

河南食管癌高发区食管癌及癌旁组织 Annexin II 表达失调变化

齐义军^{1,2}, 王立东¹, 焦新英³, 冯笑山¹, 范宗民¹,
高珊珊¹, 何欣¹, 李吉林³, 常扶保⁴

Dysregulation of Annexin II Expression in Esophageal Squamous Cell Cancer and Adjacent Tissues from a High-Incidence Area for Esophageal Cancer in Henan Province

QI Yi-Jun^{1,2}, WANG Li-Dong¹, JIAO Xin-Ying³, FENG Xiao-Shan¹, FAN Zong-Min¹,
GAO Shan-Shan¹, HE Xin¹, LI Ji-Lin³, CHANG Fu-Bao⁴

1.河南省食管癌重点开放实验室,
郑州大学基础医学院
河南 郑州 450052
2.河南大学
细胞与分子免疫学重点实验室,
河南 开封 475001
3.林州市姚村食管癌医院
病理科,
河南 林州 456592
4.林州市中心医院
外科,
河南 林州 456592

1. Henan Provincial Key Laboratory for
Esophageal Cancer,
Zhengzhou, Henan, 450052,
P. R. China
2. Key Laboratory of Cellular and Molecular
Immunology,
Henan University,
Kaifeng, Henan, 475001,
P. R. China
3. Department of Pathology,
Yaocun Esophageal Cancer Hospital,
Linzhou, Henan, 456592,
P. R. China
4. Department of Surgery,
Central Hospital of Linzhou City,
Linzhou, Henan, 456592,
P. R. China

通讯作者: 王立东

Correspondence to: WANG Li-Dong
Tel: 86-371-66658335
Fax: 86-371-66658335
E-mail: ldwang@zzu.edu.cn

基金项目: 国家杰出青年科学基金
(No. 30025016); 河南省高校创新人才工
程基金 (No. 1999125); 河南省医学科技攻
关项目基金 (No. 200584); 国家自然科学基金
(No. 30670956)

Grants: National Science Fund for
Distinguished Young Scholars
(No. 30025016); Foundation of Education
Committee of Henan Province
(No. 1999125); Foundation of Health
Committee of Henan Province (No. 200584);
National Natural Science Foundation of
China (No. 30670956)

收稿日期: 2006-06-09
修回日期: 2006-11-27

[ABSTRACT] BACKGROUND & OBJECTIVE: Our recent study on proteomics for esophageal cancer has indicated the importance of Annexin II as a promising protein to distinguish esophageal cancer patients from healthy subjects. This study was to detect the expression of Annexin II in esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) and adjacent tissues, and to explore the role of Annexin II in ESCC pathogenesis and mechanisms. METHODS: The expression of Annexin II in 33 specimens of ESCC and adjacent tissues from Linzhou, a high-incidence area for esophageal cancer in Henan province, was detected by ABC immunohistochemistry and reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). RESULTS: Annexin II protein was expressed in 90.6% normal esophageal epithelium and decreased with ESCC progression. In carcinoma *in situ* (CIS), 50.0% foci lost Annexin II protein expression. The expression of Annexin II protein was increased in well differentiated SCC and decreased with loss of differentiation of SCC. In poorly differentiated SCC, 45.4% foci lost Annexin II protein expression. However, RT-PCR didn't detect differential expression of Annexin II mRNA between normal esophageal epithelium and CIS. CONCLUSIONS: Elevated or reduced expression of Annexin II may be correlated to reverse or progression of carcinogenesis respectively, and Annexin II may be another candidate biomarker for screening of high-risk subjects and early diagnosis of SCC.

KEYWORDS: Esophageal neoplasm, squamous cell carcinoma; Precancerous lesion; Annexin II; Immunohistochemistry; Tumor-related gene

【摘要】背景与目的: 作者对河南食管癌高发区正常人和食管癌患者蛋白质组差异蛋白分析发现 Annexin II 是主要差异候选蛋白之一。本研究通过分析该地区食管鳞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)及癌旁形态学正常食管上皮(normal epithelium, NOR)、基底细胞过度增生(basal cell hyperplasia, BCH)、不典型增生(dysplasia, DYS)和原位癌(carcinoma *in situ*, CIS)中 Annexin II 动态表达状况,探讨 Annexin II 在 ESCC 癌变过程中的作用及机制。方法: 采用 ABC 免疫组织化学法分析了河南食管癌高发区 33 例 ESCC 手术标本和癌旁 NOR,以及 BCH、DYS 和 CIS 中 Annexin II 蛋白表达变化; 另应用 RT-PCR 方法检测了 ESCC 手术标本和癌旁 NOR 中 Annexin II mRNA 差异表达情况。结果: 在 90.6% 的 NOR 中有 Annexin II 蛋白表达, 免疫染色评分 ≥ 4 , 随着病变加重其表达下降, CIS 时

Annexin II 蛋白完全失表达的比例达到了 50.0%。高分化 SCC 时 Annexin II 蛋白表达又升高,而后随着 SCC 失分化表达逐渐降低,低分化 SCC 中 45.4% 病灶 Annexin II 失表达。但 RT-PCR 并没有检测到 NOR 和 SCC 中 Annexin II mRNA 的差异表达。结论:Annexin II 表达增强或降低可能与癌前病变逆转或进展相关,并有可能成为高危人群筛查及食管癌早期诊断的分子指标。

关键词:食管肿瘤;鳞状上皮癌;癌前病变;Annexin II;免疫组化;肿瘤相关基因

中图分类号:R730.231 文献标识码:A

文章编号:1000-467X(2007)07-0730-07

河南林州市(原林县)及其毗邻的辉县、安阳等地区是世界上食管癌(esophageal cancer, EC)发病率和死亡率高的地区之一,目前食管癌仍是该地区肿瘤相关死亡的主要原因^[1]。食管癌病因及发生发展的分子机制尚不清楚,缺乏食管癌早期诊断的敏感、特异性分子指标,是导致食管癌死亡率高、预后差的主要原因之一^[2]。作者对河南食管癌高发区正常人和食管癌患者蛋白质组差异蛋白分析发现 Annexin II 是主要差异候选蛋白之一^[3]。Annexin II 是钙依赖的磷脂结合蛋白 Annexin 家族成员之一,与肿瘤的发生发展及转移相关^[4,5]。但是,Annexin II 与食管癌关系的研究报道甚少,尤其是 Annexin II 在食管癌前病变中的变化研究,目前尚无报道。本研究采用免疫组织化学方法检测了 Annexin II 蛋白在癌旁食管粘膜上皮、各种不同程度癌前病变和不同分化程度鳞癌中的表达,采用 RT-PCR 技术检测了 mRNA 在癌及癌旁上皮组织之间差异表达,探讨 Annexin II 与食管癌变的关系。

1 材料与方法

1.1 材料

33 例食管癌标本为河南林州市姚村食管癌医院 2004~2005 年手术切除的标本,包括 18 例男性,15 例女性,年龄 41~75 岁,中位年龄 58 岁。所有患者术前均未接受化疗或放疗。

1.2 病理学检查

食管癌手术切除标本离体后,纵行剖开、展平,一半放入液氮或-80℃冰箱中冷冻保存,另一半用 95%乙醇固定。对固定标本,在肉眼所见肿瘤实体并无出血坏死处取材后进行脱水、包埋等常规组织学处理;癌旁食管上皮组织(距离肿瘤边缘 1 cm)为成功剥离自肿瘤实体边缘至上或下切缘

不含或含有少量食管粘膜下层组织的食管上皮组织,将其行卷席样处理后,进行如上述的常规组织学处理。石蜡包埋后进行连续切片,切片厚 5 μm,一张 HE 染色后用于组织病理学的诊断,其余用于免疫组织化学分析。对其中 8 例新鲜冰冻的食管鳞癌标本,在肉眼可见的肿瘤实体处及癌旁食管粘膜上皮各取一块,用于 RNA 的提取,进行 RT-PCR 分析;RNA 提取之前,再随机从每块组织中取一小块用于 HE 染色进行病理学诊断。

根据细胞形态、组织结构和分化程度,将食管上皮分为正常上皮(normal epithelium, NOR)、基底细胞过度增生(basal cell hyperplasia, BCH)、不典型增生(dysplasia, DYS)、原位癌(carcinoma in situ, CIS)、高分化鳞癌(well-differentiated SCC, W-SCC)、中分化鳞癌(moderately-differentiated SCC, M-SCC)和低分化鳞癌(poorly-differentiated SCC, P-SCC)^[1,6]。显微镜下观察卷席样的癌旁食管上皮组织,不同部位的病变至少被 1 cm 以上形态学正常的食管上皮分隔,才被认为是孤立病灶。每张切片癌旁组织无论全部或部分为正常上皮,均认为是正常上皮。

1.3 免疫组织化学检查

免疫组织化学分析采用卵白素-生物素-辣根过氧化物酶复合物(ABC)法。一抗为多克隆兔抗人 Annexin II 抗体,二抗为羊抗兔抗体,均来自 Santa Cruz 公司。ABC 试剂盒购自美国 Vector Laboratories,二氨基联苯胺(DAB)底物试剂盒购自北京中山生物技术有限公司。简要步骤如下:石蜡切片脱蜡,梯度乙醇至水,PBS 洗涤 3 次后用 0.3% H₂O₂ 灭活内源性过氧化物酶,用 1:50 的正常马血清室温孵育 20 min,加 2% BSA 稀释至 1:200 的 Annexin II 一抗置于湿盒内,4℃冰箱孵育过夜(12 h)。加 2% BSA 稀释至 1:200 的羊抗兔二抗,孵育 45 min,ABC (1:1:50)室温孵育 30 min,DAB 和 H₂O₂ 孵育,显微镜下观察,适时终止反应,最后苏木精复染 15~30 s,封片。阴性对照使用 PBS 代替一抗,其余步骤同上;实验对照采用增殖细胞核抗原(PCNA)阳性切片。

参考文献[6]建立免疫组化染色强度评分标准。首先是染色强度评分:无染色为 0 分;细胞膜或胞质呈现淡黄色颗粒,明显高于背景为 1 分;细胞膜或胞质呈现浅棕黄色颗粒为 2 分;出现大量深棕黄色颗粒为 3 分。然后根据阳性细胞数进行评分:每片随机观察 5 个视野,计数 500 个细胞中

染色阳性细胞数,阳性细胞数<5%为0分;阳性细胞数5%~25%为1分;>25%~75%为2分;>75%为3分。染色强度评分与阳性细胞数比例的评分相加之和为总分(0~6分)。

1.4 RT-PCR 检测 Annexin II 表达

新鲜组织中总 RNA 抽提采用试剂 Trizol (Gibco BRL, Life Technologies, USA), 反转录使用 Promega 公司 ImProm-IITM Reverse Transcription System 试剂盒, 具体步骤按公司提供的说明书进行。PCR 采用的 Annexin II 引物序列为: 正链 5'-CCAGCGTCATAGAGATCCCG-3', 负链 5'CAGCCTTATCTGGCCACCTG-3'。以 β -actin 作内对照, β -actin 正链 5'-GTGGGGCGCCCCAGGCACCA-3', β -actin 负链 5'-CTCCTTAATGTCACGCACGATTTC-3'。PCR 反应条件为: 预变性 94℃ 10 min; 94℃ 45 s, 55℃ 45 s, 72℃ 60 s, 30 个循环; 最后 72℃延伸 10 min。

1.5 统计学分析

采用 SPSS 10.0 统计软件包处理, 运用双项 Student's *t* 和等级回归进行检验分析, 检验水准取 $\alpha = 0.05$ 。

2 结 果

2.1 组织病理学结果

33 例食管癌手术标本经包埋、切片及 HE 染色后, 至少经两位病理学专家诊断证实为鳞状细胞癌, 根据癌细胞分化程度又进行了高、中、低分化程度的分级。癌旁粘膜上皮的组织病理学诊断证实包含了不同的组织类型 91 个, 包括 NOR、BCH、DYS、CIS (见表 1)。用于 RNA 提取及 RT-

PCR 分析的 8 对食管癌及癌旁组织的随机取材标本, 病理学亦证实为鳞状细胞癌, 癌旁组织均为正常食管粘膜上皮。

2.2 免疫组织化学结果

Annexin II 免疫组化阳性反应根据染色强度不同, 免疫复合物呈淡黄色至深浅不同的棕黄色颗粒, 主要分布于细胞膜, 有时亦可见于细胞质, 胞核染色极少见 (见图 1)。在癌旁形态学正常的食管粘膜上皮, 免疫组化染色多以中强度为主, 随着病变的进展, Annexin II 的表达亦随之降低, 尤其是在 DYS 和 CIS 时, 变化尤为明显, 染色强度以低度为主。免疫组化染色强度评分结果表明: 癌旁食管粘膜上皮, 多数阳性染色呈浅棕黄色至深棕黄色, 评分 ≥ 4 分以上; BCH 时染色评分仍以 4 分为主, 其比例为 70.8%; 当病变发展至 DYS 时, 染色评分以 4 分为主, 同时完全阴性的病灶比例为 38.1%; 在 CIS, 约有 50% 的病灶完全不着色, 免疫染色强度以 3 分为主; 令人感兴趣的是, 在 SCC 时, 发生了恶性转化的癌细胞又不同程度的表达了 Annexin II 蛋白, 其免疫染色反应评分仍以 ≤ 4 分为主, 7 例高分化 SCC 均有不同程度 Annexin II 蛋白表达, 从高分化至低分化 SCC, Annexin II 蛋白表达又逐渐降低 (见表 1)。统计学分析表明: 正常食管上皮组织中 Annexin II 蛋白表达与 BCH、高分化 SCC 比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 与其余各组比较差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$); BCH 与 DYS、CIS 和低分化 SCC 比较, 差异也有统计学意义 ($P < 0.05$)。对于不同分化程度鳞癌, 从高分化到低分化癌, Annexin II 蛋白表达呈下降趋势, Annexin II 完

表 1 不同组织类型食管上皮中的 Annexin II 免疫染色评分
Table 1 Immunoreactivity scores of Annexin II in various types of esophageal epithelium [cases (%)]

Histology	Cases	Immunoreactivity score of Annexin II						
		0	1	2	3	4	5	6
Adjacent tissue								
NOR	32	3 (9.4)	0	0	0	18(56.2)	8(25.0)	3 (9.4)
BCH	24	4(16.7)	0	0	0	17(70.8)	0	3(12.5)
DYS	21	8(38.1)	0	2 (9.5)	2 (9.5)	8(38.1)	1 (4.8)	0
CIS	14	7(50.0)	0	2(14.3)	3(21.5)	1 (7.1)	1 (7.1)	0
Esophageal carcinoma								
W-SCC	7	0	0	1(14.3)	3(42.9)	2(28.6)	1(14.3)	0
M-SCC	15	4(26.7)	0	4(26.7)	1 (6.7)	3(20.0)	1 (6.7)	2(13.3)
P-SCC	11	5(45.4)	0	3(27.3)	1 (9.1)	2(18.2)	0	0

NOR, normal epithelium; BCH, basal cell hyperplasia; DYS, dysplasia; CIS, carcinoma *in situ*; W-SCC, well differentiated SCC; M-SCC, moderately differentiated SCC; P-SCC, poorly differentiated SCC. $P < 0.05$, NOR vs. DYS, CIS, M-SCC, and P-SCC, BCH vs. DYS, CIS, and P-SCC, CIS vs. W-SCC, and W-SCC vs. P-SCC.

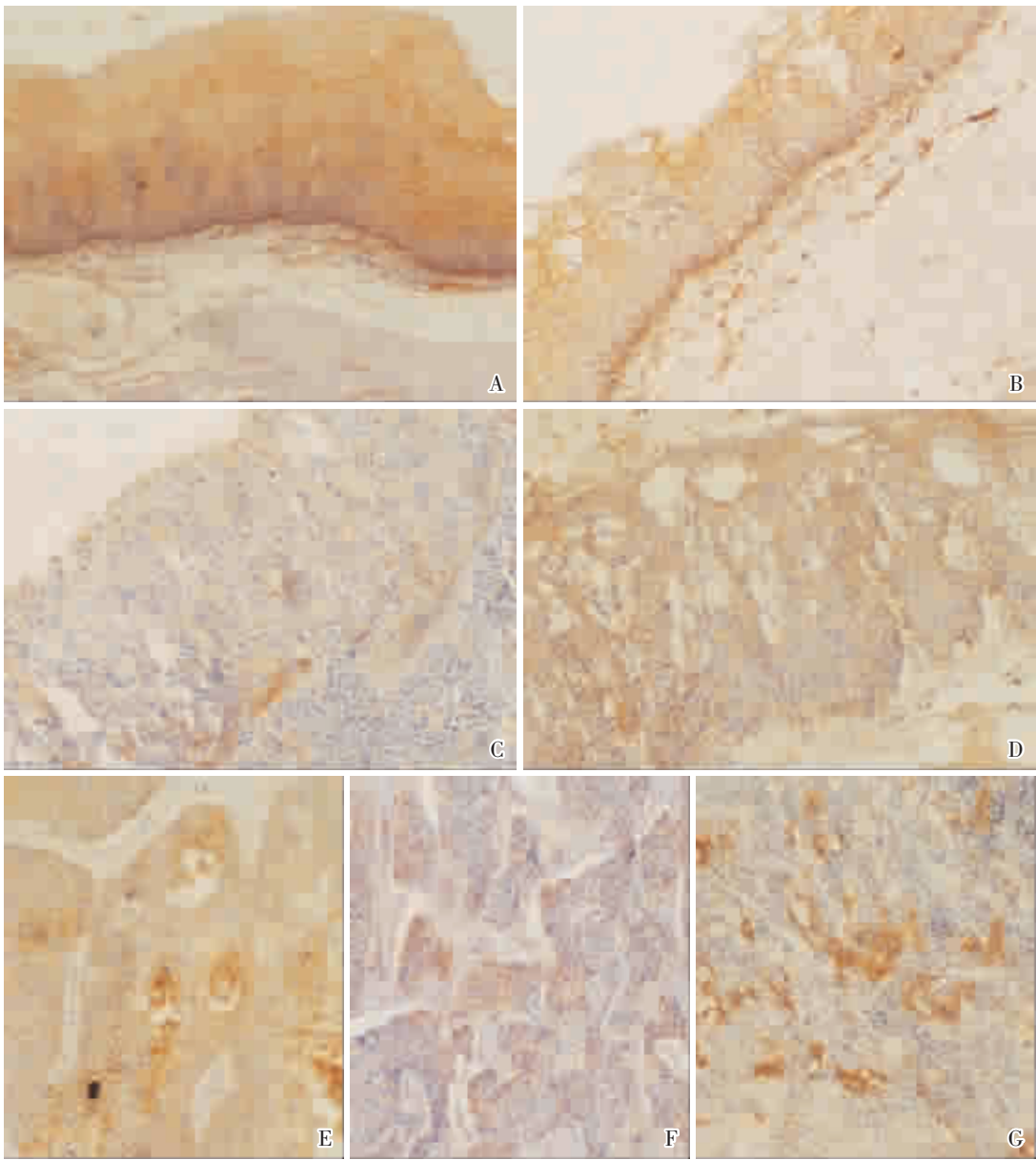


图 1 食管各种不同组织中 Annexin II 免疫组织化学反应 (DAB ×200)

Figure 1 Immunoreactivity of Annexin II in various types of esophageal epithelium (DAB ×200)

- A: In normal esophageal epithelium close to esophageal carcinoma, Annexin II protein is expressed mainly in cytoplasm and on membrane of basal cells, on membrane of suprabasal and superficial cells (score 6).
- B: In esophageal basal cell hyperplasia, Annexin II protein is moderately expressed in hyperproliferating cells (score 4).
- C: In esophageal dysplasia, dysplastic cells lost Annexin II expression (score 0).
- D: In carcinoma *in situ*, Annexin II protein is weakly expressed (score 2).
- E: In well differentiated esophageal squamous cell carcinoma, Annexin II protein is expressed maily in the middle of cancer nest, particularly in horny pearl (score 3).
- F: In moderately differentiated esophageal squamous cell carcinoma, Annexin II protein expression is decreased obviously (score 2).
- G: In poorly differentiated esophageal squamous cell carcinoma, Annexin II protein is expressed mainly in diffused cancer cells.

全失表达比例在中分化癌为 26.7%,在低分化癌为 45.4%(见表 1)。正常食管上皮、各级病变与总 ESCC 标本(33 例)进行统计学分析,发现 NOR 与 ESCC、BCH 与 ESCC 组间差异具有统计学意义(P

<0.05)。

2.3 RT-PCR 结果

图 2 中显示了 8 对食管鳞癌及相应癌旁正常食管粘膜上皮组织中 Annexin II 表达状况。半定量

分析表明癌及癌旁正常上皮组织间不存在明显的 mRNA 表达差异。

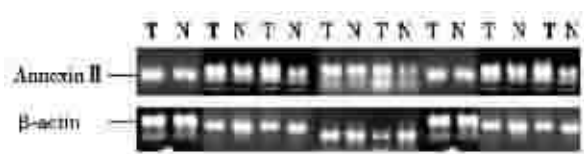


图 2 Annexin II mRNA 在 8 对食管鳞癌及相应的癌旁正常食管上皮组织中的表达

Figure 2 Expression of Annexin II mRNA in 8 specimens of esophageal squamous cell carcinoma (T) and matched normal esophageal epithelium tissues (N)

3 讨 论

本研究最重要的发现是 Annexin II 蛋白在食管正常粘膜上皮组织及癌前不同程度病变组织中表达水平的动态变化,在癌旁食管粘膜上皮,其表达量最高,随着病变的加重,其表达随之下降,当病变发展到 CIS 时,Annexin II 蛋白表达量最低,完全失表达比例达到 50%。免疫组化染色强度评分均值分析更清晰地表明,随着癌前病变的进展,Annexin II 蛋白表达呈线性下降。另一个发现是在不同分化程度的食管鳞状细胞癌中,Annexin II 蛋白表达与分化程度呈负相关,即:随着癌细胞失分化,Annexin II 蛋白表达也随之降低,低分化 SCC 中 Annexin II 蛋白免疫染色强度评分值达到了最小,完全失表达比例为 45.4%。

Annexin II,又称为 p36、lipocortin 2 或 calpactin 1,属钙依赖磷脂结合蛋白家族成员之一,基因定位于 15 号染色体上,含有长度为 1.4 kb 的高度保守的基因编码序列,编码产物分子量为 36 ku 的磷酸化蛋白^[7]。Annexin II 是 pp60vsrc、蛋白激酶 C、表皮生长因子、血小板源性生长因子及胰岛素等一类酪氨酸激酶受体激活后磷酸化反应底物,具有多种生理功能,如调节磷脂酶 A2 活性、细胞膜骨架联结、细胞增殖与分化、细胞分泌、胞膜物质运输、细胞间粘附、粘素介导的细胞信号转导、抗炎及凝血功能等^[8-12]。在体内,两条 Annexin II 蛋白重链通常与两条 p11 蛋白轻链构成异源四聚体,联接着细胞骨架与细胞膜,p11 蛋白还能调节 Annexin II 蛋白与钙离子、磷脂的结合力。近年研究表明,Annexin II 蛋白高表达常发生于增生和转化细胞,表达降低常与细胞生长停滞和终末分

化相关^[7,13-15]。在正常的人类中枢神经系统,Annexin II 通常不表达,但在原发性神经外胚层瘤却检测到了 Annexin II 的高表达(8/9)^[16]。另外多种肿瘤中也发现了 Annexin II 蛋白表达上调,如结肠癌、乳腺癌、肝细胞癌、胰腺癌、脑星形细胞瘤、急性早幼粒细胞性白血病、小细胞肺癌、胃癌、头颈部鳞状细胞癌等^[4,5,13,14,17-22];不但如此,Annexin II 蛋白的高表达还与肿瘤的临床分级呈正相关,如对原发性大肠癌的研究结果表明,Annexin II 高表达与组织学类型、肿瘤大小、浸润深度及 TNM 分期显著相关^[19]。另外,对头颈部鳞状细胞癌的研究发现,Annexin II 表达上调与肿瘤的侵袭及转移呈正相关^[5]。Annexin II 基因反义表达载体成功转入人肺腺癌细胞株 SPC-A-1 后,Annexin II mRNA 的表达降低,同时细胞增殖减慢,集落形成率降低,³H-TdR 掺入率下降,细胞周期被阻滞于 G₀/G₁ 期^[23]。但是,另外的许多研究得出了完全相反的结论。如对前列腺癌及其癌前病变的研究却发现:65%的前列腺上皮内肿瘤(PIN)中 Annexin II 蛋白表达缺失,在癌灶内 Annexin II 蛋白表达百分之百缺失(31/31)^[24]。另一关于食管癌的研究也发现 Annexin II 蛋白在癌组织中表达降低($P < 0.05$);与高分化鳞癌相比,中、低分化鳞癌中 Annexin II 蛋白的表达也有显著降低($P < 0.05$)^[25]。对人骨肉瘤组织标本研究发现:Annexin II mRNA 和蛋白高表达与肿瘤转移能力呈负相关;在骨肉瘤细胞系中,Annexin II 高表达不仅诱导出了瘤细胞分化表型,还降低了瘤细胞的致瘤性和转移能力^[26]。上述各报道结果不一致的原因可能在于组织特异性及 Annexin II 蛋白在细胞内分区化等,造成了 Annexin II 不同的表达形式及多样的生物学功能。

本研究中发现的 Annexin II 蛋白在食管癌前病变中的动态变化提示:Annexin II 蛋白与食管癌变的多阶段演进相关,它可能是食管癌变过程中的抑制因素之一,抑制细胞的增殖,促进食管上皮细胞的分化,而 Annexin II 蛋白的丢失可能增强了细胞增殖能力,促进了癌前病变进展。长期随访研究表明:从正常食管粘膜上皮→轻度不典型增生→重度不典型增生→原位癌→鳞癌,是一个多阶段进行性发病模式,癌前病变是一个不稳定、活跃的状态,既可以继续恶化,也可以逆转成轻度病变甚至是正常上皮^[27]。事实上,我们在各级癌前病变组织中均观察到了某些病灶存在很强的免疫染

色,这些具有 Annexin II 蛋白表达的病灶或者是具有 Annexin II 蛋白高表达的病例有可能会逆转为较轻的病变或者退回到正常状态,但是 Annexin II 发挥抑制作用的具体途经和机制,仍需更进一步的研究证实。另外,Annexin II 蛋白的表达还与上皮细胞的分化密切相关,如在正常人表皮角质形成细胞原代培养中,通过增高钙离子浓度(1.5 mmol/L)进行诱导细胞分化,48 h 后可见到单层增殖细胞出现明显细胞分层,同时 Annexin II 和 K10 呈强阳性表达;在成人及新生儿的皮肤切片上也可观察到 Annexin II 蛋白的高度表达^[28]。本研究亦发现 Annexin II 蛋白的表达与鳞癌的分化呈负相关,但 Annexin II 蛋白高表达是否能抑制食管癌转移及与患者良好预后相关,仍需进一步研究证实。

本研究中令人感兴趣的是,随着癌前病变的进展,Annexin II 蛋白表达逐渐下降,但 CIS 是 Annexin II 蛋白表达的转折点;发展到 ESCC 时,Annexin II 蛋白的表达又稍微上升,随着鳞癌细胞失分化,其表达又逐渐降低,整个曲线呈倒“S”型。对于这点,我们的推测是:Annexin II 蛋白是人食管癌中与细胞生长和分化密切相关的指标之一,其蛋白表达与增殖细胞/分化细胞的比例呈负相关。癌前病变阶段,旺盛增殖的细胞与分化细胞比例增大,Annexin II 蛋白表达降低;从 CIS 到高分化 SCC,尽管发生了恶性转化的细胞增殖速度快于病变 CIS 阶段,但细胞仍具有一定的分化倾向,也就是说增殖细胞与分化细胞的比例较 CIS 阶段有所降低,因而 Annexin II 蛋白表达又稍上升;随着鳞癌细胞逐渐的失分化,增殖细胞与分化细胞的比例重新增大,导致了 Annexin II 蛋白表达降低。

运用 RT-PCR 技术,我们探讨了 Annexin II mRNA 转录水平变化,研究结果显示在癌及癌旁形态学正常食管上皮组织,并没有发现 Annexin II mRNA 表达差异;提示转录后调节可能是引起 Annexin II 蛋白高表达的原因之一。有可能是通过与 p11 构成四聚体,或者与高分子量的神经微丝蛋白、MAP-2 结合而增加了 Annexin II 蛋白的半寿期及稳定性。

长期以来,食管癌前病变的标本多来源于人群普查时胃食管内镜下活检组织,但其数量有限,不能满足研究所需。由于肿瘤的发生是多中心起源的,但各处病变并不同步,各个孤立病灶的病变

有可能经过癌前病变的各个阶段,即从 BCH 到 DYS 到 CIS,最终发展成癌。本研究室有关食管贲门双源癌的研究,即分别起源于食管的鳞状细胞癌和贲门的贲门腺癌,也支持肿瘤的多中心起源学说。因此,在食管鳞癌的癌旁组织,除了正常食管粘膜上皮之外,不难发现多个独立的癌前病变病灶,这些病灶拓宽了癌前病变标本的来源。将癌旁的食管上皮剥离后卷成席卷状,可以在一张切片观察更多的上皮组织,避免了连续切片,节省了大量成本及时间。

综上所述,Annexin II 是食管癌前病变中重要的分子变化之一,其表达的增强或降低可能与癌前病变逆转或进展有关,Annexin II 有可能成为食管癌早期诊断及高危人群筛查的分子标记物;Annexin II 蛋白与不同分化程度的食管鳞癌呈负相关表明它是反映分化程度的分子指标,可能与患者的预后及临床病理分级分期相关。

参考文献

- [1] 杜百廉. 食管癌 [M]. 北京:中国科学技术出版社,1994:36-38.
- [2] 王立东,王道存,郑树,等. 河南林州食管癌高发区食管癌和癌前病变患者血清蛋白质质谱 [J]. 癌症, 2006,25(5):549-555.
- [3] Qi Y, Chiu J F, Wang L, et al. Comparative proteomic analysis of esophageal squamous cell carcinoma [J]. Proteomics, 2005,5(11):2960-2971.
- [4] Emoto K, Sawada H, Yamada Y, et al. Annexin II overexpression is correlated with poor prognosis in human gastric carcinoma [J]. Anticancer Res, 2001,21(2B):1339-1345.
- [5] Wu W, Tang X, Hu W, et al. Identification and validation of metastasis-associated proteins in head and neck cancer cell lines by two-dimensional electrophoresis and mass spectrometry [J]. Clin Exp Metastasis, 2002,19(4):319-326.
- [6] Wang L D, Shi S T, Zhou Q, et al. Changes in p53 and cyclin D1 protein levels and cell proliferation in different stages of human esophageal and gastric-cardia carcinogenesis [J]. Int J Cancer, 1994,59(4):514-519.
- [7] Choi K S, Fitzpatrick S L, Filipenko N R, et al. Regulation of plasmin-dependent fibrin clot lysis by annexin II heterotetramer [J]. J Biol Chem, 2001,276(27):25212-25221.
- [8] Raynal P, Pollard H B. Annexin: the problem of assessing the biological role for a gene family of multifunctional calcium- and phospholipid-binding proteins [J]. Biochem Biophys Acta, 1994,1197(1):63-93.
- [9] Hajjar K A, Krishnan S. Annexin II: a mediator of the

- plasmin/plasminogen activator system [J]. Trends Cardiovasc Med, 1999,9(5):128-138.
- [10] Kang H M, Choi K S, Kassam G, et al. Role of annexin II tetramer in plasminogen activation [J]. Trends Cardiovasc Med, 1999,9(3-4):92-102.
- [11] Mai J, Waisman D M, Sloane B F. Cell surface complex of cathepsin B/annexin II tetramer in malignant progression [J]. Biochim Biophys Acta, 2000,1477(1-2):215-230.
- [12] Siever D A, Erickson H P. Extracellular annexin II [J]. Int J Biochem Cell Biol, 1997,29(11):1219-1223.
- [13] Frohlich M, Motte P, Galvin K, et al. Enhanced expression of the protein-kinase substrate p36 in human hepatocellular carcinoma [J]. Mol Cell Biol, 1990,10(6):3216-3223.
- [14] Vishwanatha J K, Chiang Y, Kumble K D, et al. Enhanced expression of annexin II in human pancreatic carcinoma cells and primary pancreatic cancers [J]. Carcinogenesis, 1993,14(12):2575-2579.
- [15] Keutzer J C, Hirschhorn R R. The growth-regulated gene 1B6 is identified as the heavy chain of calpactin I [J]. Exp Cell Res, 1990,188(1):153-159.
- [16] de la Monte S M, Bhavani K, Xu Y Y, et al. Modulation of p36 gene expression in human neuronal cells [J]. J Neurol Sci, 1995,128(2):122-133.
- [17] Cheney R E, Willard M B. Characterization of the interaction between calpactin I and fldrin (non-erythroid spectrin) [J]. J Biol Chem, 1989,264(30):18068-18075.
- [18] Roseman B J, Bollen A, Hsu J, et al. Annexin II marks astrocytic brain tumors of high histological grade [J]. Oncol Res, 1994,6(12):561-567.
- [19] Emoto K, Yamaka Y, Sawada H, et al. Annexin II overexpression correlates with stromal tenascin-C overexpression: a prognostic marker in colorectal carcinoma [J]. Cancer, 2001,92(6):1419-1426.
- [20] Reeves S A, Chave-Kappel C, Davis R, et al. Developmental regulation of annexin II in human brain and expression in high grade glioma [J]. Cancer Res, 1992,52(24):6871-6876.
- [21] Cole S P, Pinkoshi M J, Bhardwaj G, et al. Elevated expression of annexin II in a multidrug resistant small cell lung cancer cell line [J]. Br J Cancer, 1992,65(4):498-502.
- [22] Menell J S, Cesarman G M, Jacovina A T, et al. Annexin II and bleeding in acute promyelocytic leukemia [J]. N Engl J Med, 1999,340(13):994-1004.
- [23] 贾晋伟,钱桂生,黄桂君. Annexin II 基因反义表达载体对肺癌细胞生长的影响 [J]. 第三军医大学学报, 2004,26(18):1627-1630.
- [24] Chetcuti A, Margan S H, Russell P, et al. Loss of annexin II heavy and light chains in prostate cancer and its precursors [J]. Cancer Res, 2001,61(17):6331-6334.
- [25] 张 洵,支会英,王秀琴,等. 钙磷脂结合蛋白 II 在人食管鳞状细胞癌中的表达 [J]. 中华肿瘤杂志, 2003,25(4):353-355.
- [26] Gillette J M, Chan D C, Nielsen-Preiss S M. Annexin 2 expression is reduced in human osteosarcoma metastases [J]. J Cell Biochem, 2004,92(4):820-832.
- [27] 王国清,乔友林. 癌前病变研究—控制食管癌发展的关键 [J]. 肿瘤研究与临床, 2003,15(1):3-4.
- [28] 李习玲,连小华,张 诚,等. Annexin II 在人表皮角质形成细胞分化中的表达 [J]. 第四军医大学学报, 2004,25(21):1921-1924.

[编辑及校对:庄爱华]