

己糖激酶 1 在食管鳞癌中的表达及其临床价值

张 康,张广敬,姜美玲,张鲁昌

(济宁市第一人民医院,山东 济宁 272001)

摘 要:[目的] 研究己糖激酶 1(HXK1)在食管鳞癌中的表达及临床价值。[方法] 应用组织芯片和免疫组织化学技术检测 132 例食管鳞癌组织中 HXK1 的表达,并分析其阳性表达与临床病理参数以及预后之间的关系。[结果] HXK1 在食管鳞癌组织中的阳性表达率为 71.2%(94/132),统计学分析显示 HXK1 的表达在有无淋巴结转移($P=0.01$),不同 TNM 分期($P=0.001$)以及不同组织分化程度($P=0.033$)下差异有统计学意义。生存分析显示 HXK1 阳性表达患者预后劣于 HXK1 阴性表达患者($P<0.001$),且是评估食管癌患者的独立预后因素之一。[结论] HXK1 可能在食管鳞癌的发生和发展过程中发挥了重要作用,是评估食管癌患者预后的重要指标之一。

主题词:食管肿瘤;鳞癌;己糖激酶 1(HXK1);免疫组织化学;组织芯片

中图分类号:R735.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1671-170X(2014)10-0819-04

doi:10.11735/j.issn.1671-170X.2014.10.B008

Expression of Hexokinase 1 (HXK1) in Esophageal Squamous Cell Cancer and Its Clinical Significance

ZHANG Kang,ZHANG Guang-Jing,JIANG Mei-ling,et al.

(The First People's Hospital of Jining City,Jining 272001,China)

Abstract:[Purpose] To investigate the expression of hexokinase 1(HXK1) in esophageal squamous cell cancer (ESCC) and its clinical significance.[Methods] Expression of HXK1 in 132 cases with ESCC were detected by tissue microarray and immunohistochemistry. The relationship of positive expression of HXK1 with clinicopathologic characteristics and prognosis was analyzed.[Results] The positive expression rate of HXK1 was 71.2% in ESCC. The expression of HXK1 was significantly different in patients with or without lymph metastasis ($P=0.01$),and in patients with different TNM stages($P=0.001$) or with different grades($P=0.033$). Kaplan-Meier survival analysis showed that patients with HXK1 positive expression had a shorter survival than that with HXK1 negative expression($P<0.001$). [Conclusion] HXK1 might play an important role in carcinogenesis of ESCC,and might be one of the markers for evaluating prognosis of ESCC.

Subject words:esophageal neoplasms;squamous cell cancer;hexokinase 1(HXK1);immunohistochemistry;tissue microarray

目前,晚期食管癌患者的 5 年生存率不到 20%^[1,2]。糖代谢异常是恶性肿瘤的重要特征之一,阐明其作用机理并寻找潜在的相关治疗靶点,有助于改善食管癌患者的生活质量和延长其生存期。己糖激酶 1(hexokinase 1,HXK1)是糖代谢中的一个关键酶^[3,4],本研究旨在探讨 HXK1 在食管鳞癌组织中的表达

变化及其与临床病理特点以及预后之间的关系。

1 资料与方法

1.1 组织标本

收集 2002~2005 年济宁市第一人民医院病理科存档的 132 例食管鳞癌石蜡标本。男性 80 例,女性 52 例。60 岁及 60 岁以下 61 例,60 岁以上 71 例,平均年龄 60.5 岁(Table 1)。所有患者未接受过术前放

通讯作者:张广敬,副主任医师,学士;山东省济宁市第一人民医院胸外科微创病区,山东省济宁市市中区健康路 6 号(272001);
E-mail:zgj68@sina.com

收稿日期:2014-07-10;**修回日期:**2014-08-21

Table 1 Relationship between HXK1 expression and characteristics of esophageal cancer

Variables	N	Expression of HXK1		P
		Positive case	Positive rate(%)	
Age(years old)				
≤60	61	38	62.3	0.036
>60	71	56	78.9	
Gender				
Male	80	61	76.2	0.113
Female	52	33	63.5	
Tumor size(cm)				
≤6	102	69	67.6	0.095
>6	30	25	83.3	
T stage				
T ₁ +T ₂	46	28	60.9	0.055
T ₃ +T ₄	86	66	76.7	
Lymph metastasis				
-	44	25	56.8	0.01
+	88	69	78.4	
Differentiation				
High/moderate	82	53	64.6	0.033
Poor/undifferentiated	50	41	82.0	
TNM stage				
I / II	55	31	56.4	0.001
III / IV	77	63	81.8	

化疗,术后均接受常规放化疗,并获得知情同意书。病理诊断结果经两名以上病理医师确认。

1.2 组织芯片构建

首先根据 HE 切片选取富含肿瘤组织的存档蜡块,并依据 HE 切片确定具有代表性的病变部位。然后应用组织芯片构建仪 (Beecher Instruments,Silver Spring,MD)制备组织芯片。每个病例肿瘤组织取 2 块,部分病例含有 1 个癌旁组织。

1.3 方 法

抗体来源:HXK1 (ImmunoWay;YT2265;稀释比例:1:100)。SP 免疫组化试剂盒购自福州迈新公司。免疫组化技术采用 SP 法,PBS 替代一抗作阴性对照。

1.4 结果判断

HXK1 阳性染色为淡黄色、棕黄色或棕褐色,定位于细胞浆。采用二级计分法,阳性细胞计数:根据阳性细胞所占 5 个以上高倍镜视野比例计数分为 4 类:5%~25%:1 分;25%~50%:2 分;50%~75%:3 分;>75%:4 分。染色强度分类:淡黄色,1 分;黄或深黄色,2 分;褐或棕褐色,3 分。两者计分相乘大于 1 为阳性。

1.5 统计学处理

采用 SPSS16.0 软件进行统计学分析,计数资料采用卡方检验;生存分析采用 Kaplan-Meier 和 COX 多元回归分析。

2 结 果

2.1 HXK1 在食管癌组织中的表达

构建了含有 132 例食管鳞癌的组织芯片。免疫组化显示 HXK1 定位于细胞浆,癌旁组织不着色或呈微弱染色,肿瘤组织中 HXK1 表达呈淡黄至棕黄、棕褐色,弥漫或片状染色 (Figure 1)。HXK1 在肿瘤中的表达率为 71.2% (94/132)。

2.2 HXK1 与临床病理参数间的关系

HXK1 的表达在不同性别、肿瘤大小和浸润深度等时差异无统计学意义,而其表达在不同年龄 ($P=0.036$)、不同组织分化程度 ($P=0.033$)、不同 TNM

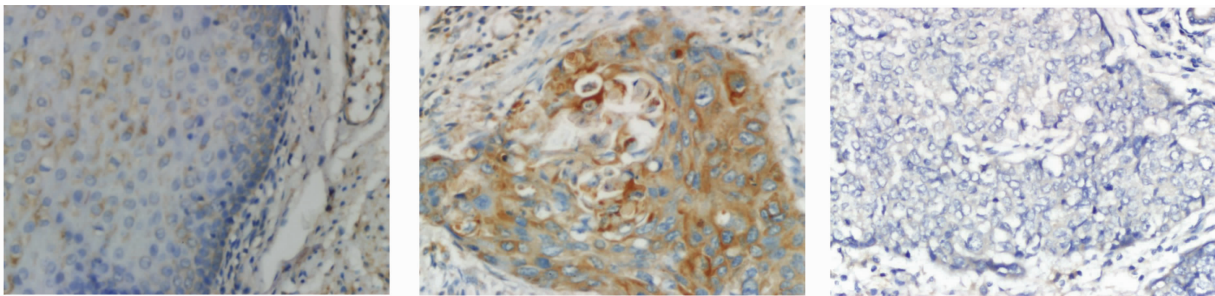


Figure 1 Expression of HXK1 in esophageal cancer(IHC×400)

分期($P=0.001$)及有无淋巴结转移($P=0.01$)时差异有统计学意义(Table 1)。

2.3 生存分析

单因素分析发现 HXK1 阳性患者的中位生存期(MST)为 19.5 个月,阴性患者为 94.4 个月, $\chi^2=25.368$, $P<0.001$ (Figure 2)。多因素回归分析也显示 HXK1 是评估食管鳞癌患者预后的独立因素(Table 2)。

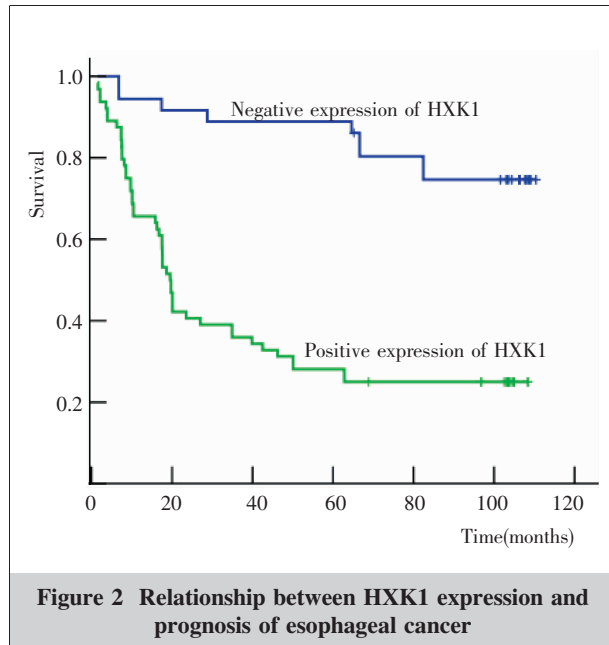


Table 2 Univariate and multivariate analysis of variables associated with survival in esophageal cancer patients

Variables	N	MST (months)	P (univariate)	P (multivariate)	HR	95% CI
Tumor size(cm)						
≤6	102	82.4	0.009	0.528	0.818	0.438~1.527
>6	30	18.6				
Tumor stage						
T ₁ +T ₂	46	86.7	<0.001	0.571	0.760	0.293~1.967
T ₃ +T ₄	86	19.7				
Lymph metastasis						
-	44	84.1	<0.001	0.887	1.071	0.419~2.733
+	88	19.5				
Differentiation						
High/moderate	82	70.9	<0.001	0.646	0.872	0.487~1.563
Poor/undifferentiated	50	17.5				
TNM stage						
I + II	55	89.5	<0.001	0.012	0.221	0.068~0.715
III + IV	77	17.5				
HXK1 expression						
Negative	38	94.4	<0.001	<0.001	0.206	0.097~0.440
Positive	94	19.5				

3 讨论

食管癌是人类最常见的恶性肿瘤之一。近年来,食管癌的发病率和死亡率有逐年增高的趋势。然而,由于食管癌的高侵袭性和高转移性以及治疗手段有限,食管癌患者的5年生存率徘徊在20%。因此,探索食管癌发生发展机制,寻找判断食管癌预后的有效分子标志物,是目前的研究热点和难点。己糖激酶是糖酵解中的关键酶之一,有多个同工酶,其中HXK1和HXK2的研究较为深入^[5]。最近研究显示HXK2在肿瘤的发生发展过程中起了一定作用^[6],然而,HXK1在肿瘤中的表达情况研究甚少。本研究系统性研究了HXK1蛋白在食管鳞癌中的表达情况,对其与患者的临床病理参数及预后关系进行了分析。

研究结果显示食管鳞状上皮组织中HXK1不表达或者呈微弱表达,而癌组织中呈中度阳性或者强阳性,提示HXK1与肿瘤的发生具有相关性。肿瘤组织去分化是恶性肿瘤包括食管癌的主要特征之一。本研究显示高/中分化组织中HXK1的表达率为64.6%,显著低于低/未分化组织中HXK1的表达率82.00%,进一步提示了HXK1与食管癌发生发展的相关性。此外,HXK1在有淋巴结转移的病例中的表

达率为78.4%,明显高于没有转移病例的56.8%;进展期病例中HXK1的表达率高达81.8%,而早期病例中的表达仅为56.4%,该研究结果表明HXK1与食管癌的进展高度相关。总之,上述数据显示HXK1与食管癌发生发展相关。

影响食管癌患者预后的因素很多,包括临床因素、病理学因素以及分子生物学因素。目前研究的最多的临床病理学因素,即TNM分期和淋巴结转移是判断食管癌患者预后的重要依据。近年来,随着分子生物学技术的进步,

研究显示分子生物学因素在临床工作中对于指导治疗和判断预后也具有极其重要的作用。譬如 IL-6 和 PI3KCA 等^[7-9]。Chen 等^[7]分析了 173 例食管鳞癌患者中 IL-6 的表达,结果显示 IL-6 在食管癌中表达升高,且与远处转移和低治疗反应率有关,而且 IL-6 的表达与不良预后相关。Shigaki 等^[9]检测了 219 例根治性切除食管鳞癌标本中 PIK3CA 外显子 9 和 20 的突变情况,发现其突变率为 21%,进一步分析发现具有 PIK3CA 突变者预后较好。本研究的生存分析显示 HXK1 阳性表达者的中位生存时间仅为 19.5 个月,明显短于 HXK1 阴性表达者的 94.4 个月,同时多因素生存分析显示,同 TNM 分期一样, HXK1 也是判断食管癌患者预后的独立因素。因此,我们的研究初步表明 HXK1 阳性表达是影响食管鳞癌患者不良预后的重要因素,但还需要大规模样本加以验证。

综上所述, HXK1 在食管癌的发生发展中可能起到重要的作用,有可能成为食管癌治疗和评判预后的潜在靶点。

参考文献:

- [1] Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics [J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61(2):69-90.
- [2] Zhang Y. Epidemiology of esophageal cancer [J]. World J Gastroenterol, 2013, 19(34):5598-5606.
- [3] Rao KH, Ghosh S, Natarajan K, et al. N-acetylglucosamine kinase, HXK1 is involved in morphogenetic transition and metabolic gene expression in *Candida albicans* [J]. PLoS One, 2013, 8(1):e53638.
- [4] Cho YH, Yoo SD, Sheen J. Regulatory functions of nuclear hexokinase1 complex in glucose signaling [J]. Cell, 2006, 127(3):579-589.
- [5] Rodriguez A, De La Cera T, Herrero P, et al. The hexokinase 2 protein regulates the expression of the GLK1, HXK1 and HXK2 genes of *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Biochem J, 2001, 355(Pt 3):625-631.
- [6] Patra KC, Wang Q, Bhaskar PT, et al. Hexokinase 2 is required for tumor initiation and maintenance and its systemic deletion is therapeutic in mouse models of cancer [J]. Cancer Cell, 2013, 24(2):213-228.
- [7] Chen MF, Chen PT, et al. IL-6 expression predicts treatment response and outcome in squamous cell carcinoma of the esophagus [J]. Mol Cancer, 2013, 12:26.
- [8] Yoneda M, Fujiwara H, Furutani A, et al. Prognostic impact of tumor IL-6 expression after preoperative chemoradiotherapy in patients with advanced esophageal squamous cell carcinoma [J]. Anticancer Res, 2013, 33(6):2699-2705.
- [9] Shigaki H, Baba Y, Watanabe M, et al. PIK3CA mutation is associated with a favorable prognosis among patients with curatively resected esophageal squamous cell carcinoma [J]. Clin Cancer Res, 2013, 19(9):2451-2459.

《中国肿瘤》杂志、《肿瘤学杂志》联合征订征稿启事

《中国肿瘤》杂志由卫生部主管,中国医学科学院、全国肿瘤防治研究办公室主办,中国肿瘤医学综合类科技月刊 (ISSN 1004-0242 CN 11-2859/R), 大 16 开, 80 页, 单价 8 元, 全年 96 元, 邮发代号:32-100。以交流肿瘤防治经验,推广肿瘤科技成果,促进肿瘤控制事业的发展为宗旨。郑树森院士、郝希山院士、陈君石院士、曹雪涛院士出任编委。办刊 20 余年,紧扣肿瘤控制主题,尤其在肿瘤预防、流行病学方面独树一帜。每期刊出相应专题报道,配有病情监测、医院管理、研究进展、学术论著等栏目。已成为社会各方了解我国肿瘤防控工作进展和动态的重要论坛。中国科技核心期刊

《肿瘤学杂志》为面向全国的肿瘤学术类科技月刊 (ISSN 1671-170X CN 33-1266/R), 大 16 开, 80 页, 单价 8 元, 全年 96 元, 邮发代号:32-37。由浙江省卫生和计划生育委员会主管,浙江省肿瘤医院和浙江省抗癌协会联合主办,报道我国肿瘤学术研究领域的新技术、新成果和新进展,刊登肿瘤临床与基础类学术论文,报道重点为常见恶性肿瘤诊治研究,指导临床实践和科研。公平、公正,择优录用稿件,好稿快发。中国科技核心期刊

读者可在当地邮局订阅,漏订者可向编辑部补订。

地址:浙江省杭州市半山桥广济路 38 号 (310022)

咨询电话和传真: 0571-88122280