

高迁移率族蛋白在肺癌转移中的作用

徐美林 耿华

作者单位:300051 天津市,天津市胸科医院病理科(徐美林)

300000 天津市,天津医科大学(耿华)

通讯作者:徐美林, E-mail:meilinxu-gh@163.com

【摘要】 目的 探讨高迁移率族蛋白 1(high-mobility group box1 protein, HMGB1)在非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)发生、发展和转移中的作用。方法 采用免疫组织化学方法检测 95 例 NSCLC 和 27 例癌旁正常肺组织(对照组)中 HMGB1 的表达,并分析其与临床参数的关系。结果 HMGB1 在转移组的高表达(65.5%)显著高于非转移组(21.6%),且差异有统计学意义($P < 0.01$)。HMGB1 在不同组织学分型、分化程度、TNM 分期患者中,其表达差异均有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。HMGB1 在 NSCLC 癌组织中的高表达(48.4%)明显高于癌旁正常肺组织(25.9%),差异有统计学意义($P < 0.05$)。HMGB1 在鳞癌组织间质高表达率为 78.3%,腺癌组织间质高表达率为 40.9%,二者差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 HMGB1 高表达与 NSCLC 的转移有关,可作为肺癌患者转移、治疗和预后判断指标。

【关键词】 非小细胞肺癌;HMGB1;转移;免疫组织化学

doi:10.3969/j.issn.1674-7151.2012.01.006

The role of high-mobility group box1 protein in lung cancer metastasis

XU Mei-lin¹, GENG Hua². ¹Department of Pathology, Tianjin Chest Hospital, Tianjin 300051, China ²Tianjin Medical University, Tianjin 300000, China

【Abstract】 **Objective** To investigate the role of high-mobility group box1 protein (HMGB1) in the occurrence, development and metastasis of non-small cell lung cancer (NSCLC). **Methods** Expression of HMGB1 in NSCLC tissue ($n=95$) and benign tumor tissue ($n=27$) were detected by immunohistochemical staining. The relationship between HMGB1 protein expression and clinical pathologic features was also analyzed. **Results** The positive rates of HMGB1 in NSCLC tissues with lymph node metastasis (65.5%) were significantly higher than those in NSCLC tissues without lymph node metastasis (21.6%), and the difference had statistical significance ($P < 0.01$). There were significant differences in the expression of HMGB1 between different histological types, differentiation degree and TNM stage of lung carcinoma ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The positive rate of HMGB1 in NSCLC tissues (48.4%) were higher than in control group (25.9%), and the difference had statistical significance ($P < 0.05$). The positive rates of HMGB1 in squamous carcinoma matrix (78.3%) were higher than adenocarcinoma matrix (40.9%), and the difference had statistical significance ($P < 0.05$). **Conclusion** Expression of HMGB1 is associated with metastasis, and HMGB1 is worth for judging lung cancer invasion and metastasis, and may be used to evaluate potential prognosis of the patients with lung cancer.

【Key words】 Non-small cell lung carcinoma; HMGB1; Neoplasm metastasis; Immunohistochemistry

肺癌是人类最常见的恶性肿瘤之一,近年来其发生率和病死率均呈上升趋势,目前尽管采用了各种先进的诊疗措施,使肿瘤的综合治疗达到了一个新水平,但肺癌的疗效近数十年来无明显提高,五年生存率仅有 10%~15%。究其原因与肿瘤的侵袭和转移有着密切的联系。高迁移率族蛋白 B1 (high mobility group box 1, HMGB1) 是存在于真核细胞内的非组蛋白染色体结合蛋白,最近研究显示 HMGB1 参与多种肿瘤侵袭和转移。本文研究检测非小细胞

肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 组织中 HMGB1 的表达,并分析其与各种临床参数的关系,探讨其在 NSCLC 发生、发展和转移中的作用。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2006 年 10 月至 2008 年 10 月在我院就诊的 95 例 NSCLC 患者的石蜡包埋组织标本。入选患者均经手术治疗,术前均未做过化疗,术后均经病理证实,其中鳞癌 60 例,腺癌 22 例,腺鳞癌 13 例。男 70 例,女 25 例,年龄 34~78 岁,中

位年龄 56 岁。伴有淋巴结转移者 58 例(转移组),无淋巴结转移者 37 例(非转移组)。依据 2002 年国际抗癌联盟制定的肺癌 TNM 分期: I 期 33 例, II 期 18 例, III 期 44 例;低分化 47 例,中分化 35 例,高分化 13 例。另外取 27 例癌旁正常肺组织标本作为对照组(正常对照组为肺癌患者手术切除标本的切缘正常组织,距离肿瘤 ≥ 5 cm,经 HE 染色证实未发现癌细胞)。

1.2 主要试剂 兔抗人 HMGB1 多克隆抗体(浓缩型,稀释比例为 1:50)购自北京博奥森生物技术有限公司。DAB 显色试剂盒购自福州迈新生物技术开发公司。

1.3 方法

1.3.1 HMGB1 表达检测 采用免疫组织化学 SP 法,具体操作按照说明书进行。PBS 代替一抗做阴性对照,已知阳性切片做阳性对照;4℃过夜;DAB 显色;苏木素复染;梯度乙醇脱水;二甲苯透明;中性树胶封片。

1.3.2 结果判断 HMGB1 以细胞质和(或)细胞核出现黄色或棕黄色颗粒为阳性。根据染色细胞百分率和染色程度进行评定和分析:每例均随机观察 10 个高倍视野($\times 400$),每个视野计数 100 个细胞。

阳性细胞率=阳性细胞数/观察细胞数 $\times 100\%$ 。

阳性细胞率计分标准: $< 10\%$ 为 0 分,11%~25%为 1 分,26%~50%为 2 分,51%~75%为 3 分, $> 75\%$ 为 4 分。染色强度:黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分。将阳性细胞率得分和染色强度得分相乘即为最后得分:0 分为阴性(-),1~4 分为弱阳性(+),5~8 分为中度阳性(++),9~12 分为强阳性(+++)。在分析时将(-)和(+)定为低表达,将(++)和(+++)定为高表达。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 13.0 统计学软件进行数据分析,两样本率的比较采用四格表资料的 χ^2 检验,多样本率的比较采用行 \times 列资料的 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HMGB1 在 NSCLC 转移组与非转移组的表达 转移组 HMGB1 的高表达率为 65.5%(38/58),高于非转移组的 21.6%(8/37),两者差异有统计学意义($\chi^2 = 17.428, P < 0.01$),见表 1。HMGB1 在 NSCLC 转移组中为强表达,在非转移组中表达明显减弱,见图 1-4。

2.2 不同临床病理学特征患者 HMGB1 表达情况 HMGB1 在不同组织学分型、分化程度、临床分期患

者表达差异均有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),而不同年龄、性别及肿瘤大小患者 HMGB1 高表达率差异均无统计学意义(P 均 > 0.05),见表 1。

表 1 不同临床病理指标的 NSCLC 组织中 HMGB1 的表达[n(%)]

病理指标	例数	HMGB1 表达率		χ^2 值
		高	低	
性别	男	70	34(48.6) 36(51.4)	0.002
	女	25	12(48.0) 13(52.0)	
年龄	< 60	42	20(47.6) 22(52.4)	0.019
	≥ 60	53	26(49.1) 27(50.9)	
肿瘤大小	≤ 3 cm	38	18(47.4) 20(52.6)	0.028
	> 3 cm	57	28(49.1) 29(50.9)	
组织学分型	鳞癌	60	23(38.3) 37(61.7)	6.738*
	腺癌	22	14(63.6) 8(36.4)	
	腺鳞癌	13	9(69.2) 4(30.8)	
分化程度	低	47	29(61.7) 18(38.3)	7.657*
	中	35	14(40.0) 21(60.0)	
	高	13	3(23.1) 10(76.9)	
临床分期	I	33	8(24.2) 25(75.8)	12.170*
	II	18	10(55.6) 8(44.4)	
	III	44	28(63.6) 16(36.4)	
淋巴结转移	有	58	38(65.5) 20(34.5)	17.428*
	无	37	8(21.6) 29(78.4)	

注: * $P < 0.05$, * $P < 0.01$

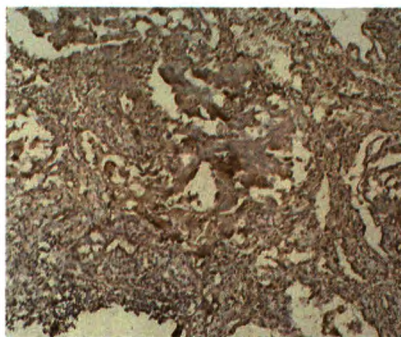


图 1 转移组中腺癌 HMGB1 高表达(SP $\times 100$)

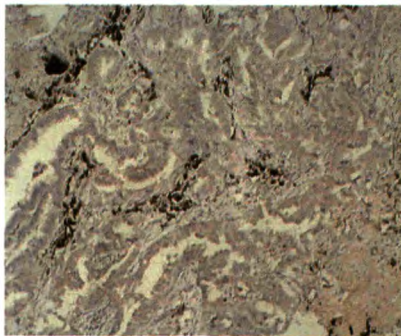


图 2 非转移组腺癌 HMGB1 低表达(SP $\times 100$)

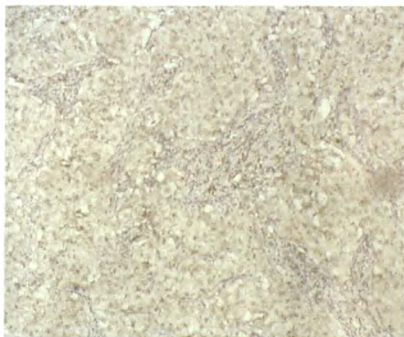


图 3 转移组鳞癌 HMGB1 高表达(SP×100)



图 4 非转移组鳞癌 HMGB1 低表达(SP×100)

2.3 不同分组中 HMGB1 表达情况 HMGB1 在 NSCLC 癌组织中的高表达率为 48.4%(46/95), 在癌旁正常肺组织中的高表达率为 25.9%(7/27), 两者差异有统计学意义($\chi^2 = 4.330, P < 0.05$), 见表 2。

表 2 不同分组中 HMGB1 表达情况[n(%)]

组别	例数	HMGB1 表达率		χ^2 值
		高	低	
NSCLC 组	95	46(48.4)	49(51.6)	4.330*
对照组	27	7(25.9)	20(74.1)	

注: * $P < 0.05$

2.4 HMGB1 在不同组织类型癌间质表达情况 HMGB1 在 NSCLC 癌组织间质高表达率为 62.1%(59/95), 其中鳞癌组织间质高表达率为 78.3%(47/60), 腺癌组织间质高表达率为 40.9%(9/22), 两者之间比较差异有统计学意义($\chi^2 = 8.755, P < 0.01$), 见表 3。

表 3 HMGB1 在不同组织类型癌间质表达情况[n(%)]

组别	例数	HMGB1 表达率		χ^2 值
		高	低	
鳞癌	60	47(78.3)	13(21.7)	8.755*
腺癌	22	9(40.9)	13(59.1)	

注: * $P < 0.05$

3 讨论

肿瘤转移是一个涉及肿瘤细胞遗传信息、表现

结构、抗原性、侵袭力、黏附能力、产生局部凝血因子或血管生成能力、分泌代谢功能, 以及肿瘤细胞与宿主、肿瘤细胞与间质之间相互作用的多步骤、多因素参与的过程; 同时, 还是癌基因和抑癌基因参与调节的复杂过程, 通过肿瘤转移相关基因的过度表达或表达下调, 对肿瘤转移的整个过程进行调节。HMGB1 最初发现时是一种广泛存在的 DNA 结合蛋白, 分子量小, 序列高度保守。通过使染色质或 DNA 构型发生变化, 调节转录复合物的形成, 从而参与 DNA 的转录、复制、修复以及细胞运动等。HMGB1 可由巨噬细胞、单核细胞分泌, 也可由受损坏死细胞释放, 诱导产生趋化作用, 参与肿瘤细胞转移^[1]。研究^[2]发现, HMGB1 可通过激活核转录因子 κB (nuclear transcription factor κB , NF- κB) p65 蛋白与基质金属蛋白酶 9 (matrix metalloproteinase-9, MMP-9) 基因的启动子结合, 从而使 MMP-9 基因的蛋白表达增高, 以发挥促进肿瘤侵袭和转移的作用。

HMGB1 是目前唯一知道的与肿瘤和新生生物形成有关的高迁移率族蛋白 (high mobility group protein, HMG) 家族成员。早在 20 世纪 60 年代 HMG 已由 Johns 发现, 并于 1973 年首次在牛胸腺中被提取和鉴定, 因其在聚丙烯酰胺凝胶电泳中的高迁移能力而得名^[3]。HMGB1 广泛分布于淋巴组织、脑、肝、肺、心、脾、肾等组织中, HMGB1 除在肝、脑组织中主要存在于胞浆外, 在大多数组织中存在于胞核^[4]。

肿瘤细胞可通过自分泌或旁分泌血管内皮生长因子 C/D 诱导肿瘤淋巴管的生成, 从而增加肿瘤转移的机率。HMGB1 与促分裂原活化蛋白激酶结合后可激活促分裂原活化蛋白激酶、NF- κB 等途径。李焱等^[5]发现结肠癌细胞 HCT116 中 VEGF-D mRNA 的表达受 HMGB1 的影响。HMGB1 可能通过诱导结肠癌组织中 VEGF-D 的表达, 从而促进结肠癌的淋巴结转移。付欣等^[6]应用组织芯片免疫组织化学方法发现 HMGB1 在宫颈鳞癌组织中尤其是发生转移的宫颈鳞癌组织中呈强阳性表达, 可作为宫颈鳞癌浸润、转移及预后的重要判定指标之一。本文研究结果显示, HMGB1 在 NSCLC 组织中肿瘤细胞、间质细胞均可呈高表达, 并且伴有淋巴结转移的肿瘤细胞、间质细胞, 其 HMGB1 高表达率均高于无淋巴结转移者, 差异具有统计学意义, 该结果与宫颈癌和结肠癌相关研究^[7,8] HMGB1 表达类似, 提示 HMGB1 阳性表达与 NSCLC 细胞的淋巴结转移相关。

本文研究 HMGB1 的表达与临床病理指标的关系, 显示 HMGB1 的表达水平与患者年龄、性别、肿

物大小等无关,而随 NSCLC 临床分期的增高,高表达率增加。NSCLC 高、中及低分化 HMGB1 的表达逐渐增强,三者之间比较差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)。原因可能是高临床分期和低分化的 NSCLC 组织本身恶性程度高,具有高转移潜能,所以其表达较高。此外,本文研究结果显示,NSCLC 组织间质高表达率为 62.1%(59/95),其中鳞癌组织间质高表达率为 78.3%(47/60),腺癌组织间质高表达率为 40.9%(9/22),两者之间比较差异有统计学意义,该结果与徐圣葆等^[9]的相关研究一致,推测可能系鳞癌易发生出血、坏死,而坏死的肿瘤细胞可向周围释放 HMGB1 蛋白相关。

综上所述,本文研究证实 HMGB1 在 NSCLC 中存在异常表达,并与各项病理指标存在相关性。HMGB1 在肿瘤的发生、发展及浸润转移中起着重要的作用。HMGB1 可以作为监控肿瘤淋巴结转移的生物学指标,并有望成为预测肺癌侵袭、转移及评价预后的指标。

4 参考文献

1 Nogueira-Machado JA, Volpe CM, Veloso CA, et al. HMGB1, TLR and RAGE: a functional tripod that leads to diabetic inflammation.

Expert Opin Ther Targets, 2011, 15: 1023-1035.

- 2 白云,徐美林. NF- κ Bp65 的表达与非小细胞肺癌转移的相关性研究. 天津医药, 2010, 38: 109-111.
- 3 Bustin M. Revised nomenclature for high mobility group (HMG) chromosomal proteins. Trends Biochem Sci, 2000, 26: 152-153.
- 4 Stros M, Cherny D, Jivin TM. HMGB1 protein stimulates DNA end joining by promoting association of DNA molecules via their ends. Eur J Biochem, 2000, 367: 4088-4097.
- 5 李焱,何建民,潘凤,等. 结肠癌组织 HMGB1 和 VEGF-D 的表达及其相关性. 临床肿瘤学杂志, 2009, 14: 694-697.
- 6 付欣,杜晓琴,郝权. 宫颈鳞癌组织高迁移率蛋白 HMGB1 表达及其临床意义的研究. 中华肿瘤防治杂志, 2008, 15: 357-359.
- 7 Li J, Kokkola R, Tabibzadeh S, et al. Structural basis for the proinflammatory cytokine activity of high mobility group box 1. Mol Med, 2003, 9: 37-45.
- 8 Kokkola R, Andersson A, Mullins C, et al. RAGE is the major receptor for the proinflammatory activity of HMGB1 in rodent macrophages. Scand J Immunol, 2005, 61: 1-9.
- 9 徐圣葆,梅晓冬. HMGB1、VEGF-C 在肺癌组织中的表达及临床意义. 山东医药, 2009, 49: 50-51.

(收稿日期: 2012-01-03)

(本文编辑: 李霏)

消 息

第二届国际消化道内镜活检和病理学诊断研讨会

由浙江大学医学院附属邵逸夫医院消化科和病理科、南京大学医学院附属鼓楼医院病理科、中华医学会消化病学分会胃肠病理学组、中华消化内镜杂志社共同主办的《第二届国际消化道内镜活检和病理学诊断研讨会》将于 2012 年 3 月 31 日在杭州举行,本期研讨会的主题为肠道疾病,将紧密结合临床信息、内镜下所见特征等对肠道粘膜活检中的一些癌前病变、各类型肿瘤、炎症性肠病等各种肠道疾病的研究进展进行系统介绍,重点是内镜下特征、临床病理学诊断、鉴别诊断及临床处理原则等。本研讨会将邀请来自美国、欧洲、日本和国内著名的消化病专家和病理学专家进行授课。参加者将获中华医学会 I 类继续医学教育学分 8 分。

1 会议内容

本次会议的主要内容: 乳糜泻的内镜和活检病理诊断; 肠道癌前病变、结肠锯齿状肿瘤、肠道淋巴瘤内镜和活检

病理诊断; 遗传性非息肉病性结直肠癌(HNPCC)微卫星不稳定性; ESD 治疗结肠肿瘤; 炎症性肠病的诊断和鉴别诊断; 显微镜下结肠炎; 共聚焦内镜、超声内镜在肠道疾病诊断中的应用; 临床病例讨论: 包括肠道感染性疾病、肠道溃疡性疾病、肠道血管性病变等。

2 联系方式

地 址: 浙江杭州庆春东路 3 号, 浙江大学医学院附属邵逸夫医院消化内科

邮 编: 310016

联系人: 方燕飞(13957110647)

邮 箱: fyanfei@sina.com

储 华(13588708231)

邮 箱: yglc2002@yahoo.com.cn