

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.12.006

View this article at: http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2018.12.006

ANP32A表达与结直肠癌肝转移的相关性

杨光华¹, 刘春玲², 吕春秀³, 虞向阳¹, 崔明新¹, 张国志¹

(1. 华北理工大学附属医院普通外科, 河北 唐山 063000; 2. 唐山人民医院病理科, 河北 唐山 063000;
3. 华北理工大学附属医院血液内科, 河北 唐山 063000)

[摘要] 目的: 研究酸性核蛋白32A(acidic leucine-rich nuclear phosphoprotein, ANP32A)在结直肠癌肝转移中的临床意义。方法: 应用免疫组织化学法检测156例结直肠癌组织(其中59例患者存在肝转移)中癌与癌旁组织的表达水平, 并探讨其表达水平与结直肠癌肝转移的相关性。结果: ANP32A蛋白在结直肠癌组织中的阳性表达率为59.6%(93/156), 癌旁组织的阳性表达率为19.9%(31/156), 差异具有统计学意义($P<0.05$)。ANP32A在肝转移患者中的阳性表达率79.7%(47/59), 明显高于无肝转移患者中的阳性表达率47.4%(46/97), 差异具有统计学意义($P<0.05$)。单因素分析结果显示肿瘤的分化程度、淋巴结转移以及ANP32A的表达与肝转移相关(均 $P<0.05$)。多因素Logistic回归分析结果提示肿瘤分化程度及ANP32A蛋白阳性表达是结直肠癌肝转移的独立危险因素(均 $P<0.05$)。结论: ANP32A在结直肠癌中的高表达与结直肠癌肝转移相关, 可望成为结直肠癌肝转移治疗的潜在靶点。

[关键词] 结直肠癌; 肝转移; 临床病理参数; 酸性核蛋白32A

Correlation of expression of ANP32A with liver metastasis in colorectal cancer

YANG Guanghua¹, LIU Chunling², LÜ Chunxiu³, YU Xiangyang¹, CUI Mingxin¹, ZHANG Guozhi¹

(1. Department of General Surgery, North China University of Science and Technology Affiliated Hospital, Tangshan Hebei 063000;

2. Department of Pathology, Tangshan People's Hospital, Tangshan Hebei 063000;

3. Department of Hematopathology, North China University of Science and Technology Affiliated Hospital, Tangshan Hebei 063000, China)

Abstract **Objective:** To investigate the expression of ANP32A in colorectal cancer with liver metastasis. **Methods:** Immunohistochemistry was used to analyze the expressions of ANP32A in 156 colorectal cancer specimens and matched paratumorous normal specimens (59 patients with liver metastasis). The correlation of ANP32A expression level with colorectal cancer liver metastasis was carried out. **Results:** The higher expression of ANP32A were found in colorectal specimens compared with matched paratumorous normal specimens ($P<0.05$), the positive rates were 59.6% and 19.9%, respectively. Expression of ANP32A in patients with liver metastasis was significantly higher than that in patients without liver metastasis (79.7% vs 47.4%). Single factor analysis showed

收稿日期 (Date of reception): 2018-08-13

通信作者 (Corresponding author): 杨光华, Email: yangguanghua84@126.com

that liver metastasis was associated with histological differentiation, lymph node metastasis, and the expression of ANP32A (all $P < 0.05$). Multivariate logistic regression analysis further showed that histological differentiation and higher expression of ANP32A were independent risk factor in colorectal cancer with liver metastasis. **Conclusion:** The overexpression of ANP32A is associated with carcinogenesis and liver metastasis of CRC, which suggests that the positive expression of ANP32A may be the potential target in CRC with liver metastasis.

Keywords colorectal cancer; liver metastasis; clinicopathological features; acidic leucine-rich nuclear phosphoprotein

结直肠癌是常见的消化系统恶性肿瘤,在发达国家的发病率远超过发展中国家。随着我国经济的不断发展,结直肠癌的发病率也呈现出不断增加的趋势。结直肠癌的复发和远处转移是患者死亡的主要原因,而肝是最常见的转移部位。提高结直肠癌生存率首先要突破结直肠癌肝转移治疗的瓶颈,特别是在结直肠癌肝转移的分子机制方面取得突破。酸性核磷酸蛋白32A(acidic leucine-rich nuclear phosphoprotein, ANP32A)是ANP32家族中的重要成员之一,在细胞增殖、凋亡和信号转导等多种生命活动中发挥重要的作用。ANP32A在结直肠癌中呈异常高表达,且与结直肠癌的分化密切相关,但尚无与肝转移的相关性研究^[1]。本研究采用免疫组织化学方法检测ANP32A在结直肠癌组织和癌旁组织中的表达水平,探讨其与肝转移之间的关系,并评估在结直肠癌肝转移中的应用价值。

1 对象与方法

1.1 对象

选取2011年1月至2014年1月在华北理工大学附属医院行结直肠癌手术治疗且临床资料完整的患者156例。患者标本均经2名以上病理医师诊断为腺癌,入组病例术前未接受任何抗肿瘤治疗,同时排除肝脏以外其他部位远处转移者。其中男89例,女67例;年龄44~80(中位63)岁;肿瘤直径 ≤ 5 cm者102例, > 5 cm者54例;肝转移患者59例,无肝转移者97例;肿瘤位于结肠者83例,直肠者73例;高分化者44例,中分化者53例,低分化者59例;在所有患者中淋巴结转移者66例,无淋巴结转移者90例;将癌旁正常组织定义为距离肿瘤边缘7 cm的结直肠组织。本研究得到华北理工大学附属医院伦理委员会的批准,并且所有的患者对该研究都有知情权且签字同意。

1.2 方法

采用免疫组织化学SP法,ANP32A购自中杉金桥生物技术有限公司。染色操作步骤严格按照说

明书进行。阳性对照用已知阳性切片,阴性对照用PBS代替一抗。ANP32A阳性染色者为细胞质内出现淡黄色或棕黄色颗粒,少量可出现细胞核棕黄色颗粒沉着。每张切片随机选取至少5个高倍视野(400 \times),观察细胞标本中细胞的着色强度及阳性细胞百分比。阳性细胞数在5%以下者评为0分,5%~25%者为1分,26%~50%者为2分,51%~75%者为3分,高于75%者为4分;细胞无着色为0分,淡黄色为1分,棕黄色、粗颗粒状为2分,棕褐色为3分。两种评分相乘,0分为(-),统计时记为0分,1~4分为(+),统计时记为1分,5~8分为(++),统计时记为2分, ≥ 9 分为(+++),统计时记为3分。

1.3 统计学处理

采用SPSS 22.0软件进行数据分析,计数以百分率(%)表示,采用卡方检验进行单因素分析;结直肠癌肝转移的影响因素采用logistic多因素回归分析检验。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 ANP32A在结直肠癌中的表达分析

ANP32A阳性表达主要位于细胞质中,少量位于细胞核,特别是结直肠癌的腺体中更为明显。在癌组织中,ANP32A的阳性表达率为59.6%(93/156),癌旁组织的阳性率为19.9%(31/156),差异具有统计学意义($P < 0.05$)。在肝转移患者中,ANP32A的阳性表达率为79.7%(47/59),而在无肝转移患者中其阳性表达率为47.4%(46/97),ANP32A在两组间的表达差异具有统计学意义($P < 0.05$)。

2.2 ANP32A表达及结直肠癌临床病理参数与肝转移的相关性分析

单因素分析显示结直肠癌的分化程度、淋巴结转移以及ANP32A表达与肝转移密切相关($P < 0.05$);而患者的性别、年龄、肿瘤直径以及肿瘤所在部位与肝转移无关($P > 0.05$,表1)。

2.3 结直肠癌肝转移影响因素的logistic多因素回归分析结果

多因素logistic回归分析结果显示：肿瘤分化

程度和ANP32A蛋白表达是结直肠癌肝转移的独立影响因素($P<0.05$, 表2)。

表1 结直肠癌病理参数与肝转移相关性分析

Table 1 Correlation analysis between pathological parameters of colorectal cancer and liver metastasis

参数	<i>n</i>	肝转移/[例(%)]	χ^2	<i>P</i>
性别			1.880	0.170
男	89	32 (36.0)		
女	67	27 (47.4)		
年龄/岁			0.001	0.975
≤60	87	33 (37.9)		
>60	69	26 (37.7)		
肿瘤部位			0.283	0.594
结肠	83	33 (39.8)		
直肠	73	26 (35.6)		
肿瘤直径/cm			0.022	0.883
≤5	102	39 (38.2)		
>5	54	20 (37.0)		
分化程度			15.829	<0.001
高中分化	97	25 (25.8)		
低分化	59	34 (57.6)		
淋巴结转移			4.072	0.044
有	66	31 (47.0)		
无	90	28 (31.1)		
ANP32A			25.277	<0.001
高表达	93	47 (50.5)		
低表达	63	12 (19.0)		

表2 结直肠癌肝转移多因素非条件logistic回归分析

Table 2 Multivariate logistic regression analysis of liver metastases from colorectal cancer

自变量	β	SE	Wald χ^2	<i>P</i>	OR (95%CI)
分化程度	1.558	0.502	2.357	0.003	1.365 (1.113~2.504)
淋巴结转移	1.728	0.452	4.425	0.051	1.667 (1.142~4.163)
ANP32A	1.962	0.368	5.998	0.027	2.216 (1.036~3.315)

3 讨论

近年来, 随着医学影像学、化疗药物和靶向药物研发的快速发展, 结直肠癌肝转移的临床诊治方面已有大幅度提高, 但临床疗效仍有待提

高, 特别是肝转移灶无法切除的患者中位生存期只有6.9个月, 几乎没有患者生存超过5年。分子生物学的飞速发展攻克这一难关提供了可能。

ANP32A也被称为PP32, Lanp, MAPM, PHAPI等, 是ANP32家族中的重要成员之一, 在

细胞增殖、凋亡、信号转导等多种生命活动中发挥重要作用。研究^[2]发现该蛋白氨基端(N)富含亮氨酸重复结构域, 该结构在ANP32A的结构稳定性以及生化性质方面起决定性的作用。羧基端富含酸性氨基酸, 如天冬氨酸和苏氨酸。ANP32A在胰腺、乳腺、前列腺等多种正常及肿瘤组织中均有表达。ANP32A是一个肿瘤抑制基因, 在前列腺癌、胰腺癌、乳腺癌以及B细胞淋巴瘤中表达下调^[3-5]。ANP32A在分化好的胰腺癌组织中高表达, 而在分化较差的肿瘤组织中表达较低或没有表达^[6]。ANP32A在口腔鳞状细胞癌、肝细胞癌中高表达^[7-9]。在口腔鳞状细胞癌中, ANP32A是一种肿瘤预后因子, ANP32A高表达者其患者的生存时间短于低表达者^[7]。

ANP32A在结肠癌中的相关研究目前较少, Shi等^[10]采用激光捕获显微切割以及双向凝胶电泳技术证实ANP32A在CRC中表达增高。随后研究^[1,11]发现ANP32A在结直肠癌组织的表达水平显著高于癌旁组织, 且该蛋白可以通过调节p38和Akt活性促进结直肠癌的发生发展。本研究采用免疫组织化学的方法同样检测到ANP32A在结肠癌组织的表达水平高于临近正常组织, 这与前面两项研究^[1,11]的结果相一致。本研究主要着眼于结直肠癌肝转移的影响因素, 因此采用单因素分析研究各临床病理参数与肝转移之间的相关性, 进一步证实肿瘤的分化程度、淋巴结转移均为肝转移的影响因素。此外本研究还发现ANP32A的高表达同样是结直肠癌肝转移的影响因素。为全面分析结直肠癌肝转移的影响因素, 消除混杂因素, 本研究随后将单因素分析中得到的与结直肠癌肝转移相关的因素进行多因素logistic回归分析, 结果显示: 肿瘤分化程度和ANP32A蛋白表达是结直肠癌肝转移的独立危险因素。上述实验结果进一步证实ANP32A高表达在结直肠癌肝转移中的临床预测价值。

综上所述, ANP32A在结直肠癌中高表达, 且表达水平与淋巴结转移、肝转移密切相关, 但其具体发生机制目前尚不明确, 可能通过调节p38和Akt活性途径参与肿瘤的发生及转移。由于本研究主要是基于形态学结果且入组患者数量有限, 因此后续将采用生物功能学实验进一步探讨其作用机制。

参考文献

1. Shang C, Huang S. PP2A level in colorectal cancer cells predicts the response of p38 targeted therapy[J]. EBioMedicine, 2015, 2(12):

- 1848-1849.
2. Buddaseth S, Gottmann W, Blasczyk R, et al. Overexpression of the pp32r1 (ANP32C) oncogene or its functional mutant pp32r1Y140H confers enhanced resistance to FTY720 (Fingolimod)[J]. Cancer Biol Ther, 2014, 15(3): 289-296.
3. Williams TK, Costantino CL, Bidzukewicz NA, et al. pp32(ANP32A) expression inhibits pancreatic cancer cell growth and induces gemcitabine resistance by disrupting HuR binding to mRNAs[J]. PLoS One, 2010, 5(11): e15455.
4. Wang S, Wang Y, Lu Q, et al. The expression and distributions of ANP32A in the developing brain[J]. Biomed Res Int, 2015, 2015: 207347.
5. Li W, Chen Z, Gone FR, et al. Growth of the pancreatic cancer cell line PANC-1 is inhibited by protein phosphatase 2A inhibitors through overactivation of the c-Jun N-terminal kinase pathway[J]. Eur J Cancer, 2011, 47(17): 2654-2664.
6. Bai J, Brody JR, Kadkol SS, et al. Tumor suppression and potentiation by manipulation of pp32 expression[J]. Oncogene, 2001, 20(17): 2153-2160.
7. Velmurugan BK, Yeh KT, Lee CH, et al. Acidic leucine-rich nuclear phosphoprotein-32A (ANP32A) association with lymph node metastasis predicts poor survival in oral squamous cell carcinoma patients[J]. Oncotarget, 2016, 7(10): 10879-10890.
8. 严威, 陈旭. ANP32A与肿瘤关系的研究进展[J]. 华夏医学, 2017, 30(2): 141-144.
YAN Wei, CHEN Xu. Research progress of the relationship between ANP32A and tumors[J]. Acta Medicinæ Sinica, 2017, 30(2): 141-144.
9. Li C, Ruan HQ, Liu YS, et al. Quantitative proteomics reveal up-regulated protein expression of the SET complex associated with hepatocellular carcinoma[J]. J Proteome Res, 2012, 11(2): 871-885.
10. Shi H, Hood KA, Hayes MT et al. Proteomic analysis of advanced colorectal cancer by laser capture microdissection and two-dimensional difference gel electrophoresis[J]. J Proteomics, 2011, 75(2): 339-351.
11. Kumar A, Pandurangan AK, Lu F, et al. Chemopreventive sphingadienes down-regulate Wnt signaling via a PP2A/Akt/GSK3 β pathway in colon cancer[J]. Carcinogenesis, 2012, 33(9): 1726-1735.

本文引用: 杨光华, 刘春玲, 吕春秀, 虞向阳, 崔明新, 张国志. ANP32A表达与结直肠癌肝转移的相关性[J]. 临床与病理杂志, 2018, 38(12): 2566-2569. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.12.006

Cite this article as: YANG Guanghua, LIU Chunling, LÜ Chunxiu, YU Xiangyang, CUI Mingxin, ZHANG Guozhi. Correlation of expression of ANP32A with liver metastasis in colorectal cancer[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2018, 38(12): 2566-2569. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.12.006