

胃癌组织中 Maspin 蛋白与血管内皮生长因子-C 的表达及其相关性

白玉贤¹, 易继林², 王树叶¹

Association between Maspin Protein and Vascular Endothelial Growth Factor-C Expression in Gastric Cancer

BAI Yu-xian¹, JI Rui-lin², WANG Shu-ye¹

1. Department of Chemotherapy, Tumor Hospital affiliated to Harbin Medical University, Harbin, 150081, China; 2. Department of General Surgery, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology

Abstract Objective To explore the association between Maspin protein and Vascular Endothelial Growth Factor-C expression in Gastric Cancer. **Methods** Maspin and VEGF-C proteins were detected in formalin-fixed paraffin-embedded tissue specimens from 61 cases of gastric cancer tissues treated from 2002 to 2003 in Tumor Hospital affiliated to Harbin Medical University by S-P immunohistochemical method. To analyze the level of their expression different clinical and pathological characteristics. **Results** The positive rate of maspin protein expression was 50.8% (31/61) in gastric carcinoma. Maspin expression in gastric carcinoma with lymph node metastasis was significantly lower than that in those without metastasis (32.6% vs 94.4%, $P=0.000$), and down regulation of the expression level was associated with poorly differentiated phenotype, late TNM stage and direct invasion around stomach ($P=0.018, 0.011$ and 0.028 , respectively). The positive rate of VEGF-C expression was 86.9% (53/61) in gastric carcinoma. The positive rate of VEGF-C expression in gastric cancerous tissues with lymph node metastasis was higher than that in non-metastasis (95.3% vs 66.7%, $P=0.006$). The expression of maspin protein was negative associated with the expression of VEGF-C by statistically analysis (spearman $r=0.429$ $P=0.001$). **Conclusion** Expression of maspin shows down regulation in gastric cancer. It is correlated to the malignant biological behaviors of gastric carcinoma. VEGF-C is well associated with proliferation and dilation of lymphatic vessels. There is a negative correlation between the expression of Maspin and VEGF-C.

Key words: Gastric carcinoma; Maspin; Vascular endothelial growth factor-C (VEGF-C);

摘要:目的 探讨胃癌组织中 Maspin 蛋白与血管内皮生长因子-C (VEGF-C) 的表达及其相关性。方法 收集哈尔滨医科大学附属肿瘤医院 2002 年~2003 年间手术切除的胃癌组织石蜡标本 61 例, 采用免疫组化技术检测胃癌组织中 Maspin 蛋白与血管内皮生长因子-C (VEGF-C) 的表达情况, 结合临床病理特征进行分析, 并探讨两者蛋白表达水平的相关性。结果 Maspin 蛋白的阳性表达率为 50.8% (31/61)。淋巴结转移阳性组织中 Maspin 蛋白的阳性表达率明显低于淋巴结转移阴性的组织 (32.6% vs 94.4%, $P=0.000$)。且 Maspin 蛋白在组织分化较低, TNM 分期较晚, 周围有肿瘤浸润的病例中表达率显著降低 (P 分别为 0.018, 0.011 和 0.028)。VEGF-C 在胃癌组织中的阳性表达率为 86.9% (53/61)。淋巴结转移阳性组织中 VEGF-C 蛋白的阳性表达率明显高于淋巴结转移阴性的组织 (95.3% vs 66.7%, $P=0.006$)。Maspin 蛋白与 VEGF-C 在胃癌组织的表达存在负相关 (Spearman $r=-0.429$, $P<0.05$)。结论 Maspin 蛋白在胃癌组织中低表达, 胃癌的浸润转移能力增强可能与 Maspin 蛋白表达下调、缺失相关; VEGF-C 的高表达与肿瘤淋巴结转移关系密切; Maspin 蛋白与 VEGF-C 在胃癌组织中的表达呈明显负相关。

关键词: 胃癌; maspin; 血管内皮生长因子-C; 蛋白表达

中图分类号: R735.2; R730.5 文献标识码: A 文章编号: 1000-8578(2007)08-0603-04

收稿日期: 2007-06-29; 修回日期: 2007-07-20

作者单位: 1. 150081 哈尔滨医科大学附属肿瘤医院内科; 2. 华中科技大学同济医学院附属肿瘤医院普外科

作者简介: 白玉贤 (1962-), 女, 硕士, 主任医师, 主要从事肿瘤化疗的临床研究

0 引言

胃癌是死亡率较高的恶性肿瘤, 浸润转移是致死的主要原因。虽然对胃癌的治疗采用了手术、化

疗、放疗、生物治疗等综合治疗模式,但对其生存率的提高仍十分有限。胃癌患者经外科手术后的病理分期多数为局部晚期,根治术后患者的五年存活率也仅维持在 20%~30%,而对于无淋巴结转移者术后五年存活率可达 50%左右^[1]。因此,研究胃癌浸润转移机制及分子生物学调控过程,对胃癌的早期诊断、选择治疗方法及判断预后具有重要意义。Maspin 是一种抑癌基因,其蛋白表达下调或缺失在胃癌的浸润转移中占有重要地位^[2]。VEGF-C 是迄今为止发现的与淋巴管生成关系最为密切的细胞因子,与肿瘤细胞的增殖和转移密切相关。近年来研究发现许多人类实体瘤细胞中 VEGF-C 呈高表达^[3]。本研究旨在探讨胃癌组织中 Maspin 蛋白与血管内皮生长因子-C 的表达及其相关性,现报道如下。

1 材料和方法

1.1 临床资料

收集哈尔滨医科大学附属肿瘤医院 2002 年~2003 年间手术切除的胃癌组织石蜡标本 61 例,全部病例术后经病理证实,所有病人术前均未实行放疗或化疗。另选 10 例正常胃黏膜组织作为对照。

1.2 免疫组化的试剂、方法

鼠抗人 Maspin 单克隆抗体,兔抗人 VEGF-C 多克隆抗体工作液、SP 免疫组化检测试剂盒、DAB 显色试剂盒均购自福州迈新生物技术开发有限公司。将石蜡包埋的肿瘤组织采用免疫组化法,按常规操作进行。

1.3 结果判定

以 PBS 代替一抗作标准阴性对照,两人双盲法观测切片。Maspin 蛋白表达以胞浆、胞核中出现褐色或棕黄颗粒为阳性染色。VEGF-C 表达以胞浆中出现褐色或棕黄色颗粒为阳性染色。按每张切片随机取 5 个高倍镜视野,计数 100 个细胞,阳性细胞数 5%为零分,6%~25%为 1 分,26%~50%为 2 分,51%~75%为 3 分,>75%为 4 分,阳性强度黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,褐色为 3 分。两者积分相乘,0~1 分为阴性(-),2~6 分为阳性(+),8~12 分为强阳性(++)^[4]。将(+)、(++)归为表达阳性组计算阳性率。

1.4 统计方法

采用 SPSS13.0 软件包,对于计数资料采用 χ^2 检验、Fisher 精确检验和秩和检验,两因素间的相关性采用 Spearman 等级相关检验分析,双侧检验 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 患者的一般特征

61 例胃癌组织中,男 46 例(75.4%),女 15 例(24.6%);年龄范围 32~81 岁,中位年龄 51 岁;肿瘤直径 > 4 cm 者 35 例(57.4%),4 cm 者 26 例(42.6%)。病理者高中分化腺癌为 14 例(22.9%),低分化、黏液细胞癌 47 例(77.1%)。肿瘤浸润周围组织的有 24 例(39.3%),无周围浸润的 37 例(60.7%);区域淋巴结转移阳性 43 例(70.5%),阴性 18 例(29.5%);TNM 分期为 I~II 期 24 例(39.3%)、III~IV 期 37 例(60.7%)。

2.2 Maspin 蛋白和 VEGF-C 在正常胃黏膜和胃癌组织中的表达

61 例胃癌组织中,Maspin 蛋白阳性表达率为 50.8%(31/61),其中强阳性表达者 21 例(67.7%)。蛋白表达于细胞浆多见,也可见于细胞核。正常胃黏膜组织中,Maspin 蛋白阳性表达率为 90%(9/10),8 例为强阳性(88.9%),弱阳性 1 例,且全部位于细胞浆中,图略。差异具有统计学意义($P = 0.035$)。VEGF-C 在 61 例胃癌组织中阳性表达率为 86.9%(53/61),弱阳性为 20 例,强阳性为 33 例,见图 3。正常胃癌组织中,VEGF-C 的阳性表达率为 40%(4/10),强阳性表达 1 例,弱阳性表达 3 例。VEGF-C 在胃癌组织中的阳性表达率高于正常胃黏膜组织,差异也有统计学意义($P = 0.003$),见表 1。

表 1 Maspin 蛋白和 VEGF-C 在正常胃黏膜和胃癌组织中的表达

组别	例数	Maspin 蛋白		P	VEGF-C		P
		例数	%		例数	%	
正常胃黏膜	10	9	90.0	0.035	4	40	0.003
胃癌组织	61	31	50.8		53	86.9	

2.3 Maspin 的表达及 VEGF-C 的表达与胃癌患者临床特征及病理的关系

胃癌组织中 Maspin 蛋白的表达与患者的年龄、性别、肿瘤部位、肿瘤大小均无明显相关性,但分化程度差、TNM 分期晚、周围组织浸润、淋巴结发生转移的胃癌组织中 Maspin 蛋白的阳性表达率明显降低,差异均具有统计学意义(P 分别为 0.018、0.011、0.028 和 0.000)。

对于 VEGF-C 蛋白,淋巴结转移组的阳性率显著高于无淋巴结转移组(95.3% vs 66.7%, $P = 0.0006$)。低分化组的阳性表达率显著高于高中、分化组(95.7% vs 57.1%, $P = 0.001$)。周围组织发生浸润的阳性表达率显著高于无浸润的组织(100.0% vs 78.4%, $P < 0.032$)。I~II 期患者的

阳性表达率显著高于 ~ 期患者 (94.6% vs 75.0%, $P=0.048$)。而不同部位的肿瘤和原发灶大小与 VEGF-C 的表达无关,见表 2。

表 2 Maspin 蛋白和 VEGF-C 在 61 例胃癌患者中的表达

特征	例数	Maspin 阳性		P	VEGF-C 阳性		P
		例数	%		例数	%	
性别							
男	46	23	50.0	1.000	40	86.9	1.000
女	15	8	53.3		13	86.7	
年龄							
50	45	22	48.9	0.772	41	91.1	0.189
<50	16	9	56.3		12	75.0	
部位							
胃体/ 窦	44	20	50.0	0.234	38	86.4	1.000
贲门	17	11	64.7		15	88.2	
肿瘤大小							
>4cm	35	19	54.2	0.530	31	86.1	0.050
4cm	26	12	46.2		22	84.6	
分化程度							
高/中	14	11	78.6	0.018	8	57.1	0.001
低	47	20	42.6		45	95.7	
TNM 分期							
~	24	17	70.8	0.012	18	75.0	0.048
~	37	14	37.8		35	94.6	
周围浸润							
有	24	8	33.3	0.028	24	100	0.032
无	37	23	62.2		29	78.4	
淋巴结							
有转移	43	14	32.6	0.000	41	95.3	0.006
无转移	18	17	94.4		12	66.7	

2.4 Maspin 的表达与 VEGF-C 表达的相关性分析

将 Maspin 与 VEGF-C 在胃癌中的表达情况进行 Spearman 相关性分析,结果 $r = -0.429$, $P < 0.05$,具有统计学意义,说明两者在胃癌组织中的表达呈负相关,见表 3。

表 3 Maspin 蛋白和 VEGF-C 在胃癌组织中表达的关系

VEGF-C	Maspin 蛋白的表达			合计
	-	+	++	
-	1	2	5	8
+	1	6	13	20
++	5	17	11	23
合计	7	25	29	61

两者相关性分析 Spearman $r = -0.429$, $P = 0.001$

3 讨论

Maspin 基因近年来被认为是一种肿瘤抑制基因,初步研究 Maspin 的作用机制有以下几方面:

(1)增加肿瘤细胞的同质粘附作用,防止肿瘤细胞从原病灶脱落。(2)降低肿瘤细胞的异质粘附作用,可直接与 ECM 中的一些胶原结合抑制肿瘤转移。(3)抑制 uPA,通过改变微环境来抑制肿瘤细胞的运动和侵袭。(4)可能通过一些细胞因子的介导抑制肿瘤血管生成,是有效的血管生成抑制因子。(5)上调肿瘤细胞的凋亡^[5]。

有研究证实,与没有淋巴结转移的癌组织相比,发生淋巴结转移的癌组织中 Maspin 蛋白表达下降,甚至不表达^[6]。近年来发现 Maspin 在胃癌中的表达与肿瘤的生长,浸润,转移有相关作用。Maspin mRNA 在正常胃粘膜和胃癌组织中均可测及,在胃癌组织中的表达率要显著低于在正常胃粘膜中的表达率^[7]。Ito^[8]等研究也发现,胃癌组织中,Maspin 蛋白的表达缺失高达 71% (71/100),并进一步发现组织中 Maspin 的低表达和表达缺失与低分化、分期晚、浸润程度重明显相关。王立东^[9]等采用免疫组化方法证实,Maspin 蛋白在慢性胃炎中的表达率显著高于在胃癌中的表达率 (53% vs 21%, $P < 0.05$),且发现 Maspin 蛋白在慢性胃炎中主要表达于胞浆,而在腺癌中主要表达于胞核。

在本实验中发现所有正常胃黏膜组织 Maspin 的表达在胞浆,胃癌组织中胞核、胞浆均有表达,以胞核明显,提示 Maspin 的核表达是胃癌癌变的重要分子学改变。胃癌组织中 Maspin 蛋白的低表达与淋巴结发生转移,周围组织浸润、分化程度差、TNM 分期晚相关,提示 Maspin 蛋白能够抑制肿瘤生长,降低癌细胞的恶性倾向。

VEGF-C 因其特异性的促淋巴管生成作用,也被称为淋巴管生成因子,通过激活旁分泌信号转导过程,刺激肿瘤淋巴管生成,促进肿瘤发生淋巴结转移。Yonemura^[10]用 VEGFR-3 标记胃癌淋巴管,VEGF-C 阳性表达组的淋巴管数量显著高于阴性表达组,表明胃癌原发灶中的 VEGF-C 高表达可能诱导癌周的淋巴管增殖。有研究进一步认为胃癌可能通过癌细胞合成和旁分泌、自分泌 VEGF-C,诱导肿瘤的淋巴管和血管生成,从而促进肿瘤的发生、发展和侵袭转移^[11]。我们的研究结果显示:VEGF-C 的高表达与胃癌的 TNM 分期晚、肿瘤周围浸润重、肿瘤分化程度差相关。还发现发生淋巴结转移的胃癌组织中,VEGF-C 的阳性表达率明显高于未发生淋巴结转移的组织,说明 VEGF-C 高表达的胃癌组织易发生周围组织浸润和转移。

但 VEGF-C 的作用不是单独的,其表达受诸多因子的调控,同时,它自身表达水平的改变对肿瘤相关的其他因子也存在影响^[12]。本研究发现,在胃癌

组织中,Maspin 蛋白与 VEGF-C 的表达呈负相关,分析其原因,可能由于 Maspin 蛋白的表达下调或缺失为肿瘤的浸润转移创造了适合的微环境,间接促进了 VEGF-C 的表达、分泌及趋化作用;而 Maspin 表达下调后对凋亡相关基因的诱导作用下降,又为癌细胞浸润后淋巴管的增殖创造了条件,进一步上调 VEGF-C 的表达。

目前,对于胃癌的早期诊断和判断预后仍然缺乏明确的生物学指标,需要更多研究来明确胃癌发生发展等环节的机制。对 Maspin 和血管内皮生长因子-C 的检测可为胃癌的诊断、判断预后以及探索胃癌治疗靶点提供新的线索。

参考文献:

- [1] Akiyama Y, Maesawa C, Ogasawara S, et al. Cell-type-specific repression of the Maspin gene is disrupted frequently by demethylation at the promoter region in gastric intestinal metaplasia and cancer cells[J]. *Am J Pathol*, 2003, 163(5):1911-1919.
- [2] Yuji Akiyama, Chihaya Maesawa, Satoshi Ogasawara, et al. Cell-Type-Specific Repression of the Maspin Gene Is Disrupted Frequently by Demethylation at the Promoter Region in Gastric Intestinal Metaplasia and Cancer Cells[J]. *American Journal of Pathology*, 2003, 163(5): 1911-1919.
- [3] Pytowski B, Goldman J, Persaud K, et al. Complete and specific inhibition of adult lymphatic regeneration by a novel VEGF-R3 neutralizing antibody[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2005, 97(1):14-21.
- [4] 邓玮,易永芬,刘丹丹.胃癌组织 maspin,uPA,MMP-7 表达的意义. *世界华人消化杂志*, 2006, 17(7): 660-665.
- [5] Antonello A Romani, Paolo Soliani, et al. The associated expression of Maspin and *bax* proteins as a potential prognostic factor in intrahepatic cholangiocarcinoma [J]. *BMC Cancer* 2006, 6(3):255-262.
- [6] Khalkhali, ElksZ, Hendrix MJ. Nitric oxide regulation of maspin expression in normal mammary epithelial and breast cancer cells[J]. *Am Pathol*, 2003, 162(5):1411-1417.
- [7] Son HI, Sohn TS, Song SY, et al. Maspin expression in human gastric adenocarcinoma[J]. *Pathol Int*. 2002, 52(8): 508-513.
- [8] Ito R, Nakayama H, Yoshida K, et al. Loss of maspin expression is associated with development and progression of gastric carcinoma with p53 abnormality[J]. *Oncol Rep*. 2004, 12(5):985-990.
- [9] 王立东,韦俊萍,周琦,等.胃窦部腺癌和慢性胃炎组织 Maspin 的表达[J]. *河南医科大学学报*, 1997, 32(1):40-42.
- [10] Yonemura Y, Endo Y, Fujita H, et al. Role of vascular endothelial growth factor-C expression in the development of lymph node metastasis in gastric cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 1999, 5(7): 1823-1825.
- [11] YAN Chao, ZHANG Jun, JI Jun, et al. Vascular Endothelial Growth Factor C Expression in Gastric Carcinoma and Its Relationship with Lymph Node Metastasis[J]. *The Chinese-German Journal of Clinical Oncology*. 2004, 3(2):74-77.
- [12] Tamura M, Ohta Y. Serum vascular endothelial growth factor-C level in patients with primary nonsmall cell lung carcinoma: a possible diagnostic tool for lymph node metastasis[J]. *Cancer*, 2003, 98(6):1217-1222.

[编辑:刘红武;校对:周永红]

· 简讯 ·

《癌变·畸变·突变》杂志 2008 年征订启事

《癌变·畸变·突变》杂志是中国科学技术协会主管、中国环境诱变剂学会主办、科学出版社出版、由汕头大学医学院承办的国家级学术期刊。系“中国科技论文统计源期刊”(中国科技核心期刊)。设有“专家述评”、“论著”、“专题研究”、“肿瘤防治”、“检测研究”、“相关医学基础与临床”、“技术与方法”和“文献综述”等栏目。主要报道环境因子与肿瘤发生、胎儿畸形、基因突变的关系以及癌变机制、抗癌物与抗突变物开发利用、环境风险因子评价和其他医学基础与临床研究成果。读者对象为从事肿瘤学、遗传学、毒理学、药理学研究与肿瘤防治、环境保护、卫生防疫、计划生育、药品及生物制品研制的科技人员、高校师生与临床医生。本刊被《中国科技论文与引文数据库》(CSTPC)、《中国学术期刊综合评价数据库》等 10 家国内著名数据库与 3 家学术文摘期刊作为收录刊源之一。

本刊为双月刊,大 16 开,进口铜版纸印刷,彩色图版,内页 80 页。著名科学家的专题述评、内容丰富的研究论文、高质量的装帧与印刷将使本刊成为您从事科学研究的得力助手与展示您研究成果的理想园地。2008 年征订工作已经开始,欢迎新老订户踊跃订阅。

国内刊号:CN 44-1063/R,邮发代号:80-285,北京市报刊发行局发行。国际刊号:ISSN 1004-616X,国外代号:6364(BM),中国国际图书贸易总公司发行。国内定价每期 10.00 元,全年订价:60.00 元。漏订者可在当地邮局订阅,也可直接向编辑部订阅(免邮寄费)。

编辑部地址:广东省汕头市新陵路 22 号(汕头大学医学院内),邮编:515041

电话及传真:(0754)8900267

E-mail:cemsctm@stu.edu.cn

Web:www.egh.net.cn