

引用本文:吴芸,张贵.碳酸酐酶IX蛋白在鼻咽癌组织中的表达及其与预后的关系[J].安徽医药,2022,26(5):1016-1019.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2022.05.039.



◇临床医学◇

碳酸酐酶IX蛋白在鼻咽癌组织中的表达及其与预后的关系

吴芸¹,张贵²

作者单位:¹泰州市人民医院耳鼻喉头颈外科,江苏 泰州 225300;

²南阳市中心医院耳鼻喉一病区,河南 南阳 473000

摘要: 目的 探讨碳酸酐酶IX(CAIX)在鼻咽癌组织中的表达及与预后的关系。方法 选取2013年1月至2015年1月泰州市人民医院保存的鼻咽癌组织标本122例,同时选取慢性鼻咽炎性组织标本60例作为对照组,采用免疫组化染色法检测CAIX蛋白表达,随访病人无进展生存期。结果 鼻咽癌组CAIX蛋白阳性表达率为55.74%,明显高于慢性鼻咽炎性组的16.67%,差异有统计学意义($P<0.05$);CAIX蛋白表达与淋巴结转移有密切关联($P<0.05$),与病人年龄、性别、肿瘤长径、TNM分期、病理类型和关联性不大($P>0.05$);CAIX蛋白阳性表达组中位无进展生存期为46个月(95%CI:31.92~48.08),明显低于CAIX蛋白阴性表达组,差异有统计学意义($P<0.05$);COX回归分析结果显示,TNM分期、淋巴结转移和CAIX蛋白表达是鼻咽癌病人预后(无进展生存)的危险影响因素($HR=2.06, 1.65$ 和 $1.47, P<0.05$)。结论 鼻咽癌组织CAIX蛋白表达上调,与病人预后有关。

关键词: 鼻咽肿瘤; 碳酸酐酶IX; 预后; 临床病理特征

Expression of carbonic anhydrase IX protein in nasopharyngeal carcinoma and its relationship with prognosis

WU Yun¹,ZHANG Gui²

Author Affiliations:¹Department of Otolaryngology, Taizhou People's Hospital, Taizhou, Jiangsu 225300, China;

²Department of Otorhinolaryngology, Nanyang Central Hospital, Nanyang, Henan 473000, China

Abstract: **Objective** To investigate the expression of carbonic anhydrase IX (CAIX) in nasopharyngeal carcinoma and its relationship with prognosis.**Methods** One hundred and twenty-two specimens of nasopharyngeal carcinoma in Taizhou People's Hospital from January 2013 to January 2015 were selected, and 60 chronic nasopharyngeal inflammatory tissues were selected as control group, the expression of CAIX protein was detected by immunohistochemical staining, and the progression-free survival time of patients was followed up.**Results** The positive expression rate of CAIX protein in nasopharyngeal carcinoma group was 55.74%, which was significantly higher than that in chronic nasopharyngeal inflammatory group (16.67%) ($P<0.05$). The expression of CAIX protein was closely associated with lymph node metastasis ($P<0.05$), and not significantly correlated with age, sex, tumor diameter, TNM stage, pathological type and lymph node metastasis ($P>0.05$). The median progression-free survival of CAIX protein positive expression group was 46 months (95%CI:31.92-48.08), which was significantly lower than that of the CAIX protein expression negative group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). COX regression analysis showed that TNM stage, lymph node metastasis and CAIX protein expression was the prognosis of patients with nasopharyngeal carcinoma (progression-free survival) risk factors ($HR=2.06, 1.65$ and $1.47, P<0.05$).**Conclusion** Nasopharyngeal carcinoma tissue CAIX protein expression level is up-regulated, and related to the prognosis of patients.

Key words: Nasopharyngeal neoplasms; Carbonic anhydrase IX; Prognosis; Clinicopathological features

鼻咽癌在我国具有较高发病率,放化疗是针对中晚期鼻炎癌治疗的主要方法,但术后仍具有较多病人存在转移和复发的可能性,相关研究提示放化疗联合靶向药物治疗能够有助于提高病人的生存率并改善生活质量^[1]。文献提示实体肿瘤普遍存在乏氧,进而诱发生成肿瘤血管,促进肿瘤的发生、发展、转移及浸润^[2]。碳酸酐酶IX(carbonic anhydrase IX, CAIX)被证实与肿瘤乏氧细胞关系密切,而乏氧能够抗拒放疗,CAIX可在多种恶性肿瘤中过度表

达,进而影响肿瘤的进展和病人的预后^[3]。文献提示酶联免疫法检测鼻咽癌CAIX表达水平,发现其与肿瘤的预后具有相关性^[4],但鼻咽癌组织中的CAIX水平与肿瘤进展情况是否具有 consistency 还有待进一步研究证实。故而,本研究利用免疫组化染色法检测CAIX蛋白表达并探讨了其在鼻咽癌组织中的表达及与预后的关系,报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2013年1月至2015年1月泰

州市人民医院保存的鼻炎癌组织标本 122 例,男 77 例,女 45 例,≤45 岁 56 例,>45 岁 66 例。纳入标准:(1)均经病理学确诊;(2)术前未行放疗化疗等抗肿瘤治疗;(3)临床随访资料保存完整。排除标准:(1)合并有其他系统肿瘤;(2)合并有心脑血管疾病、肝肾功能障碍、免疫系统疾病等;(3)妊娠期或哺乳期妇女。同时选取慢性鼻咽炎性组织 60 例作为对照组,其中男 40 例,女 20 例,≤45 岁 25 例,>45 岁 35 例。两组一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。两组病人或其近亲属对所受检测知情同意,本研究符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》相关要求。

1.2 检测方法 采用免疫组化染色法检测 CAIX 蛋白表达,取适量鼻咽癌肿瘤组织,常规石蜡切片,脱蜡、水化后利用柠檬酸高压修复抗原过氧化氢(3%)阻断内源化过氧化物酶活性,鼠抗人 CAIX 一抗加入后反应过夜(4 °C),二抗 30 min 孵育(37 °C),DAB 显色,苏木精复染,PBS 代替一抗为阴性对照并设立阳性对照^[5]。

1.3 结果判断 以细胞膜或胞质出现黄色颗粒为阳性染色。(1)染色强度:无着色为 0 分,淡黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分。(2)阳性细胞比例:<10% 为 0 分,10%~<25% 为 1 分,25%~<50% 为 2 分,≥50% 为 3 分。(1)+(2)得分≥3 分为阳性表达^[6]。

1.4 统计学方法 使用 SPSS 22.0 进行研究资料分析。观测资料中的计量数据,均通过正态性检验,以 $\bar{x} \pm s$ 描述。两组间的比较为成组 t 检验或校正 t 检验。计数资料以例数及率描述,采用 χ^2 检验或校正 χ^2 检验。此外,生存等时间队列资料建立 Kaplan-Meier 乘积限生存曲线模型,组间生存率比较为 Logrank 检验。预后(无进展生存)影响因素的综合分析为 COX 比例风险回归,采用逐步后退法进行变量的选择和剔除。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 两组 CAIX 蛋白表达比较 鼻咽癌组 CAIX 蛋白阳性 68 例,表达率为 55.74%,明显高于慢性鼻咽炎性组的 10(16.67%)例,差异有统计学意义($\chi^2=25.07, P<0.05$)。

2.2 CAIX 蛋白表达与病人临床病理特征关系 CAIX 蛋白表达和淋巴结转移有密切关联($P<0.05$),与病人年龄、性别、肿瘤长径、TNM 分期、病理类型和淋巴结转移无显著关联($P>0.05$)。但 TNM 分期的 P 值较小($P=0.056$)见表 1。

2.3 CAIX 蛋白表达与无进展生存资料关系 术后所有病人均常规给予同步放疗化疗。CAIX 蛋白阳性

表 1 碳酸酐酶 IX (CAIX) 蛋白表达与病人临床病理特征关系/例(%)

临床病理特征	例数	CaIX 蛋白阳性表达	χ^2 值	P 值
年龄			0.08	0.773
≤45 岁	56	32(57.14)		
>45 岁	66	36(54.55)		
性别			0.17	0.683
男	77	44(57.14)		
女	45	24(53.33)		
肿瘤长径			0.24	0.622
≥5 cm	67	36(53.73)		
<5 cm	55	32(58.18)		
TNM 分期			3.65	0.056
I ~ II 期	65	31(47.69)		
III ~ IV 期	57	37(64.91)		
病理类型			1.92	0.166
泡状核细胞癌	66	33(50.00)		
未分化鳞癌	56	35(62.5)		
淋巴结转移			7.69	0.006
有	69	46(66.67)		
无	53	22(41.51)		

表达组无进展中位生存期为 46 个月(95%CI:36.7~55.2),明显低于 CAIX 蛋白阴性表达组的 60 个月(95%CI:48.3~72.9),经 Logrank 检验差异有统计学意义($\chi^2=5.41, P=0.020$),见图 1。

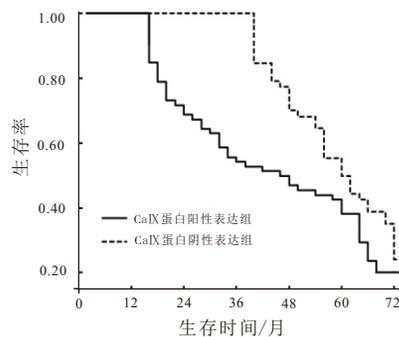


图 1 鼻咽癌组生存曲线图

2.4 鼻咽癌病人预后(无进展生存)影响因素的 COX 回归分析 建立 COX 比例风险回归模型,以本研究资料为样本,以预后状况(无进展生存)为应变量,赋值 1=有进展或死亡,0=无进展,t=无进展生存期。以 CAIX 蛋白表达及前述单因素分析(表 1)中 $P<0.10$ 的指标/因素为自变量。各变量赋值见表 2。回归过程采用逐步后退法,以进行自变量的选择和剔除,设定 $\alpha_{\text{剔除}}=0.10, \alpha_{\text{入选}}=0.05$ 。回归结果显示:TNM 分期(较高)、淋巴结转移和 CAIX 蛋白阳性表达是鼻咽癌病人预后(无进展生存)的危险影响因素($HR=2.06, 1.65$ 和 $1.47, P<0.05$)。

表2 鼻咽癌病人预后(无进展生存)影响因素的COX回归分析结果

因素	赋值说明	回归系数	标准误	Wald χ^2 值	P值	OR值	95%CI
TNM分期	1=III ~ IV, 0=I ~ II	0.722	0.211	11.77	0.000	2.059	1.363 ~ 3.111
淋巴结转移	1=有, 0=否	0.502	0.196	6.56	0.010	1.652	1.125 ~ 2.426
CaIX蛋白表达	1=阳性表达, 0=阴性表达	0.388	0.121	10.24	0.001	1.474	1.162 ~ 1.869

3 讨论

鼻咽癌致病因素较多,大部分病人确诊时已为晚期,因此,能够在早期进行准确诊断或抑制肿瘤细胞的转移对提高治疗效果和延长病人生存期具有重要临床意义^[7]。血清标志物的检测是肿瘤诊断的重要方法之一,因灵敏性高、操作简单方便等优点在临床应用广泛。碱性磷酸酶、乳酸脱氢酶及肿瘤坏死因子均是重要的鼻咽癌血清标志物,但上述多种标志物仅能对鼻咽癌的某一特性进行反映,无法反映鼻咽癌的总体情况^[8-9]。

CAIX是一类肿瘤相关抗原,亦是碳酸酐酶家族的重要成员,文献提示CAIX与表皮生长因子受体等肿瘤特异性转移和侵袭性蛋白表达呈正相关^[10]。本研究比较鼻咽癌组和慢性鼻咽炎性组CAIX蛋白表达发现鼻咽癌组CAIX蛋白阳性表达率明显高于慢性鼻咽炎性组;临床病理关系结果显示CAIX蛋白表达与病人年龄、性别、肿瘤长径、TNM分期、病理类型无明显关联关系。上述结果提示CAIX蛋白的编导可能与鼻咽癌的病情程度具有相关性。文献^[11-12]提示 β -catenin能与CAIX相互作用进而降低细胞黏附作用,而细胞黏附作用的不稳定及丧失与肿瘤的侵袭性关系密切,因此CAIX可能是通过介导细胞的黏附作用而促进肿瘤的进展、转移和复发。

CAIX蛋白表达与无进展生存期关系结果显示CAIX蛋白阳性表达组无进展生存期为46个月明显低于CAIX蛋白阴性表达组的60个月。上述结果提示鼻咽癌组织CAIX蛋白表达异常升高可导致鼻咽癌病人的预后恶化。有研究对头颈鳞癌病人的CAIX表达分析发现,阳性表达病人存在较大的肿瘤坏死范围,微血管密度和T分期也有升高或增强现象^[13],进而提示CAIX的过表达有利于肿瘤细胞的生存,能够在某种程度上提高肿瘤细胞抗拒化疗的能力,具有成为头颈肿瘤治疗重要靶点的潜力。相关研究将星形细胞瘤进行检测发现,近80%的细胞瘤存在CAIX阳性表达,该表达水平还与肿瘤分级存在关联性^[14-15],提示CAIX具有成为细胞瘤预后的重要预测因子。

COX回归分析研究中将上述病人临床病理特征、CAIX蛋白表达作为自变量,无进展生存期作为因变量进行COX回归分析,结果显示,TNM分期、淋巴结转移和CAIX蛋白表达是鼻咽癌病人预后(无进

展生存)的危险影响因素。上述结果提示鼻咽癌组织CAIX蛋白表达是病人预后和病情发展的重要因素。研究证实HIF-1 α 能够促进上皮-间质的转移和转化,进而调节肿瘤重要的介质TEIST的表达而加速肿瘤的转移,而CAIX作为HIF-1 α 下游的重要靶基因,其与HIF-1 α 的表达呈显著正相关,因而CAIX促进鼻咽癌肿瘤细胞的转移可能是通过介导HIF-1 α 的表达,进而调节鼻咽癌肿瘤敏感转移介质的表达而影响病人的预后^[16-18]。因此,临床可考虑CAIX为研究靶点对鼻咽癌的具体作用机制进行大样本量的深入分析以确证CAIX的具体作用机制,进而为临床鼻咽癌的早期诊断和预后提供新的思路。

参考文献

- [1] 江立基, 李先明. 碳酸酐酶IX在肿瘤中的研究进展[J]. 医学信息, 2018, 31(3):7-9.
- [2] 李蕊, 孙浩然, 王健, 等. 基于XED力场的碳酸酐酶IX抑制剂定量构效关系研究[J]. 中国药物化学杂志, 2019, 29(1):33-37.
- [3] 章萍萍, 黄文斌, 王晓蕾, 等. 膀胱尿路上皮癌中碳酸酐酶IX的表达及意义[J]. 临床与实验病理学杂志, 2018, 34(3):317-318.
- [4] 王琳, 张雅娟, 杨智钧, 等. 碳酸酐酶IX抗体修饰去甲斑蝥素纳米胶束的肺靶向性研究[J]. 中药药理与临床, 2017, 33(1):52-56.
- [5] 刘明, 郝庆彬, 王岩, 等. 鼻咽癌放疗患者负性情绪与心理弹性及自我效能的关系[J]. 癌症进展, 2017, 15(4):470-473.
- [6] BROCKTON NT, LOHAVANICHBUTR P, ENWERE EK, et al. Impact of tumoral carbonic anhydrase IX and Ki-67 expression on survival in oral squamous cell carcinoma patients [J]. *Oncology Letters*, 2017, 14(5):5434-5442.
- [7] 胡兵, 王鸿梅, 初建设. 微小RNA-375对鼻咽癌细胞侵袭迁移及JAK2/STAT3信号通路的影响[J]. 临床肿瘤学杂志, 2017, 22(8):678-682.
- [8] ANGELI A, TRALLORI E, CARTA F, et al. Heterocoumarins are selective carbonic anhydrase IX and XII inhibitors with cytotoxic effects against cancer cells lines [J]. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 2018, 9(9): 362.
- [9] CHO EJ, YU SJ, KIM K, et al. Carbonic anhydrase-IX inhibition enhances the efficacy of hexokinase II inhibitor for hepatocellular carcinoma in a murine model [J]. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, 2019, 51(2): 121-129.
- [10] 孙孝君. 早期护理干预对减轻鼻咽癌放射性口腔黏膜炎的效果观察[J]. 浙江医学, 2017, 39(8):655-657.
- [11] 董苗苗, 王芳, 孙国平. 吉西他滨联合顺铂与氟尿嘧啶联合顺铂方案治疗晚期鼻咽癌疗效和不良反应的Meta分析[J]. 安徽医药, 2017, 21(7):1325-1330.
- [12] AKIBA Y, KAUNITZ JD. Gastric carbonic anhydrase IX deficiency: at base, it is all about acid [J/OL]. *Acta Physiol (Oxf)*,

- 2018, 222(4):e13047. DOI: 10.1111/apha.13047.
- [13] 许益芬, 陈胜东, 王达飞, 等. 鼻咽癌根治性放疗后发生远处转移患者的预后及其影响因素分析[J]. 重庆医学, 2017, 46(36):5059-5061.
- [14] LOGOZZI M, CAPASSO C, DI RAIMO R, et al. Prostate cancer cells and exosomes in acidic condition show increased carbonic anhydrase IX expression and activity [J]. J Enzyme Inhib Med Chem, 2019, 34(1):272-278.
- [15] 陈少坚, 覃强, 赵淑芬. 鼻咽癌放疗患者心理及健康与应对方式的调查研究[J]. 河北医药, 2017, 39(1):57-59.
- [16] 王琳, 杨智钧, 徐秋萍. 碳酸酐酶IX抗体在制备抗肿瘤靶向制剂中的应用[J]. 中国医药工业杂志, 2017, 48(7):1035-1041.
- [17] 王亚波, 徐鸣, 张瑞敬, 等. GLUT-1和MCT-4与CAIX在喉鳞状细胞癌中的初步研究[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2017, 31(7):510-514, 519.
- [18] 李新, 刘薇, 牛冰, 等. CA IX在乳腺癌组织中的表达及其临床意义[J]. 中国现代医学杂志, 2018, 28(17):42-45.
- (收稿日期:2020-02-29, 修回日期:2020-03-27)

引用本文: 邓谷霖, 徐红冰. 反复肺部感染的X-连锁无丙种球蛋白血症诊疗与基因报告分析[J]. 安徽医药, 2022, 26(5):1019-1022. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6469.2022.05.040.



◇临床医学◇

反复肺部感染的X-连锁无丙种球蛋白血症诊疗与基因报告分析

邓谷霖^{1,2}, 徐红冰¹

作者单位:¹上海交通大学附属第一人民医院临床药学科, 上海 200080;

²西南医科大学附属中医医院静脉用药调配中心, 四川 泸州 646000

通信作者: 徐红冰, 女, 主任药师, 研究方向为临床药学, Email: 991317709@qq.com

摘要: 目的 提高医务人员对X-连锁无丙种球蛋白血症的认识, 防范此类病人可能并发的疾病, 指导对该类病人的防治宣教。方法 对2020年1月西南医科大学附属中医医院收治的1例长期反复呼吸道感染伴血清IgA、IgG、IgM明显降低的免疫缺陷青年病人采用芯片捕获高通量测序方法检测其全血, 并对其检测结果进行分析解读。结果 检测报告提示在受检者中检出Bruton酪氨酸激酶(BTK)基因的致病突变, 从而导致无丙种球蛋白血症, 为X染色体隐性遗传。结论 该病人长期反复呼吸道感染和免疫球蛋白低下与BTK基因致病突变有密切关系, 其相应核苷酸变化c.763C>T(p.Arg255Ter)为首次报道, 对其父母和子女都应进一步开展免疫功能筛查和生活宣教。

关键词: X连锁联合免疫缺陷疾病; 丙种球蛋白缺乏血症; X-连锁无丙种球蛋白血症; 免疫缺陷; 酪氨酸激酶基因

Analysis of the diagnosis and genetic report of a case of X-linked agammaglobulinemia with recurrent pulmonary infection

DENG Gulin^{1,2}, XU Hongbing¹

Author Affiliations:¹Department of Clinical Pharmacy, The First People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200080, China; ²Intravenous Drug Dispensing Center, The Affiliated Traditional Chinese Medicine Hospital of Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China

Abstract: **Objective** To improve medical staff's awareness of X-linked agammaglobulinemia (XLA), prevent possible complications of such patients, and guide the prevention and education of such patients. **Methods** In January 2020, the whole blood of a young immunocompromised patient with long-term recurrent respiratory tract infection and significantly decreased serum IgA, IgG, and IgM who was admitted to the Affiliated Traditional Chinese Medicine Hospital of Southwest Medical University was detected by CHIP capture high-throughput sequencing. Analysis and interpretation of the test results. **Results** The test report indicated that a pathogenic mutation in the Bruton tyrosine kinase (BTK) gene was detected in the subject, resulting in agammaglobulinemia, which was X chromosome recessive inheritance. **Conclusions** The patient's long-term repeated respiratory tract infection and low immunoglobulin levels are closely related to the pathogenic mutation of the BTK gene. The corresponding nucleotide change c.763C > T (p.Arg255Ter) is the first report, and further research should be carried out for both parents and children. Immune function screening and life education.

Key words: X-linked combined immunodeficiency diseases; Agammaglobulinemia; X-linked agammaglobulinemia; Immunodeficiency; Tyrosine kinase gene