

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.25.038

胃癌组织中的 MUC1 和 VEGF 表达及其意义*

周红凤¹ 付冬伟² 胡晓薇¹ 栾英红³ 岳晓龙¹ 刘文涛¹ 刘 丹¹ 刘文明¹ 张 锐¹
吴 瑾^{1△}

(1 哈尔滨医科大学附属第三医院内科 黑龙江 哈尔滨 150081; 2 黑龙江省农垦总医院 黑龙江 哈尔滨 150088;

3 哈尔滨市第七医院 黑龙江 哈尔滨 150050)

摘要 目的:检测胃癌组织中 VEGF 和 MUC1 的表达情况,研究二者与胃癌生物学行为之间的关系。**方法:**应用免疫组织化学 SP 法检测 VEGF 和 MUC1 在胃癌组织和癌旁组织中的表达情况。**结果:**胃癌组织中 VEGF 的阳性表达明显高于癌旁组织,两者之间差异存在统计学意义($P < 0.05$),VEGF 在胃癌组织中的表达与胃癌浸润深度、有无远处转移、有无淋巴结转移、TNM 分期有关,之间差异存在统计学意义($P < 0.05$);胃癌组织中 MUC1 的阳性表达明显高于癌旁组织,两者之间差异存在统计学意义($P < 0.05$),MUC1 在胃癌组织中的表达与分化程度、TNM 分期、淋巴结转移、远处转移有关,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);胃癌患者组织 VEGF 与 MUC1 的表达水平呈正相关($r = 0.210, P < 0.05$)。**结论:**VEGF 和 MUC1 在胃癌发生、发展和转移过程中起重要作用,可能成为检测胃癌的重要肿瘤标志物。

关键词:胃癌; VEGF; MUC1

中图分类号:R735.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)25-4950-04

Expression and Significance of MUC1 and VEGF in Gastric Cancer*

ZHOU Hong-feng¹, FU Dong-wei², HU Xiao-wei¹, LUAN Ying-hong³, YUE Xiao-long¹, LIU Wen-tao¹, LIU Dan¹, LIU Wen-ming¹,

ZHANG Kun¹, WU Jin^{1△}

(1 Internal medicine, The third Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150081, China;

2 Agricultural Reclamation General Hospital in Heilongjiang Province, Harbin, Heilongjiang, 150088, China;

3 The Seventh Hospital of Harbin City, Harbin, Heilongjiang, 150050, China)

ABSTRACT Objective: To detect the expression of VEGF and MUC1 in gastric cancer, and study its relationship with gastric cancer biological behavior. **Methods:** By using immunohistochemical SP method to detect the expression of MUC1 and VEGF in gastric cancer. **Results:** Positive expression of VEGF in gastric cancer tissues is obviously higher than that in tissue adjacent to carcinoma, the differences exist statistical significance ($P < 0.05$), the expression of VEGF in gastric cancer tissues is related to gastric cancer infiltration depth, presence of distant metastases, with lymph node metastasis or not. TNM staging, the differences exist between statistical significance ($P < 0.05$). Positive expression of MUC1 in gastric cancer tissues is obviously higher than that in tissue adjacent to carcinoma, the differences exist statistical significance ($P < 0.05$), the expression of MUC1 in gastric cancer tissues is related to gastric cancer infiltration depth, presence of distant metastases, with lymph node metastasis or not. TNM staging, the differences exist between statistical significance ($P < 0.05$). VEGF expression levels are positively correlated with MUC1 in gastric cancer tissues ($r = 0.210, P < 0.05$). **Conclusion:** VEGF and MUC1 play an important role in the process of gastric cancer occurrence, development and metastasis, making them become an important tumor markers in the detection of gastric cancer.

Key words: Gastric cancer; VEGF; MUC1

Chinese Library Classification: R735.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)25-4950-04

前言

胃癌是一种常见的消化道恶性肿瘤,在我国每年约有 30 万新发病例,另有近 24.4 万人死于胃癌^[1]。尽管目前胃癌的防治工作已取得显著的成效,但许多病人仍死于手术后的复发和广泛转移。因此,对胃癌发生、发展、转移机制的研究已成为当前的主要任务之一。本研究拟用免疫组织化学 SP 法检测胃癌组织中血管内皮生长因子(VEGF)和粘蛋白 1(MUC1)表达情

况,探讨二者在胃癌的生长与转移过程中的作用和临床意义。

1 材料与方法

1.1 材料

病例选自哈尔滨医科大学附属第三医院 2004 年至 2005 年一年间胃癌住院患者共 73 例,平均年龄 59.21 岁。所选病例在术前未进行过任何治疗,术后病理结果均为胃癌,并且每例患者都有完整的临床资料。我们采用 1988 年 UICC 颁布的胃

* 基金项目:黑龙江省教育厅科技技术研究(面上)项目(11541173)

作者简介:周红凤(1971-),女,博士,副主任医师,主要研究方向:主要从事消化道肿瘤的诊断、治疗方面的研究,

E-mail: 13351782022@163.com

△通讯作者:吴瑾,电话:0451-86298730, E-mail: 710404-710516@163.com

(收稿日期:2014-04-30 接受日期:2014-05-27)

癌分期标准进行临床分期,其中Ⅰ、Ⅱ期共34例,Ⅲ、Ⅳ期共39例;伴淋巴结转移的有54例,19例不伴淋巴结转移;有12例远处转移,61例无远处转移。所选病例中有30例高中分化腺癌,43例低分化腺癌;癌旁组织标本20例,均取自胃癌行胃切除的癌旁2cm组织标本,组织学检查为正常胃黏膜(经免疫组化染色镜证实无癌组织及癌前病变)。

1.2 主要试剂

试验所用试剂全部购自福州迈新生物技术开发有限公司,包括DAB显色试剂盒、鼠抗人VEGFmAb、羊抗人MUC1多克隆抗体(SANTA CRUZ),SP免疫组化试剂盒。

1.3 试验方法

1.3.1 采用S-P法检测胃癌组织MUC1、VEGF中的表达情况,方法如下: (1)对每张切片进行脱蜡水化后,冲洗三次(用PBS液,每次5min)。(2)对组织抗原进行相应的修复(VEGF用pH8.0的EDTA消化液于微波炉沸腾后持续20min,冷却30min取出,用于MUC1的标本采用柠檬酸缓冲液高压热力修复)。(3)封闭内源性过氧化物酶的活性:加3% H₂O₂ 50 μL,室温孵育20min,PBS冲洗三次,每次5min(3×5')。(4)非免疫动物血清封闭10min。(5)除去非免疫动物血清,并用PBS液冲洗三次,每次5min(3×5')。(6)除去PBS液,每张切片加入50 μL羊抗人MUC1单克隆抗体或每张切片加50 μL鼠抗人VEGF单克隆抗体(兔抗人单克隆抗体),4℃冰箱过夜。(7)PBS冲洗三次,每次5min(3×5'),除去PBS液,每张切片加50 μL聚合物增强剂(KIT5020),室温下孵育20min,PBS冲洗三次,每次5min(3×5')。(8)DAB显色:滴加新鲜配制的DAB溶液50 μL进行显色,显微镜下观察,持续3~5min。(9)用自来水冲洗后苏木素复染,0.1% HCL分化,自来水冲洗,返蓝。(10)切片经梯度酒精脱水干燥,二甲苯透明,中性树胶封固。

1.3.2 对照实验 在每次染色流程中均按染色质量控制标准设有对照。阳性对照为阳性VEGF、MUC1大肠癌切片,阴性对照为PBS代替一抗。

1.4 结果判读

VEGF阳性表达的判定:VEGF主要在癌细胞质中着色,为散在或弥漫的棕黄色颗粒。着色细胞数≥10%为阳性,着色细胞数<10%为阴性^[2]。MUC1阳性表达判定:MUC1阳性着色位于癌细胞的细胞浆和(或)细胞膜内出现棕色或棕黄色细颗粒为阳性细胞,每高倍视野下,阳性细胞<25%为阴性(-),25%-50%为弱阳性(+),51%-75%为阳性(++),>75%为强阳性(+++),其中(-)和(+)为阴性,(++)和(+++)为阳性^[3]。

1.5 统计学分析

数据资料以Microsoft Excel软件录入计算机,所有数据均采用SPSS10.0软件包进行处理,相关性分析采用Spearman等级相关进行处理,采用χ²检验进行计数资料分析,以P<0.05为有统计学意义。

2 结果

2.1 VEGF和MUC在胃癌组织中的表达

VEGF的阳性表达主要集中在癌细胞质中(如图1a)。VEGF在20例癌旁组织标本中无阳性表达(见图1b),VEGF在73例胃癌组织标本中阳性表达率达71.2%,对两者进行比较显示存在统计学差异(P<0.05,见表1)。VEGF与胃癌的浸润深度、有无远处转移、有无淋巴结转移、TNM分期有关,之间差异存在统计学意义(P<0.05,见表1),而与年龄、性别及分化程度无关(P>0.05,见表1)。MUC1阳性着色位于癌细胞的细胞浆和(或)细胞膜内出现棕色或棕黄色细颗粒为阳性细胞(见图2a),MUC1在20例癌旁组织标本中有1例是阳性表达,MUC1在73例胃癌组织标本中阳性表达47例,阳性率达64.4%,对两者进行比较显示存在统计学差异(P<0.05,见表1)。MUC1与胃癌的TNM分期、分化程度、伴或不伴淋巴结转移,是否有远处转移相关(P<0.05,表1)。

2.2 胃癌组织中VEGF的和MUC1的相关性

胃癌患者组织VEGF阳性表达与MUC1的阳性表达呈正相关(r=0.210, P<0.05)。

表1 胃癌患者组织MUC1和VEGF表达与临床病理特征的关系

Table 1 The relationship of MUC1,VEGF expression and clinical pathological factors of gastric cancer

Clinical features		n	MUC1[+(%)]	P	VEGF[+(%)]	P
Gender;	Male	59	38(64.4)	>0.05	41(69.5)	>0.05
	Female	14	9(64.3)		11(78.6)	
Age(Years)	<60	37	25(67.6)	>0.05	25(67.6)	>0.05
	≥60	36	22(61.1)		27(75.0)	
Pathology Degree	High/ Middling	30	13(43.3)	<0.05	21(70.0)	>0.05
	Low	43	34(79.1)		31(72.1)	
Invading the serosa	No	16	9(56.2)	>0.05	5(31.3)	<0.05
	Yes	57	38(66.6)		47(82.5)	
Lymphatic metastasis	No	19	8(42.1)	<0.05	7(36.8)	<0.05
	Yes	54	39(72.2)		45(83.3)	
TNM	Phase I+II	34	14(41.2)	<0.05	20(58.8)	<0.05
	Phase III+IV	39	33(84.6)		32(82.1)	
Distant metastases	No	61	37(60.7)	<0.05	34(55.7)	<0.05
	Yes	12	10(83.3)		12(100)	
Total		73	47(64.4)		52(71.2)	
para-carcinoma tissue		20	1(5)	<0.05	0(0)	<0.05

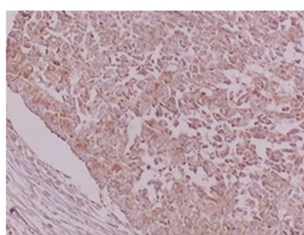


图 1a VEGF 在胃癌组织中的阳性表达 (SP× 100)

Fig.1a VEGF positive expression in gastric cancer tissue (SP× 100)

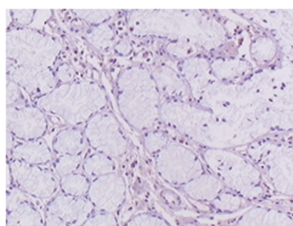


图 1b VEGF 在胃癌组织中的阴性表达 (SP× 100)

Fig.1b VEGF negative expression in gastric cancer tissue (SP× 100)

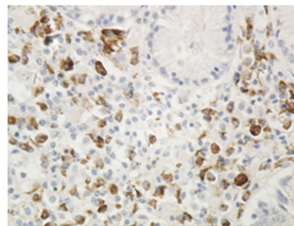


图 2a 胃癌组织中 MUC1 呈阳性表达 (SP× 100)

Fig.2a MUC1 positive expression in gastric cancer tissue (SP× 100)

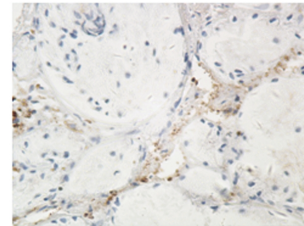


图 2b 胃癌组织中 MUC1 呈阴性表达 (SP× 100)

Fig.2b MUC1 negative expression in gastric cancer tissue (SP× 100)

3 讨论

胃癌是我国发病率及死亡率最高的恶性肿瘤之一,胃癌的发生、发展是一个多因素、多步骤的过程。胃癌死亡率高主要是因为肿瘤出现转移引起,血管生成和肿瘤的侵袭和粘附过程在肿瘤转移中起到至关重要的作用。VEGF 是重要的血管生成促进因子,而 MUC1 是参与肿瘤侵袭和转移的黏附过程的众多因子中最为主要的一个。

自从 Folkman 首先报道新血管生成是肿瘤细胞生长和转移的必备条件,在新血管生成的过程中,VEGF 起了非常重要的作用^[4,5]。随着肿瘤血管化,活化的基因调节细胞粘附,细胞活性的破坏使初级肿瘤细胞扩散,以及允许分离肿瘤细胞在整个血液循环中播散,引起血行转移^[6]。有研究报道^[7,8]在大部分哺乳动物肿瘤中 VEGF 呈阳性表达,它对血管生成有调节作用,并具有对上皮细胞的选择性和对血管内皮细胞的增殖和迁移具有促进作用,使微小血管的通透性增加,对基质降解起到促进作用,并通过以上机制促进肿瘤新生血管形成,引起肿瘤的浸润和转移^[9-11]。本研究的结果显示:VEGF 在胃癌组织中的表达明显高于癌旁组织,这与 Lieto^[12]等研究结果类似。有学者报道^[13] VEGF 尽管不是肿瘤的独立预后因子,但 TNM 分期、淋巴结转移状态和远处转移均与 VEGF 的表达有关,对预后起到间接的预测作用,这与我们的研究结果类似。我们的研究结果显示 VEGF 阳性表达在胃癌 TNM 分期(III+IV 期)、有淋巴结转移、有远处转移组明显高于 TNM (I+II 期)、无淋巴结转移、无远处转移组 ($P < 0.05$, 见表 1),而与年龄、性别及分化程度无关 ($P > 0.05$, 见表 1)。这说明 VEGF 可能与胃癌的发生、侵袭和转移有着密不可分的关系,检测胃癌组织中 VEGF 的表达有助于对胃癌患者的预后判断有帮助。

MUC1 是一种高分子量横跨膜的黏液蛋白,在大多数肿瘤组织中 MUC1 呈高表达^[14-16],而在正常的腺细胞中表达很低,免疫系统不容易识别它。而在癌组织表面 MUC1 出现糖基化不完全或畸形糖基化,易被免疫系统识别,因此成为肿瘤特异性抗原。粘附是肿瘤侵袭和转移的主要原因之一,在肿瘤完成转移的过程中,MUC1 作为一种粘蛋白能增强癌细胞与基底膜蛋白的粘附力,使癌细胞更易黏附在基底膜上,从而出现侵袭转移^[17]。因此肿瘤组织中 MUC1 高表达与肿瘤的侵袭转移及预后不良密切相关^[18],但目前胃癌发生、发展和转移的过程中

MUC1 作用还有待于进一步的研究^[19]。我们的研究结果表明 MUC1 阳性着色位于癌细胞的细胞浆和(或)细胞膜内出现棕色或棕黄色细颗粒为阳性细胞,MUC1 在胃癌组织中的阳性表达明显高于癌旁组织 ($P < 0.05$),而且与胃癌的分化程度、TNM 分期、淋巴结转移情况和远处转移情况有关 ($P < 0.05$)。这与国外学者 Ilhan O^[20]的研究结果相似。

本研究结果还显示胃癌组织中 VEGF 和 MUC1 表达呈正相关,说明二者在胃癌发生、发展和转移过程中可能存在协同作用,但其机制还不清楚,国外也曾有报道显示 VEGF 和 MUC1 在乳腺癌中存在相关性^[21],但国内在这方面还未见相关报道,我们的研究样本数比较少,因此这一结果还有待于扩大样本数来进一步证实。

综上所述,VEGF 可以促进肿瘤血管生成,MUC1 能增强肿瘤细胞的粘附能力,二者均与胃癌的发生、发展和转移密切相关,可以联合检测胃癌组织中 VEGF 和 MUC1 的表达情况,对正确评估胃癌的生物学行为有重要意义。

参考文献(References)

- [1] Liu Zheng-xin. Early know stomach cancer [J]. Cancer Frontier, 2011 (1): 58-59
- [2] 周红凤, 吴瑾, 陈桂云, 等. 乳腺癌组织和血清中 VEGF, bFGF 的表达和微血管密度的关系 [J]. 哈尔滨医科大学学报, 2012, 46(3): 248-256
Zhou Hong-feng, Wu Jin, Chen Gui-Yun, et al. Expression and clinical significance of VEGF, bFGF and MVD in breast cancer [J]. Journal of Harbin Medical University, 2012, 46(3): 248-256
- [3] 乔玉环, 郭瑞霞, 孙莹璞, 等. 上皮性卵巢肿瘤 Maspin 基因的表达 [J]. 中国妇产科杂志, 1998, 33(10): 632-633
Qiao Yu-huan, Guo Rui-xia, Sun Ying-pu, et al. Gene expression of Maspin in Epithelial ovarian cancer [J]. Chin J Obstet Gynecol, 1998, 33(10): 632-633
- [4] Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications[J]. The New England journal of medicine, 1971, 285(21): 1182-1186
- [5] Kerbel RS. Tumor angiogenesis [J]. The New England journal of medicine, 2008, 358(19): 2039-2049
- [6] Tsoutsou PG, Koukourakis ML. Angiogenesis and bone metastasis: implications for diagnosis, prevention and treatment. (Cancer Metastasis-Biology and Treatment)[J]. Bone Metastases, 2009, 12: 51-76
- [7] Farhat FS, Tfayli A, Fakhruddin N, et al. Expression, prognostic and predictive impact of VEGF and bFGF in non-small cell lung cancer

- [J]. Critical reviews in oncology/hematology, 2012, 84(2): 149-160
- [8] Cao D, Hou M, Guan YS, et al. Expression of HIF-1 α and VEGF in colorectal cancer: association with clinical outcomes and prognostic implications[J]. BMC cancer, 2009, 9: 432-432
- [9] Xu QB. Endothelial progenitor cells in angiogenesis [J]. Acta Physiologica Sinica, 2005, 57(1): 1-6
- [10] Bose D, Meric-Bernstam F, Hofstetter W, et al. Vascular endothelial growth factor targeted therapy in the perioperative setting: implications for patient care[J]. Lancet Onco, 2010, 11(4): 373-382
- [11] Kessenbrock K, Plaks V, Werb Z. Matrix metalloproteinases: regulators of the tumor microenvironment[J]. Cell, 2010, 141(1): 52-67
- [12] Lieto E, Ferraraccio F, Orditura M, et al. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and epidermal growth factor receptor (EGFR) is an independent prognostic indicator of worse outcome in gastric cancer patients[J]. Ann Surg Onco, 2008, 15(1): 69-79
- [13] Mysliwiec P, Pawlak K, Kukliński A, et al. Combined perioperative plasma endoglin and VEGF--a assessment in colorectal cancer patients[J]. Folia histochemica et cytobiologica/ Polish Academy of Sciences, Polish Histochemical and Cytochemical Society, 2009, 47(2): 231-236
- [14] Singh AP, Chauhan SC, Bafna S, et al. Aberrant expression of transmembrane mucins transmembrane, MUC1 and MUC4 in human prostate carcinomas[J]. Prostate, 2006, 66(4): 421-429
- [15] Baldus SE, Wienand JR, Werner JP, et al. Expression of MUC1, MUC2 and oligosaccharide epitopes in breast cancer: prognostic significance of a sialylated MUC1 epitope [J]. Int J Oncol, 2005, 27(5): 1289-1297
- [16] Von Mensdorff-Pouilly S, Snijdwint FG, Verstraeten AA, et al. Human MUC1 mucin: a multifaceted glycoprotein[J]. Int J Biol Markers, 2000, 15(4): 343-356
- [17] McAuley JL, Linden SK, Png CW, et al. MUC1 cell surface mucin is a critical element of the mucosal barrier to infection [J]. J Clin Invest, 2007, 117(8): 2313-2324
- [18] Mylonas I, Mayr D, Walzel H, Shabani N, et al. Mucin 1, Thomsen-Friedenreich expression and galectin-1 binding in endometrioid adenocarcinoma: an immunohistochemical analysis [J]. Anticancer Res, 2007, 27(4A): 1975-1980
- [19] Costa NR, Paulo P, Caffrey T, et al. Impact of MUC1 mucin down-regulation in the phenotypic characteristics of MKN45 gastric carcinoma cell line[J]. PLoS One, 2011, 6(11): 26970
- [20] Ilhan O, Han U, Onal B, et al. Prognostic significance of MUC1, MUC2 and MUC5AC expressions in gastric carcinoma [J]. Turk J Gastroenterol, 2010, 21(4): 345-352
- [21] Zanetti JS, Soave DF, Oliveira-Costa JP, et al. The role of tumor hypoxia in MUC1-positive breast carcinomas [J]. Virchows Arch, 2011, 459(4): 367-375

(上接第 4949 页)

- [10] Kathrin D, Nicole R, Christian J. Health-related quality of life questionnaires in lung cancer trials: a systematic literature review [J]. Health Economics Review, 2013, 3(1):15
- [11] Everardo DS, Krzysztof A, Artur K, et al. Assessment of quality of life in advanced non-small-cell lung cancer: An overview of recent randomized trials [J]. Cancer Treatment Reviews, 2012, 38 (6): 807-814
- [12] Barbara M, Antonietta A. Assessing quality of life in long-term cancer survivors: a review of available tools [J]. Support Care Cancer, 2013, 21(6): 3143-3152
- [13] 张元云, 郭杰. 乳腺癌术后患者的健康教育[J]. 现代中西医结合杂志, 2001, 10(9): 881-882
- Zhang Yuan-yun, Guo Jie. Health education on patients after breast cancer operation [J]. Modern Integrated Tcm-wm Journal, 2001, 10 (9): 881-882
- [14] 杨新月. 护理学导论[M]. 高等教育出版社, 2004: 12
- Yang Xin-yue. Nursing introduction[M]. Tertiary Education Publishing Company, 2004: 12
- [15] Kristine KB, Amy KF, Gregory AO, et al. A Psychometric analysis of quality of life tools in lung cancer patients who smoke [J]. Lung Cancer, 2009, 66(1): 134-139
- [16] Salvo N, Hadi S, Napolskikh J, et al. Quality of life measurement in cancer patients receiving palliative radiotherapy for symptomatic lung cancer: a literature review[J]. Current Oncology, 2009, 16(2):16-28
- [17] 李哲, 杨三虎, 黄立军, 等. 全肺切除术对非小细胞肺癌患者术后肺功能及生活质量影响的临床研究 [J]. 中国现代手术学杂志, 2013, 17(2): 85-89
- Li Zhe, Yang San-hu, Huang Li-jun, et al. A clinical study of long-term quality of the patients' life after pneumonectomy for NSCLC[J]. China modern surgery Journal, 2013, 17(2):85-89
- [18] 王涛, 李小飞, 韩勇, 等. 非小细胞肺癌不同肺叶切除术后对患者生活质量影响的研究 [J]. 现代生物医学进展, 2012, 12 (05): 885-889, 903
- Wang Tao, Li Xiao-fei, Han Yong, et al. Research on life quality of NSCLC patients after different pulmonary lobectomy [J]. Progress in modern biomedicine, 2012, 12(05): 885-889, 903
- [19] Rowen D, Brazier J, Young T, et al. Deriving a preference-based measure for cancer using the EORTC qlq-c30[J]. Value Health, 2011, 14(5): 721-731
- [20] Biere SS, Peet DL, Cuesta MA. Long-term health-related quality of life following surgery for oesophageal cancer [J]. Br J Surg, 2009, 96 (1):119-120
- [21] 李燕飞. 术后病人疼痛评估及镇痛的护理进展 [J]. 医学理论与实践, 2009, 22(03): 276-278
- Li Yan-fei. Nursing Care progression of pain evaluation and analgesia of patients postoperative [J]. Medicine Theory and Practice, 2009, 22 (03):276-278