

## 胆道肿瘤患者血清中 ANXA1 表达的临床价值

徐冬云<sup>1</sup>, 徐永茂<sup>1</sup>, 王娟<sup>1</sup>, 潘鑫<sup>1</sup>, 于观贞<sup>2</sup>, 俞文隆<sup>3</sup>

(1. 中国人民解放军陆军第七十一集团军医院肿瘤科, 江苏 徐州 221004; 2. 上海中医药大学附属龙华医院肿瘤科, 上海 200032; 3. 海军军医大学东方肝胆外科医院普外科, 上海 200433)

**摘要:**目的 检测胆道系统肿瘤患者外周血中膜联蛋白 A1 (ANXA1) 的水平, 分析其在肿瘤早期诊断和疾病进展评估中的临床价值。方法 采用 ELISA 检测胆道系统肿瘤患者术前和术后血清中 ANXA1 水平, 并以健康人群血清 ANXA1 水平作为对照进行比较。结果 术前胆道系统肿瘤患者血清 ANXA1 水平为  $(348.36 \pm 236.53) \mu\text{g/L}$ , 高于健康对照者血清中 ANXA1 水平  $(225.01 \pm 245.23) \mu\text{g/L}$ , 2 者比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。胆道系统肿瘤患者术后血清 ANXA1 水平为  $(148.14 \pm 39.83) \mu\text{g/L}$ , 明显低于术前血清 ANXA1 水平, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。结论 胆道肿瘤患者血清 ANXA1 水平高于健康人群, 与患者体内肿瘤残留或复发密切相关, 提示肿瘤患者血清的 ANXA1 有望成为判断胆道肿瘤残存和预测疾病进展的潜在标志物。

**关键词:**胆管癌; 胆囊癌; 膜联蛋白 A1

中图分类号: R735.8 文献标志码: A 文章编号: 2096-3882(2019)11-0832-04

DOI: 10.3969/j.issn.2096-3882.2019.10.12

## Clinical value of serum ANXA1 in biliary tract tumors patients

XU Dongyun<sup>1</sup>, XU Yongmao<sup>1</sup>, WANG Juan<sup>1</sup>, PAN Xin<sup>1</sup>, YU Guanzhen<sup>2</sup>, YU Wenlong<sup>3</sup>

(1. Department of Oncology, the 71st Group Army Hospital of CPLA, Xuzhou, Jiangsu 221004, China; 2. Department of Oncology, Longhua Hospital Affiliated to Shanghai University of Chinese Medicine, Shanghai 200032; 3. Department of General Surgery, Eastern Hepatobiliary Surgery Hospital, Navy Medical University, Shanghai 200433)

**Abstract: Objective** To detect the level of annexin A1 (ANXA1) in the peripheral blood of patients with biliary tract tumors and analyze its clinical value in the early diagnosis of tumors and evaluation of disease progression. **Methods** The levels of serum ANXA1 before and after operation were detected by ELISA. Meanwhile, the levels of serum ANXA1 in health subjects were analyzed as controls. **Results** level of serum ANXA1 was  $(348.36 + 236.53) \mu\text{g/L}$  in patients with preoperative biliary system tumors, which were higher than that in healthy subjects  $(225.01 + 245.23) \mu\text{g/L}$  ( $P > 0.05$ ). After surgery, the level of serum ANXA1 was  $(148.14 \pm 39.83) \mu\text{g/L}$ , which were significantly lower than that before surgery ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** The level of serum ANXA1 in patients with biliary tract tumors is higher than that in healthy subjects, and closely related to tumor residues or recurrence, which suggests that serum ANXA1 is a potential biomarker for judging tumor residues and predicting disease progression.

**Key words:** cholangiocarcinoma; gallbladder; annexin A1

胆道系统恶性肿瘤包括胆囊癌和胆管癌。流行病学调查显示, 近年来胆道肿瘤的发病率呈明显上升趋势<sup>[1-2]</sup>。影响患者预后的最主要因素是肿瘤的早发现以及根治性手术切除。然而胆道肿瘤位置隐匿, 早诊率低, 且侵袭转移性强, 一旦发现, 根治性治疗难度极大。胆道肿瘤患者预后较差, 5 年生存率仅约 20%<sup>[2]</sup>。因此, 探寻能够早期发现胆道恶性肿瘤并预测胆道恶性肿瘤患者复发和预后的标志物显

得尤为重要。

人膜联蛋白 A1 (ANXA1) 是膜联蛋白 (Annexins) 家族的一个重要成员。早期研究显示, ANXA1 主要参与抗炎反应、细胞分化和增殖、细胞凋亡和信号调控等细胞生命活动<sup>[3]</sup>。近期研究显示, ANXA1 在恶性肿瘤的发生发展中也发挥重要的作用<sup>[4-6]</sup>, 但是在胆道肿瘤患者血清中的表达状况及其价值报道很少。本研究采用 ELISA 法检测 ANXA1 在胆道

恶性肿瘤患者中的表达,并分析其临床价值。现报告如下。

### 1 资料和方法

1.1 一般资料 选取2016年6月—2017年5月于东方肝胆外科医院普外科行根治性切除的21例肝门部胆管癌(hilar cholangiocarcinoma, HCCA)患者和6例胆囊癌(gallbladder cancer, GBC)患者,其中男17例,女10例,年龄20~76岁,中位年龄59.6岁,病理类型均为腺癌。选取上述患者术前3天外周血标本,其中17例患者取得术后1周外周血标本。截至随访日期(2018年8月),无疾病相关死亡报告,3例出现局部复发或肝脏转移。此外,获得10例本科室健康医护人员的外周血标本作为健康对照。本研究获得海军军医大学东方肝胆医院医学伦理委员会批准,所有患者及健康受试者均签署知情同意书。

1.2 血清 ANXA1 水平测定 所有受试者采集空腹外周静脉血5 ml,在采血3~6 h内采用ELISA法使用ANXA1酶链免疫分析试剂盒(购自上海润裕生物科技有限公司)检测血清ANXA1水平。

1.3 统计学处理 运用SPSS 23.0软件进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,2组间比较采用独立样本t检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

### 2 结果

2.1 术前健康对照者与肿瘤患者血清 ANXA1 水平比较 术前胆道系统肿瘤患者的血清ANXA1水平为 $(348.36 \pm 236.53) \mu\text{g/L}$ ,健康对照者血清ANXA1水平为 $(225.01 \pm 245.23) \mu\text{g/L}$ ,2者比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见图1。HCCA患者血

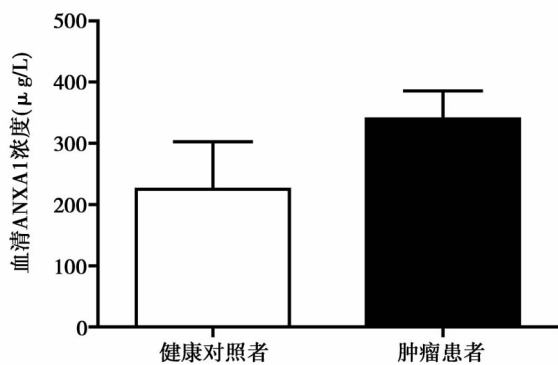


图1 术前健康对照者与胆道系统肿瘤患者血清ANXA1水平的比较

清ANXA1水平为 $(354.32 \pm 237.01) \mu\text{g/L}$ ,GBC患者血清ANXA1水平为 $(327.52 \pm 256.02) \mu\text{g/L}$ ,2者比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见图2。

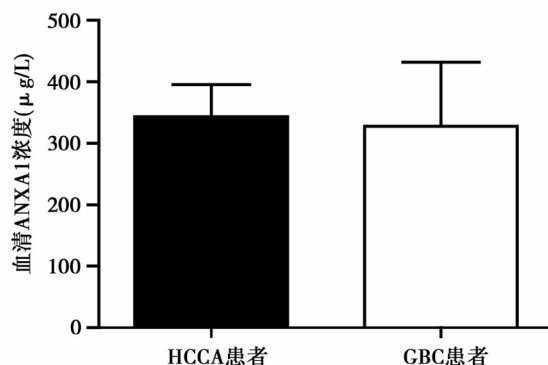
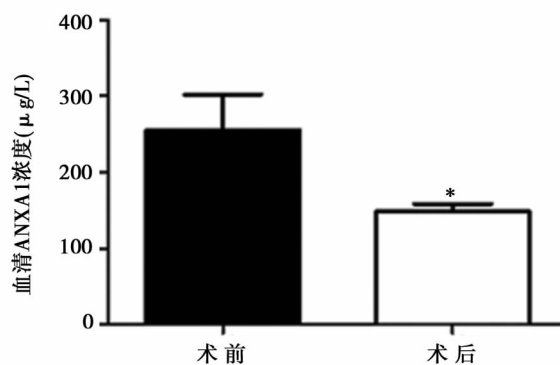


图2 术前HCCA和GBC患者血清ANXA1水平的比较

2.2 胆道系统肿瘤患者手术前后血清 ANXA1 水平比较 17例患者术后外周血可用,术前胆道系统肿瘤患者的血清ANXA1水平为 $(255.29 \pm 187.20) \mu\text{g/L}$ ,术后胆道系统肿瘤患者的血清ANXA1水平为 $(148.14 \pm 39.83) \mu\text{g/L}$ ,2者比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见图3。



与术前比较: $P < 0.05$

图3 胆道系统肿瘤患者手术前后血清ANXA1水平的比较

2.3 疾病治疗过程中血清 ANXA1 变化情况 3例患者在术后半年至1年内出现复发,复发时我们检测其外周血ANXA1水平,分别为395.5、215.1、176.5  $\mu\text{g/L}$ ,可见胆管癌患者复发时血清中ANXA1水平再次反弹,化疗后ANXA1水平降低,分别为208.9、199.6、161.0  $\mu\text{g/L}$ ,见图4。由于例数较少,复发时血清ANXA1水平与术前和术后相比,无明显统计学差异。

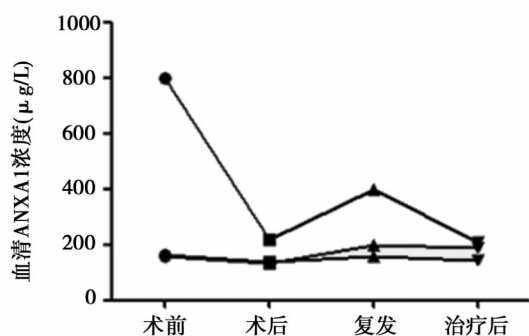


图4 复发胆管癌患者血清 ANXA1 水平

### 3 讨论

ANXA1 在肿瘤发生发展中的作用具有器官特异性和细胞定位特异性。研究显示,ANXA1 在胰腺癌、肝癌以及食道癌中高度表达<sup>[7-10]</sup>,在甲状腺癌和鼻咽癌等肿瘤中表达下降<sup>[11-13]</sup>,但 ANXA1 在胃癌<sup>[8,14,15]</sup>、乳腺癌<sup>[16-17]</sup>和胆管癌<sup>[18-19]</sup>中的表达存在较大差异。此外,ANXA1 的表型和功能差异可能与其表达部位具有关联性。细胞膜表面的 ANXA1 具有锚定功能,参与细胞膜和细胞骨架的连接,阻止细胞扩散和游离,而细胞核内的 ANXA1 则具有转录因子功能,可调节癌基因的表达<sup>[5]</sup>。细胞膜表面 ANXA1 的脱落和细胞核内 ANXA1 的增加可协同促进肿瘤的发生和转移。本研究旨在讨论细胞膜脱落的 ANXA1 能否通过外周血得到检测及其临床意义。

ANXA1 是一种糖皮质激素诱导的蛋白,可调节多种炎症细胞的活化。研究显示,血清中 ANXA1 水平与患者机体的炎症严重程度和转归具有一定关联。Lee 等<sup>[20]</sup>测定了 50 例哮喘患者血液中的 ANXA1 水平(稳定和恶化状态),结果显示哮喘患者血浆 ANXA1 水平较健康对照组升高,而病情严重患者血浆 ANXA1 水平明显低于哮喘稳定期患者。子痫前期(PE)是一种妊娠期常见疾病,伴有炎症反应加重。Perucci 等<sup>[21]</sup>检测了 PE 妇女、正常妊娠和非妊娠妇女血浆中 ANXA1 水平,结果发现早期 PE 孕妇 ANXA1 水平高于胎龄 <34 周的正常妊娠孕妇,提示 ANXA1 水平的升高与 PE 患者系统性炎症表型有关。梅秩芳等<sup>[22]</sup>检测了单纯风湿性关节炎(RA)患者外周血单核细胞(PBMC)中 ANXA1 mRNA 的表达,单纯 RA 患者 PBMC 中 ANXA1 mRNA 表达量低于健康对照组,与血清 IL-17 水平负

相关,提示 ANXA1 可能在 RA 发病机制中的免疫调节和抗炎过程中起关键作用。上述研究表明,ANXA1 水平可以在外周血中检测,且在健康人群和患病人群之间存在较大差异,同时外周血 ANXA1 水平可反映疾病的严重程度,有望成为特定疾病的标志物。

恶性肿瘤患者外周血中 ANXA1 水平和疾病进展和转归亦相关。Huang 等<sup>[23]</sup>利用线性肽抗原的 IgG 抗体检测了 152 名女性乳腺癌患者和 160 名女性对照组患者 ANXA1 水平,结果显示乳腺癌患者 ANXA1 水平明显高于对照组,提示血清 ANXA1 水平对乳腺癌具有诊断和预后价值。Han 等<sup>[24]</sup>发现,食管癌患者血清 ANXA1 水平明显低于对照组,放化疗后升高,血清 ANXA1 水平增加与 1 年无疾病进展时间(PFS)存在显著相关,血清 ANXA1 水平升高(>2 倍基线),与较差的 PFS 相关,且血清 ANXA1 水平越高,预后越差。上述研究揭示了 ANXA1 在乳腺癌早期诊断、食管癌复发和预后中的临床价值。

在本研究中,我们首先检测了胆道系统肿瘤患者和健康对照者的血清 ANXA1 水平,结果显示肿瘤患者血清 ANXA1 水平明显高于健康对照者,但未见统计学差异。分析数据,我们发现有 1 例健康对照者的血清 ANXA1 明显高于其他人,但采血时未见身体异常。1 年后随访,我们发现其患有桥本氏甲状腺炎。剔除该例对照者后,健康对照者和胆道系统肿瘤患者的血清 ANXA1 水平存在统计学差异,该结果提示血清 ANXA1 水平和患者机体对疾病的反应性是关联的,但是否与肿瘤特异性相关?随后,我们分析了血清 ANXA1 水平与肿瘤治疗和进展之间关系,结果与既往研究一致;手术后胆道系统肿瘤患者血清 ANXA1 水平明显下降,而且疾病复发时候,血清 ANXA1 水平再次上升。提示 ANXA1 与患者体内肿瘤是否残留或者复发密切相关。该结果将为临床检测手术根治程度以及预测疾病的复发提供参考。

本研究首次系统性地研究了肝门部胆管癌和胆囊癌患者外周血 ANXA1 水平及其临床意义,结果显示胆道系统肿瘤患者的血清 ANXA1 水平高于健康人群,且与手术切除和疾病复发相关,提示胆道系统肿瘤患者血清 ANXA1 有望成为判断胆道肿瘤残存和预测疾病进展的潜在分子标志物。

#### 参考文献:

- [1] Plentz RR, Malek NP. Clinical presentation, risk factors and stag-

- ing systems of cholangiocarcinoma [J]. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 2015, 29(2): 245 – 252. DOI: 10.1016/j.bpg.2015.02.001.
- [2] Bergquist A, von Seth E. Epidemiology of cholangiocarcinoma [J]. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 2015, 29(2): 221 – 232. DOI: 10.1016/j.bpg.2015.02.003.
- [3] Tebar F, Gelabert – Baldrich M, Hoque M, et al. Annexins and endosomal signaling [J]. *Methods Enzymol*, 2014, 535: 55 – 74. DOI: 10.1016/B978-0-12-397925-4.00004-3.
- [4] Sheikh MH, Solito E. Annexin A1: uncovering the many talents of an old protein [J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(4): pii: E1045. DOI: 10.3390/ijms19041045.
- [5] Boudhraa Z, Bouchon B, Viillard C, et al. Annexin A1 localization and its relevance to cancer [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2016, 130(4): 205 – 220. DOI: 10.1042/CS20150415.
- [6] Guo C, Liu S, Sun MZ. Potential role of ANXA1 in cancer [J]. *Future Oncol*, 2013, 9(11): 1773 – 1793. DOI: 10.2217/fon.13.114.
- [7] Liu QH, Shi ML, Bai J, et al. Identification of ANXA1 as a lymphatic metastasis and poor prognostic factor in pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2015, 16(7): 2719 – 2724.
- [8] Gao Y, Chen Y, Xu D, et al. Differential expression of ANXA1 in benign human gastrointestinal tissues and cancers [J/OL]. *BMC Cancer*, 2014, 14: 520. DOI: 10.1186/1471-2407-14-520.
- [9] Lin Y, Lin G, Fang W, et al. Increased expression of annexin A1 predicts poor prognosis in human hepatocellular carcinoma and enhances cell malignant phenotype [J/OL]. *Med Oncol*, 2014, 31(12): 327. DOI: 10.1007/s12032-014-0327-7.
- [10] Han G, Lu K, Huang J, et al. Effect of annexin A1 gene on the proliferation and invasion of esophageal squamous cell carcinoma cells and its regulatory mechanisms [J]. *Int J Mol Med*, 2017, 39(2): 357 – 363. DOI: 10.3892/ijmm.2016.2840.
- [11] Petrella A, Festa M, Ercolino SF, et al. Annexin – 1 downregulation in thyroid cancer correlates to the degree of tumor differentiation [J]. *Cancer Biol Ther*, 2006, 5(6): 643 – 647. DOI: 10.4161/cbt.5.6.2700.
- [12] Huang L, Liao L, Wan Y, et al. Downregulation of annexin A1 is correlated with radioresistance in nasopharyngeal carcinoma [J]. *Oncol Lett*, 2016, 12(6): 5229 – 5234. DOI: 10.3892/ol.2016.5324.
- [13] Rodrigo JP, Garcia – Pedrero JM, Fernandez MP, et al. Annexin A1 expression in nasopharyngeal carcinoma correlates with squamous differentiation [J]. *Am J Rhinol*, 2005, 19(5): 483 – 487.
- [14] Sato Y, Kumamoto K, Saito K, et al. Up – regulated annexin A1 expression in gastrointestinal cancer is associated with cancer invasion and lymph node metastasis [J]. *Exp Ther Med*, 2011, 2(2): 239 – 243. DOI: 10.3892/etm.2011.210.
- [15] Yu G, Wang J, Chen Y, et al. Tissue microarray analysis reveals strong clinical evidence for a close association between loss of annexin A1 expression and nodal metastasis in gastric cancer [J]. *Clin Exp Metastasis*, 2008, 25(7): 695 – 702. DOI: 10.1007/s10585-008-9178-y.
- [16] Okano M, Kumamoto K, Saito M, et al. Upregulated annexin A1 promotes cellular invasion in triple – negative breast cancer [J]. *Oncol Rep*, 2015, 33(3): 1064 – 1070. DOI: 10.3892/or.2015.3720.
- [17] Maschler S, Gebeshuber CA, Wiedemann EM, et al. Annexin A1 attenuates EMT and metastatic potential in breast cancer [J]. *EMBO Mol Med*, 2010, 2(10): 401 – 414. DOI: 10.1002/emmm.201000095.
- [18] Hongsrichan N, Rucksaken R, Chamgramol Y, et al. Annexin A1: a new immunohistological marker of cholangiocarcinoma [J]. *World J Gastroenterol*, 2013, 19(16): 2456 – 2465. DOI: 10.3748/wjg.v19.i16.2456.
- [19] Wang D, Zhang H, Fang Z, et al. Annexin – 1 downregulation is associated with clinical outcome in Chinese patients with hilar cholangiocarcinoma [J]. *Eur Surg Res*, 2010, 45(3-4): 151 – 157. DOI: 10.1159/000320237.
- [20] Lee SH, Lee PH, Kim BG, et al. Annexin A1 in plasma from patients with bronchial asthma: its association with lung function [J/OL]. *BMC Pulm Med*, 2018, 18(1): 1. DOI: 10.1186/s12890-017-0557-5.
- [21] Perucci LO, Carneiro FS, Ferreira CN, et al. Annexin A1 is increased in the plasma of preeclamptic women [J/OL]. *PLoS One*, 2015, 10(9): e0138475. DOI: 10.1371/journal.pone.0138475.
- [22] 梅轶芳, 代思明, 贾浩楠, 等. 膜联蛋白 A1 在初治类风湿关节炎患者外周血细胞中的表达及相关因素分析 [J]. *中华医学杂志*, 2017, 97(25): 1937 – 1941. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2017.25.004.
- [23] Huang Y, Zhang C, Chen C, et al. Investigation of circulating antibodies to ANXA1 in breast cancer [J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(2): 1233 – 1236. DOI: 10.1007/s13277-014-2751-x.
- [24] Han GH, Lu KJ, Huang JX, et al. Association of serum annexin A1 with treatment response and prognosis in patients with esophageal squamous cell carcinoma [J]. *J Cancer Res Ther*, 2018, 14(Supplement): S667 – S674. DOI: 10.4103/0973-1482.187297.

收稿日期:2018-12-06 修回日期:2019-02-22

本文编辑:郭昊