论著

文章编号:1000-5404(2005)05-0418-04

hnRNP A2/B1在肺癌组织中的表达及其临床意义

戴晓天,杨和平 (第三军医大学西南医院呼吸内科,重庆 400038)

提 要:目的 观察hnRNP A2/B1在肺癌中的表达,探讨hnRNP A2/B1对肺癌的诊断价值及其与组织类型、临床分期、吸烟的关系。**方法** 采用免疫组织化学染色方法检测41例肺癌、13例非肺癌组织中hnRNP A2/B1的表达情况。**结果** hnRNP A2/B1免疫组化肺癌组染色阳性率为85.4%(35/41),明显高于非肺癌组30.8%(4/13),两组间有非常显著性差异($P<0.01$)。其在胞浆、胞核均有表达,主要在胞浆表达。4种类型肺癌组织均显示hnRNP A2/B1阳性染色,其中鳞癌细胞染色阳性率为86.9%(20/23),较腺癌细胞78.6%(11/14)高,两组间无显著性差异($P>0.05$)。Ⅲ-Ⅳ期肺癌hnRNP A2/B1染色阳性率为88.9%(24/27),高于Ⅰ-Ⅱ期肺癌76.9%(10/13),两组间差异不显著($P>0.05$)。有吸烟史组hnRNP A2/B1染色阳性率为80.0%(32/40)明显高于无吸烟史组50.0%(7/14),两组间差异显著($P<0.05$)。**结论** hnRNP A2/B1与肺癌组织类型、临床病理分期无关,但与吸烟密切相关。hnRNP A2/B1检查敏感性、特异性高,可用于肺癌的辅助诊断。

关键词: hnRNP A2/B1;肺癌;诊断

中图法分类号: R341.31; R730.2; R734.2 **文献标识码:** A

Expression of heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A2/B1 in lung cancer and the related clinical significance

DAI Xiao-Tian, YANG He-Ping (Department of Respiratory Diseases, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To study the expression of heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A2/B1 (hnRNP A2/B1) in tissue of lung cancer and its clinical significance to diagnosis and its relationship with mistological type, clinical stage and smoking. **Methods** The expression levels of hnRNP A2/B1 in tissue from 41 patients with lung cancer and 13 carcinoma-free patients were determined by immunohistochemistry. **Results** The positive rate of hnRNP A2/B1 in tissue of lung cancer was 85.4% (35/41), significantly higher than that in carcinoma-free tissue (30.8%) ($P<0.01$). HnRNP A2/B1 was localized in the cytoplasm and/or nucleus, but it was present predominantly in the cytoplasm. All the four subtypes of lung cancer showed positive staining of hnRNP A2/B1 protein. The positive rate of hnRNP A2/B1 in tissue of squamous cell carcinoma was 86.9% (20/23), higher than that in adenocarcinomous tissue (78.6%) ($P>0.05$). The positive rate of hnRNP A2/B1 in tissue of stages Ⅲ-Ⅳ was 88.9%(24/27), higher than that in tissue of stages Ⅰ-Ⅱ (76.9%) ($P>0.05$). The positive rate of hnRNP A2/B1 in smoking patients was 80.0% (32/40), significantly higher than that in non-smoking patients (50.0%) ($P<0.01$). **Conclusion** HnRNP A2/B1 is not associated with the histological types of lung cancer and clinical stage, but is closely associated with the smoking history. The sensibility and specificity of hnRNP A2/B1 are high enough to be used in early diagnosis of lung cancer.

Key words: heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A2/B1; lung cancer; diagnosis

肺癌在我国的发病率和病死率均居各种恶性肿瘤之首,但目前可更好地用于早期诊断和监测的肿瘤标志物尚不多。近年研究表明hnRNP (heterogeneous nuclear ribonucleoprotein) A2/B1表达异常与肺癌发生和发展密切相关。本研究拟采用免疫组织化学染色方法检测肺组织标本hnRNP A2/B1表达情况,以探讨其对肺癌的诊断价值及与组织类型、临床分期、吸烟的关系。

1 材料与方法

1.1 实验分组

选择2003年1-7月肺部手术标本共54例(西南医院病理

作者简介:戴晓天(1973-),男,四川省乐山市人,硕士,主治医师,主要从事肺癌方面的研究。电话:(023)68754121

通讯作者:杨和平,电话:(023)68754121

收稿日期:2004-08-18;修回日期:2004-11-22

科），均经组织学确诊。肺癌组：共 41 例，男性 33 例，女性 8 例，平均年龄 58.2 岁；其中鳞癌 23 例，腺癌 14 例，腺鳞癌 3 例，小细胞肺癌 1 例。非肺癌组：共 13 例，男性 7 例，女性 6 例，平均年龄 43.4 岁；其中结核 6 例，炎性假瘤 4 例，血管瘤 2 例，肺脓肿 1 例。

1.2　标本处理方法

每份组织标本常规石蜡包埋切片 3 张，切片厚度 5 μm。1 张进行 HE 染色；1 张采用 EnVision™ 两步法[1] 进行免疫组化检测 hnRNP A2/B1（EnVision™ 试剂购自 Dako 公司，hnRNP A2/B1 单克隆抗体由绵阳高新区丽欧生物基因有限公司提供），载玻片经 0.3% H_2O_2 甲醇灭活内源性过氧化物酶，微波抗原修复，10% 马血清封闭后，加 1∶100 稀释的 hnRNP A2/B1 单抗，37 ℃孵育 30 min，4 ℃过夜，再加入 EnVision™ 试剂，37 ℃孵育 30 min，DAB 显色；1 张以 0.01 mol/L PBS 代替一抗染色作为对照，其余步骤不变。

1.3　免疫组化结果判定

在整个组织切片，超过 50% 癌细胞染色而无显著的间质细胞染色，为阳性，按染色信号强弱被分为 4 级（－、＋、＋＋、＋＋＋）[2]。

1.4　统计学处理

用 R×C 表 χ^2 检验。

2　结果

2.1　hnRNP A2/B1 表达的免疫组织化学染色及阳性率

光镜下 hnRNP A2/B1 表达阳性产物呈棕黄色，分布形式有核型（图 1）、浆型（图 2）、核浆型 3 种，以浆型为主；阳性反应产物呈颗粒状，阳性细胞有分散、成群或弥漫分布 3 种形式。肺癌组 41 例病例中有 35 例 hnRNP A2/B1 表达阳性，非肺癌组 13 例中仅有 4 例表达阳性，肺癌组阳性率（85.4%）明显高于非肺癌组（30.8%），两组间差异非常显著（表 1）。其中肺癌组 2 例病例分别见 hnRNP A2/B1 在癌旁正常肺泡上皮细胞和正常支气管上皮细胞高表达（图 3，4）。非肺癌组中，6 例结核中 2 例表达阳性，2 例血管瘤均表达阳性，4 例炎性假瘤和 1 例肺脓肿无表达。

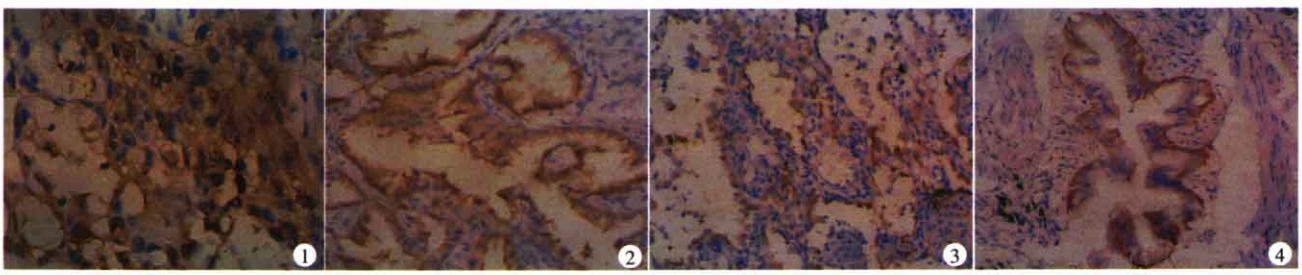


图 1　鳞癌细胞胞核染色阳性（EnVision™ × 400）

Fig 1　Positive staining of hnRNP A2/B1 in the nucleus of squamous carcinoma（EnVision™ × 400）

图 2　腺癌细胞胞浆染色阳性（EnVision™ × 200）

Fig 2　Positive staining of hnRNP A2/B1 in the cytoplasm of adenocarcinoma（EnVision™ × 200）

图 3　癌灶无 hnRNP A2/B1 表达，癌旁正常肺泡上皮细胞染色阳性（EnVision™ × 200）

Fig 3　Negative staining of hnRNP A2/B1 in the carcinoma but positive staining in the normal alveolar epithelium cells adjacent to the carcinoma（EnVision™ × 200）

图 4　癌灶无 hnRNP A2/B1 表达，癌旁正常支气管上皮细胞染色阳性（EnVision™ × 200）

Fig 4　Negative staining of hnRNP A2/B1 in the carcinoma, but positive staining in the normal tracheal epithelium cells adjacent to the carcinoma（EnVision™ × 200）

表 1　肺癌与非肺癌 hnRNP A2/B1 的表达

Tab 1　Expression of hnRNP A2/B1 in tissue of lung cancer and non-lung cancer

Group	*n*	Expression of hnRNP A2/B1				Total positivity	Positive rate(%)
		－	＋	＋＋	＋＋＋		
Lung cancer	41	6	11	19	5	35	85.4*
Non-lung cancer	13	9	2	2	0	4	30.8

*：$\chi^2 = 14.67$，$P < 0.01$，*vs* non-lung cancer

2.2　hnRNP A2/B1 表达与肺癌组织类型的关系

4 种类型肺癌组织均显示 hnRNP A2/B1 阳性染色，范围在 78.6% ~ 100%。鳞癌细胞染色强度为弱阳性 17.4%（4/23）、阳性 56.5%（13/23）、强阳性 13.0%（3/23）；腺癌细胞为弱阳性 42.9%（6/14）、阳性 28.6%（4/14）、强阳性 7.1%（1/14）。鳞癌细胞染色阳性率（86.9%）较腺癌细胞（78.6%）高，但两组间无显著性差异（$P > 0.05$）（表 2）。腺鳞癌 3 例和小细胞肺癌 1 例均染色阳性，因这两组例数少，未进行比较。

表 2　hnRNP A2/B1 表达与肺癌组织类型的关系

Tab 2　Relationship of hnRNP A2/B1 expression with histological types of lung cancer

Histological types of lung cancer	*n*	Expression of hnRNP A2/B1				Total positivity	Positive rate(%)
		－	＋	＋＋	＋＋＋		
Squamous carcinoma	23	3	4	13	3	20	86.9
Adenocarcinoma	14	3	6	4	1	11	78.6
Adenosquamous carcinoma	3	0	0	2	1	3	100
Small cell carcinoma	1	0	1	0	0	1	100

2.3 hnRNP A2/B1 表达与肺癌临床病理分期的关系

参考肺癌最新 TNM 分期表[3](UICC,1997),非小细胞肺癌共 40 例,病变Ⅰ-Ⅱ期 13 例,Ⅲ-Ⅳ期 27 例。Ⅲ-Ⅳ期肺癌 hnRNP A2/B1 阳性率(88.9%)高于Ⅰ-Ⅱ期肺癌(76.9%),但两组间差异不显著($P>0.05$)(表 3)。因仅有广泛期小细胞肺癌 1 例(染色强度 +),未作比较。

表 3 hnRNP A2/B1 表达与非小细胞肺癌临床病理分期的关系

Tab 3 Relationship of hnRNP A2/B1 expression with clinical stages of non-small cell lung cancer

Clinical staging	n	Expression of hnRNP A2/B1				Total positivity	Positive rate(%)
		−	+	++	+++		
Ⅰ − Ⅱ	13	3	4	5	1	10	76.9
Ⅲ − Ⅳ	27	3	6	14	4	24	88.9

2.4 hnRNP A2/B1 表达与吸烟的关系

在 54 例肺部手术标本中,有吸烟史 40 例,平均吸烟指数为 300 年支。40 例吸烟史病例中有 32 例 hnRNP A2/B1 表达阳性,14 例无吸烟史病例中有 7 例表达阳性,有吸烟史病例阳性率(80.0%)明显高于无吸烟史病例(50.0%),两者差异显著(表 4)。

表 4 hnRNP A2/B1 表达与吸烟的关系

Tab 4 Relationship of hnRNP A2/B1 expression with smoking

Group	n	Expression of hnRNP A2/B1				Total positivity	Positive rate(%)
		−	+	++	+++		
Smoking	40	8	9	19	4	32	80.0*
No smoking	14	7	4	2	1	7	50.0

*: $\chi^2=4.65$, $P<0.05$, *vs* no smoking

3 讨论

hnRNP 是一种核内的 RNA 结合蛋白,A、B 组为基本核心成分。hnRNP A2 与 hnRNP B1 结构相似,高度同源,一般认为是由同一基因起源的变异体,因此常将两者合称为 hnRNP A2/B1[4]。hnRNP A2/B1 蛋白在正常成人所有细胞中都有低水平的表达,但在不同组织器官的表达水平则有很大的差异,而且在不同组织细胞中的分布不同,在上皮细胞主要位于细胞质。在胚胎肺发育中,hnRNP A2/B1 蛋白随气道和肺的形成逐渐表达,且水平较高,而在成人的肺组织中却呈低水平表达[5]。

近年研究表明 hnRNP A2/B1 与多种肿瘤密切相关,其中尤以肺癌为著。卢兆桐等[6]对 hnRNP A2/B1 研究证实肺癌组阳性率明显高于肺良性肿瘤组和正常肺组,均有显著差异,而肺良性肿瘤组与正常肺组无显著性差异。本研究肺癌组 41 例病例中 35 例 hnRNP A2/B1有高表达,阳性率为 84.4%,明显高于非肺癌组阳性率 30.8%(4/13),两组间差异非常显著,提示 hnRNP A2/B1 对肺癌具有重要的诊断价值,该结论与文献报道基本一致。本研究进一步表明,4 种类型肺癌组织均显示有 hnRNP A2/B1 阳性染色,其中鳞癌阳性率为 86.9%(20/23),高于腺癌阳性率 78.6%(11/14),但两组间无显著性差异,提示 hnRNP A2/B1 在肺癌中的高表达可能与组织类型无关。而在 13 例非肺癌中,6 例结核中 2 例表达阳性,2 例血管瘤均表达阳性,4 例炎性假瘤和 1 例肺脓肿无表达,提示 hnRNP A2/B1 表达可能与结核、血管瘤有一定相关性,而与炎症反应无关。因本研究中肺手术标本较少,且仅有 1 例小细胞肺癌,未见大细胞肺癌病例,故还需扩大样本量,进一步验证 hnRNP A2/B1 与肺癌组织类型的相关性,及评价其与结核、血管瘤的关系。

在对 40 例非小细胞肺癌组织中 hnRNP A2/B1 表达的研究中,我们发现病变Ⅲ-Ⅳ期肺癌 hnRNP A2/B1 阳性率(88.9%)高于Ⅰ-Ⅱ期肺癌(76.9%),但两组间差异不显著,提示 hnRNP A2/B1 表达阳性率与非小细胞肺癌临床病理分期无关。目前在这方面各家报道尚不完全一致。Sueoka 等[7]研究发现病变晚期组 hnRNP A2/B1 表达阳性率高于病变早期组,但差异不显著;而国内卢兆桐等[6]研究提示病变越晚,hnRNP A2/B1 表达阳性率越高。对于 hnRNP A2/B1 表达与肺癌临床病理分期的关系,还有待进一步探讨。

值得注意的是,本研究亦表明 hnRNP A2/B1 在肺癌周边的正常组织中也有高表达,与 Zhou 等[8]研究发现一致。与肺癌相似,乳腺癌患者的正常乳腺组织中也有 hnRNP A2/B 1 的高表达[9]。目前对正常组织中 hnRNP A2/B1 高表达的原因不清,推测可能提示细胞的早期异常,hnRNP A2/B1 高表达与其它分子生物学改变的综合结果导致了细胞的恶性改变。

本研究表明,有吸烟史组阳性率为 80.0%(32/40),明显高于无吸烟史组阳性率 50.0%(7/14),两者相差显著,提示 hnRNP A2/B1 表达水平与有无吸烟密切相关。尽管本研究前面已证实 hnRNP A2/B1 的表达与肺癌之间的高度相关性,但不能排除是烟草诱导了 hnRNP A2/B1 的表达。文献[8]报道提示,吸烟与 hnRNP A2/B1 的表达水平相关,并且有证据表明在吸烟者的痰、支气管和肺组织中组织形态正常的细胞有 hnRNP A2/B1 的高表达:对吸烟的肺癌患者癌旁组织的研究发现,重度吸烟组(>50 包/年)中 hnRNP A2/B1 的表达水平显著高于轻度吸烟组(<50 包/年),而且随吸烟时间的增加 hnRNP A2/B1 表达水平也增加。但也有报道提示现在吸烟者和过去吸烟者在 hnRNP A2/B1

的表达上并无差异[10]。因此 hnRNP A2/B1 作为肿瘤标志物的可能性还需进一步验证。

hnRNP A2/B1 是一种肿瘤相关抗原，在癌前病变及肿瘤组织中高表达，但有关 hnRNP A2/B1 与肺癌的研究尚处于起步阶段，一些研究者所获得的研究结果存在分歧，在很多方面还有待更加深入和细致的研究。

参考文献：

[1] 马大烈，郑青渝，黄　玲，等. 微波 EnVision 免疫组织化学标记的特异性和敏感性研究[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志，1998，7(1)：109－112.

[2] Sueoka E, Sueoka N, Goto Y, *et al*. Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein B1 as early cancer biomarker for occult cancer of human lungs and bronchial dysplasia[J]. Cancer Res, 2001, 61(5): 1896－1902.

[3] 吴怀申. 肺癌最新 TNM 分期表[J]. 中华肿瘤杂志，1998，20(5)：398.

[4] Burd C G, Swanson M S, Gorlach M, *et al*. Primary structures of the heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A2, B1, and C2 proteins: a diversity of RNA binging proteins is generated by small peptide inserts[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1989, 86(24): 9788－9792.

[5] Montuenga LM, Zhou J, Avis I, *et al*. Expression of heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A2/B1 changes with critical stage of mammalian lung development[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 1998, 19(4): 554－562.

[6] 卢兆桐，付　强，耿　明，等. 异质性细胞核核糖蛋白 A2/B1 在非小细胞肺癌的表达研究[J]. 实用医药杂志，2003，20(3)：161－163.

[7] Sueoka E, Goto Y, Sueoka N, *et al*. Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein B1 as a new marker of early detection for human lung cancers[J]. Cancer Res, 1999, 59(7): 1404－1407.

[8] Zhou J, Jensen S M, Steinberg S M, *et al*. Expression of early lung cancer detection marker p31 in neoplastic and non-neoplastic respiratory epithelium [J]. Lung Cancer, 1996, 14(1): 85－97.

[9] Zhou J, Allred D C, Avis I, *et al*. Differential expression of the early lung cancer detection marker, heterogeneous nuclear ribonucleoprotein-A2/B1 (hnRNP-A2/B1) in normal breast and neoplastic breast cancer[J]. Breast Cancer Res Treat, 2001, 66(3): 217－224.

[10] Zhou J, Nong L, Wloch M, *et al*. Expression of early lung cancer detection marker: hnRNP A2/B1 and its relation to microsatellite alteration in non-small cell lung cancer[J]. Lung Cancer, 2001, 34(3): 341－350.

（编辑　陈聪连）

（上接 417 页）

者（包括正常变异者）36 例，Willis 动脉环以下颈内动脉和椎-基底动脉存在局限性狭窄或内膜病变者 34 例，Willis 动脉环以上存在局限性狭窄或内膜病变者 5 例，存在血管畸形或血管瘤者 4 例。部分患者有同时具有 Willis 动脉环上下的动脉狭窄和内膜病变，或者血管畸形/血管瘤，分别统计。

结合临床症状分析造影狭窄血管和临床症状的符合率：狭窄血管即为罪犯血管（导致临床症状的血管）的占 54.2%，此种情况下 Willis 动脉环不完整的比例为 75%；狭窄血管与罪犯血管不符合，或者无明显血管狭窄的占 45.8%，这两种情况下 Willis 动脉环不完整的比例为 50%左右。

3　讨论

对 Willis 动脉环变异的研究方法有多种，DSA 血管造影为微创检查，精确度高，是患者生前能了解血管发育、血管内膜及管壁变化的检查方法，常被作为判断血管情况的金标准。

与李建华等[3]的报道结果不同，本组患者的特点为：A1 优势征、大脑后动脉供血为颈动脉供血型、混合供血型者比例较高，即 Willis 动脉环的不完整性较高。出现这种差异的原因考虑主要和病例选择有关，李建华等选择的病例主要为青年人及血管畸形患者，而本组患者主要是缺血性脑血管疾病。由此提示 Willis 动脉环的不完整性增高与脑血管病发病有关，它可能是脑血管病发病的诱因，也可能是发病后的代偿机制。

临床研究表明，如果能够建立直径大于 1 mm 的侧支循环，才能有效阻止分水岭梗死[5]。长期以来，Willis 动脉环的不完整性被认为与缺血性脑血管病密切相关[6]。本组缺血性脑血管病患者中发现 Willis 环不完整比例明显高于李建华等观察的青年正常和血管畸形组，支持 Willis 动脉环的不完整与缺血性脑血管病密切相关的观点。

Willis 前环的 A1 优势征和 Willis 后环中大脑后动脉供血为颈动脉供血型、混合供血型者提示 Willis 动脉环不完整。本组研究中与 Willis 动脉环相关的血流动力性缺血性脑血管病约占临床诊断缺血性脑血管病的 30%，这对临床选择治疗方案，超选择性动脉溶栓时溶栓部位的选择、扩血管药物的应用均提出的更高的要求。如何准确的判断缺血性脑血管病的类型应该是神经科诊断治疗的重要课题。

关键词：数字减影血管造影；Willis 动脉环；缺血性脑血管病
中图法分类号：R743.04　　文献标识码：B

参考文献：

[1] 华　扬. 实用颈动脉与颅脑血管超声诊断学[M]. 北京：科学出版社，2002. 25－150.

[2] 李明华. 神经介入影像学[M]. 上海：科学技术文献出版社，2000. 100－150.

[3] 李建华，贺能树，孙建中. 颅内交通动脉瘤与 Willis 环血流动力学变化的关系[J]. 临床放射学杂志，2002，21(1)：19－22.

[4] 欧阳墉. 数字减影血管造影诊断学[M]. 北京：人民卫生出版社，2002. 56.

[5] 陈述花，张云亭，于铁链. 缺血性脑血管病时 Willis 环的磁共振血管造影[J]. 国外医学脑血管疾病分册，2001，9(5)：265－268.

[6] Rodda R A, Path F R C. The arterial patterns associated with internal carotid disease and cerebral infarcts[J]. Stroke, 1986, 17(1): 69－75.

（编辑　汪勤俭）