

CRABP-Ⅱ、FABP-5 在颅咽管瘤中的表达

白刚¹⁾，罗林¹⁾，王行桥²⁾，倪炜¹⁾，左频¹⁾，袁红平¹⁾

(1) 昆明医科大学第三附属医院，云南省肿瘤医院神经外科，云南昆明 650118；2) 山东省威海卫人民医院神经外科，山东威海 264200)

[摘要] **目的** 检测颅咽管瘤中 CRABP-Ⅱ、FABP-5 的表达，分析其与颅咽管瘤关系，探讨维甲酸靶向治疗颅咽管瘤的分子机制。**方法** 采用荧光免疫组织化学技术 (Fluorescent Immunostaining) 分别检测 39 例 AE、10 例 SP 两种亚型颅咽管瘤及 20 例正常脑组织中 CRABP-Ⅱ、FABP-5 蛋白表达情况，分析 2 种类型颅咽管瘤细胞及正常脑组织细胞中其表达有无差异。**结果** (1) 49 例颅咽管瘤与 20 例正常脑组织中 CRABP-Ⅱ、FABP-5 的表达差异无统计学意义 ($P > 0.05$)；(2) 在颅咽管瘤亚型中 CRABP-Ⅱ及 FABP-5 表达差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。**结论** CRABP-Ⅱ、FABP-5 不能作为 RA 作用颅咽管瘤细胞的靶点，CRABP-Ⅱ/FABP-5 稳态在本实验中不存在。

[关键词] FABP-5；CRABP-Ⅱ；颅咽管瘤

[中图分类号] R739.41 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095 - 610X(2013) 06 - 0075 - 04

Preliminary Study on Expression of CRABP-Ⅱ and FABP-5 in Craniopharyngioma

BAI Gang¹⁾，LUO Lin¹⁾，WANG Xing-qiao²⁾，NI Wei¹⁾，ZUO Pin¹⁾，YUAN Hong-ping¹⁾

(1) Dept. of Neurosurgery, The Third Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Tumor Hospital of Yunnan Province, Kunming Yunnan 650118; 2) Dept. of Neurosurgery, The People's Hospital of Weihaiwei, Weihai Shandong 264200, China)

[Abstract] **Objective** To detect the expression of CRABP-Ⅱ and FABP-5 in craniopharyngioma cells, analyze the correlation between the expression and craniopharyngioma, and investigate the molecular mechanism of retinoic acid (RA) targeted therapy for craniopharyngioma. **Methods** The expression of CRABP-Ⅱ and FABP-5 in 49 cases of craniopharyngioma (39 cases of AE and 10 cases of SP) was detected by fluorescence immunohistochemistry accompanied with 8 cases of normal brain tissues. The difference of expression between the craniopharyngioma cells and the normal brain tissues was analyzed. **Results** The difference of CRABP-Ⅱ or FABP-5 positive rate expression between 49 cases of craniopharyngioma and 20 cases of normal brain tissue had no statistical significance ($P > 0.05$). Also, there was no statistical significance of CRABP-Ⅱ and FABP-5 expression between cases of two subtypes craniopharyngioma ($P > 0.05$). **Conclusion** CRABP-Ⅱ and FABP-5 could not be used as the target of RA role of craniopharyngioma cells, and the steady-state CRABP-Ⅱ/FABP-5 did not exist in this experiment.

[Key words] Fatty acid binding protein-5; Cellular retinoid acid binding protein-Ⅱ; Craniopharyngioma

笔者前期研究发现维甲酸可以诱导体外培养颅咽管瘤细胞凋亡^[1]，而维甲酸最终的效应是由不

同的受体决定的。本实验检测不同颅咽管瘤亚型及正常脑组织中 CRABP-Ⅱ、FABP-5 的表达，分

[基金项目] 云南省科技厅专项研究基金资助项目 (2008CD038)

[作者简介] 白刚 (1973~)，男，云南昆明市人，医学硕士，主要从事颅内肿瘤的基础和临床工作。

[通讯作者] 罗林. E-mail:luolvip@163.com

析“CRABPⅡ-FABP5 稳态”在颅咽管瘤中是否存在.

1 材料与方法

1.1 实验标本

收集昆明医科大学第一、二、三附属医院 6 a 间经术后病理证实为颅咽管瘤的石蜡标本 49 例. 其中男性 21 例, 女性 29 例; 61.22% 发病年龄在 15 岁以下, 所有患者术前均未行化疗且石蜡包埋良好, 大体观察陈旧性出血较少. 其中釉质上皮型 (adamantine epithelioma, AE) 39 例, 鳞状乳头瘤型 (squamous papillary tumor, SP) 10 例. 另取 20 例因高血压脑出血行颅内减压的正常脑组织作为正常对照组.

1.2 主要仪器和试剂

石蜡切片机 (德国 LEICA, R M2035 型)、荧光显微镜 (日本 Nikon E800) 奥林巴斯光学显微镜 (日本, BX-50 型)、鼠抗人 CRABP-Ⅱ 单克隆抗体 (abcam 公司产品)、鼠抗人 FABP-5 单克隆抗体 (abcam 公司产品)、羊抗鼠 FITC 单克隆抗体 (abcam 公司产品).

1.3 实验方法

1.3.1 CRABP-Ⅱ 的检测 (荧光免疫组化) 常规颅咽管瘤、正常脑组织石蜡标本切片、脱蜡和水化、抗原修复、封闭, 加一抗 (鼠抗人 CRABP-Ⅱ 单克隆抗体 50 μ L) 加二抗 (滴加羊抗鼠 FITC 单克隆抗体 50 μ L) 核染 (滴加 DAPI 20 μ L)、封片. 为防止荧光淬灭, 尽快将标本置于荧光显微镜下 (波长 350 ~ 450 nm) 观察实验结果或 4 $^{\circ}$ C 保存. 阳性判定标准: FITC 为绿色荧光, 镜下胞浆和胞核内见强于背景的绿色荧光即为阳性表达, DAPI 为蓝色荧光, 镜下胞浆和胞核内见强于背景的蓝色荧光即为阳性表达.

1.3.2 FABP-5 的检测 (荧光免疫组化) 所有实验步骤除加一抗时滴加的是鼠抗人 FABP-5 单克隆抗体外, 其余步骤均同 CRABP-Ⅱ 的检测. 对照组为正常脑组织切片, 实验方法同上.

1.4 统计学分析

所有数据均采用 SPSS 软件处理. 样本均数的比较采用方差分析和 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 CRABP-Ⅱ 在正常脑组织和颅咽管瘤中的表

达

与 DAPI 蓝色荧光对照, CRABP-Ⅱ 在细胞核及细胞浆中均有表达, 表现为强于背景的绿色荧光, 阳性细胞呈分散性分布 (图 1). 20 例正常脑组织切片中, CRABP-Ⅱ 阳性表达 16 例, 阴性表达 4 例, 阳性率为 80.00%. 49 例颅咽管瘤组织切片中, CRABP-Ⅱ 阳性表达 39 例, 阴性表达 10 例, 阳性率为 79.48%, 经统计学分析二者差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 1.

2.2 FABP-5 在正常脑组织和颅咽管瘤中的表达

与 DAPI 蓝色荧光对照, FABP-5 在细胞核及细胞浆中均有表达, 表现为强于背景的绿色荧光, 阳性细胞呈分散性分布 (图 1). 20 例正常脑组织切片中, FABP-5 阳性表达 14 例, 阴性表达 6 例, 阳性率为 70.00%. 49 例颅咽管瘤组织切片中, FABP-5 阳性表达 35 例, 阴性表达 14 例, 阳性率为 71.42%, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 2.

2.3 CRABP-Ⅱ 在 AE 和 SP 中的表达

AE 标本 39 例, 其中 CRABP-Ⅱ 表达阳性为 31 例, 表达阴性 8 例, 阳性率 79.48%; SP 标本 10 例, CRABP-Ⅱ 表达阳性为 8 例, 表达阴性 2 例, 阳性率 80.00% 二者阳性表达差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 3.

2.4 FABP-5 在 AE 和 SP 中的表达

AE 标本 39 例, 其中 FABP-5 表达阳性为 28 例, 表达阴性 11 例, 阳性率 71.79%; SP 标本 10 例, FABP-5 表达阳性为 7 例, 表达阴性 3 例, 阳性率 70.00%, 二者阳性表达差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 4.

3 讨论

颅咽管瘤是颅内最常见的先天性肿瘤, 占全年龄组颅内肿瘤的 4.7% ~ 6.5%, 在儿童鞍区肿瘤中, 颅咽管瘤约占 60% 左右^[2-3]. WHO 将颅咽管瘤按组织学特征分为釉质上皮型 (AE) 和鳞型乳头瘤型 (SP), 两种病理类型的颅咽管瘤在复发和预后方面存在巨大差异, 颅咽管瘤是分化不完全的异质性肿瘤. 诱导分化和促进凋亡是目前治疗分化不完全肿瘤的基本策略.

维甲酸 (retinoic acid, RA) 又称为视磺酸或维生素 A 酸, 是公认的分化诱导剂, 近年来研究发现, RA 在诱导包括胚胎肿瘤细胞系、胚胎干细胞、神经干细胞的神经分化中发挥作用. RA 与细胞内视磺酸受体结合后, 通过视磺酸受体与靶基因结合发挥调控作用, 与靶基因结合的部位称为视磺

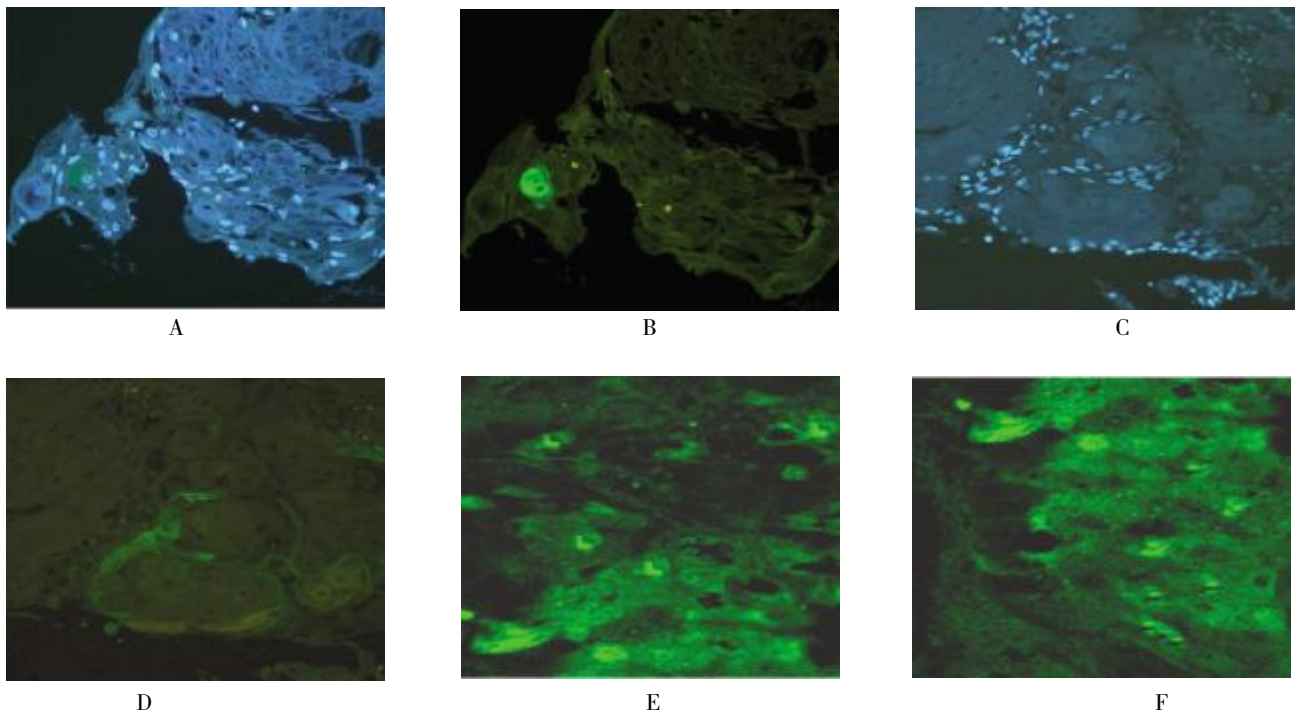


图 1 FABP-5、CRABP-II 在颅咽管瘤和正常脑组织中的表达

Fig. 1 Expression of FABP-5 and CRABP-II in craniopharyngioma and normal brain tissues

A: 颅咽管瘤 DAPI 染色; B: 颅咽管瘤 CRABP-II 的表达; C: 颅咽管瘤 DAPI 染色;
D: 颅咽管瘤 FABP-5 的表达; E: 正常脑组织 CRABP-II 的表达; F: 正常脑组织 FABP-5 的表达.

表 1 CRABP-II 在正常脑组织和颅咽管瘤中的表达

Tab. 1 Expression of CRABP-II in craniopharyngioma and normal brain tissue

组 别	+	-	总计	阳性率 (%)
颅咽管瘤	39	10	49	79.59
正常脑组织	16	4	20	80.00
总计	55	14	69	79.71

表 2 FABP-5 在正常脑组织和颅咽管瘤中的表达

Tab. 2 Expression of FABP-5 in craniopharyngioma and normal brain tissue

组 别	+	-	总计	阳性率 (%)
颅咽管瘤	35	14	49	71.42
正常脑组织	14	6	20	70.00
总计	49	20	69	71.01

表 3 CRABP-II 在 AE 和 SP 中的表达

Tab. 3 Expression of CRABP-II in AE and SP

组 别	+	-	总计	阳性率 (%)
AE	31	8	39	79.48
SP	8	2	10	80.00
总计	39	10	49	79.59

表 4 FABP-5 在 AE 和 SP 中的表达

Tab. 4 Expression of CRABP-II in AE and SP

组 别	+	-	总计	阳性率 (%)
AE	28	11	39	71.79
SP	7	3	10	70.00
总计	35	14	49	71.42

酸反应元件 (RAREs), 隶属于 HREs^[4]. RA 在治疗白血病上已经取得的重大疗效, 笔者前期研究发现 RA 也能诱导体外培养颅咽管瘤细胞凋亡^[1]. 矛盾的是 RA 虽然可以通过诱导分化、延长细胞周期、促进细胞凋亡等多种途径抑制肿瘤细胞生长, 然而在许多细胞内部 RA 不仅不能抑制肿瘤细胞甚至会促进肿瘤细胞增殖、活化, 维甲酸抑制和促进肿瘤的矛盾效应是由不同的受体介导的. Schug^[5]等人发现, 除了经典的维甲酸受体 (RAR α) 以外, 维甲酸还可以与过氧化物酶体增生物激活受体 β/δ (PPAR β/δ) 结合, 促进肿瘤细胞生长, 抑制凋亡^[6], 从而形成两个平行但效应相反的信号通路. 因此, 维甲酸最终的效应是由不同的受体决定的. 笔者设想, 维甲酸分别与 RAR α 和 PPAR β/δ 结合的多少以及相应效应的强弱是由胞内维甲酸结合蛋白 II (CRABP II) 和脂肪酸结合蛋

白 5 (FABP5) 比例决定. 在 CRABP II 相对表达较高的状态下, 维甲酸与 RAR α 结合, 通过经典通路, 促进肿瘤分化、细胞凋亡和细胞周期俘获, 发挥抗癌作用; 而当 FABP5 表达增高时, 维甲酸则与 PPAR β/δ 结合, 促进肿瘤细胞生长、抑制凋亡, 从而发挥其生理作用, 甚至促进肿瘤发生发展. 所以, CRABP II 和 FABP5 的分子比例或者说“CRABP II-FABP5 稳态”是决定维甲酸效应的“开关” (见图 2).

脂肪酸结合蛋白 (fatty acid binding proteins,

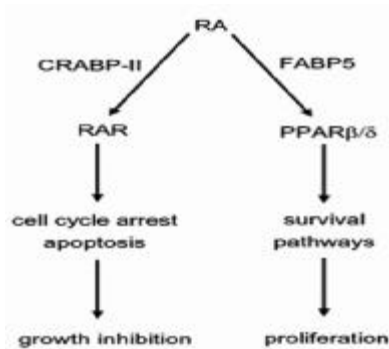


图 2 CRABP II-FABP5 稳态

Fig. 2 Steady-state CRABP-II/FABP-5

FABPs) 是一组多源性的小分子胞内蛋白质, 广泛存在于哺乳动物的小肠、肝脏、脂肪、心脑等多种细胞内, 其中表皮型或牛皮癣相关型又称为 E-FABP 即 FABP-5. 研究发现细胞表达的 E-FABP 不但可转运脂肪酸为细胞生长提供能量及原材料, 还可以结合和转运各种配体, 参与肿瘤生长相关的信号转导, 并预测可能和抗原提呈作用密切相关^[7], 在前列腺癌、肾癌、恶性黑色素瘤中都有重要意义^[8]. CRABP-II 即细胞内维甲酸结合蛋白 II, 主要参与体内维甲酸的转运同时也与多种肿瘤的发生发展相关. 目前, 在颅咽管瘤中 CRABP-II、FABP-5、PPAR β/δ 、RAR α 的表达与维甲酸的作用是否存在相关性尚不清楚, 针对现有的研究概况, 本实验在前期研究的基础上进一步探讨维甲酸作用通路, 检测颅咽管瘤中 CRABP-II、FABP-5 的表达, 并分析其表达意义, 试图从分子水平探讨 RA 的作用机制, 阐明 RA 作用的生物学通路, 为颅咽管瘤的靶向治疗寻找新的方法和手段.

本实验通过荧光免疫组化技术检测了 49 例颅咽管瘤石蜡切片和 20 例正常脑组织中 CRABP-II 和 FABP-5 的表达, 结果说明 CRABP-II 与

FABP-5 不能决定 RA 参与哪条信号通路, RA 的作用效果与 CRABP-II 与 FABP-5 的表达量无关, 笔者之前所设想的“稳态”在本实验中不存在, 二者的表达在 RA 的作用通路中无意义, CRABP-II/FABP-5 不能作为 RA 效应的“开关”. RA 的作用通路与 CRABP-II、FABP-5 无关, 其核受体 PPAR β/δ 与 RAR α 可能是决定 RA 最终效应的分子靶点.

综上所述, RA 的作用通路与 CRABP-II、FABP-5 无关, CRABP-II、FABP-5 不能作为 RA 作用颅咽管瘤细胞的靶点, CRABP-II/FABP-5 稳态在本实验中不存在; 核受体 PPAR β/δ 与 RAR α 可能是决定 RA 最终效应的分子靶点, 其调控机制仍需要进一步研究.

[参考文献]

- [1] 罗林, 左频, 白刚, 等. 维甲酸诱导颅咽管瘤原代细胞凋亡的实验研究[J]. 昆明医学院学报, 2011, 32(9): 12-15.
- [2] KARAVITAKI N, CUDLIP S, ADAMS C B, et al. Cranio-pharyngiomas[J]. Endocr Rev, 2006, 27(4):371-397.
- [3] ULLRICH N J, SCOTT R M, POMEROY S L. Craniopharyngioma therapy: long-term effects on hypothalamic function[J]. Neurologist, 2005, 11(1): 55-60.
- [4] YEN A, FENNING R, CHANDRARATNA R, et al. A retinoic acid receptor beta/gamma-selective prodrug (tazarotene) plus a tetinoid X receptor ligand induces extracellular signal-regulated kinase activation, retinoblastoma hypophosphorylation, G0 arrest, and cell differentiation[J]. Mol Pharmacol, 2004, 66(6):1727-1737.
- [5] SCHUG T T, BERRY D C, SHAW N S, et al. Opposing effects of retinoic acid on cell growth result from alternate activation of two different nuclear receptors[J]. Cell, 2007, 129(4):723-733.
- [6] SHAW N, ELHOLM M, NOY N. Retinoic acid is a high affinity selective ligand for the peroxisome proliferator-activated receptor beta/delta[J]. J Biol Chem, 2003, 278(43):41589-41592.
- [7] KITANAKA N, OWADA Y, ABDELWAHAB S A, et al. Specific localization of epidermal-type fatty acid binding protein in dendritic cells of splenic white pulp[J]. Histochem Cell Biol, 2003, 20(6):465-473.
- [8] ALVAREZ S M, GMEZ N N, SCARDAPANE L, et al. Effects of chronic exposure to cadmium on prostatic lipids and morphology[J]. Biometals, 2007, 20(5):727-741.

(2013-02-19 收稿)