

## · 论著 ·

## 胰腺导管腺癌中LMTK3、caspase 3、caspase 7的临床表达意义

李玉梅\*

南阳市第一人民医院病理科 (河南 南阳 473000)

**【摘要】目的** 探讨胰腺导管腺癌中LMTK3、caspase 3、caspase 7的临床表达意义。**方法** 选择2017年1月~2021年4月83例胰腺导管腺癌患者作为研究对象, 收集癌组织与癌旁组织石蜡包埋标本, 采用免疫组织化学法检测LMTK3、caspase 3、caspase 7的表达情况。所有患者均随访, 中位随访期为16个月。**结果** 与癌旁正常组织比较, 癌组织中的LMTK3高表达率明显提高( $P<0.05$ ), 而caspase 3和caspase 7高表达率明显降低( $P<0.05$ )。癌组织中LMTK3的表达与caspase 3、caspase 7均呈负相关( $r=-0.628$ 、 $-0.697$ ,  $P=0.021$ 、 $0.015$ ), caspase 3与caspase 7呈正相关( $r=0.847$ ,  $P=0.006$ )。LMTK3的表达与胰腺导管腺癌的临床病理特征之间均无明显关系( $P>0.05$ ), caspase 3的表达与年龄、有无神经侵犯有关( $P<0.05$ ), caspase 7的表达与肿瘤直径、有无淋巴结转移有关( $P<0.05$ )。存活患者与死亡患者 LMTK3、caspase 3、caspase 7的表达均无明显差异( $P>0.05$ )。**结论** LMTK3、caspase 3、caspase 7与胰腺导管腺癌存在一定关系, 但对胰腺导管腺癌的临床意义可能有限。

**【关键词】** 胰腺导管腺癌; LMTK3; caspase 3; caspase 7

**【中图分类号】** R576

**【文献标识码】** A

**DOI:**10.3969/j.issn.1009-3257.2023.06.021

## Clinical Significance of Lmtk3, Caspase 3 and Caspase 7 Expression in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma

LI Yu-mei\*

Department of Pathology, Nanyang First People's Hospital, Nanyang 473000, Henan Province, China

**Abstract: Objective** To investigate the clinical significance of lmtk3, caspase 3 and caspase 7 expression in pancreatic ductal adenocarcinoma. **Methods** 83 patients with pancreatic ductal adenocarcinoma from January 2017 to April 2021 were selected as the study subjects. Paraffin embedded specimens of cancer tissues and adjacent tissues were collected and the expression of lmtk3, caspase 3 and caspase 7 was detected by immunohistochemistry. All patients were followed up with a median follow-up period of 16 months. **Results** compared with normal tissues adjacent to cancer, the high expression rate of lmtk3 in cancer tissues was significantly increased ( $P<0.05$ ), while the high expression rates of caspase 3 and caspase 7 were significantly decreased ( $P<0.05$ ). The expression of lmtk3 in cancer tissues was negatively correlated with caspase 3 and caspase 7 ( $r=-0.628$ ,  $-0.697$ ,  $P=0.021$  and  $0.015$ ), and caspase 3 was positively correlated with caspase 7 ( $r=0.847$ ,  $P=0.006$ ). There was no significant relationship between the expression of lmtk3 and the clinicopathological features of pancreatic ductal adenocarcinoma ( $P>0.05$ ). The expression of caspase 3 was related to age and nerve invasion ( $P<0.05$ ). The expression of caspase 7 was related to tumor diameter and lymph node metastasis ( $P<0.05$ ). There was no significant difference in the expression of lmtk3, caspase 3 and caspase 7 between the surviving patients and the dead patients ( $P>0.05$ ). **Conclusion** lmtk3, caspase 3 and caspase 7 may be related to pancreatic ductal adenocarcinoma, but their clinical significance may be limited.

**Keywords:** Pancreatic Ductal Adenocarcinoma; LMTK3; Caspase 3; Caspase 7

胰腺癌是最难治疗的人类癌症之一, 其中胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC)约占诊断病例的85%, 预后很差, 据报道, 中国上海胰腺癌的总生存期非常差, 中位生存期仅为7-8个月, 1年和5年生存率分别为35.0%和4.4%<sup>[1]</sup>。尽管PDAC的治疗取得了一些进展, 但是并未使患者的预后显著改观。当前迫切需要确定肿瘤生长的潜在机制, 以进行早期诊断和精准治疗<sup>[2]</sup>。蛋白激酶在调节细胞内信号转导通路中起着关键作用, 几乎涉及细胞活动的各个方面, 包括增殖、存活、分化、凋亡、代谢、血管生成、免疫监视和运动<sup>[3]</sup>。猴酪氨酸激酶3(lemur tyrosine kinase 3, LMTK3)为丝氨酸-苏氨酸-酪氨酸激酶家族中的一员, 近年研究表明其与甲状腺癌、胃癌、乳腺癌、肺癌、肠癌、前列腺癌等实体癌关系密切<sup>[4]</sup>, 但与PDAC的关系尚缺乏研究。Caspase属于白细胞介素-1b转换酶家族, 也称为半胱氨酸蛋白酶, 在诱导细胞凋亡中起重要作用。哺乳动物中的caspase家族有14个成员, 大多数成员在细胞存活、增殖、分化或炎症中发挥功能<sup>[5]</sup>。本研究旨在探讨胰腺导管腺癌中LMTK3、caspase 3、caspase 7的临床表达意义, 报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 研究对象** 前瞻性选择2017年1月至2021年4月83例胰腺导管

腺癌患者作为研究对象, 均为首次发现胰腺占位, 并经手术病理学检查证实, 术前未进行化疗及生物治疗。排除临床资料不完整者。男49例, 女34例; 年龄36~78岁, 平均年龄(61.72±8.16)岁。本研究经患者及家属同意, 经医院伦理委员会批准。

## 1.2 方法

**1.2.1 主要实验试剂** 兔抗人多克隆抗体 LMTK3、兔抗人多克隆抗体 caspase-3、兔抗人多克隆抗体Caspase-7及免疫组织化学检测试剂盒均购自Sigma公司; DAB显色试剂购自北京中杉金桥生物技术有限公司; PBS缓冲液、3% $H_2O_2$ 溶液均自行配置。

**1.2.2 免疫组织化学法** 所有患者均收集癌组织和癌旁正常组织, 经10%甲醛固定, 脱水、石蜡包埋后行3 $\mu$ m连续切片, 然后置于60°C烤箱2h, 脱蜡、柠檬酸盐抗原修复, 每片予3% $H_2O_2$  50mL, PBS洗3次, 分别滴加LMTK3、caspase 3、caspase 7兔抗人多克隆抗体(1:400稀释), 按试剂盒说明书进行操作, 4°C下孵育过夜, 复温20min, DAB显色, 苏木素复染, 盐酸酒精进行分色, 在光学显微镜下观察LMTK3、caspase 3、caspase 7的表达情况。

**1.2.3 结果判读** 每张切片随机选择5个视野, 每个视野至少计数300个, LMTK3阳性为胞浆着色, caspase-3和caspase-7阳性均为细胞质着色。着色细胞百分比计分标准: 阳性细胞比例 $\leq 5\%$ 为0分, 6%~25%为1分, 26%~50%为2分, 51%~75%为3分,

**【第一作者】** 李玉梅, 女, 住院医师, 主要研究方向: 肿瘤病理方向。E-mail: tg85296366@163.com

**【通讯作者】** 李玉梅

76%~100%为4分。染色强度计分标准：不着色为0分，浅黄色为1分，棕黄色为2分，棕褐色为3分。将两项得分相加进行综合判断：1分为(-)，2~3分为(+)，4~5分为(++)，6~7分为(+++)，将(-)和(+)归于低表达，(++)和(+++)为高表达。

1.2.4 随访 所有患者均进行门诊或电话随访追踪，截止2022年6月，中位随访期为16个月。其中存活39例，死亡44例。

1.3 统计学方法 采用SPSS 23.0统计软件，计数资料以率表示，组间比较用  $\chi^2$  检验。相关性采用Spearman相关分析。P<0.05表示有统计学意义。

## 2 结果

2.1 LMTK3、caspase 3、caspase 7在不同胰腺组织中的表达 与癌旁正常组织比较，癌组织中的LMTK3高表达率明显提高(P<0.05)，而caspase 3和caspase 7高表达率明显降低(P<0.05)，见表1。相关性分析显示，癌组织中LMTK3的表达与caspase 3、caspase 7均呈负相关(r=-0.628、-0.697，P=0.021、0.015)，caspase 3与caspase 7呈正相关(r=0.847，P=0.006)。

2.2 LMTK3、caspase 3、caspase 7与胰腺导管腺癌临床病理特征之间的关系 LMTK3的表达与胰腺导管腺癌的临床病理特征之间均无明显关系(P>0.05)，caspase 3的表达与年龄、有无神经侵犯有关(P<0.05)，caspase 7的表达与肿瘤直径、有无淋巴结转移有关(P<0.05)，见表2。

2.3 LMTK3、caspase 3、caspase 7的表达与胰腺导管腺癌预后的关系 存活患者与死亡患者 LMTK3、caspase 3、caspase 7的表达均无明显差异(P>0.05)，见表3。

## 3 讨论

LMTK3在一些癌症中的应用前景十分可观，尤其是在乳腺癌中，LMTK3磷酸化和调节雌激素受体- $\alpha$ 的活性对雌激素受体阳性细胞的生长至关重要，被确定为辅助性乳腺癌内分泌治疗耐药相关的调节靶点<sup>[6]</sup>。LMTK3可以催化蛋白质磷酸化，直接或间接参与多种细胞信号通路的转导，如雌激素受体通路、Wnt信号通路和叉头盒O3通路等<sup>[4-6]</sup>。然而其在PDAC中的生物学作用尚不清楚。在这项研究中，我们证明LMTK3在PDAC中呈过度表达，亦提示LMTK3在PDAC中扮演着致癌性的角色。以往研究表明，LMTK3的高表达往往与肿瘤的发生、进展和预后显著相关，

LMTK3的过表达加速了肿瘤细胞的分散和侵袭，这是转移过程的第一步<sup>[4,7]</sup>。然而我们的研究结果却显示LMTK3与PDAC患者的临床病理特征均无关，这无法进一步证明LMTK3对PDAC的生物学行为具有促进作用，并且存活者和死亡者的LMTK3表达亦无明显差异，这使得LMTK3对PDAC的意义与价值显得苍白，与我们的期望有一定偏差。由于目前尚无LMTK3与胰腺癌关系的研究，故无法与其他研究形成对比。

强有力的证据表明，肿瘤生长不仅是细胞增殖失控的结果，也是细胞凋亡减少的结果。细胞凋亡是一个基本而复杂的生物学过程，caspase因诱导细胞凋亡功能为闻名。在哺乳动物中，caspase在蛋白酶级联中被激活，导致关键结构蛋白和重要信号、稳态和修复酶的异常激活或快速失能<sup>[8]</sup>。Caspase-3处在Caspase级联反应的最下游，是caspase家族中最主要的执行蛋白酶之一，可由内在(线粒体)和外在(死亡配体)途径激活，通过降解底物诱导细胞凋亡。Caspase-3在胰腺癌中的表达情况仍存在争议，蒲竞等<sup>[9]</sup>研究显示，caspase-3在胰腺癌与癌旁组织中的表达并无明显差异，且肿瘤分化越低，越容易呈现为强阳性表达。赵甦等<sup>[10]</sup>研究显示，caspase 3在胰腺癌组织中的表达远高于癌旁组织，并认为caspase 3对胰腺癌的影响主要在于早期，对后续临床分期的进展影响较小。而本研究却显示，caspase 3在胰腺癌组织中的表达低于癌旁组织，提示caspase 3在胰腺癌中的表达受到抑制。至于其是如何受到抑制的尚不清楚，可能与炎症环境有关。动物实验表明，白细胞介素-6可通过下调Caspase-3和Bax的表达，上调Bcl-2的表达，调控细胞凋亡信号通路，促进胰腺癌生长增殖<sup>[11]</sup>。caspase 3的表达受到抑制，凋亡信号途径受影响，导致肿瘤细胞的凋亡减少，从而促使PDAC的发生和发展。有神经侵犯者，caspase 3的表达明显低于无神经侵犯者，可见caspase 3的表达受抑制对PDAC的生物学行为具有促进作用。此外，年龄也可能影响caspase 3的表达，但其中的机理不清楚。不过遗憾的是，caspase 3对预测PDAC的预后似乎无较大价值。

另一种caspase家族成员caspase 7在细胞凋亡中亦起到主导作用<sup>[12]</sup>，本结果提示它也参与了PDAC的发生，并且与caspase 3的表达呈明显正相关，二者在PDAC的发生中具有协同作用。随着肿瘤直径的增大以及发生淋巴结转移，caspase 7的表达会随之降低。同样它的表达水平并不会影响PDAC患者的预后。尽管

表1 LMTK3、caspase 3、caspase 7在不同胰腺组织中的表达[n(%)]

组别	LMTK3		caspase 3		caspase 7	
	低表达	高表达	低表达	高表达	低表达	高表达
癌组织(n=83)	38(45.78)	45(54.22)	55(66.27)	28(33.73)	49(59.04)	34(50.96)
癌旁正常组织(n=83)	52(62.65)	31(37.35)	37(44.58)	46(55.42)	33(39.76)	50(60.24)
t	4.757		7.900		6.170	
p	0.029		0.005		0.013	

表3 LMTK3、caspase 3、caspase 7与胰腺导管腺癌预后的关系

预后	LMTK3		caspase 3		caspase 7	
	低表达	高表达	低表达	高表达	低表达	高表达
存活(n=39)	21(53.84)	18(46.16)	14(35.90)	25(64.10)	28(71.79)	11(28.21)
死亡(n=44)	24(54.55)	20(45.45)	25(56.82)	19(43.18)	30(68.18)	14(31.82)
$\chi^2$	0.004		3.633		0.128	
p	0.949		0.057		0.720	

**表2 LMTK3、caspase 3、caspase 7与胰腺导管腺癌临床病理特征之间的关系[n(%)]**

组别	LMTK3		x <sup>2</sup>	P	caspase 3		x <sup>2</sup>	P	caspase 7		x <sup>2</sup>	P
	低表达	高表达			低表达	高表达			低表达	高表达		
年龄 <65岁(n=51)	20(39.22)	31(60.78)	2.299	0.129	39(76.47)	12(23.53)	6.163	0.013	28(54.90)	23(45.10)	0.935	0.334
年龄 ≥65岁(n=32)	18(56.25)	14(43.75)			16(50.00)	16(50.00)			21(65.63)	11(34.37)		
性别 男(n=49)	22(44.90)	27(55.10)	0.005	0.944	31(63.27)	18(36.73)	0.482	0.488	31(63.27)	18(36.73)	0.885	0.347
性别 女(n=34)	15(44.12)	19(55.78)			24(19.25)	10(19.25)			18(52.94)	16(47.06)		
肿瘤位置 头(n=60)	30(50.00)	30(50.00)	1.551	0.213	39(77.18)	21(19.25)	0.155	0.694	34(56.67)	26(43.33)	0.503	0.478
肿瘤位置 体尾(n=23)	8(34.78)	15(65.22)			16(19.25)	7(19.25)			15(65.21)	8(35.79)		
肿瘤直径 ≤2cm(n=37)	16(43.24)	21(56.76)	0.174	0.677	26(70.27)	11(29.73)	0.479	0.489	13(35.14)	24(64.86)	15.770	<0.001
肿瘤直径 >2cm(n=46)	22(47.83)	24(52.27)			29(63.04)	17(36.96)			36(78.26)	10(21.74)		
TNM分期 I (n=15)	9(60.00)	6(40.00)	0.842	0.174	7(40.00)	9(60.00)	0.636	0.407	10(66.67)	5(33.33)	1.052	0.091
TNM分期 II (n=48)	19(39.58)	29(60.42)			34(70.83)	14(29.27)			22(45.83)	26(54.17)		
TNM分期 III(n=20)	10(50.00)	10(50.00)	0.010	0.920	15(75.00)	5(25.00)	3.747	0.053	17(85.00)	3(25.00)	13.417	<0.001
淋巴结转移 无(n=41)	19(46.34)	22(53.66)			23(56.10)	18(43.90)			16(39.02)	25(60.97)		
淋巴结转移 有(n=42)	19(45.24)	23(54.76)	0.086	0.757	32(76.19)	10(23.81)	17.868	<0.001	33(78.57)	9(21.43)	0.096	0.757
神经侵犯 无(n=21)	13(61.90)	8(38.10)			6(28.57)	15(71.43)			13(61.90)	8(38.10)		
神经侵犯 有(n=62)	25(40.23)	37(59.68)	2.944		49(79.03)	13(20.97)			36(58.06)	26(41.94)		

相关性分析，LMTK3、caspase 3、caspase 7三者之间在PDAC中的表达均具有相关性，但相对而言，caspase 3和caspase 7与PDAC的关系似乎比LMTK3与PDAC的关系更密切，在PDAC中，caspase 3和caspase 7可能更具有开发价值。

综上所述，LMTK3、caspase 3、caspase 7是否有望成为PDAC的干预靶点仍需大量深入研究。

**参考文献**

[1] Wang K, Jiang S, Huang A, et al. GOLPH3 Promotes Cancer Growth by Interacting With STIP1 and Regulating Telomerase Activity in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma[J]. *Frontiers in Oncology*, 2020, 10: 575358.  
 [2] 曹营营, 郭凯, 任帅, 等. 胰腺癌T分期的MDCT评估与病理对照研究[J]. *中国CT和MRI杂志*, 2023, 21(1): 106-108.  
 [3] 李晨. 磷酸肌酸钠联合新活素对心肌梗死PCI术后心力衰竭患者心肌损伤标志水平和预后的影响[J]. *罕少疾病杂志*, 2022, 29(3): 3.  
 [4] 李悦, 邹彦, 冯继红, 等. 狐猴酪氨酸激酶3与多种恶性肿瘤的关系研究进展[J]. *山东医药*, 2019, 59(8): 89-92.  
 [5] Fassan M, Cui R, Gasparini P, et al. miR-224 Is Significantly Upregulated and Targets Caspase-3 and Caspase-7 During Colorectal Carcinogenesis[J]. *Translational Oncology*, 2019, 12(2): 282-291.

[6] Allam L, Lakhili W, Tarhda Z, et al. Three-dimensional Structure Prediction of the Human LMTK3 Catalytic Domain in DYG-in Conformation[J]. *Journal of Biomolecular Research & Therapeutics*, 2017, 6(1): 1-7.  
 [7] 全祯豪, 黄昕, 林琳, 等. 高迁移率族蛋白B1和狐猴酪氨酸激酶-3在结肠癌组织的表达及其临床意义[J]. *中华实验外科杂志*, 2021, 38(5): 922-924.  
 [8] Liu M W, Wei R, Su MX, et al. Effects of Panax notoginseng saponins on severe acute pancreatitis through the regulation of mTOR/Akt and caspase-3 signaling pathway by upregulating miR-181b expression in rats[J]. *Bmc Complementary & Alternative Medicine*, 2018, 18(1): 51-64.  
 [9] 蒲竞, 李汛, 朱骏, 等. PARP-1和caspase-3在胰腺癌及癌旁组织中的表达及意义[J]. *临床肝胆病杂志*, 2016, 32(2): 337-341.  
 [10] 赵甦, 崔卫东, 宋伟华. survivin和caspase 3蛋白在胰腺癌组织中的表达及与胰腺癌患者临床特征的关系[J]. *癌症进展*, 2018, 16(10): 1275-1278.  
 [11] 马永超, 杜晓鹏, 李海龙, 等. 白细胞介素-6对胰腺癌荷瘤小鼠移植瘤生长及Caspase-3/Bax/Bcl-2信号通路的影响[J]. *解剖学报*, 2020, 51(2): 216-219.  
 [12] Safari F, Farajnia S, Behbahani A B, et al. Caspase-7 deficiency in Chinese hamster ovary cells reduces cell proliferation and viability. 2021, 53: 52.

(收稿日期: 2022-09-09)  
(校对编辑: 谢诗婷)