10] MIYAUCHI M, KOYA J, ARAI S, et al. ADAM8 is an antigen of tyrosine kinase inhibitor-resistant chronic myeloid leukemia cells identified by patient-derived induced pluripotent stem cells[J]. Stem Cell Reports, 2018, 10(3): 1115-1130.
- [11] FOLEY S C, MOGAS A K, OLIVENSTEIN R, et al. Increased expression of ADAM33, and ADAM8, with disease progression in asthma[J]. Journal of Allergy & Clinical Immunology, 2007, 119(4): 863-871.
- [12] 徐统震, 孙雪飞, 栾子营, 等. HDGF 和 ADAM9 在食管癌中的异常表达及意义 [J]. 中华胸心血管外科杂志, 2013, 29(10): 610-613.
- [13] 王辉, 向明, 刘辉, 等. TLR9 与 ADAM17 在食管鳞状细胞癌中的表达及临床意义 [J]. 医学综述, 2016, 22(7): 1359-1361.

(王荣兵 编辑)