

· 基础研究 ·

Barrett 食管组织 HIF-1 α 、mtP53、IMP3 蛋白表达及意义丁光荣, 张俊文 Δ

(重庆医科大学附属第一医院消化内科 400016)

摘要:目的 观察缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)及 mtP53、IMP3 蛋白在 Barrett 食管中的表达情况,分析 HIF-1 α 及 mtP53、IMP3 在 Barrett 食管发生、发展中的意义。**方法** 取 100 例 Barrett 食管胃镜标本进行免疫组织化学分析 HIF-1 α 、mtP53、IMP3 蛋白的含量,并与 50 例反流性食管炎组织比较。**结果** 与反流性食管炎组比较,Barrett 食管组 HIF-1 α 、mtP53、IMP3 蛋白表达均明显增强($P < 0.05$),HIF-1 α 、mtP53、IMP3 三者的表达呈正相关(均 $P < 0.01$)。**结论** HIF-1 α 、mtP53、IMP3 在 Barrett 食管的发生、发展中起着很大的作用,有可能是 Barrett 食管发生及恶变的机制之一。

关键词: Barrett 食管;免疫组织化学;缺氧诱导因子-1 α ; mtP53; IMP3

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.31.019

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2012)31-3289-02

The expression and clinical significance of HIF-1 α , mtP53 and IMP3 in Barrett's esophagusDing Guangrong, Zhang Junwen Δ

(Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

Abstract: Objective To observe the expression of hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α), mtP53, IMP3 protein in Barrett's esophagus tissue, and to analyze their significance. **Methods** The expression of HIF-1 α , mtP53 and IMP3 in 100 patients with Barrett's esophagus gastroscopy specimens was detected with immunohistochemical method. Then compared with 50 cases of the Reflux esophagitis tissue. **Results** Compared with the Reflux esophagitis group, the expressions of HIF-1 α , mtP53 and IMP3 protein were significantly increased in the Barrett's esophagus group($P < 0.05$). The expression of HIF-1 α , mtP53 and IMP3 protein was also being related(all $P < 0.01$). **Conclusion** In the occurrence and development of Barrett's esophagus, HIF-1 α and mtP53, IMP3 probably play a big role. There may be one of the mechanisms of deterioration and the origin of Barrett's esophagus.

Key words: Barrett's esophagus; immunohistochemical; hypoxia-inducible factor-1 α ; mtP53; IMP3

Barrett 食管(Barrett's esophagus, BE) 是可能引发食管末端及胃食管交接处腺癌的高风险疾病之一^[1], 干细胞分化紊乱是其可能的发病机制, 调控干细胞分化的各种转录因子和基因突变有可能是食管干细胞肠化的重要分子基础。缺氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α)是细胞应激缺氧时所产生的转录激活因子, 突变型 P53(mtP53)及 Insulin-like growth factor-II mRNA-binding protein 3(IMP3)与很多肿瘤的发生、发展相关。三者共同在 Barrett 食管形成过程中所起作用并少见报道, 本文通过研究这 3 种蛋白在 Barrett 食管及反流性食管炎中的表达, 探讨三者 Barrett 食管发生、发展过程中的作用。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 标本来自本院消化内镜中心 2010 年 1 月至 2011 年 12 月胃镜活检, 经病理确诊为 Barrett 食管患者 100 例。其中男 58 例, 女 42 例; 年龄 18~67 岁, 平均(51.55 \pm 11.83)岁。反流性食管炎组织取自同期胃镜标本, 经病理证实为反流性食管炎的患者 50 例, 其中男 28 例, 女 22 例; 年龄 19~63 岁, 平均(46.90 \pm 13.11)岁, 两组一般情况比较差异无统计学意义($P > 0.05$), 具有可比性。

1.2 主要试剂 HIF-1 α 、IMP3 兔抗人单克隆抗体购自美国 Epitomics 公司, mtP53 兔抗人单克隆抗体购自武汉三鹰公司, 免疫组织化学 SP 试剂盒由北京康为世纪公司提供。

1.3 检测方法 每一例标本均行 4 μ m 连续切片, 分别进行 HIF-1 α 、mtP53、IMP3 免疫组织化学染色(均采用 SP 法)和 HE 染色。用已知阳性片作阳性对照, 以 PBS 代替一抗作阴性对照。HIF-1 α 多克隆抗体稀释度数为 1:200, mtP53、IMP3

多克隆抗体稀释度数为 1:100。

1.4 结果判定 HIF-1 α 、mtP53 蛋白以细胞核呈棕黄色颗粒为阳性, IMP3 蛋白以细胞质有棕黄色颗粒为阳性, 对各组标本作免疫组织化学染色阳性评分, 依照细胞阳性着色程度(抗原含量), 阴性(-)着色为 0 分、淡黄色弱阳性(+)为 1 分、浅褐色中等阳性(++)为 2 分、深褐色强阳性(+++)为 3 分。每个视野总分为:(+) % \times 1+(++) % \times 2+(+++)% \times 3; 每张切片在高倍镜下(\times 400)随机选择 5 个视野, 最后取均值为该标本的最后得分。分值小于 0.5 者为阴性, $\geq 0.5 \sim < 1.0$ 者为弱阳性, $\geq 1.0 \sim < 1.5$ 者为中等阳性, ≥ 1.5 者为强阳性。

同时用 Image-pro plus6.0 专业图像分析系统对切片做蛋白表达的半定量分析。对同一种蛋白表达的不同切片分析时, 先选择一较典型的照片进行光密度校正、光平衡校正、分析环境选择、选色, 然后按照这一固定的条件分析其余照片。每张切片在高倍镜下(\times 400)随机选择 5 个视野进行照相, 每张照片以总光密度(IOD)作为累积光密度, 以照片的总面积(Area)作为面积, 计算平均光密度(mean density)=总光密度/总面积, 作为一张照片的免疫组织化学阳性指数, 5 张照片的均值作为一张切片的阳性指数参与统计分析。

1.5 统计学处理 统计学处理采用 SPSS19.0 软件。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 均数比较用 t 检验, 定性资料用 χ^2 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。参数间的相关性用 Pearson 相关分析。

2 结果

2.1 HIF-1 α 、mtP53、IMP3 蛋白阳性表达综合评分结果 用综合评分方法对免疫组织化学切片进行分析显示, HIF-1 α 在

Δ 通讯作者, Tel:13983056066; E-mail: zhangjw1207@163.com。

Barrett 食管组中弱阳性 6 例,中等阳性 27 例,强阳性 21 例,共 54 例(占 54%),主要集中在腺管部单层柱状上皮细胞核内,细胞质内也偶呈淡黄色表达,反流性食管炎组中只有 7 例弱阳性表达,占 14%,两组比较差异有统计学意义($P < 0.01$);mtP53 在 Barrett 食管组中弱阳性 16 例,中等阳性 7 例,强阳性 6 例,共 29 例(占 29%),主要为细胞核内深褐色颗粒,也以腺管细胞为主,反流性食管炎组中弱阳性 2 例,中等阳性 2 例,共 4 例(占 8%),两组比较差异有统计学意义($P < 0.05$);IMP3 在 Barrett 食管组中弱阳性 6 例,中等阳性 24 例,强阳性 15 例,共 45 例(占 45%),主要为细胞质中淡黄色到深褐色颗粒,除腺管部表达较多外,基质及周围表皮细胞中也有少量表达。而在反流性食管炎组中表达较少,只有弱阳性 10 例(占 10%),两组比较差异有统计学意义($P < 0.01$),见封 3 图 1~6。

2.2 HIF-1 α 、mtP53、IMP3 蛋白阳性表达平均光密度定量分析结果 用 Image-pro plus6.0 软件对免疫组织化学照片进行平均光密度定量分析显示,Barrett 食管组中 HIF-1 α 、mtP53、IMP3 表达与反流性食管炎组相比差异有统计学意义,见表 1。

表 1 HIF-1 α 、mtP53、IMP3 蛋白表达平均光密度值($\bar{x} \pm s$)

组别	HIF-1 α	mtP53	IMP3
反流性食管炎组	0.35 \pm 0.09	0.15 \pm 0.14	0.08 \pm 0.12
Barrett 食管组	0.60 \pm 0.09 [#]	0.57 \pm 0.11 [*]	0.42 \pm 0.08 [#]

*: $P < 0.05$, #: $P < 0.01$,与反流性食管炎组比较。

2.3 HIF-1 α 、mtP53、IMP3 蛋白表达之间的关系 对 100 例 Barrett 食管标本和 50 例反流性食管炎标本 3 种蛋白阳性表达的平均光密度值行简单 pearson 相关分析和偏相关分析,结果如下:HIF-1 α 表达与 IMP3 表达呈正相关($r = 0.910, P = 0.000$);mtP53 表达与 IMP3 表达呈正相关($r = 0.890, P = 0.001$);控制 IMP3 的偏相关分析显示,HIF-1 α 与 mtP53 表达之间呈正相关($r = 0.941, P = 0.000$);三者之间均呈正相关性。

3 讨论

研究发现 HIF-1 α 不仅与肿瘤发生、发展相关,并能影响多种干细胞的分化过程^[2-5]。本研究发现,HIF-1 α 在 Barrett 食管黏膜中的表达明显高于反流性食管炎黏膜组织,表明 HIF-1 α 在食管黏膜被反物流损伤后的修复过程中,可能抑制了食管正常分化程序,激活肠化柱状上皮的分化程序。因此,认为 Barrett 食管实际上是食管黏膜组织对局部损伤的一种不完全修复形式,而 HIF-1 α 有可能是参与 Barrett 化生形成的转录因子之一。mtP53 可能导致食管肿瘤的发生^[6]。本研究发现,mtP53 在反流性食管炎组表达和 Barrett 食管组有显著差异,表明 P53 基因在反流性食管炎时已经少量突变,随病情进展,mtP53 的表达量增加,认为 P53 基因突变是 Barrett 食管的早期基因变化之一。IMP3 属于胰岛素样生长因子 II mRNA 结合蛋白家族中的成员之一,能促进细胞的异常生长增殖,与恶性肿瘤的发生、发展密切相关,被认为是很多肿瘤非常有价值的诊断和预后指标^[7-12]。本研究结果显示,IMP3 在 Barrett 食管组中表达升高,与反流性食管炎组比较差异有统计学意义,说明 Barrett 食管存在细胞异常增殖,并有恶化倾向。

本研究结果显示,HIF-1 α 分别与 mtP53、IMP3 表达之间呈显著正相关。说明 Barrett 食管在形成后即存在细胞的异常增殖和恶变倾向,而 HIF-1 α 、mtP53、IMP3 之间可能存在着协同关系,有可能是促进食管多能干细胞向肠化的单层柱状上皮

细胞方向异常分化、并恶性增殖的原因之一。

本研究认为 HIF-1 α 、mtP53、IMP3 三者在 Barrett 食管发生、发展中起着重要作用,可能是 Barrett 食管形成的始动机制之一。

参考文献:

- [1] Sikkema M, de Jonge PJ, Steyerberg EW, et al. Risk of esophageal adenocarcinoma and mortality in patients with Barrett's esophagus: a systematic review and meta-analysis[J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2010, 8(3): 235-244.
- [2] Moreno-Manzano V, Rodriguez-Jimenez FJ, Acena-Bonilla JL, et al. FM19G11, a new hypoxia-inducible factor(HIF) modulator, affects stem cell differentiation status[J]. J Biol Chem, 2010, 285(2): 1333-1342.
- [3] Jandial R, Chen MY, Ciacci J et al. HIF-1 α potentiates mesenchymal stem cell mediated osteogenesis by coupling to angiogenesis[J]. Neurosurgery, 2011, 69(4): 13-14.
- [4] Cunningham LA, Candelario K, Li L, et al. Roles for HIF-1 α in neural stem cell function and the regenerative response to stroke[J]. Behav Brain Res, 2012, 227(2): 410-417.
- [5] Kaufman DS. HIF hits Wnt in the stem cell niche[J]. Nat Cell Biol, 2010, 12(10): 926-927.
- [6] Jankowski JA, Harrison RF, Perry I, et al. Barrett's metaplasia[J]. Lancet, 2000, 356(9247): 2079-2085.
- [7] Wachter DL, Kristiansen G, Soll C, et al. Insulin-like growth factor II mRNA-binding protein 3 (IMP3) expression in hepatocellular carcinoma. A clinicopathological analysis with emphasis on diagnostic value[J]. Histo-pathology, 2012, 60(2): 278-286.
- [8] Li HG, Han JJ, Huang ZQ, et al. IMP3 is a novel biomarker to predict metastasis and prognosis of tongue squamous cell carcinoma[J]. J Craniofac Surg, 2011, 22(6): 2022-2025.
- [9] Lu D, Yang X, Jiang NY, et al. IMP3, a new biomarker to predict progression of cervical intraepithelial neoplasia into invasive cancer[J]. Am J Surg Pathol, 2011, 35(11): 1638-1645.
- [10] Hao S, Smith TW, Chu PG, et al. The oncofetal protein IMP3: a novel molecular marker to predict aggressive meningioma[J]. Arch Pathol Lab Med, 2011, 135(8): 1032-1036.
- [11] Wachter DL, Schlabrakowski A, Hoegel J, et al. Diagnostic value of immunohistochemical IMP3 expression in core needle biopsies of pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. Am J Surg Pathol, 2011, 35(6): 873-877.
- [12] Shi M, Fraire AE, Chu P, et al. Oncofetal protein IMP3, a new diagnostic biomarker to distinguish malignant mesothelioma from reactive mesothelial proliferation[J]. Am J Surg Pathol, 2011, 35(6): 878-882.