

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.011.008  
文章编号: 1005-8982 (2018) 011-0044-04

## VGLL4 蛋白在胃癌和癌旁组织中的表达及其临床意义

韩新影<sup>1</sup>, 刘红正<sup>2</sup>, 孙杰<sup>1</sup>, 张志刚<sup>1</sup>

(1. 河北省沧州市人民医院 病理科, 河北 沧州 061000; 2. 河北省沧州中西医结合医院, 河北 沧州 061001)

**摘要: 目的** 探讨转录辅助因子退变样蛋白 4 (VGLL4) 在胃癌组织和癌旁组织中的表达, 以及与临床病理特征的关系。**方法** 采用免疫组织化学 SP 法检测 168 例胃癌和癌旁组织中 VGLL4 蛋白的表达, 分析其与临床病理特征的关系。**结果** VGLL4 阳性表达主要位于细胞核, 少数在细胞浆。VGLL4 蛋白在胃癌组织中表达较少, 且在深度浸润、有淋巴结转移及 TNM 分期较高的胃癌组织中表达较少, 提示胃癌组织中 VGLL4 蛋白低表达与患者预后差相关。**结论** VGLL4 在胃癌组织中较癌旁组织表达下降 ( $P < 0.05$ ), 与肿瘤发展和恶性程度呈负相关, 是一种潜在的抑癌蛋白。

**关键词:** 胃癌; 免疫组织化学法; VGLL4; 临床病理特征

**中图分类号:** R735.2

**文献标识码:** A

## Expression of VGLL4 protein in gastric carcinoma tissues and its relationships with clinicopathological parameters

Xin-ying Han<sup>1</sup>, Hong-zheng Liu<sup>2</sup>, Jie Sun<sup>1</sup>, Zhi-gang Zhang<sup>1</sup>

(1. Department of Pathology, Cangzhou People's Hospital, Cangzhou, Hebei 061000, China; 2. Cangzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine and Western Medicine, Cangzhou, Hebei 061001, China)

**Abstract: Objective** To investigate the expression of VGLL4 protein in gastric carcinoma tissues and its relationships with clinicopathological parameters. **Methods** The expressions of VGLL4 protein were determined with immunohistochemical SP method in 168 samples of gastric cancer and adjacent tissues. Their correlations with clinicopathological parameters were analyzed. **Results** The positive expression of VGLL4 protein mainly located in the nuclei, in a few incidence in the cytoplasm. VGLL4 protein expression was reduced in the gastric cancer tissues. The VGLL4 expression was less in the gastric cancers with deep infiltration, lymph node metastasis and high TNM stage, suggesting that low expression of VGLL4 protein in gastric cancer was associated with poor prognosis. **Conclusions** VGLL4 protein expression in gastric cancer is lower than that in the adjacent tissues and negatively correlated with tumor progression and tumor malignancy. VGLL4 is a potential tumor suppressor protein.

**Keywords:** gastric cancer; immunohistochemistry; VGLL4; clinicopathological parameters

侵袭和转移是胃癌恶性生物学行为的重要特征, 是一个多步骤、多因素参与的复杂过程, 也是造成胃

癌患者预后差的主要原因<sup>[1-2]</sup>。转录辅助因子退变样蛋白 4 (vestigial-like family member 4, VGLL4) 是最

收稿日期: 2016-09-20

[通信作者] 张志刚, E-mail: zhzhg001518@126.com; Tel: 0317-3521117

新发现的一种抑癌基因, VGLL4 可以与 Yes 激酶相关蛋白 (Yes-associated protein, YAP) 竞争性结合转录增强因子 (transcription enhancer factor domain family member, TEAD), 从而抢先一步控制 YAP-TEAD 信号通路, 抑制肿瘤细胞生长。有研究报道, VGLL4 在调节细胞增殖、迁移、侵袭及上皮-间质转化方面发挥关键作用<sup>[3-6]</sup>。本研究采用免疫组织化学法检测胃癌和癌旁组织中 VGLL4 蛋白的表达, 判断 VGLL4 蛋白表达与胃癌患者临床病理特征的关系, 现报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取 2011 年 6 月-2015 年 6 月河北省沧州市人民医院病理科存档胃癌患者的石蜡包埋组织及对应癌旁组织 (距癌变部位 >5 cm) 各 168 例。重新制备 4 μm 切片, 免疫组织化学法染色, 由 2 位有经验的医师重新审核病理诊断报告的准确性和组织学分型。其中, 女性 48 例, 男性 120 例; 年龄 24 ~ 89 岁, 平均 60.5 岁。组织学类型包括普通型腺癌、印戒细胞癌及少数神经内分泌癌, 采用 2010 年国际抗癌联盟/美国癌症联合委员会 TNM 分期标准, 将所有患者分为 0 期 (4 例)、I 期 (32 例)、II (45 例)、III 期 (74)、IV 期 (13)。

### 1.2 方法

**1.2.1 免疫组织化学法** 兔抗人 VGLL4 单克隆抗体 (bs-9185R) (北京博奥森生物技术有限公司)。严格按照免疫组织化学 SP 法试剂盒说明书进行操作, VGLL4 一抗稀释比例为 1 : 200, 用已知阳性组织切片做阳性对照, 用 PBS 代替一抗做阴性对照。

**1.2.2 判定标准** VGLL4 蛋白着色部位为细胞核, 少数患者可见细胞浆着色。采用染色强度和阳性细胞百分比综合评定阳性结果。染色强度: 无色为 0 分, 淡黄色为 1 分, 棕黄色为 2 分, 棕褐色为 3 分。阳性细胞百分比: 无阳性细胞为 0 分, 阳性细胞 <25% 为 1 分, 26% ~ 50% 为 2 分, 51% ~ 75% 为 3 分, >75% 为 4 分。染色强度和阳性细胞百分比 2 项积分相加: 0 ~ 3 分为阴性, 4 ~ 7 分为阳性<sup>[7]</sup>。

### 1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 13.0 统计软件, 计量资料以均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 用 *t* 检验; 计数资料以

率 (%) 表示, 用  $\chi^2$  检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

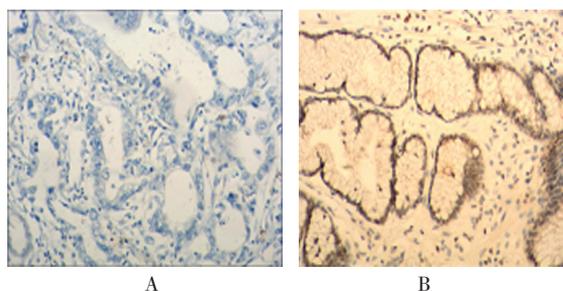
## 2 结果

### 2.1 VGLL4 蛋白在胃癌和癌旁组织中的表达

VGLL4 蛋白的阳性表达主要位于细胞核, 呈棕黄色颗粒, VGLL4 在胃癌组织中多呈阴性表达 (见附图), 表达阳性率仅为 17.3% (29/168), 免疫组织化学法评分 ( $1.45 \pm 0.15$ ) 分; 而在癌旁组织中多呈阳性表达 (见附图), 表达阳性率为 62.5% (105/168), 免疫组织化学法评分 ( $4.75 \pm 0.20$ ) 分。对 VGLL4 蛋白在胃癌和癌旁组织中的阳性表达率进行比较, 经  $\chi^2$  检验, 差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 71.698, P = 0.000$ ); 对 VGLL4 蛋白在胃癌和癌旁组织中的免疫组织化学法评分进行比较, 经 *t* 检验, 差异有统计学意义 ( $t = 171.092, P = 0.000$ ), VGLL4 蛋白在胃癌组织中的表达低于癌旁组织。

### 2.2 VGLL4 蛋白表达与胃癌临床病理特征的关系

按性别、年龄、肿瘤大小、分化程度、浸润深度、有淋巴结及 TNM 分期进行分组, 检测胃癌组织中 VGLL4 蛋白的表达。结果表明, VGLL4 蛋白在深度浸润、有淋巴结转移及 TNM 分期较高的胃癌组织中表达较少 ( $P < 0.01$ )。见附表。



A: 胃癌组织; B: 癌旁组织

附图 VGLL4 蛋白在胃癌和癌旁组织中的表达 (SP × 100)

附表 胃癌临床病理特征与 VGLL4 蛋白表达的关系

临床病理特征	例数	VGLL4 阳性例 (%)	$\chi^2$ 值	<i>P</i> 值
<b>性别</b>				
男	120	22 (18.3)	0.338	0.561
女	48	7 (14.6)		
<b>年龄</b>				
< 60 岁	70	9 (12.9)	1.630	0.202
≥ 60 岁	98	20 (20.4)		

续附表

临床病理特征	例数	VGLL4 阳性例 (%)	$\chi^2$ 值	P 值
<b>肿瘤直径</b>				
< 5 cm	87	14 (16.1)	0.173	0.677
≥ 5 cm	81	15 (18.5)		
<b>分化程度</b>				
高、中	44	9 (20.5)	0.425	0.514
低	124	20 (16.1)		
<b>浸润深度</b>				
黏膜、浅肌层	29	13 (44.8)	18.648	0.001
深肌层、全层	139	16 (11.5)		
<b>淋巴结转移</b>				
无	64	18 (28.1)	8.542	0.003
有	104	11 (10.6)		
<b>TNM 分期</b>				
0 ~ II 期	81	21 (25.9)	8.221	0.004
III、IV 期	87	8 (9.2)		

### 3 讨论

胃癌是一种常见的消化道恶性肿瘤之一, 大多数胃癌患者发现时已到晚期, 死亡率较高, 预后较差。胃癌发生的分子机制是目前研究的热点, 涉及众多癌基因和抑癌基因的表达, 深入研究胃癌发生、发展的相关基因和蛋白产物, 有助于发现新的靶点。

VGLL4 是 VGLL 的家族成员之一, 是最新发现的原癌蛋白 YAP 的一个致命对手。VGLL4 通过与 YAP 竞争性结合 TEAD4, 可以抢先一步控制 YAP 的活性开关, 从而抑制 YAP 的活性来抑制肿瘤细胞生长。研究发现, VGLL4 蛋白在胃癌组织中减少, 且与肿瘤的发展、恶化呈负相关, 是一种潜在的抑癌蛋白, 且癌细胞对于该多肽抑制剂的敏感性与癌细胞本身的 YAP/VGLL4 蛋白比率呈正相关<sup>[8]</sup>。另有研究发现, miR-222 与 VGLL4 表达呈负相关, 生物信息学分析结合实验结果表明 VGLL4 是 miR-222 在胃癌细胞中的直接靶标<sup>[9]</sup>。目前国内该项研究甚少, 河北省还未有相关方面的报道。

VGLL 蛋白家族由 2 个 TDU 结构域组成, 其抑癌作用主要来自于第 2 个结构域。Hippo 信号通路是近

年发现的一个重要抑癌通路, 原癌蛋白 YAP 是其下游主要的效应分子。正常情况下, YAP 不表达或者呈低表达, 通路中的一些分子通过一系列磷酸化来抑制 YAP 的表达, 一旦上游或者下游的分子发生突变, 这些分子就会激活原先不表达或低表达的 YAP, 作为转录共激活因子与 TEAD1 结合, 诱导靶基因表达, 从而发挥调控细胞增殖和凋亡、上皮间质化转移与癌变的作用, 产生肿瘤<sup>[10-12]</sup>, 因此 YAP 蛋白的表达与胃癌、肺癌等多种癌症密切相关, 是肿瘤治疗的潜在分子靶点, 因此靶向 YAP 的抑制剂可能会更有效、更直接地纠正失调的 Hippo 信号通路, 杀死肿瘤。研究者解析 VGLL4 与 TEAD4 形成复合物的三维结构, 并发展针对 YAP 的多肽类抑制剂, 结果显示, 该多肽类抑制剂能有效抑制胃癌细胞的增殖及肿瘤的生长<sup>[8]</sup>。

本研究结果发现, VGLL4 在胃癌中的表达较癌旁组织减少, 且 VGLL4 蛋白在深度浸润、有淋巴结转移及 TNM 分期较高的胃癌组织中表达较少, 提示胃癌组织中 VGLL4 低表达与胃癌患者预后差相关, 是一种潜在的抑癌蛋白。综上所述, 胃癌组织中 VGLL4 的检测可以反映肿瘤细胞的侵袭、增殖及转移情况, 可以在一定程度上反映胃癌的生物学特征, VGLL4 可以通过中断 YAP-TEADs 相互作用, 来抑制肿瘤的生长, 为 YAP 驱动的肿瘤提供新的治疗策略<sup>[13]</sup>。

### 参 考 文 献:

- [1] HWANG I, KANG Y N, KIM J Y, et al. Prognostic significance of membrane-associated mucins 1 and 4 in gastric adenocarcinoma[J]. *Exp Ther Med*, 2012, 4(2): 311-316.
- [2] GUO J, DONG B, JI J F, et al. Myofibrillogenesis regulator overexpression is associated with poor prognosis of gastric cancer patients[J]. *World J Gastroenterol*, 2012, 18(38): 5434-5441.
- [3] 张靖, 朱金水. Hippo-YAP 信号通路及胃癌相关性研究[J]. *国际消化病杂志*, 2011, 31(4): 207-208.
- [4] ZHANG W J, GAO Y J, LI P X, et al. VGLL4 functions as a new tumor suppressor in lung cancer by negatively regulating the YAP-TEAD transcriptional complex[J]. *Cell Research*, 2014, 24(3): 331-343.
- [5] JIANG W, YAO F, LV B, et al. Downregulation of VGLL4 in the progression of esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(2): 1289-1297.
- [6] LI H, WANG Z, ZHANG W, et al. VGLL4 inhibits EMT in part through suppressing Wnt /  $\beta$ -catenin signaling pathway in gastric cancer[J]. *Med Oncol*, 2015, 32(3): 83-91.
- [7] ZENG Z S, COHEN A M, GUILLEM J G, et al. Loss of basement membrane type IV collagen in associated with increased expression

- of metalloproteinases 2 and 9 (MMP-2 and MMP-9) during human colorectal tumorigenesis[J]. *Carcinogenesis*, 1999, 20(5): 749-755.
- [8] JIAO S, WANG H Z, SHI Z B, et al. A peptide mimicking VGLL4 function acts as a YAP antagonist therapy against gastric cancer[J]. *Cancer Cell*, 2014, 25(10): 166-180.
- [9] LI N, YU N R, WANG J, et al. miR-222/VGLL4/YAP-TEAD1 regulatory loop promotes proliferation and invasion of gastric cancer cells[J]. *Am J Cancer Res*, 2015, 5(3): 1158-1168.
- [10] BAIA G S, CABALLERO O L, ORR B A, et al. Yes-associated protein 1 is activated and functions as an oncogene in meningiomas[J]. *Mol Cancer Res*, 2012, 10(7): 904-913.
- [11] SERRANO I, MCDONALD P C, LOCK F, et al. Inactivation of the Hippo tumour suppressor pathway by integrin-linked kinase[J]. *Nat Commun*, 2013, 4(5): 2976-2983.
- [12] HARVEY K F, ZHANG X, THOMAS D M. The Hippo pathway and human cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2013, 13(4): 246-257.
- [13] WANG H Z, SHI Z B, DONG A M, et al. A peptide mimicking VGLL4 function acts as a YAP antagonist therapy against gastric[J]. *Cancer Cell*, 2014, 25(2): 166-180.

(童颖丹 编辑)

## 欢迎订阅《中国现代医学杂志》

《中国现代医学杂志》创刊于 1991 年, 系中国科技论文统计源期刊、北大中文核心期刊、中国核心学术期刊 (RCCSE) (A-) 及湖南省十佳期刊, 被中国知网、万方数据库、超星域出版、美国《化学文摘》(CA)、俄罗斯《文摘杂志》(AJ) 等国内外多个检索系统收录。本刊是中华人民共和国教育部主管的综合性医学学术期刊, 以服务于广大医药卫生科技人员, 促进国内外医学学术交流和医学事业发展为宗旨。由中南大学、中南大学湘雅医院主办, 湖南省湘雅医学期刊社有限公司出版。

《中国现代医学杂志》辟有基础研究·论著、临床研究·论著、综述、新进展研究·论著、临床报道、学术报告、病例报告等栏目。主要刊登国内外临床医学、基础医学、预防医学以及医学相关学科的新理论、新技术、新成果, 以及医院医疗、教学、科研、管理最新信息、动态等内容。读者为广大医药卫生工作者。

《中国现代医学杂志》为旬刊, 国际标准开本 (A4), 全刊为彩色印刷, 无线胶装。内芯采用 90 g 芬欧汇川雅光纸 (880×1 230 mm), 封面采用 200 g 紫鑫特规双面铜版纸 (635×965 mm) 印刷, 每个月 10、20、30 日出版。定价 25 元/册, 全年 900 元。公开发行, 国内统一刊号: CN 43-1225/R; 国际标准刊号: ISSN 1005-8982; 国内邮发代号: 42-143。欢迎新老用户向当地邮局 (所) 订阅, 漏订或需增订者也可直接与本刊发行部联系订阅。

联系地址: 湖南省长沙市湘雅路 87 号《中国现代医学杂志》发行部, 邮编: 410008

电话: 0731-84327938; 传真: 0731-89753837; E-mail: journal@zgxdyx.com

唯一官网网址: www.zgxdyx.com