

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.28.020

EMT 标志分子 Vimentin 在胃癌中的表达和临床意义*

张永国¹ 邵晓冬¹ 王红红² 李宏宇¹ 郭晓钟^{1△}

(1 沈阳军区总医院消化内科 辽宁 沈阳 110016; 2 解放军 518 医院内科 陕西 西安 710043)

摘要 目的:探讨 EMT 标志分子 Vimentin 在胃癌中的表达和临床意义。**方法:**利用免疫组化染色的方法检测 Vimentin 在 120 例胃癌及其相应癌旁组织中的表达,统计分析 Vimentin 的表达水平与年龄、性别、组织学类型、TNM 分期、淋巴结转移等临床病理特征间的相关性。**结果:**Vimentin 在胃癌中的表达阳性率为 55.8%,远高于相应癌旁组织的 22.5% ($P<0.01$),进一步分析研究发现 Vimentin 的表达水平在 III 和 IV 期的胃癌中(TNM 分期)的表达明显高于 I 和 II 期的胃癌,差异具有统计学意义($P=0.009$),在发生淋巴结转移胃癌中表达明显高于未发生淋巴结转移的胃癌,差异具有统计学意义($P<0.000$)。**结论:**Vimentin 在胃癌中高表达,其表达水平与 TNM 分期、淋巴结转移密切相关,提示 Vimentin 在胃癌的转移过程中可能发挥重要作用。

关键词: Vimentin; 胃癌; 转移

中图分类号: R573 文献标识码: A 文章编号: 1673-6273(2014)28-5479-04

Expression of Vimentin and Its Clinical Significance in Human Gastric Cancer*

ZHANG Yong-guo¹, SHAO Xiao-dong¹, WANG Hong-hong², LI Hong-yu¹, GUO Xiao-zhong^{1△}

(1 Department of Gastroenterology, Shenyang General Hospital of PLA, Shenyang, Liaoning, 110016, China;

2 Department of Internal Medicine, No.518 hospital of the PLA, Xi'an, Shaanxi, 710043, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the expression of Vimentin in gastric cancer and analyze the relationship between Vimentin expression and clinicopathologic features. **Methods:** IHC was performed to detect the expression of Vimentin in 120 cases of gastric cancer and the corresponding adjacent non-tumor tissues. The correlation between Vimentin expression and clinicopathologic features were analyzed. **Results:** Vimentin was detected in 22.5% of the adjacent non-tumor tissues. However, a high positive staining was identified in 55.8% of the gastric cancer tissues. Further analysis showed there was higher expression level of Vimentin in III and IV stages gastric cancer or with lymph node metastasis than that in I and II stages or without lymph node metastasis, but there was no difference between Vimentin expression and sex, age, or histologic grade. **Conclusion:** Vimentin over-expressed in gastric cancer. The expression level of Vimentin is correlated with TNM stage and lymph node metastasis. These findings indicate that Vimentin may play an important role in the gastric cancer metastasis.

Key words: Vimentin; Gastric cancer; Metastasis

Chinese Library Classification(CLC): R573 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)28-5479-04

前言

上皮-间质转分化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是上皮细胞表型向间质细胞表型转变的过程,是一种重要的病理生理现象。这一过程与肿瘤的局部浸润以及远处转移等恶性生物学表型密切相关^[1-3]。EMT 最重要的标志性变化是上皮源性标志物如上皮钙黏蛋白和角蛋白表达降低或缺失,间质性标志物如神经型钙黏蛋白和波形蛋白表达增高,使细胞黏附功能下降,易于脱离原发病灶,向周围或远处组织侵袭或转移^[4,5]。EMT 上皮标记蛋白 E-cadherin 在肿瘤(前列腺癌、乳腺癌等)中的表达、与肿瘤的局部浸润和远处转移的关系已有较多研究

报道,目前已基本形成定论^[6-11]。但是间质标记蛋白 Vimentin 在肿瘤中的表达和潜在的临床意义少有研究报道。本文利用免疫组化方法检测 Vimentin 在胃癌中的表达水平,分析 Vimentin 的表达水平与年龄、性别、TNM 分期、组织学类型等临床病理特征间的相关性,探讨 Vimentin 在胃癌诊治中的潜在临床意义。

1 材料与方法

1.1 研究对象

胃癌组织芯片购自上海芯超生物科技有限公司,共计 120 例胃癌和相应的癌旁组织;其中男 71 例,女 49 例;病理组织学

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81101891)

作者简介:张永国(1983-),男,博士,主治医师,主要研究方向:消化道疾病和消化内镜的诊治,擅长消化道肿瘤的临床和基础研究,

E-mail: zyg-0915@163.com

△ 通讯作者: 郭晓钟,电话: 024-2887603, E-mail: guoxiaozhong1962@163.com

(收稿日期: 2014-01-27 接受日期: 2014-02-22)

分级,高分化 19 例,中分化 52 例,低分化 49 例;TNM 分期, I 和 II 53 例,III 和 IV 67 例;存在淋巴结转移 73 例。

1.2 试剂和材料

鼠抗人 Vimentin 单克隆抗体,防脱挂胶玻片、苏木素染色液、SP 免疫组化试剂盒、DAB 试剂盒购、中性树胶购自北京中杉金桥生物技术有限公司,光学显微镜购自奥林巴斯(Olympus)公司。

1.3 免疫组化染色

组织芯片 60℃ 烤片 30 分钟后,依次二甲苯脱蜡,梯度酒精(100%、95%、85%、75%)水化,加入 0.3 % H_2O_2 溶液室温 30 min 封闭灭活内源性过氧化酶,柠檬酸盐溶液高温煮沸 2 分钟行抗原修复,滴加一抗 Vimentin (1:100) 4℃ 过夜,复温 30 min 后滴加二抗室温放置 30 min 后,DAB 显色,苏木精复染,中性树胶封片,显微镜下观察结果。

1.4 免疫组化染色评分

切片经 2 名病理科医生显微镜下阅片评分。评分标准如下:(1) 染色强度判定:无阳性染色为 0 分;浅黄色染色为 1 分;深黄色或棕黄色染色为 3 分;介于浅黄色和深黄色之间染色为 2 分;(2) 阳性细胞数比率判定:无细胞阳性着色为 0 分;1%-25%的细胞阳性着色为 1 分;26%-50%的细胞阳性着色为 2

分;51%-75%的细胞阳性着色为 3 分;大于 75%的细胞阳性着色为 4 分;最后以染色强度的评分和染色细胞所占比率的评分乘积作为每张切片的最终染色评分:阴性(I,得分 0);弱阳性(II,得分 1-4);中等强度阳性(III,得分 5-8);强阳性(IV,得分 9-12)。

1.5 统计学处理

采用 SPSS 17.0 软件包进行统计学分析。对于计数资料,两组间比较采用 t 检验分析,多组间比较采用方差分析;对于计量资料,采用非参数检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Vimentin 在胃癌和相应癌旁组织中的表达情况

免疫组化染色观察 Vimentin 在 120 例胃癌组织和相匹配的癌旁组织的表达和定位情况。结果发现(图 1 和表 1),Vimentin 主要表达在胃癌组织以及间质组织的胞浆和胞核。120 例胃癌组织中有 67 例 Vimentin 染色阳性(呈棕黄色),阳性率为 55.8%,而在 120 例癌旁组织仅有 27 例 Vimentin 染色阳性,阳性率为 22.5%。Vimentin 在胃癌组织中的表达要明显高于癌旁组织,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。

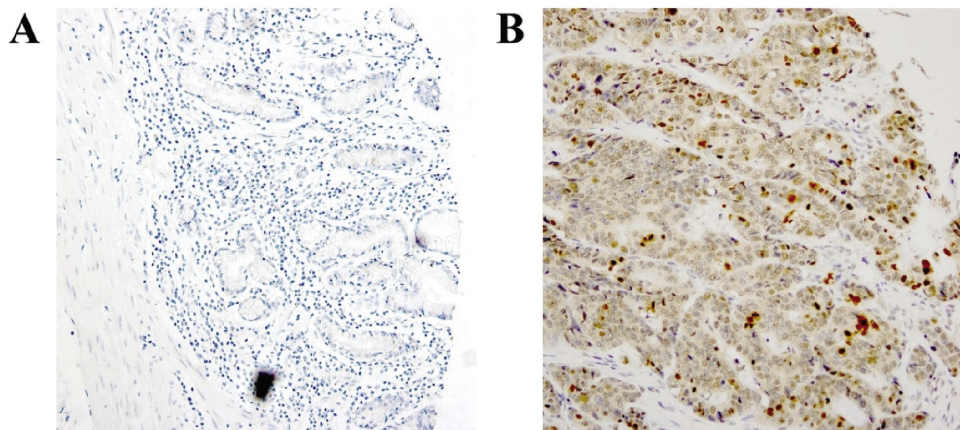


图 1 免疫组化检测 Vimentin 在胃癌组织和癌旁组织中的表达

A、癌旁组织 B、胃癌 (100×)

Fig. 1 Immunohistochemical staining of Vimentin in gastric cancer and non-cancer tissues

A adjacent non-cancer tissues, B colon cancer (100×)

表 1 Vimentin 在胃癌组织及其相匹配的癌旁组织中的表达情况

Table 1 Vimentin expression in gastric cancer and adjacent non-cancer tissues

	n	Vimentin				P
		-	+	++	+++	
Non- cancer	120	93 (77.5%)	16 (13.3%)	8 (6.7%)	3 (2.5%)	< 0.001**
Gastric cancer	120	53 (44.2%)	33 (27.5%)	18 (15.0%)	16 (13.3%)	

2.2 Vimentin 表达水平与胃癌临床病理参数间的相关性

为了探讨 Vimentin 潜在的临床意义和应用价值,本研究分析了 Vimentin 表达水平与胃癌临床病理参数间的相关性,结果发现(表 2),Vimentin 的表达在 III 和 IV 期的胃癌中(TNM

分期)的表达明显高于 I 和 II 期的胃癌、同时 Vimentin 在出现淋巴结转移的胃癌中的表达明显高于未发生淋巴结转移的胃癌,差异具有统计学意义($P < 0.05$),但 Vimentin 表达与年龄、性别、肿瘤部位、组织学分化程度之间没有统计学意义($P > 0.05$)。

表 2 Vimentin 的表达水平与胃癌患者临床病理参数间的相关性
Table 2 Correlation of Vimentin expression with clinicopathologic features

Clinicopathologic features		n	Vimentin				P
			—	+	++	+++	
Age	≥ 60	68	30	20	9	9	0.857
	<60	52	23	13	9	7	
Sex	M	71	31	19	11	10	0.790
	F	49	22	14	7	6	
Tumor location	antrum	65	28	18	10	9	0.776
	cardia	55	25	15	8	7	
TNM stage	I and II	53	31	11	6	5	0.009**
	III and IV	67	22	22	12	11	
Histologic grade	well	19	9	5	3	2	0.661
	moderately	52	22	15	8	7	
LM metastasis	poorly	49	22	13	7	7	0.000**
	absence	47	30	10	5	2	
	presence	73	23	23	13	14	

3 讨论

胃癌严重危害人类健康,全球每年约有 90 万新发病例,并造成约 70 万患者死亡,在所有癌症中发病率高居第四位、死亡率高居第二位^[12]。尽管早期诊断、手术方式、新辅助化疗取得了长足进展,但胃癌的 5 年生存率不足 30%^[13]。造成患者死亡的主要原因是转移,大多数晚期胃癌患者因发生转移而丧失接受根治性手术的机会,因而有必要对胃癌的转移进行深入研究,寻求胃癌转移的分子标志物。EMT 是近年来的研究热点,体外研究表明 EMT 参与肿瘤细胞的侵袭和迁移,参与肿瘤细胞远处转移的恶性生物学表型^[14-16],本研究在人胃癌组织中检测了 EMT 标志分子 Vimentin 的表达,分析了 Vimentin 的表达水平与临床病理学参数间的相关性,结果发现 Vimentin 在胃癌中的表达高于相应的癌旁组织,其表达水平与 TNM 分期、淋巴结转移密切相关,提示 Vimentin 在胃癌的转移过程中可能发挥重要作用。

胃癌细胞起源于腺上皮,具有上皮细胞的极性,细胞间存在的紧密黏附限制了细胞的迁移能力,从而导致细胞无法自由活动,在一定程度上抑制了肿瘤转移的发生;但在某些因素的作用下,细胞丧失了细胞间的紧密黏附,细胞脱落进入血循环或淋巴循环,到达合适环境,定位增殖形成转移灶^[17]。这一现象能够被 EMT 很好的解释,EMT 通过降低或缺失细胞的上皮源性标志物的表达(E-cadherin),增加间质性标志物的表达(Vimentin),使上皮细胞向间质细胞转化。有研究显示^[18],在肿瘤细胞生长和转移的过程中,中央的细胞一般为上皮细胞的表型,而周围的细胞则多为间质细胞的表型。我们的研究结果发现 Vimentin 的表达在 III 和 IV 期的胃癌中(TNM 分期)的表达明显高于 I 和 II 期的胃癌、同时 Vimentin 在出现淋巴结转移的胃癌中的表达明显高于未发生淋巴结转移的胃癌,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。结合既往文献报道^[19-21]“E-cadherin 在胃癌中低表达”,提示 EMT 在胃癌的转移中扮演重要角色。在胃癌,

EMT 通过上调 Vimentin,下调 E-cadherin,改变胃癌细胞的外形,使细胞间的粘附性的下降或消失,促使胃癌发生原位侵袭和远处转移。

综上,Vimentin 在胃癌中高表达,其表达水平与淋巴结转移、TNM 分期、远处转移密切相关,但 Vimentin 究竟是通过何种分子机制参与胃癌的淋巴结转移和远处转移,还有待于我们在胃癌细胞系,通过基因过表达、RNAi、Transwell 侵袭等实验技术作进一步研究探讨。

参考文献(References)

- [1] Barrière G, Tartary M, Rigaud M. Metformin: A Rising Star to Fight The Epithelial Mesenchymal Transition in Oncology [J]. Anticancer Agents Med Chem, 2013,13(2):333-340
- [2] Kahlert UD, Nikkhah G, Maciacyk J. Epithelial-to-mesenchymal (-like) transition as a relevant molecular event in malignant gliomas [J]. Cancer Lett, 2013,331(2):131-138
- [3] Stewart CJ, McCluggage WG. Epithelial-mesenchymal transition in carcinomas of the female genital tract[J]. Histopathology, 2013,62(1): 31-43
- [4] Gherardi E, Birchmeier W, Birchmeier C, et al. Targeting MET in cancer: rationale and progress[J]. Nat Rev Cancer, 2012,12(2):89-103
- [5] Scanlon CS, Van Tubergen EA, Inglehart RC, et al. Biomarkers of epithelial-mesenchymal transition in squamous cell carcinoma [J]. J Dent Res, 2013,92(2):114-121
- [6] Buda A, Pignatelli M. E-cadherin and the cytoskeletal network in colorectal cancer development and metastasis [J]. Cell Commun Adhes, 2011,18(6):133-143
- [7] Foroni C, Broggini M, Generali D, et al. Epithelial-mesenchymal transition and breast cancer: role, molecular mechanisms and clinical impact[J]. Cancer Treat Rev, 2012,38(6):689-697
- [8] Lee SJ, Choi SY, Kim WJ, et al. Combined aberrant expression of E-cadherin and S100A4, but not beta-catenin is associated with disease-free survival and overall survival in colorectal cancer patients [J]. Diagn Pathol, 2013,8(1):99

- [9] Ionescu Popescu C, Giuscã SE, Liliac L, et al. E-cadherin expression in molecular types of breast carcinoma [J]. Rom J Morphol Embryol, 2013,54(2):267-273
- [10] Xin HW, Yang JH, Nguyen DM. Sensitivity to epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor requires e-cadherin in esophageal cancer and malignant pleural mesothelioma[J]. Anticancer Res, 2013,33(6):2401-2408
- [11] Zhang X, Zhang Y, Li Y. β -elemene decreases cell invasion by upregulating E-cadherin expression in MCF-7 human breast cancer cells[J]. Oncol Rep, 2013,30(2):745-750
- [12] Kamangar F, Dores GM, Anderson WF. Patterns of cancer incidence, mortality, and prevalence across five continents: defining priorities to reduce cancer disparities in different geographic regions of the world [J]. J Clin Oncol, 2006, 24: 2137-2150
- [13] Leung WK, Wu MS, Kakugawa Y, et al. Asia Pacific Working Group on Gastric Cancer. Screening for gastric cancer in Asia: current evidence and practice[J]. Lancet Oncol, 2008,9(3):279-287
- [14] Talbot LJ, Bhattacharya SD, Kuo PC. Epithelial-mesenchymal transition, the tumor microenvironment, and metastatic behavior of epithelial malignancies[J]. Int J Biochem Mol Biol, 2012,3(2):117-136
- [15] Huang RY, Guilford P, Thiery JP. Early events in cell adhesion and polarity during epithelial-mesenchymal transition[J]. J Cell Sci, 2012, 125:4417-4422
- [16] De Craene B, Berx G. Regulatory networks defining EMT during cancer initiation and progression [J]. Nat Rev Cancer, 2013,13(2): 97-110
- [17] 赵俊卿, 李云峰, 杨之斌. 肿瘤细胞发生细胞上皮间质转变机制的研究[J]. 肿瘤, 2010, 30(10):890-893
Zhao Jun-qing, Li Yun-feng, Yang Zhi-bin. The mechanisms for epithelial -mesenchymal transition in malignant cells [J]. Tumor, 2010, 30(10):890-893
- [18] Książkiewicz M, Markiewicz A, Zaczek AJ. Epithelial-mesenchymal transition: a hallmark in metastasis formation linking circulating tumor cells and cancer stem cells [J]. Pathobiology, 2012,79 (4): 195-208
- [19] Paredes J, Figueiredo J, Albergaria A, et al. Epithelial E- and P-cadherins: Role and clinical significance in cancer [J]. Biochim Biophys Acta, 2012,1826(12):297-311
- [20] Guo Y, Yin J, Zha L, et al. Clinicopathological significance of platelet-derived growth factor B, platelet-derived growth factor receptor- β , and E-cadherin expression in gastric carcinoma [J]. Contemp Oncol (Pozn), 2013,17(2):150-155
- [21] Yoshii T, Miyagi Y, Nakamura Y, et al. Pilot research for the correlation between the expression pattern of E-cadherin- β -catenin complex and lymph node metastasis in early gastric cancer [J]. Tumori, 2013,99(2):234-238

(上接第 5413 页)

- [18] 胡娅莉, 陈雪, 陈蕾蕾, 等. 两种不同遗传学分析方法用于诊断自然流产组织的比较[J]. 中华妇产科杂志, 2006, 41(3): 148-151
Hu Ya-li, Chen Xue, Chen Lei-lei, et al. Two different genetic analysis of spontaneous aborted specimen[J]. Chin J Obstet Gynecol, 2006, 41(3): 148-151
- [19] 程丽村, 赵欣荣, 俞青, 等. 绒毛染色体检测在分析稽留流产原因中的应用[J]. 中国优生与遗传杂志, 2006, 14 (2): 27-29
Cheng Li-cun, Zhao Xin-rong, Yu Qing, et al. Application of karyotype analysis on chorionic villus in missed abortion [J]. Chinese Journal of Birth Health & Heredity, 2006, 14(2): 27-29
- [20] 胡舜妍, 廖灿, 潘敏, 等. 绒毛细胞长期培养法在产前诊断及早孕和早中孕期自然流产病因检测中的应用 [J]. 中国优生与遗传杂志, 2010, 18(7): 35-36
Hu Shun-yan, Liao Can, Pan Min, et al. Application of chorionic villus cells long-term culture in prenatal diagnosis and etiological analysis of early spontaneous abortion[J]. Heredity and Eugenics in China, 2010, 18(7): 35-36