

S100P 蛋白在肾透明细胞癌中的表达及临床意义

许华¹ 李胜水¹ 刘岩² 韩晓春³ 王丽丽⁴ 李翠萍⁵ 李双标¹

[摘要] 目的:研究 S100P 蛋白在人肾原发透明细胞癌中的表达情况,并探讨其临床意义。方法:应用免疫组织化学 SP 法检测 40 例肾透明细胞癌及其癌旁肾组织、10 例正常肾组织和 8 例转移性肾透明细胞癌组织中 S100P 蛋白的表达情况,结合患者临床病理资料进行分析,并探讨该蛋白在肾透明细胞癌发生发展中的作用。结果:S100P 蛋白在正常及癌旁肾组织中呈弱表达且表达率较低,分别为 10% 和 7.5%,而在原发肾透明细胞癌组织中的表达呈明显上调,为 77.5% ($\chi^2=45.187, P<0.01$),阳性表达强度以弱-中度为主。S100P 蛋白在转移性肾透明细胞癌组织中表达水平较原发癌显著降低,为 12.5% ($\chi^2=12.675, P<0.01$);在晚期肾透明细胞癌组织中的表达率显著降低,与早期组比较差异有统计学意义 ($\chi^2=4.337, P<0.05$)。结论:在原发性肾透明细胞癌组织中,S100P 蛋白表达水平较正常组织明显上调,而在发生其他脏器转移的组织中显著降低。可见 S100P 蛋白可能在恶性肾肿瘤的发生发展中扮演重要角色,进一步深入研究有助于为肾透明细胞癌的诊疗开辟新思路。

[关键词] S100P 蛋白;肾透明细胞癌;免疫组织化学

doi:10.13201/j.issn.1001-1420.2014.09.008

[中图分类号] R737.11 **[文献标识码]** A

Expression and significance of S100P in human renal clear cell carcinoma

XU Hua¹ LI Shengshui¹ LIU Yan² HAN Xiaochun³
WANG Lili⁴ LI Cui ping⁵ LI Shuangbiao¹

(¹Department of Pathology, Hebei Province Cangzhou Hospital of Integrated Traditional and Western Medicine, Cangzhou, Hebei, 061001, China; ²Department of Pathology of Eastern Area, Hebei Province Cangzhou Hospital of Integrated Traditional and Western Medicine; ³Department of Surgical Oncology, Hebei Province Cangzhou Hospital of Integrated Traditional and Western Medicine; ⁴Department of Gynecology and Obstetrics, Wujiao Hospital of Integrated Chinese and Western Medicine; ⁵Department of Pathology, Qingxian People's Hospital) Corresponding author: XU Hua, E-mail: pathology_bl@126.com

Abstract Objective: To investigate the expression of S100P in human renal clear cell carcinoma (RCCC) tissue and to analyze its clinical significance. **Method:** The S100P protein expression in 40 cases of RCCC tissues and adjacent normal tissues (ANTs), ten normal renal tissues, and eight metastatic clear cell carcinoma tissues were detected by immunohistochemistry. Then we investigated their correlation with clinical and pathological features, and explored the effect of S100P protein on the genesis and development of RCCC. **Result:** The positive rate of S100P protein in normal and ANTs groups (10%, 7.5%) were low, and expression intensity were both weak. However, the expressin level of S100P protein significantly increased in RCCC (77.5%) ($\chi^2=45.187, P<0.01$), and the expression intensity was mainly weak-moderate. The positive rate of S100P protein in metastatic clear cell carcinoma tissues was significant lower than that in primary cancer group ($\chi^2=12.675, P<0.01$). The expressin level of S100P protein significantly decreased in advanced stage group compare with the early stage group ($\chi^2=4.337, P<0.05$). **Conclusion:** The S100P protein expression level in human RCCC obviously increases compared with normal tissues. However, the S100P expression levels significantly reduce in other organs metastatic tumor tissues. S100P protein may play an important role in the development of malignant tumors of the kidney. Further research will contribute to new ideas about diagnosis and treatment of renal clear cell carcinoma.

Key words S100P protein; renal clear cell carcinoma; immunohistochemistry

肾透明细胞癌(renal clear cell carcinoma, RCCC)好发于中老年人,是肾细胞癌中最常见的

一种病理类型,占 60%~80%。其生物学行为及预后难以估测,肿瘤一旦发生浸润转移将严重影响患者预后。S100P 是近些年来发现的 S100 家族新成员,研究表明 S100P 与人多种恶性肿瘤的发生发展密切相关^[1]。但 S100P 蛋白在 RCCC 中的表达情况如何迄今仍未见报道。本研究通过免疫组织化学方法检测了人原发性与转移性 RCCC 组织

¹河北省沧州中西医结合医院病理科(河北沧州,061001)

²河北省沧州中西医结合医院东院区病理科

³河北省沧州中西医结合医院肿瘤外科

⁴河北省吴桥县中西医结合医院妇产科

⁵河北省青县人民医院病理科

通信作者:许华,E-mail: pathology_bl@126.com

中 S100P 蛋白的表达情况,旨在探讨 S100P 是否与 RCCC 的发生发展有关,为肾脏肿瘤的早期诊断乃至预后评价提供新的可行性指标。现报告如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取河北省沧州中西医结合医院自 2003 年 2 月~2013 年 12 月经病理检查明确诊断为 RCCC 的存档石蜡标本 40 例,男 28 例,女 12 例,年龄 32~85 岁,平均 65 岁。选取该 40 例 RCCC 癌旁肾组织及 10 例正常肾组织作为对照。上述患者术前均未行放疗或化疗。另外收集有肾透明细胞癌病史,数年乃至十余年后转移至其他脏器的肿瘤标本 8 例,其中肾上腺转移 1 例,肺转移 2 例,胆囊转移 3 例,骨转移 2 例。针对 40 例 RCCC 标本,由两位高年资病理医师按 WHO 推荐的 Furhman 分级标准进行分级,其中 I 级 26 例,II 级 10 例,III 级 4 例。转移标本经镜下观察其组织形态并结合免疫组织化学染色结果(Vimentin、CD10 均阳性表达)确认。

1.2 检测方法

选用即用型兔抗人 S100P 多克隆抗体(香港 Abcam 公司)、S-P 免疫组织化学试剂盒、DAB 发色剂(福州迈新生物技术有限公司)。

采用 SP 法染色,按试剂盒说明书操作,用 DAB 显色,苏木精复染。以阑尾组织作为阳性对照,以 PBS 代替一抗作为阴性对照。

1.3 结果判定

S100P 定位于胞质内,也可位于胞核或胞膜上,呈棕黄色或棕褐色。镜下随机选择 5~10 个视野,计数 100~200 个癌细胞,胞质及胞核黄染者为阳性,计算出阳性细胞百分率。染色结果判定用二

级计分法。阳性细胞计数 $\leq 5\%$ 为 0 分,5%~25%为 1 分,26%~50%为 2 分,51%~75%为 3 分, $> 75\%$ 为 4 分。染色强度分类:淡黄色为 1 分;黄或深黄色为 2 分;褐或棕褐色为 3 分。最后以阳性细胞的百分比得分和染色深度得分之积作为最终结果进行判定。1~3 分为弱阳性(+),4~6 分为阳性(++), > 6 分为强阳性(+++)。

1.4 统计学处理

研究数据均应用 SPSS13.0 软件统计包进行统计学处理。率的比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 S100P 在正常肾和癌旁肾组织、RCCC 组织中的表达

S100P 蛋白在 10 例正常和 40 例癌旁肾组织中主要表达于肾小球周围的肾小管(近曲小管)细胞质内,但着色强度较弱(淡黄色)且范围小,阳性表达率分别为 10%和 7.5%。S100P 蛋白在 RCCC 组织中阳性表达模式多样,大部分以胞质/胞膜着色为主,少数见细胞核阳性表达。着色强度较良性组织增强,但大部分以弱~中等强度为主,阳性着色细胞数量增多。40 例癌组织中阳性表达率为 77.5%,显著高于两对照组($\chi^2 = 45.187, P = 0.000$)(表 1,图 1)。

表 1 良恶性肾组织中 S100P 蛋白表达情况

组织类型	例数	S100P 表达			
		—	+	++	+++
正常组织	10	9	1	0	0
癌旁组织	40	37	3	0	0
RCC 组织	40	9	19	10	2
转移性 RCC 组织	8	7	1	0	0

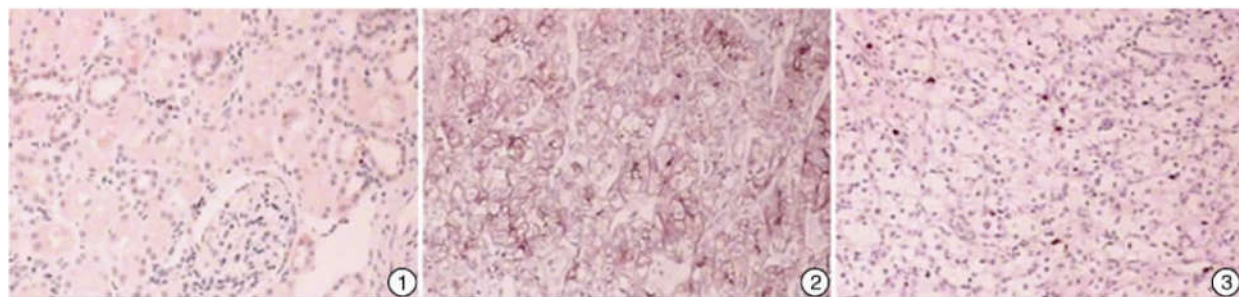


图 1 S100P 蛋白在正常肾组织(①)、癌旁肾组织(②)和 RCCC 组织(③)中的表达

2.2 S100P 在转移性 RCCC 组织中的表达

8 例发生 RCCC 远处转移的转移灶组织中, S100P 蛋白基本呈阴性表达,仅 1 例胆囊转移者呈弱阳性表达,阳性表达率为 12.5%,较原发 RCCC 组织中明显降低($\chi^2 = 12.675, P = 0.000$)(表 1)。

2.3 S100P 的表达与 RCCC 临床病理特征的关系

S100P 在高级别 RCCC(Furhman III 级)中的表达率较低级别(Furhman I、II 级)为低,但差异无统计学意义($\chi^2 = 2.812, P = 0.245$)。该蛋白在晚期 RCCC 组织内的表达下调,与早期组比较,差异有统计学意义($\chi^2 = 4.337, P = 0.037$)(表 2)。

3 讨论

表 2 S100P 蛋白的表达与 RCCC 临床病理特征的关系

临床病理特征	例数	S100P 阳性例数(%)	χ^2 值	P 值
年龄/岁				
<60	14	11(78.57)	0.014	0.905
≥60	26	20(76.92)		
性别				
男	28	23(82.14)	1.154	0.283
女	12	8(66.67)		
肿瘤大小				
<5 cm	30	25(83.33)	2.342	0.126
≥5 cm	10	6(60.00)		
核分级				
I	26	22(84.62)	2.812	0.245
II	10	7(70.00)		
III	4	2(50.00)		
临床分期				
I~II 期	32	27(84.38)	4.337	0.037
III~IV 期	8	4(50.00)		

S100 蛋白家族广泛参与细胞增殖、细胞分化、细胞骨架构成、免疫反应以及细胞外基质分泌活动等过程。作为该家族成员之一,近些年报道的 S100P 在正常组织中分布广泛,包括心、脑、肝脏、气管、肺、骨髓和外周血白细胞等,在细胞膜、细胞质以及细胞核中均有表达,并以自分泌和旁分泌的方式起作用^[2]。研究表明,在多种肿瘤组织中,包括胰腺癌、前列腺癌、肺癌等,S100P 表达升高,其与肿瘤的增殖、恶化、侵袭转移、激素抵抗和化疗耐药有关^[3]。

S100P 靶蛋白之一钙周期结合蛋白(CacyBP/SIP)参与构成泛素连接酶复合体,与 β -连环蛋白(β -catenin)降解有关。而 β -catenin 是 Wnt 信号通路的关键分子,其在正常成熟细胞中含量极低,该通路呈受阻状态。当肿瘤发生时, β -catenin 即发生降解异常,致其含量增加,从而激活 Wnt 通路,使大量基因异常转录,发生细胞癌变^[4]。国外研究^[5]发现胰腺癌组织中 S100P 基因水平较之正常组织和胰腺炎组织明显升高,免疫组织化学仅胰腺癌肿瘤细胞着色,指出 S100P 高表达可能对早期发现胰腺癌有所帮助。Hamada 等^[6]免疫组织化学研究结果发现,正常胆管上皮中 S100P 蛋白无阳性着色,而胆管癌组织中阳性表达率为 75.6%。RT-PCR 结果显示胆管癌患者细胞学样本中 S100P mRNA 的表达水平显著高于良性胆管样本。李明娜等^[7]采用半定量 RT-PCR 技术研究结果显示 S100P 基因在非小细胞肺癌中的表达高于癌旁和正常肺组织。与上述报道一致,本研究通过免疫组织化学方法检测 S100P 蛋白在人肾透明细胞癌中的表达情况,结果显示癌组织中该蛋白的表达水平较正常及癌旁肾组织显著上调。由此推测,S100P 可能在肾透明细胞癌的发生

过程中扮演重要角色,进一步深入研究该蛋白的功能与相关靶分子有望为肾脏恶性肿瘤的诊治开辟新的途径。

目前的研究认为,细胞内的 S100P 主要通过 Ezrin 起作用,Ezrin 蛋白可调节细胞之间及细胞与基质之间的黏附,降低细胞间黏附性以及增加运动性和侵袭性。Koltzsch 等^[8]研究认为,在适宜的 Ca^{2+} 浓度下,S100P 可以激活静止期 Ezrin 蛋白,调节肿瘤细胞间黏附与去黏附,对肿瘤生长、侵袭及转移发挥作用。现有的资料表明 S100P 与肿瘤细胞恶性程度、侵袭、转移和分期的关系尚不尽一致。Downen 等^[9]研究发现 S100P 在胰腺癌表达水平的升高与胰腺上皮内瘤变(PanIN)损伤程度呈正相关。我们前期免疫组织化学研究结果显示 S100P 蛋白在淋巴结转移及晚期(Dukes C+D 期)结直肠癌组织中显著升高^[10]。然而 Wang 等报道^[11] S100P 在早期非小细胞肺癌(NSCLC)中表达增高,而在晚期或接受过新辅助化疗的 NSCLC 患者中表达水平降低,高表达 S100P 将有助于早期识别 NSCLC,并预示良好的预后。S100P 表达阳性的胃癌患者,其肿瘤大小相对较小,并且具有较低的 T 分期,多因素分析鉴别发现,S100P 不能够作为胃癌独立的预后因素^[12]。本研究发现 S100P 在高级别 RCCC 中的表达率较低,在晚期 RCCC 组织内的表达明显下调。由此推测,S100P 更倾向于主要表达在低级别、早期 RCCC 中,其高表达有可能预示肿瘤患者预后良好。

刘峰等^[13]通过基因芯片技术对已出现腹膜转移结直肠癌患者的原发肿瘤组织和正常组织 mRNA 表达水平进行检测,发现了三条表达上调且和肿瘤进展相关的基因,其中就包括 S100P。该研究证实,在已出现腹膜转移的患者结直肠癌原发肿瘤组织中,S100P 的表达明显高于正常组织,并据此初步判断 S100P 可能参与了结直肠癌的腹膜转移。S100P 在 NSCLC 细胞系中表达的上调可导致癌细胞穿越内皮细胞的迁移能力增强^[14]。我们所研究的 RCCC 一个重要生物学行为就是约 30% 的患者在施行肾切除术后,肾癌细胞经淋巴管或血行途径转移到全身,以肺、肝和骨等部位常见^[15]。于是,我们收集了 8 例有 RCCC 病史、数年乃至十余年后转移至其他脏器的病例,应用转移灶的组织蜡块标记了 S100P 蛋白的表达情况,结果显示,在转移后的透明细胞癌组织中,该蛋白表达基本缺失。鉴于资料所限,本研究并未结合该 8 例发生远处转移患者的肾脏原发病灶进行检测,故而这与刘峰等的研究结论并不矛盾,因为后者的研究是针对出现腹膜转移的结直肠癌患者的原发肿瘤进行的。笔者由此推测,S100P 可能在早期原发 RCCC 发生时上调,而发生远处转移后的 RCCC 癌细胞中 S100P 蛋白表达

水平则明显降低。

综上所述,S100P 蛋白在人 RCCC 中的表达较正常肾组织升高,高级别和晚期 RCCC 患者癌组织中 S100P 表达水平趋于下调,发生远处转移的癌组织中,其表达水平明显降低。当前的研究尚处于初始阶段,S100P 在不同肿瘤组织中的异常表达(上调或下调)对肿瘤生物学行为的影响尚存在矛盾和争议。继续深入展开针对 S100P 的系列研究,有望能为肾脏恶性肿瘤的早期临床诊断、TNM 分期及评估预后提供有意义的帮助,并为临床分子靶向治疗开辟新途径。

[参考文献]

- 1 张丹,张炜. S100P 在肿瘤中的研究进展及其与胚胎植入的关系[J]. 国际妇产科学杂志, 2012, 3(39): 239—242.
- 2 Jin G, Wang S, Hu X G, et al. Characterization of the tissue-specific expression of the S100P gene which encodes an EF-hand Ca^{2+} -binding protein[J]. Mol Biol Rep, 2003, 30(4): 243—248.
- 3 Gibadulinova A, Tothova V, Pastorek J, et al. Transcriptional regulation and functional implication of S100P in cancer[J]. Amino Acids, 2011, 41(4): 885—892.
- 4 Filipek A, Jastrzebska B, Nowotny M, et al. CacyBP/SIP, a calyculin and Siah-1-interacting protein, binds EF-hand proteins of the S100 family[J]. J Biol Chem, 2002, 277(32): 28848—28852.
- 5 Logsdon C D, Simeone D M, Binkley C, et al. Molecular profiling of pancreatic adenocarcinoma and chronic pancreatitis identifies multiple genes differentially regulated in pancreatic cancer[J]. Cancer Res, 2003, 63(10): 2649—2657.
- 6 Hamada S, Satoh K, Hirota M, et al. Calcium-binding protein s100P is a novel diagnostic marker of cholangiocarcinoma[J]. Cancer Sci, 2011, 102(1): 150—156.
- 7 李明娜,范钦和. 非小细胞肺癌中 S100A2、S100A4 及 S100P 表达及意义[J]. 临床与实验病理学杂志, 2009, 25(5): 503—506.
- 8 Koltzsch M, Neumann C, König S, et al. Ca^{2+} -dependent binding and activation of dormant ezrin by dimeric, S100P[J]. Mol Biol Cell, 2003, 14(16): 2372—2384.
- 9 Downen S E, Crnogorac Jurcevic T, Gangeswaran R, et al. Expression of S100P and its novel binding partner S100PBPR in early pancreatic cancer[J]. Am J Pathol, 2005, 166(1): 81—92.
- 10 许华,李胜水,张凤梅,等. 结直肠癌组织中 S100P, E-cadherin 和 Ki-67 的表达及意义[J]. 现代检验医学杂志, 2012, 27(1): 71—74.
- 11 Wang H, Zhang Z, Li R, et al. Overexpression of S100A2 protein as a prognostic marker for patients with stage I non small cell lung cancer[J]. Int J Cancer, 2005, 116(2): 285—290.
- 12 贾淑芹,季加孚,苏秀兰. S100P 在胃癌中的下调表达及意义[J]. 肿瘤防治研究, 2011, 38(4): 423—426.
- 13 刘峰,郭久冰,沈智勇,等. 基因芯片技术筛选结直肠癌腹膜转移相关基因[J]. 南方医科大学学报, 2012, 32(3): 400—403.
- 14 Diederichs S, Bulk E, Steffen B, et al. S100 family members and trypsinogens are predictors of distant metastasis and survival in early-stage non-small cell lung cancer[J]. Cancer Res, 2004, 64(16): 5564—5569.
- 15 李建生,陈浩,马金良,等. 肾透明细胞癌胰腺转移 1 例[J]. 肝胆胰外科杂志, 2012, 2(24): 163—164.

(收稿日期:2014-02-18)

欢迎订阅 2015 年《临床泌尿外科杂志》

(邮发代号 38-124)

《临床泌尿外科杂志》(刊号:ISSN 1001-1420, CN 42-1131/R)是中华人民共和国教育部主管,华中科技大学同济医学院附属协和医院和同济医院联合主办的泌尿外科学专业学术期刊,1986 年 7 月创刊,至今已有 28 年,属于老牌名刊,深受国内临床泌尿外科医生的欢迎。主要刊登泌尿外科学及男科学的相关科技学术论文,辟有专家论坛、临床研究、实验研究、流行病学调查、综述、研究报告、病例报告、国外医学新进展等栏目。现为大 16 开本(208 mm×295 mm),基础页码 92 页。封面为 157 g 铜版纸四彩封塑,内芯为 105 g 铜版纸彩图精印。2015 年每期订价为 16.00 元,半年价 96.00 元,全年价 192.00 元。欢迎全国泌尿外科医生及相关研究人员到当地邮局订阅,切记邮发代号 38-124。

订阅《临床泌尿外科杂志》可以在第一时间掌握国内泌尿外科学的最新研究动态,了解最新专业信息。欢迎全国泌尿外科医生及相关人员订阅!

《临床泌尿外科杂志》编辑部