

胃癌中 MTDH 与 PDCD4 的表达及其临床意义

杨 飞, 邓跃华, 刘 弋, 常家聪, 李广鑫, 胡世超, 司小毛

摘要 目的 研究胃癌中异黏蛋白(MTDH)和程序性细胞死亡因子4(PDCD4)的表达水平及其与临床病理参数的关系,探讨其在胃癌发生、发展中的作用。方法 应用免疫组化二步法检测83例原发性胃癌患者术后癌组织及其癌旁组织标本中MTDH和PDCD4的表达。结果 胃癌组织中MTDH的表达高于癌旁组织($P < 0.05$),胃癌组织中PDCD4的表达低于癌旁组织($P < 0.05$);MTDH表达的高低与胃癌的临床分期、浸润程度、有无淋巴结转移比较差异有统计学意义($P < 0.05$),与其他临床病理参数无关;PDCD4表达的高低与胃癌的分化程度比较差异有统计学意义($P < 0.05$),与其他临床病理参数无关。在胃癌组织中,MTDH和PDCD4的表达存在关联($\chi^2 = 16.893$, $P < 0.05$, $r = -0.451$)。结论

MTDH和PDCD4在胃癌组织和癌旁组织中的表达均存在明显差异,且MTDH和PDCD4可能存在较强的负相关关系,二者的表达与胃癌的发生、发展密切相关。

关键词 胃癌; 异黏蛋白; 程序性细胞死亡因子4

中图分类号 R 735.2; R 6

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2014)07-0954-04

异黏蛋白(metadherin, MTDH)又称为星形细胞上调基因-1(astrocyte elevated gene-1, AEG-1),是2002年由Su et al^[1]采用快速消减杂交(rapid subtraction hybridization, RaSH)方法检测HIV-1感染的人原始胚胎星形胶质细胞和未感染的人原始胚胎星形胶质细胞后克隆出来的新基因。已发现其高表达于膀胱癌、乳腺癌、前列腺癌、脑胶质瘤和非小细胞肺癌等多种恶性肿瘤中,与肿瘤的不良预后密切相关,且在肿瘤的增殖、转移和化疗耐药中扮演着非常重要的角色^[2-3]。程序性细胞死亡因子4(programmed cell death 4, PDCD4)作为细胞凋亡所需要的新生大分子复合物之一,最早是作为细胞凋亡早期上调的基因之一被发现的,在细胞凋亡启动后表达上调,最新的研究^[4]结果表明PDCD4不仅影响了细胞程序性死亡,而且还通过阻止细胞的肿瘤性转

化来抑制肿瘤的发生、发展,作为一种近年来新发现的抑癌基因,很有可能成为一种肿瘤分子靶向治疗的新靶点。该研究采用免疫组织化学法测定胃癌患者的癌组织及其癌旁组织中MTDH与PDCD4的表达,分析二者的表达与临床病理参数间的关系,探讨MTDH与PDCD4在胃癌发生、发展中的关系及其生物学意义。

1 材料与方法

1.1 标本来源 调取安徽医科大学第一附属医院普通外科2008年1月~12月期间治疗的83例胃癌患者的术后胃癌癌组织标本,所调取的病例均系原发,且术前未接受过放射治疗和化疗,术后经病理组织学检查进一步证实,其中男52例,女31例,年龄33~81岁,中位年龄62岁;按病理学分级分类:高分化腺癌13例,中分化腺癌28例,低分化腺癌42例;根据2010年国际抗癌联盟/美国癌症联合委员会(UICC/AJCC)制定的胃癌TNM分期标准对该组患者进行临床分期,其中I+II期36例,III+IV期47例,有无淋巴结转移:发现淋巴结转移57例,未发现淋巴结转移26例,同时选取该组病例癌旁组织标本83例作为对照研究,所取癌旁组织距癌组织边界均>5 cm。

1.2 主要试剂 浓缩型兔抗人MTDH多克隆抗体(产品编号:bs-2231R)、浓缩型兔抗人PDCD4多克隆抗体(产品编号:bs-1608R)均购于北京博奥森生物技术有限公司;二步法免疫组化检测试剂盒(PV-6000)、底物显色液(浓缩型DAB试剂盒)均购于北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.3 实验方法 采用免疫组化二步法检测组织中MTDH和PDCD4的表达。术后病理蜡块进行连续切片3~5张,厚度约4 μm 。MTDH工作液浓度为1:400, PDCD4工作液浓度为1:300,具体实验操作过程参照二步法免疫组化检测试剂盒说明书进行,实验阴性对照切片用PBS磷酸盐缓冲液代替一抗建立。

1.4 结果判断 MTDH和PDCD4在癌组织中的表达以细胞膜为主,而癌旁组织中则是以细胞质为主,细胞内出现棕黄色颗粒为阳性染色。在400倍光学

2014-02-17 接收

基金项目:安徽省卫生厅医学科研课题(编号:09A034)

作者单位:安徽医科大学第一附属医院普通外科,合肥 230022

作者简介:杨 飞,男,硕士研究生;

邓跃华,男,主任医师,副教授,硕士生导师,责任作者, E-mail:bbmcyf@163.com

显微镜下随机选取 5 个不同视野分别进行观察,按细胞染色强度及阳性细胞率进行记分,染色强度计分:无着色记为 0 分,浅黄色记为 1 分,棕黄色记为 2 分,棕褐色记为 3 分。阳性细胞率计分: <5% 记为 0 分;5% ~ 25% 记为 1 分;26% ~ 50% 记为 2 分;51% ~ 75% 记为 3 分; >75% 记为 4 分。计算两者得分的乘积,以此来判断表达结果,两者积分 ≤ 1 分记为阴性, >1 分记为阳性。

1.5 统计学处理 使用 SPSS 13.0 统计软件进行分析。各组间的比较用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法,相关性检验采用分类变量相关检验。

2 结果

2.1 MTDH 和 PDCD4 在胃癌和癌旁组织中的表达情况 免疫组化染色后,在胃癌组织和癌旁组织中均可见到 MTDH 和 PDCD4 的阳性表达,见图 1。其中,MTDH 在 83 例胃癌组织中的阳性表达率为 61.4%,明显高于其在相应癌旁组织的阳性表达率 34.9% ($\chi^2 = 11.678, P < 0.01$); PDCD4 在 83 例胃癌组织中的阳性表达率为 30.1%,明显低于其在相应癌旁组织的阳性表达率 73.5% ($\chi^2 = 31.270, P < 0.01$),见表 1。

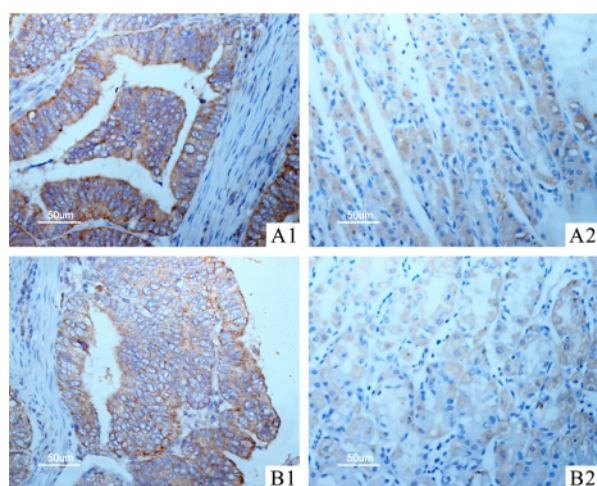


图 1 MTDH、PDCD4 在胃癌组织、癌旁组织中的阳性结果 免疫组化二步法 $\times 200$

A: MTDH; B: PDCD4; 1: 胃癌组织; 2: 癌旁组织

2.2 MTDH 和 PDCD4 在胃癌中的表达与胃癌临床病理参数间的关系 本研究结果显示 MTDH 在胃癌组织中的阳性表达水平与肿瘤的浸润程度、分期以及有无淋巴结转移显著相关,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),与其他组别的临床病理参数无明显相关性; PDCD4 在胃癌组织中的阳性表达水平与肿

瘤的分化程度显著相关,中、高分化型组表达水平高于低分化型组表达水平,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),与其他组别的临床病理参数差异无统计学意义 ($P > 0.05$),见表 2。

表 1 MTDH 和 PDCD4 在胃癌及癌旁组织中的表达情况 (n)

组织类型	n	MTDH 表达			PDCD4 表达		
		阳性	χ^2 值	P 值	阳性	χ^2 值	P 值
胃癌组织	83	51	11.678	0.001	25	31.270	<0.001
癌旁组织	83	29			61		

表 2 胃癌组织中 MTDH 和 PDCD4 的表达与临床病理参数的关系 [n(%)]

临床病理参数	n	MTDH 表达			PDCD4 表达		
		阳性	χ^2 值	P 值	阳性	χ^2 值	P 值
性别							
男	52	35(67.3)	2.019	0.155	15(28.8)	0.107	0.743
女	31	16(51.6)			10(32.3)		
年龄(岁)							
≤ 60	29	16(55.2)	0.740	0.390	11(37.9)	1.292	0.256
>60	54	35(64.8)			14(25.9)		
肿瘤直径(cm)							
<5	44	26(59.1)	0.219	0.640	17(38.6)	3.226	0.072
≥ 5	39	25(64.1)			8(20.5)		
肿瘤部位							
贲门胃底	38	26(68.4)	1.830	0.400	12(31.6)	0.704	0.703
胃体	18	9(50.0)			4(22.2)		
胃窦	27	16(59.3)			9(33.3)		
大体分型							
表浅型	10	7(70.0)	0.860	0.651	4(40.0)	0.528	0.768
溃疡型	52	30(57.7)			15(28.8)		
浸润型	21	14(66.7)			6(28.6)		
浸润程度							
黏膜及肌层	22	9(40.9)	5.329	0.021	8(36.4)	0.554	0.457
浆膜及浆膜外	61	42(68.9)			17(27.9)		
分化程度							
中、高分化	41	22(53.7)	2.074	0.150	17(41.5)	4.953	0.026
低分化	42	29(69.0)			8(19.0)		
淋巴结转移							
阴性	26	11(42.0)	5.853	0.016	9(34.6)	0.363	0.547
阳性	57	40(70.2)			16(28.1)		
TNM 分期							
I + II	36	16(44.4)	7.757	0.005	12(33.3)	0.312	0.577
III + IV	47	35(74.5)			13(27.7)		

2.3 MTDH 和 PDCD4 在胃癌组织中的表达关系

在 83 例胃癌组织中,有 51 例 MTDH 阳性表达,其中有 7 例 PDCD4 阳性表达,阳性表达率为 13.7%;有 32 例 MTDH 阴性表达,其中有 18 例 PDCD4 阳性表达,阳性表达率为 56.3%。采用分类变量的关联性分析示 MTDH 和 PDCD4 的表达存在关联 ($\chi^2 = 16.893, P < 0.05, r = -0.451$),见表 3。

表3 MTDH 和 PDCD4 在胃癌组织中表达的关系(n)

MTDH 表达	PDCD4 表达		χ^2 值	P 值	r 值
	阳性	阴性			
阳性	7	44	16.893	<0.001	-0.451
阴性	18	14			

3 讨论

胃癌是当今社会人类最常见的消化道恶性肿瘤之一,也是一类与基因异常表达有关的疾病,其中包括编码基因及非编码基因的结构和表达异常,目前研究认为编码蛋白表达的癌基因或抑癌基因的异常表达,是胃癌发生的关键环节^[5]。MTDH 是新近发现的与多种肿瘤的发生、发展、转移和预后密切相关的癌基因,近年来研究显示^[6] MTDH 在多种恶性肿瘤中参与肿瘤进展的各主要阶段,包括细胞转化、细胞凋亡的抑制、侵袭、转移、血管新生以及化疗药物抵抗。MTDH 在多种恶性肿瘤中均有不同程度的表达上调,最近国外学者在对结直肠癌及细胞系的研究^[7]中发现,MTDH 在淋巴结转移性结直肠癌细胞 SW620 中表达水平明显高于其原发肿瘤细胞系 SW480,研究显示 AEG-1 mRNA 和蛋白表达水平,在正常黏膜组织、原发病灶、淋巴结转移灶到肝转移灶中,表达水平逐渐升高,且与肿瘤部位和肿瘤分期密切相关。Song et al^[8]研究发现,在正常子宫内膜组织、子宫内膜不典型增生及子宫内膜癌组织中,MTDH 的表达水平逐渐增高,且其表达与组织学分级、临床分期、浸润深度、淋巴结转移及脉管浸润等呈正相关,可能是子宫内膜癌的新的独立预后因子,是子宫内膜癌治疗的新靶点。本研究显示 MTDH 在胃癌组织中的表达水平明显高于癌旁组织,差异有统计学意义,与上述学者的研究结论相似,说明 MTDH 过表达与胃癌的发生、发展有一定的关联。同时,本研究中 MTDH 的表达水平与胃癌的浸润程度、临床分期以及有无淋巴结转移呈密切相关性,提示 MTDH 的表达水平从某种程度上反映了肿瘤浸润发展的程度,揭示其与预后有一定的相关性,MTDH 有可能成为胃癌诊断的新的肿瘤标志物,判断预后,在胃癌的诊断和分子靶向治疗中有重要作用。

PDCD4 是近年新发现的抑癌基因,定位于人类染色体 10q24,全长 64ku,蛋白序列编码 485 个氨基酸,不仅影响了细胞的程序性死亡,而且通过调节蛋白转录和翻译过程,诱导肿瘤细胞凋亡,抑制肿瘤细胞的增殖生长,调控肿瘤的发生发展。在乳腺癌、肺

癌、结直肠癌、胰腺癌、涎腺癌等多种恶性肿瘤中均存在 PDCD4 表达减少甚至缺失,且与肿瘤的恶性程度和不良预后有关^[9-10]。Pennelli et al^[11]通过研究 PDCD4 在甲状腺滤泡状腺瘤、滤泡状癌、乳头状癌、低分化或未分化癌中的表达,发现其在甲状腺癌发生发展的过程中发挥着重要作用。在本研究中,胃癌组织及癌旁组织中均可见到 PDCD4 的阳性表达,而 PDCD4 在胃癌组织中的阳性表达率明显低于癌旁组织,提示 PDCD4 表达的减少或缺失在胃癌发生发展的过程中发挥着重要作用。结合患者的临床病理资料研究发现 PDCD4 在胃癌组织中的表达与胃癌组织的分化程度有关,中、高分化组中 PDCD4 的阳性表达水平明显高于低分化组,差异有统计学意义,进一步提示 PDCD4 与肿瘤的恶性程度有关,从而影响肿瘤的发展过程。Li et al^[12]研究发现 PDCD4 在人肾癌组织中的表达明显低于正常肾组织,其在肾癌的发生和发展过程中发挥着极其重要的作用,与肿瘤的分期、浸润程度和转移密切相关,可以作为判断肾癌患者预后的独立因素。结合本研究,PDCD4 的低表达或不表达参与了胃癌的发生发展,与胃癌的恶性程度密切相关,随着对 PDCD4 的进一步研究可能为胃癌诊断和治疗提供新的理论依据。

国内外尚未有关 MTDH 和 PDCD4 在胃癌组织中联合研究的报道,本研究显示 MTDH 和 PDCD4 在胃癌组织及癌旁组织中均有表达,两者之间存在明显的相关性。在胃癌组织中 MTDH 呈高表达,而 PDCD4 呈低表达,而在癌旁组织中的表达水平则相反,推测 PDCD4 可能通过某种途径抑制 MTDH 的表达,但两者在胃癌发生发展中相互关系的具体机制尚不明了。有学者在其他恶性肿瘤中研究^[13]发现 MTDH 可激活 MAP 激酶途径,特别是 MEK/ERK 与 p38 MAPK 通路,抑制以上 2 个通路中的任何一个都将抑制 MTDH 的表达水平,从而降低肝癌细胞的侵袭力,而在前列腺癌细胞中,MTDH 通过激活激活蛋白-1(AP-1)激活 MEK/ERK 通路。依赖 AP-1 的转录在细胞的增殖、转化和浸润中扮演着重要角色,Wang et al^[14]发现 PDCD4 下调丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)作用及与 AP-1 结合并抑制其转化,从而发挥抑制细胞增殖、转化和浸润的作用。提示 MTDH 和 PDCD4 在调控胃癌等恶性肿瘤发生发展过程中存在内在联系,但其确切的相互调控机制有待于深入研究。

参考文献

- [1] Su Z Z, Kang D C, Chen Y, et al. Identification and cloning of human astrocyte genes displaying elevated expression after infection with HIV-1 or exposure to HIV-1 envelope glycoprotein by rapid subtraction hybridization, RaSH [J]. *Oncogene*, 2002, 21(22): 3592–602.
- [2] Zhou J, Li J, Wang Z, et al. Metadherin is a novel prognostic marker for bladder cancer progression and overall patient survival [J]. *Asia Pac J Clin Oncol* 2012 8(3): e42–8.
- [3] Sun S, Ke Z, Wang F, et al. Overexpression of astrocyte-elevated gene-1 is closely correlated with poor prognosis in human non-small cell lung cancer and mediates its metastasis through up-regulation of matrix metalloproteinase-9 expression [J]. *Hum Pathol* 2012 43(7): 1051–60.
- [4] Krug S, Huth J, Goke F, et al. Knock-down of Pcd4 stimulates angiogenesis via up-regulation of angiopoietin-2 [J]. *Biochim Biophys Acta* 2012 1823(4): 789–99.
- [5] 陈宗科,秦蓉,储婧,等. miR-24 和 miR-22 在胃癌中的表达及其临床意义[J]. *安徽医科大学学报*, 2013, 48(2): 167–71.
- [6] 王芬,柯尊富,王连唐. AEG-1 在恶性肿瘤中的研究进展[J]. *中国肿瘤临床* 2010 37(20): 1195–8.
- [7] Gnosa S, Shen Y M, Wang C J, et al. Expression of AEG-1 mRNA and protein in colorectal cancer patients and colon cancer cell lines [J]. *J Transl Med* 2012 10: 109.
- [8] Song H, Li C, Lu R, et al. Expression of astrocyte elevated gene-1: a novel marker of the pathogenesis, progression, and poor prognosis for endometrial cancer [J]. *Int J Gynecol Cancer* 2010 20(7): 1188–96.
- [9] Qi C, Shao Y, Li N, et al. Prognostic significance of PDCD4 expression in human salivary adenoid cystic carcinoma [J]. *Med Oncol* 2013 30(1): 491.
- [10] Horiuchi A, Iinuma H, Akahane T, et al. Prognostic significance of PDCD4 expression and association with microRNA-21 in each Dukes' stage of colorectal cancer patients [J]. *Oncol Rep* 2012 27(5): 1384–92.
- [11] Pennelli G, Fassan M, Mian C, et al. PDCD4 expression in thyroid neoplasia [J]. *Virchows Arch* 2013 462(1): 95–100.
- [12] Li X, Xin S, Yang D, et al. Down-regulation of PDCD4 expression is an independent predictor of poor prognosis in human renal cell carcinoma patients [J]. *J Cancer Res Clin Oncol* 2012 138(3): 529–35.
- [13] 王启明,谢晓冬. MTDH 与肿瘤关系研究进展 [J]. *中华肿瘤防治杂志* 2011 18(14): 1138–40.
- [14] Wang Q, Zhang Y, Yang H S. Pcd4 knockdown up-regulates MAP4K1 expression and activation of AP-1 dependent transcription through c-Myc [J]. *Biochim Biophys Acta* 2012 1823(10): 1807–14.

Expression and clinical significance of MTDH and PDCD4 in gastric cancer

Yang Fei, Deng Yuehua, Liu Yi, et al

(Dept of General Surgery, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

Abstract Objective To study the expression levels of metadherin (MTDH) and programmed cell death 4 (PDCD4) and detect their clinicopathological significance in gastric cancer and explore the role of MTDH and PDCD4 in the occurrence and development of gastric cancer. **Methods** The expressions of MTDH and PDCD4 were detected in 83 cases of primary gastric cancer patients cancer tissue and adjacent normal tissue by Two-step immunohistochemical method. **Results** the expression of MTDH in gastric cancer tissue was higher than the adjacent normal tissue ($P < 0.05$); the expression of PDCD4 in gastric cancer tissue was lower than the adjacent normal tissue ($P < 0.05$); the expression of MTDH was statistically significant associated with the clinical stage, depth of invasion, lymph node metastasis ($P < 0.05$), nothing to do with other clinicopathological parameters. The expression of PDCD4 was statistically significance associated with degree of differentiation ($P < 0.05$), nothing to do with other clinicopathological parameters. There was negative correlation between the expression of MTDH and PDCD4 in gastric cancer tissue ($\chi^2 = 16.893$, $P < 0.05$, $r = -0.451$). **Conclusion** The expression of MTDH and PDCD4 in gastric cancer tissues and adjacent normal tissue are significantly different. There is a strong negative correlation between MTDH and PDCD4, the expressions of them are closely related with the occurrence and development of gastric cancer.

Key words gastric cancer; metadherin; programmed cell death 4