临床研究 DOI:10.3969/j.issn.0253-3626.2011.11.023

结直肠腺瘤中核孔蛋白 88 的表达及临床意义

张丽静，赵增仁，张志勇，郑　铮，王园园，胡月明
（河北医科大学第一医院普外科，石家庄　050031）

【摘　要】目的：观察核孔蛋白 88（Nucleoporin 88，Nup88）在结直肠腺瘤中的表达，分析其与临床病理特征间的关系。方法：采用 SP 免疫组织化学法检测 163 例结直肠腺瘤、43 例结直肠癌和 23 例正常肠黏膜组织中 Nup88 蛋白的表达，统计学分析比较 3 组间 Nup88 蛋白表达的差异，及 Nup88 表达与结直肠腺瘤临床病理特征间的关系。结果：Nup88 蛋白在正常黏膜组、结直肠腺瘤组及结直肠癌组的阳性表达率分别为 0%，43.56%，55.81%，差异有统计学意义（$P<0.01$）。重度不典型增生的结直肠腺瘤中 Nup88 蛋白的阳性表达率明显高于轻、中度不典型增生者（60.71% vs 40%，$P=0.044$）；Nup88 的表达还与结直肠腺瘤的位置有关，腺瘤位于左半结肠及直肠者 Nup88 的表达明显高于右半结肠（$P<0.017$）。结论：Nup88 在结直肠腺瘤中的高表达提示 Nup88 可能与结直肠癌的发生、发展有关。

【关键词】核孔蛋白 88；结直肠肿瘤；免疫组织化学染色
【中国图书分类法分类号】R735.3　　【文献标志码】A　　【收稿日期】2011-04-18

Expression and clinical significance of Nup88 in adenoma of colorectum

ZHANG Li-jing, ZHAO Zeng-ren, ZHANG Zhi-yong, WANG Yuan-yuan, HU Yue-ming
(*Department of General Surgery, the First Hospital of Hebei Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate the expression of Nucleoporin 88 (Nup88) protein in colorectal adenoma as well as the correlation with the clinical features. *Methods*: One hundred sixty-three colorectal adenoma specimens, 43 carcinoma specimens and 23 normal colorectal tissue specimens were examined by immunohistochemistry using the strepatavidin-peroxidase method. Relationship between Nup88 and the clinical features of colorectal adenoma was then analyzed. *Results*: The positive rate of Nup88 protein expression in normal mucosa, adenoma and colorectal carcinoma was 0%, 43.56% and 55.81% respectively and there was significant difference within them ($P<0.01$). Nup88 expression in severe dysplasia (60.71%) was notably increased compared to the weak and moderate (40%, $P=0.044$). Nup88 expression was also closely related to the location of colorectal adenoma. When the adenoma located in the left colon or the rectum, Nup88 expression was significantly higher than that in the right ($P<0.017$). *Conclusion*: Increased expression of Nup88 in colorectal adenoma indicated Nup88 maybe play a promotive role in the tumorgenesis and development of colorectal cancer.

【Key words】nucleoporin 88; colorectal neoplasm; immunohistochemical staining

结直肠癌是我国最常见的恶性肿瘤之一，严重危害人类健康。结直肠腺瘤作为其癌前病变已被广泛认可[1]，研究结直肠腺瘤中基因的改变对早期发现及治疗结直肠癌具有重要意义。研究发现，核孔蛋白 88（Nucleoporin 88，Nup88）与肿瘤的关系颇为密切，截至目前，已在多种肿瘤细胞系和原发的肿瘤组织中检测到 Nup88 高表达[2]。然而结直肠腺瘤中Nup88 蛋白的表达及与临床病理特征间的关系尚未见报道。本实验采用免疫组织化学法检测结直肠腺瘤中 Nup88 蛋白的表达，探讨其与结直肠腺瘤生物学行为的关系。

作者介绍：张丽静（1980-），女，主治医师，硕士，
研究方向：消化道肿瘤的基础与临床研究。

基金项目：国家自然科学基金资助项目（编号：30772115）。

1　材料与方法

1.1　研究对象

收集 2005 年 6 月-2009 年 6 月间唐山市工人医院病理科结直肠腺瘤性息肉标本 163 例。其中管状腺瘤 52 例，绒毛管状腺瘤 67 例，绒毛状腺瘤 44 例。腺瘤组织异型增殖情况为：轻、中度异型增生者 135 例，重度异型增生 28 例。肿瘤位于左半结肠者 32 例，右半结肠者 7 例，直肠者 80 例，另有 44 例具体位置不详。另选 43 例结直肠癌和 23 例肠镜检查结直肠黏膜未见异常者的肠黏膜作为对照组。

1.2　试剂

Nup88 兔抗人多克隆抗体购自美国 Santa Cruz 公司，SP 免疫组化试剂盒和 DAB 显色剂均购自北京中杉金桥生物技

术有限公司。

1.3 方法

1.3.1 免疫组织化学染色 采用 SP 法，5 μm 石蜡切片，常规脱蜡水化，柠檬酸钠缓冲液热抗原修复。3%H_2O_2 阻断过氧化氢酶 10 min，按 SP 试剂盒说明书进行操作。Nup88 抗体的工作浓度为 1:100。DAB 显色，苏木素复染，封固。以已知阳性片作阳性对照，用 0.01 mol/L PBS 代替一抗作为阴性对照。

1.3.2 结果判定 Nup88 蛋白阳性表达颗粒定位于细胞质。每张切片根据免疫组织化学评分标准分别进行阳性率及着色强度评分：无着色为 0 分，浅黄色为 1 分，棕黄色为 2 分，棕褐色为 3 分；阳性率评分标准：<50%为 1 分，51%~75%为2 分，76%以上为 3 分；将阳性率和着色强度两项评分的乘积进行评价。结果分为 4 级：0~1 分为阴性(-)，2~3 分为弱阳性(+)；4~6 分为中度阳性(++)；7~9 分为强阳性(+++)。为统计方便，(-)和(+)计为阴性，≥(++)为阳性。

1.4 统计学处理

应用 SPSS 13.0 统计软件包进行数据处理。等级资料的比较采用 *Kruskal-Wallis* 秩和检验，Nup88 蛋白的表达与临床病理特征间的关系采用 χ^2 检验，$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 Nup88 在结直肠正常黏膜、腺瘤及癌组织中的表达

Nup88 阳性染色定位于正常上皮细胞和肿瘤细胞的胞浆，间质中无表达(图 1)。结直肠正常黏膜中，Nup88 表达均呈阴性；结直肠腺瘤中，Nup88 表达阳性者 43.56%，其中 12.88%呈强阳性；结直肠癌组织中Nup88表达阳性者为 55.81%，强阳性者达 23.26%。从正常黏膜→腺瘤→结直肠癌，Nup88 的表达逐渐增加，三者之间比较差异有统计学意义($P<0.01$，表 1)。研究发现，结直肠癌组织中 Nup88 表达强阳性者较其他两者亦明显增高($\chi^2=9.704$，$P=0.008$)。

2.2 结直肠腺瘤中 Nup88 的表达与临床病理特征间的关系

163 例结直肠腺瘤中，腺瘤位置资料详尽者 119 例。当腺瘤位于右半结肠时，Nup88 蛋白阳性表达率为 0；腺瘤位于直肠者 Nup88 蛋白表达率为 46.25%(37/80)；腺瘤位于左半结肠时，Nup88 蛋白表达率为 46.88%(15/32)；经分析，3 组间 Nup88 蛋白表达率不同或不全相同($P=0.015$)。随后对其进行了两两比较，发现腺瘤位于左半结肠和直肠者 Nup88 的表达较右半结肠者明显增高，差异有统计学意义(左半结肠与右半结肠相比，$P=0.005$；直肠与右半结肠相比，$P=0.004$；左半结肠与直肠相比，$P=0.951$，其中 $\alpha'=0.017$)。同时重度不典型增生的腺瘤中 Nup88 蛋白阳性表达率较轻、中度不典型增生者高(60.71% vs 40%，$P=0.044$)。Nup88 表达与组织学类型：在管状腺瘤中 Nup88 蛋白阳性表达率(34.62%)最低，绒毛状为 43.18%，绒毛管状腺瘤中最高为 46.27%，3 者差异无统计学意义($P>0.05$)。Nup88 表达与腺瘤单发或者多发无关($P>0.05$，表 2)。

表 1 结直肠正常黏膜、腺瘤及癌组织中 Nup88 蛋白的表达

组别	总例数	Nup88表达				χ^2	P值*
		-	+	++	+++		
正常黏膜	23	20	3	0	0		
腺瘤	163	17	75	50	21	134.839	<0.001
腺癌	43	13	6	14	10		

*：*Kruskal-Wallis* 秩和检验

表 2 Nup88 蛋白的表达与结直肠腺瘤临床病理特征间的关系

临床特征	例数	Nup88 表达		χ^2	P值
		阴性	阳性		
组织学	163			1.688	0.430
管状		34(65.38%)	18(34.62%)		
绒毛状		25(56.82%)	19(43.18%)		
绒毛-管状		36(53.73%)	31(46.27%)		
位置	119			8.384	0.015
右半结肠		7(100.00%)	0(0.00%)		
左半结肠		17(53.12%)	15(46.88%)		
直肠		43(53.75%)	37(46.25%)		
异形增生	163			4.047	0.044
轻度+中度		81(60.00%)	54(40.00%)		
重度		11(39.29%)	17(60.71%)		
多发腺瘤	161			0.058	0.810
是		2(50.00%)	2(50.00%)		
否		88(56.05%)	69(43.95%)		



A. 正常黏膜 B. 结直肠腺瘤 C. 结直肠癌

图 1 Nup88 蛋白在结直肠正常黏膜、腺瘤及癌组织中的免疫组化结果(SP ×200)

3 讨 论

结直肠癌是我国常见的恶性肿瘤，其发病率和死亡率有逐年增高的趋势。研究显示，结直肠癌的发生受到遗传和环境因素的作用，涉及多个癌基因和抑癌基因的改变。Nup88是核孔蛋白（Nucleoporins，Nups）家族中的一员，与 Nup214 相连形成一个动态的复合物，通过调节细胞周期和有丝分裂影响细胞的生长及演变，而且参与多种物质的核质转运，与肿瘤的发生发展有很大关系[3-5]。研究表明 Nup88 在人类多种实体恶性肿瘤，如胃癌、结直肠癌、乳腺癌、子宫颈癌、子宫内膜癌、前列腺癌，呈特异性高表达，提示 Nup88 可能是恶性肿瘤的一个特异性标记物[6-8]。Agudo 等[9] 研究发现 Nup88 mRNA 的高表达与乳腺癌的高侵袭性密切相关，另有报道表明Nup88 蛋白的表达和结直肠癌的转移程度和死亡率密切相关，可作为评估预后的指标[10]。

目前普遍认为，半数以上大肠癌由腺瘤癌变而来[11]。结直肠腺瘤作为结直肠癌的重要癌前病变，是否也伴有 Nup88 蛋白的高表达呢？通过检测 163 例腺瘤组织中 Nup88 蛋白的表达情况，结果显示：Nup88 蛋白的表达由正常大肠黏膜至结直肠腺瘤至结直肠癌发展过程中呈逐渐上调趋势，且腺癌组织中 Nup88 蛋白强阳性表达率较腺瘤明显增高，提示 Nup88 蛋白在结直肠癌发生的早期即有表达异常，Nup88 的异常表达是结直肠肿瘤形成过程中的早期事件。

目前已证实，与结直肠腺瘤恶变潜能密切相关的 3 个主要特征是腺瘤大小、组织学类型和异型程度。其中，异型程度与恶性转化关系密切。一般认为≥2 cm、无蒂、重度不典型增生者癌变率高，同时绒毛状腺瘤的恶变率高于管状腺瘤[12]。通过分析 Nup88 蛋白的表达与结直肠腺瘤生物学行为间的关系。结果表明，随着腺瘤异型增生程度的加重，Nup88 蛋白的阳性表达率逐渐上升（32.56%，44.19%，60.71%），腺瘤伴重度不典型增生中 Nup88 蛋白的表达明显增高，差异有统计学意义（$P<0.05$）。由此推断，Nup88 可能对结直肠腺瘤的癌变过程具有一定的促进作用。研究发现，组织学分型中腺瘤绒毛状成分越多，发生恶变或并发癌肿的可能性越大。本次试验中，观察到随着腺瘤性息肉组织中绒毛成分的出现，Nup88 蛋白阳性表达率呈现上升趋势，结直肠管状腺瘤中 Nup88 阳性表达率最低（34.62%），绒毛管状腺瘤中最高为 46.27%，与其恶变率趋势相一致。从正常结肠黏膜、管状腺瘤、绒毛状腺瘤、结直肠癌顺序，Nup88 阳性表达率呈现上升趋势，说明在预示腺瘤癌变方面，Nup88 亦具有一定意义。本实验资料中发现，腺瘤位于左半结肠的频数较右半结肠明显增多，而且位于左半结肠和直肠的腺瘤中 Nup88 蛋白的阳性表达率较右半结肠明显增高，差异有统计学意义（$P=0.015$）。这与左半结肠腺瘤异型增生率和癌变率均高于右半结肠的结论相一致，说明 Nup88 蛋白在腺瘤向腺癌的恶性转化过程中可能起重要作用。

综上所述，Nup88 在结直肠癌发生的早期即有表达异常，Nup88 的表达与结直肠腺瘤的异型增生程度和位置之间具有相关关系，提示 Nup88 可能在结肠腺瘤-癌序列过程中具有促进作用。

参 考 文 献

[1] 郑 杰.结直肠息肉和结直肠癌[J].中华病理学杂志，2005，34（1）：4-5.

[2] Martinez N，Alonso A，Moragues M D，et al.The nuclear pore complex protein Nup88 is overexpressed in tumor cells[J].Cancer Res，1999，59(21)：5408-5411.

[3] Hashizume C，Nakano H，Yoshida K，et al.Characterization of the role of the tumor marker Nup88 in mitosis[J].Mol Cancer，2010，9：119-125.

[4] Xu S，Powers M A.Nuclear pore proteins and cancer[J].Semin Cell Dev Biol，2009，20(5)：620-630.

[5] Shu W，Chen Y，Wu Q，et al.Deguelin represses both the expression of nucleophosmin and some nucleoporins：Nup88 and Nup214 in Jurkat cells[J].Biol Pharm Bull，2008，31(1)：27-32.

[6] Gould V E，Orucevic A，Zentgraf H，et al.Nup88 (karyoporin) in human malignant neoplasms and dysplasias：Correlations of immunostaining of tissue sections，cytologic smears，and immunoblot analysis[J].Hum Pathol，2002，33(5)：536-544.

[7] Schneider J，Martínez-Arribas F，Torrejón R.Nup88 expression is associated with myometrial invasion in endometrial carcinoma[J].Int J Gynecol Cancer，2010，20(5)：804-808.

[8] Brustmann H，Hager M.Nucleoporin 88 expression in normal and neoplastic squamous epithelia of the uterine cervix[J].Ann Diagn Pathol，2009，13(5)：303-307.

[9] Agudo D，Gomez-Esquer F，Martinez-Arribas F，et al.Nup88 mRNA overexpression is associated with high aggressiveness of breast cancer[J].Int J Cancer，2004，109(5)：717-720.

[10] Emterling A，Skoglund J，Arbman G，et al.Clinicopathological significance of Nup88 expression in patients with colorectal cancer[J].Oncology，2003，64(4)：361-369.

[11] Micheli A，Mugno E，Krogh V，et al.Cancer prevalence in European registry areas[J].Ann Oncol，2002，13(6)：840-865.

[12] 汤钊猷.现代肿瘤学[M].第 1 版.上海：上海医科大学出版社，1993.6.

（责任编辑：张学颖）