

Pax8 在 330 例不同系统上皮及上皮源性肿瘤组织中的表达研究

宋 艳, 黄 璇, 刘秀云, 沈贵华, 张 询

(国家癌症中心/中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院, 北京 100021)

摘 要: [目的] 探讨 Pax8 蛋白在不同系统上皮和上皮源性肿瘤中的表达及其临床意义。[方法] 采用免疫组化及组织芯片的方法检测 Pax8 蛋白在不同系统上皮与上皮源性肿瘤中的表达。采用 SPSS17.0 统计软件进行统计学分析。[结果] Pax8 蛋白在各个系统中的表达差异具有统计学意义($P<0.001$)。正常组织中, Pax8 在内分泌系统、泌尿系统及女性生殖系统上皮中的表达较多, 阳性率分别是 40.0%、60.0% 和 76.9%。肿瘤组织中, Pax8 在肾细胞癌的阳性表达率为 65.2%, 甲状腺癌中的表达为 66.7%, 子宫内膜腺癌中的表达为 80.0%。在卵巢中, 92.8% 浆液性癌表达 Pax8, 卵巢子宫内膜样癌、透明细胞癌中 Pax8 的阳性表达率为 81.8% 和 82.3%。Pax8 在其他系统的上皮及其肿瘤中微弱表达或者不表达。[结论] Pax8 蛋白主要特异性表达在泌尿及苗勒氏起源器官的上皮及上皮源性肿瘤中, 在甲状腺也可见较强表达, 可用于常规病理诊断的鉴别诊断。

关键词: Pax8; 女性生殖系统; 泌尿系统; 免疫组化; 组织芯片

中图分类号: R73 文献标识码: A 文章编号: 1004-0242(2017)04-0297-05

doi: 10.11735/j.issn.1004-0242.2017.04.A011

Expression of Pax8 in Human Epithelial Cells and Carcinomas of Different Systems

SONG Yan, HUANG Xuan, LIU Xiu-yun, et al.

(National Cancer Center/Cancer Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100021, China)

Abstract: [Purpose] To investigate the expression and clinical significance of Pax8 protein in different types of human epithelial cells and carcinomas. [Methods] The expression of Pax8 protein in epithelial cells and tumors from 330 samples of different systems was detected by immunohistochemistry on tissue microarray. Statistical analysis was performed with SPSS17.0 software. [Results] The expression of Pax8 protein in various systems showed a certain degree of specificity ($P<0.001$). In normal tissues, there were more expression in the epithelial cells from endocrine system, urinary system and female reproductive system, with a positive rate of 40.0%, 60.0% and 76.9%, respectively. Among the tumors from different organs, the positive expression rate of Pax8 in renal cell carcinoma, thyroid carcinoma and endometrial adenocarcinoma was 65.2%, 66.7%, and 80.0%, respectively. The positive expression rates of Pax8 were 92.8%, 81.8% and 82.3% in serous carcinomas, endometrial carcinomas and clear cell carcinomas of the ovary, respectively. Pax8 was weakly expressed or not expressed in normal epithelial cells or carcinomas of other systems. [Conclusion] Pax8 protein is mainly expressed in epitheliums and epithelial tumors of urogenital and Mullerian origin; also strongly expressed in thyroid carcinoma, indicating that Pax8 might be used in the differential diagnosis of routine pathology.

Key words: Pax8; female reproductive system; urinary system; immunohistochemistry; tissue microarray

特异性强且敏感性高的组织特异性抗体对于鉴别肿瘤的起源起重要的作用, 目前此类抗体较少, 特别是在泌尿系统及女性生殖系统起源的上皮性肿瘤中, CK7、CK20 与 CA125、ER、PR、RCC 等抗体的组化应用虽然起到一定的作用, 但在其他系统的肿瘤

中也可检测到交叉的表达, 阻碍了其应用的范围。配对盒基因家族的发现, 弥补了这方面的空白。PAX 属于发育调控基因家族, 在胚胎发育过程中, 通过编码核转录因子, 达到促进组织增生, 抑制细胞凋亡及协调细胞特殊分化的作用, 对肾脏、苗勒氏器官及甲状腺等的发育起到关键的调节作用^[1,2]。

Pax 家族蛋白均含有 128 个氨基酸形成的高度

收稿日期: 2016-10-09; 修回日期: 2017-01-06

通讯作者: 张 询, E-mail: zhangxun7508@163.com

保守区域, 根据其结构的不同, 分为四亚类, 由 Pax1~Pax9 九个不同的亚型构成。Pax8 蛋白位于染色体 2q13 的基因编码, 由 450 个氨基酸组成^[2]。在胎儿发育期调控许多器官的形成, 对甲状腺、肾、部分中枢神经系统、内耳、眼、午非氏管和苗勒氏管器官的形成起关键作用, Pax8 的敲除可导致内膜缺失、子宫发育异常。胎儿出生后 Pax8 蛋白对维护细胞的正常功能也起重要作用^[3]。在以往的文献中, 已对 Pax8 在女性生殖系统及泌尿系统中的表达做过描述, 但其在其他系统正常上皮及相关肿瘤中少有文献报道。本文着重探讨 Pax8 蛋白在人体不同类型正常上皮及上皮性肿瘤中的表达, 并对其在病理诊断与鉴别诊断中的应用进行分析。

1 资料与方法

1.1 患者资料

随机选取中国医学科学院肿瘤医院病理科 2007 年 1 月至 2011 年 12 月手术标本 330 例, 其中上皮源性为主的肿瘤组织 255 例, 正常上皮组织 75 例, 来自不同的人体各个系统(乳腺、内分泌系统、女性生殖系统、泌尿系统、消化系统、呼吸系统、间皮及小涎腺组织)。

1.2 主要试剂和仪器

组织芯片的构建: 以 40 个位点为一芯片, 应用组织芯片机以 0.2cm 为间距共制备组织芯片 9 张。连续 4 μ m 切片, 用于检测 Pax8 蛋白(兔抗人 Pax8 多克隆抗体, 迈新)的表达以及 HE 染色。设立阴阳性对照, 采用 SP 三步法对组织进行标记。Pax8 抗体定位于核, 按阳性细胞百分率并结合染色强弱综合评定, >10%肿瘤细胞着色为阳性; 无肿瘤细胞着色和 $\leq$ 10%肿瘤细胞着色为阴性; 阳性细胞 $\leq$ 10%, 无论强度如何, 均记为阴性。

1.3 统计学处理

根据组织来源的不同, 分为乳腺组、内分泌系统组、女性生殖系统组、小涎腺组、泌尿系统组、消化道组、呼吸系统组、间皮组。采用 SPSS17.0 进行统计学分析。Pax8 在不同组间的表达差异比较采用卡方检验。P<0.05 被认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Pax8 在不同类型正常组织中的表达

Pax8 蛋白在各个系统器官中的表达呈现差异性($\chi^2=35.442, P<0.001$)(Table 1)。在内分泌系统、泌尿系统及女性生殖系统中的表达较多, 阳性率分别是 40.0%、60.0%和 76.9%。在内分泌系统中, 主要集中在甲状腺中表达。在女性生殖系统中, 主要集中在腺性上皮中表达。在甲状腺滤泡(Figure 1A、B)、肾小管上皮(Figure 1C、D)、苗勒上皮(子宫内膜、宫颈、输卵管细胞)(Figure 1G、H)中 Pax8 呈弥漫强阳性着色。在苗勒系统及泌尿系统内被覆鳞状上皮的器官(输尿管、膀胱、食管和宫颈)内, 未观察到其着色或仅部分区灶状着色。Pax8 其他系统的上皮中微弱表达或者不表达。

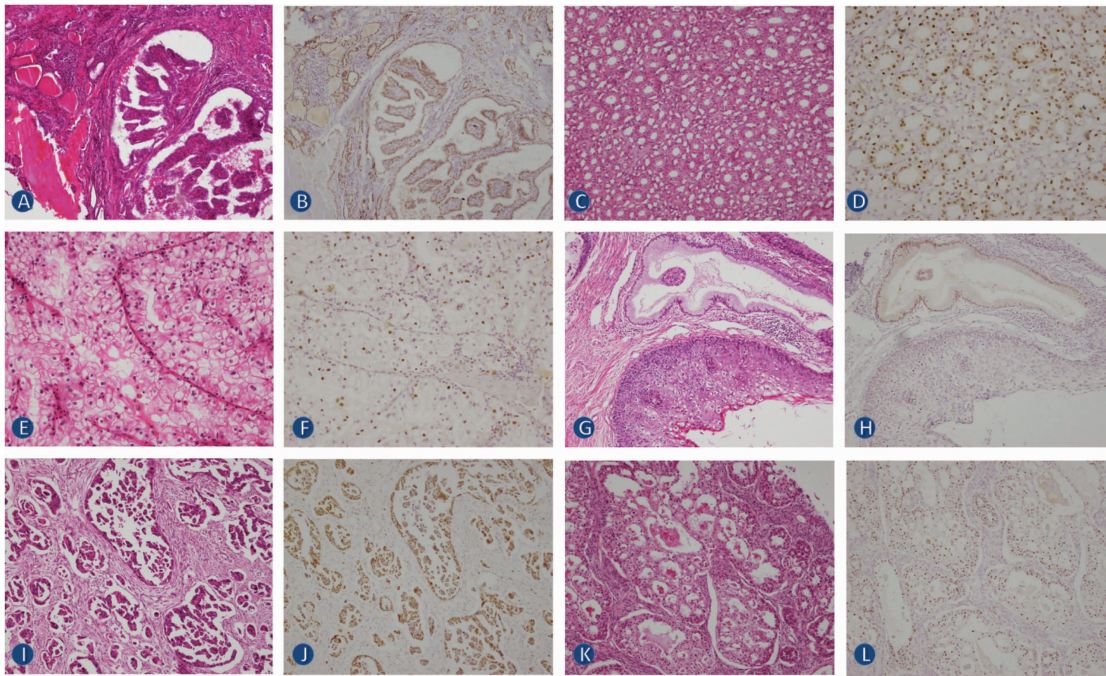
2.2 Pax8 在不同系统肿瘤中的表达

Pax8 蛋白在各个系统来源肿瘤中的表达具有显著差异性($\chi^2=108.48, P<0.001$)(Table 2)。Pax8 主要在甲状腺、肾脏和苗勒氏起源器官的上皮源性肿瘤中阳性表达。Pax8 在肾细胞癌的阳性表达率为

Table 1 Expression of Pax8 in normal epitheliums from different organs

Systems	Original organs	Pax8		Positive rate (%)
		Negative	Positive	
Breast	Breast	5	0	0
Endocrine system	Adrenal gland	2	0	
	Parathyroid	1	0	
	Thyroid	0	2	
		3	10	76.9
FRS*	Cervical epithelium	0	2	
	Endometrial epithelium	0	5	
	Ovary	3	0	
	Fallopian tubes	0	3	
SSG*	Parotid gland	3	0	0
Urinary system	Kidney	2	3	60.0
Digestive system		37	3	7.5
	Appendix	3	0	
	Cardia	5	0	
	Colon	6	1	
	Duodenum	5	1	
	Esophagus	5	0	
	Gallbladder	1	0	
	Liver	5	0	
	Pancreas	3	1	
	Rectum	4	0	
		4	0	
Lung	Lung	4	0	0

Note: *FRS: female reproductive system; SSG: small salivary gland.



Note: A: thyroid papillary carcinoma and surrounding normal tissue (HE ×200); B: positive expression of Pax8 in papillary thyroid carcinoma and surrounding normal tissue; C: renal tubular epithelial cells (HE ×200); D: Pax8 in renal tubular epithelial cells (HE ×100); E: renal clear cell carcinoma (HE ×100); F: positive expression of Pax8 in renal clear cell carcinoma; G: HSIL and cervical epithelium (HE ×100); H: positive expression of Pax8 in cervical glands and negative expression in HSIL (HE ×100); I: ovarian serous carcinoma; J: positive expression of Pax8 in serous carcinoma; K: clear cell ovarian cancer (HE ×100); L: positive expression of Pax8 in ovarian clear cell carcinoma.

Figure 1 Pax8 expression in different tissues and tumors

65.2% (Figure 1E, F), 甲状腺癌中的表达为66.7% (Figure 1A, B), 子宫内膜腺癌表达为80.0%。在卵巢中, 92.8%浆液性癌表达 Pax8 (Figure 1I, J)。此外, 子宫内膜样癌、透明细胞癌中 Pax8 的阳性表达率为81.8%和82.3% (Figure 1K, L)。Pax8 在2例宫颈腺癌均呈阳性, 5例宫颈鳞状细胞癌有1例表达, 且只显示弱到灶状阳性。卵巢黏液性囊腺癌 Pax8 表达比例仅为30.0%, 远低于其他类型的卵巢黏液性癌。从十二指肠、直肠起源的原发性胃肠道黏液性癌均未检测到 Pax8 的表达。

其他系统上皮源性肿瘤, 只有2例局灶性表达 Pax8 (Table 2), 包括1例结肠腺癌及1例肝细胞癌。从肺、乳腺、食管、胃起源的肿瘤及肺和卵巢起源的小细胞癌, Pax8 均为阴性。

2.3 Pax8 在正常组织及肿瘤组织中的表达

Pax8 主要集中在甲状腺、肾脏和女性生殖系统上皮及上皮源性肿瘤中阳性表达。在同一系统的正常与肿瘤组织中的表达对比未见明显的统计学差异

(甲状腺: $\chi^2=1.52$, $P=0.46$; 女性生殖系统: $\chi^2=108.48$, $P=0.26$; 肾脏: 0.080 , $P=0.77$)。

3 讨论

Pax 基因是生长发育调控基因家族, 其编码产物作为核转录因子, 调控哺乳动物各器官的发育。根据它们的 DNA 结合特异性的序列相似性的基础上成对的域, 以及存在或不存在其他的序列基序, Pax 蛋白已被分为4个亚组, 本文涉及的 Pax8 属于第二亚组。Pax8 位于2q13, 其编码蛋白质由450个氨基酸构成, 根据其选择性剪接产物及末端区域的不同, Pax8 由9个亚型构成。胚胎发育过程中, Pax8 在甲状腺、肾脏、中枢神经的系统、内耳、眼睛、中肾及苗勒氏管起源的器官的发育中起着重要作用。Pax8 配合甲状腺转录因子1 (TTF-1) 和甲状腺转录因子-2 通过调节甲状腺球蛋白, 甲状腺过氧化物酶, 促进甲状腺素受体的表达, 诱导甲状腺激素的合成^[4]。在甲

Table 2 Expression of Pax8 in epithelial tumor from different organs

Tissue classification	Original organs	Tumor subtypes	Pax8		Positive rate (%)
			Positive	Negative	
Breast	Breast	Infiltrating ductal carcinoma	18	0	0
		Invasive lobular carcinoma	2	0	0
Endocrine system	Adrenal gland	Adrenal adenoma	2	0	0
		thyroid	1	0	0
		Sarcomatoid carcinoma	0	1	100.0
		Papillary carcinoma	4	9	69.2
FRS*	Cervix	Cervical adenocarcinoma	0	2	100.0
		Squamous cell carcinoma in situ	1	0	0
		Squamous cell carcinoma	4	1	25.0
	Endometrium	Endometrial carcinoma	1	4	80.0
		Ovary	3	14	82.3
	Ovary	Clear cell carcinoma	3	14	82.3
		Borderline serous cystadenoma	2	2	50.0
		Brenner tumor	0	1	100.0
		Dysgerminoma	2	0	0
		Granulosa cell tumor	3	0	0
		Transitional cell carcinoma	1	0	0
		Mucinous adenocarcinoma	14	6	30.0
		Serous carcinoma	2	26	92.8
		Endometrial carcinoma	2	9	81.8
		Yolk sac tumor	2	0	0
		Small cell carcinoma	1	0	0
		Adenoid cystic carcinoma	1	0	0
SSG*	Parotid gland	Ductal carcinoma	1	0	0
		Myoepithelial carcinoma	2	0	0
		Adenocarcinoma	1	1	50.0
Urinary system	Bladder	Transitional cell carcinoma	1	2	66.7
		Adenocarcinoma	1	1	50.0
	Kidney	Clear cell carcinoma	5	11	68.8
		Granulosa cell carcinoma	2	1	33.3
Digestive system	Cardia	Papillary carcinoma	1	3	75.0
		Adenocarcinoma	3	0	0
		Colon	9	1	9
	Colon	Mucinous adenocarcinoma	2	0	0
		Carcinoid	1	0	0
		Mucinous adenocarcinoma	1	0	0
	Duodenum	Adenocarcinoma	3	0	0
	Esophagus	Small cell carcinoma	3	0	0
		Squamous carcinoma	11	0	0
		Hepatocellular carcinoma	11	1	9.0
	Liver	Cholangiocarcinoma	6	0	0
		Adenocarcinoma	2	0	0
	Rectum	Squamous cell carcinoma	3	0	0
		Adenocarcinoma	5	0	0
Respiratory system	Stomach	Adenocarcinoma	5	0	0
		Small cell carcinoma	7	0	0
		Squamous cell carcinoma	3	0	0
	Lung	Mesothelioma	6	0	0
Mesothelium	Mesothelioma	Mesothelioma	6	0	0

Note: *FRS;female reproductive system;SSG;small salivary gland;All the tumors in above tables were epithelial tumor except Yolk sac tumor,dysgerminoma,Granulosa cell tumor of ovary.

状腺肿瘤中频繁表达,文献报道中,在滤泡腺瘤其阳性范围从 33%至 100%,滤泡状癌为 38%~100%,乳头状癌 31%~100%,间变性中的表达 10%~80%^[5,6]。在本组 Pax8 的标记中,甲状腺乳头状癌的标记为 69.2%,1 例甲状腺肉瘤样癌呈弥漫的强阳性表达,与以往的报道高度一致,可在病理诊断中辅助鉴别甲状腺起源的诊断。

Pax8 基因突变可导致明显的肾畸形,而 Pax8 基因敲除小鼠没有明显的肾脏异常,可能是由于 Pax2 的协同作用有关。Pax2 和 Pax8 的双突变可导致肾脏的形成障碍^[7]。文献报道中,在肾细胞癌中,透明细胞癌中 Pax8 阳性报道的百分比范围为 91%~98%,乳头状癌中阳性比例为 71%~100%,嫌色细胞癌中为 57%~88%^[8,9]。本组样本中,透明细胞癌、乳头状癌及嫌色细胞癌的比例分别为 68%、75%和 33%,略低于文献报道的比例。

Pax8 被认为是对苗勒系统器官发生的关键转录因子,在小鼠中 Pax8 基因缺失导致缺乏功能性子宫或者子宫内膜和肌层组织的发育不良、阴道的闭锁等,但输卵管、子宫颈和阴道的上部不会受到影响,从而表明其他转录因子,如 Pax2 起到一定的代偿作用^[10]。在本次入组的 13 例女性生殖系统正常上皮细胞中,在宫颈和子宫内膜上皮细胞、输卵管的非纤毛上皮细胞中均观察到 Pax8 的强阳性表达。Pax8 在卵巢表面上皮细胞表达特点,各文献报道一直不太一致。部分研究中,卵巢表面上皮中未观察到 Pax8 的表达,而另一些作者观察到卵巢上皮内可以局灶性表达 Pax8 的表达,在本研究中,3 例卵巢上皮中未观察到 Pax8 的表达,但由于例数太少,具体的定论尚需进一步的研究。Pax8 表达于绝大多数的卵巢非黏液癌,在目前发表的文献中,浆液性癌、子宫内膜癌以及透明细胞癌和移行细胞癌中可以检测到 Pax8 的较强表达。本组浆液性癌的表达比例为 92.8%,子宫内膜样、透明细胞癌中 Pax8 的阳性表达率为 81.8%和 82.3%。文献报道中,浆液性癌的表达比率为 79%~100%,子宫内膜癌的表达比率为 38%~92%,透明细胞癌的表达比率为 76%~100%^[11-13],与本组报道比例相似。相比较其他类型而言,黏液性癌的表达较弱,仅在 20%~30%的病例中观察到其表达,且为灶状弱阳性着色^[11-13],在本组研究中,黏液性癌的表达比率为 30%,与文献报道的高度一致。在

以往的文献报道中,仅有 7 例小细胞癌的报道,均为阴性表达 Pax8^[14]。在本研究涉及的小细胞癌中,无论其起源部位(卵巢及肺、食管),均未观察到 Pax8 的阳性表达。

综上所述,Pax8 在甲状腺、肾、女性生殖道上皮表达,特异性较高,在今后的临床工作中可以协助在这些肿瘤鉴别的病理诊断。

参考文献:

- [1] Lang D, Powell SK, Plummer RS, et al. PAX genes: roles in development, pathophysiology and cancer[J]. *Biochem Pharmacol*, 2007, 73(1): 1-14.
- [2] Bouchard M, de Caprona D, Busslinger M, et al. Pax2 and Pax8 cooperate in mouse inner ear morphogenesis and innervations[J]. *BMC Dev Biol*, 2010, 10: 89.
- [3] Mittag J, Winterhager E, Bauer K, et al. Congenital hypothyroid female Pax8-deficient mice are infertile despite thyroid hormone replacement therapy[J]. *Endocrinology*, 2007, 148(2): 719-725.
- [4] Nonaka D, Tang Y, Chiriboga L, et al. Diagnostic utility of thyroid transcription factor Pax8 and TTF-2 (FOXE1) in thyroid epithelial neoplasms[J]. *Mod Pathol*, 2008, 21(2): 192-200.
- [5] Tacha D, Zhou D, Cheng L. Expression of Pax8 in normal and neoplastic tissues: a comprehensive immunohistochemical study[J]. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2011, 19(4): 293-299.
- [6] Rivera M, Sang C, Gerhard R, et al. Anaplastic thyroid carcinoma: morphologic findings and PAX-8 expression in cytology specimens[J]. *Acta Cytol*, 2010, 54(5): 668-672.
- [7] Blake JA, Ziman MR. Pax genes: regulators of lineage specification and progenitor cell maintenance[J]. *Development*, 2014, 141(4): 737-751.
- [8] Ozcan A, Shen SS, Hamilton C, et al. PAX 8 expression in non-neoplastic tissues, primary tumors, and metastatic tumors: a comprehensive immunohistochemical study[J]. *Mod Pathol*, 2011, 24(6): 751-764.
- [9] Tong GX, Yu WM, Beaubier NT, et al. Expression of Pax8 in normal and neoplastic renal tissues: an immunohistochemical study[J]. *Mod Pathol*, 2009, 22(9): 1218-1227.
- [10] Ozcan A, Liles N, Coffey D, et al. PAX2 and Pax8 expression in primary and metastatic Mullerian epithelial tumors: a comprehensive comparison [J]. *Am J Surg Pathol*, 2011, 35(12): 1837-1847.
- [11] Kobel M, Kalloger SE, Boyd N, et al. Ovarian carcinoma subtypes are different diseases: implications for biomarker studies[J]. *PLoS Med*, 2008, 5(12): e232.
- [12] Zhang P, Zuo H, Nakamura Y, et al. Immunohistochemical analysis of thyroid-specific transcription factors in thyroid tumors[J]. *Pathol Int*, 2006, 56(5): 240-245.
- [13] Wang M, Ma H, Pan Y, et al. PAX2 and Pax8 reliably distinguishes ovarian serous tumors from mucinous tumors[J]. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2015, 23(4): 280-287.
- [14] Laury AR, Perets R, Piao H, et al. A comprehensive analysis of Pax8 expression in human epithelial tumors[J]. *Am J Surg Pathol*, 2011, 35(6): 816-826.