

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.08.007
文章编号: 1005-8982(2018)08-0035-04

临床研究·论著

Vav1 蛋白在胃癌中的表达及其临床意义*

张明明¹, 贾晓梅², 高伟¹

(河北省人民医院 1. 检验科, 2. 门诊办公室, 河北 石家庄 050051)

摘要: **目的** 检测 Vav1 蛋白在胃癌患者外周血和肿瘤组织中的表达, 并对其相关性和临床意义进行探讨。**方法** 选取行胃癌根治术的 200 例患者作为手术组, 同期就诊的术后复发患者 62 例作为复发组, 年龄、性别相匹配的健康体检者 100 例作为对照组。取肿瘤组织及正常胃黏膜组织的石蜡标本进行免疫组织化学 SP 法染色, 检测肿瘤组织及周围正常黏膜组织中 Vav1 蛋白的表达; 酶联免疫吸附试验检测各组外周血中 Vav1 蛋白的含量。**结果** 手术组患者术前外周血中 Vav1 浓度高于对照组 ($P < 0.05$); 术后 Vav1 浓度下降, 与对照组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。复发组外周血 Vav1 水平高于手术组术前水平 ($P < 0.05$)。手术组肿瘤组织 Vav1 蛋白表达较正常胃黏膜升高 ($P < 0.05$)。复发组肿瘤组织 Vav1 蛋白表达较手术组升高 ($P < 0.05$)。手术组和复发组患者肿瘤组织与外周血 Vav1 蛋白表达有相关性 ($P < 0.05$)。**结论** Vav1 蛋白在胃癌患者外周血及肿瘤组织中表达升高, 且有相关性。外周血 Vav1 可作为新的肿瘤标志物, 对评价肿瘤变化、预测肿瘤复发有重要意义。

关键词: 胃癌; Vav1 蛋白; 肿瘤标志物

中图分类号: R735.2

文献标识码: A

Significance of Vav1 protein detection in peripheral blood of patients with gastric cancer*

Ming-ming Zhang¹, Xiao-mei Jia², Wei Gao¹

(1. Department of Medical Laboratory, 2. Out-patient Department, Hebei General Hospital, Shijiazhuang, Hebei 050051, China)

Abstract: Objective To explore the expression of Vav1 protein in peripheral blood and gastric cancer tissues and its relationship and clinical significance. **Methods** In this study, 200 patients with pathological diagnosis of gastric cancer who accepted radical surgery were recruited as operation group, and 62 patients diagnosed as recrudescence after operation were recruited as recurrent group, also 100 normal cases were recruited as control group. Immunohistochemical technique was performed to test the expression of Vav1 protein in the paraffin sections of gastric cancer tissues and normal mucosa, and the expression of Vav1 protein in peripheral blood was tested with enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** The level of Vav1 protein in the peripheral blood of the operation group before operation was higher than that of the control group ($P < 0.05$). After operation, the level of Vav1 in the peripheral blood of the operation group decreased significantly, which was not significantly different from that of the control group ($P > 0.05$). The expression of Vav1 protein in the peripheral blood of the recurrent group was higher than the preoperative level of the operation group ($P < 0.05$). The expression of Vav1 protein in the gastric cancer tissues of the operation group was higher than that in the normal gastric mucosa ($P < 0.05$). The expression of Vav1 protein in the recurrent group was higher than that in the operation group ($P < 0.05$). Significant correlations were found between tumor tissue Vav1 expression and peripheral blood Vav1 expression in both operation group and

收稿日期: 2016-03-31

* 基金项目: 2015 年河北省医学科学研究重点课题计划 (No: 20150131)

recurrent group ($P < 0.05$). **Conclusions** Vav1 expression increases in gastric cancer tissues and peripheral blood of patients with gastric cancer, and significant correlation is found between them. Vav1 level in the peripheral blood may serve as a new tumor marker to evaluate patients' condition and predict recrudescence.

Keywords: gastric cancer; Vav1 protein; tumor marker

胃癌是常见的消化道恶性肿瘤之一,易于复发,预后较差^[1-2]。研究表明,Vav1蛋白与恶性肿瘤关系密切,具有促进肿瘤生长、侵袭及远处转移的作用^[3-4]。但Vav1蛋白在胃癌组织及外周血中表达及意义的报道少见。本研究选取胃癌患者、胃癌复发患者及健康体检者,检测肿瘤组织及外周血中Vav1水平,分析两者的相关性,探讨其临床意义,为胃癌和复发患者的病情分析、复发预测提供依据。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取2014年10月-2015年12月在河北省人民医院行胃癌根治术的患者200例作为手术组。其中,男性114例,女性86例;年龄29~72岁,平均 (58.7 ± 12.3) 岁,均由术前活检和术后病理确诊。手术组患者中,淋巴结转移阴性38例,淋巴结转移阳性162例。同期就诊的术后复发患者62例作为复发组。复发组患者经病理证实,胃镜结合CT检查确诊为复发。选取年龄、性别相匹配的健康体检者100例作为对照组。所有患者自愿签署知情同意书,并经本院医学伦理委员会批准。

1.2 主要试剂及仪器

人Vav1癌基因酶联免疫吸附测定法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)定量分析试剂盒(美国RD公司,批号:015828),Vav1一抗(美国Sigma公司),酶免之星全自动酶标仪(瑞士Hamilton公司),免疫组织化学法试剂盒(武汉博士德生物公司)。

1.3 标本采集

所有患者晨起空腹抽取静脉血5 ml,室温静置30 min后,3 000 r/min离心15 min,分离血清。手术组患者在术前1 d、术后2周各采血1次。复发组和对照组均采血1次。肿瘤组织石蜡标本来源于术中切除标本,肿瘤离体后置于4%多聚甲醛中固定,石蜡包埋。连续切片后行苏木精-伊红染色法(hematoxylin-eosin staining, HE)染色、免疫组织化学SP法检测;于本院病理科取正常胃黏膜石蜡标本30例作为组织检测的对照,其标本来自胃镜活检组

组织,无癌及不典型增生组织。

1.4 ELISA

采用双抗夹心法,严格依据试剂盒说明书进行操作,检测血清Vav1的表达水平。板内变异系数 $< 5\%$,板间变异系数 $< 7\%$,在450 nm处测量Vav1的表达。

1.5 免疫组织化学法

严格按免疫组织化学法试剂盒说明书进行操作,逐步进行显色、复染及封片,染色后进行结果判断。染色结果由2位病理医师进行阅片。在400倍视野下,每张切片随机取5个视野,每个视野随机计数100个肿瘤细胞,参考文献[5]采用二次计分法计算目的蛋白的相对表达量。细胞膜或细胞浆内出现黄或棕黄色颗粒为染色阳性。细胞表达阳性的计分标准:阳性细胞 $< 10\%$ 为0分,10%~25%为1分,26%~50%为2分,51%~75%为3分, $> 75\%$ 为4分。染色强度的计分标准:无色为0分,浅黄色为1分,黄色为2分,黄褐色为3分。两者相乘 ≤ 2 分为阴性, > 2 分为阳性。

1.6 统计学方法

数据分析采用SPSS 16.0统计软件,计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,用单因素方差分析或 t 检验,两两比较用LSD- t 检验;计数资料以率($\%$)表示,用 χ^2 检验,两两比较用校正检验水准法(检验水准 $\alpha = 0.0125$);相关分析用Spearman法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3组患者外周血中Vav1水平比较

手术组患者手术前后外周血Vav1水平分别为 (196.57 ± 16.82) 和 (10.21 ± 1.17) ng/ml,对照组为 (10.42 ± 1.09) ng/ml,复发组为 (227.45 ± 20.67) ng/ml。手术组术前、复发组、对照组外周血Vav1水平比较,采用单因素方差分析,差异有统计学意义($F = 6754.831, P = 0.000$)。进一步两两比较经LSD- t 检验,复发组外周血Vav1水平高于手术组患者术前($t = 11.936, P = 0.000$),手术组患者术前外周血Vav1水平高于对照组($t = 110.464, P = 0.000$)。手术组患者手术前后外周血Vav1水平比较,经 t 检验,差异

有统计学意义 ($t=1.4745$, $P=0.000$), 手术组术前高于术后。手术组患者术后外周血 Vav1 水平与对照组比较, 经 t 检验, 差异无统计学意义 ($t=-1.499$, $P=0.135$)。对手术组患者术前外周血 Vav1 水平进行分析, 淋巴结转移阴性者的外周血 Vav1 水平为 (195.09 ± 15.07) ng/ml, 淋巴结转移阳性者为 (199.38 ± 15.97) ng/ml, 经 t 检验, 差异无统计学意义 ($t=-1.140$, $P=0.256$)。

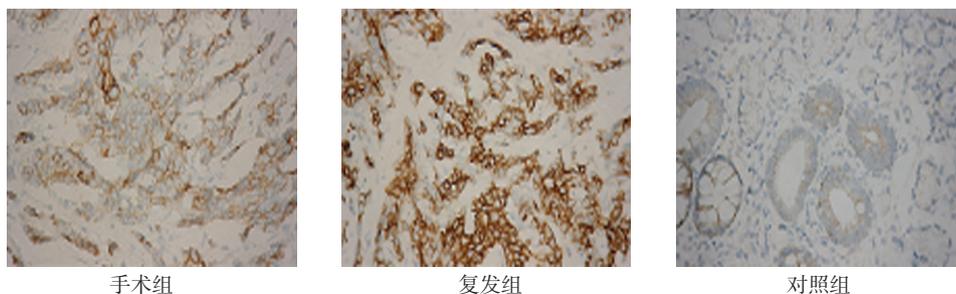
2.2 胃癌肿瘤组织与正常黏膜组织 Vav1 的表达

手术组胃癌组织 Vav1 阳性表达率为 82.5% (165/200), 正常胃黏膜组织为 13.3% (4/30); 复发组胃癌组织 Vav1 阳性表达率为 95.16% (59/62)。3 组患者 Vav1 阳性表达率比较, 经 χ^2 检验, 差异有统计学意义 ($\chi^2=86.340$, $P=0.000$)。其中, 手术组胃癌组织

Vav1 阳性表达率与对照组比较, 经 χ^2 检验, 差异有统计学意义 ($\chi^2=60.041$, $P=0.000$), 手术组高于对照组; 复发组胃癌组织 Vav1 阳性表达率与手术组胃癌组织比较, 经 χ^2 检验, 差异有统计学意义 ($\chi^2=6.119$, $P=0.013$), 复发组高于手术组; 复发组胃癌组织 Vav1 阳性表达率与对照组比较, 经 χ^2 检验, 差异有统计学意义 ($\chi^2=62.714$, $P=0.000$), 复发组高于对照组。见附图。

2.3 手术组和复发组患者外周血与肿瘤组织中 Vav1 表达的相关性

Spearman 相关分析显示, 手术组外周血与肿瘤组织中 Vav1 表达呈正相关 ($r_s=0.345$, $P=0.000$)。复发组外周血与肿瘤组织中 Vav1 表达也呈正相关 ($r_s=0.443$, $P=0.000$)。



附图 3 组患者 Vav1 蛋白的表达 (SP×400)

3 讨论

胃癌是常见的消化道恶性肿瘤, 发病率居恶性肿瘤前列, 可发生于胃的各个部位, 容易向胃壁及周围组织侵犯, 而且症状不典型, 早期不易发现, 容易误诊、误治, 失去手术机会^[6-7]。及时准确的判断肿瘤状态, 尽早预测复发对指导临床综合治疗有重要意义。

Vav1 又称鸟苷酸转换因子, 具有鸟苷酸释放因子活性, 有助于小 G 蛋白上的二磷酸鸟苷和三磷酸鸟苷相互转换, 从而活化 Ras 和 Rho 等小 G 蛋白。Vav1 主要表达于造血系统、造血细胞。Dbl 家族中还有 2 个与 Vav1 结构相同的蛋白——Vav2 和 Vav3, 其在人体中的表达比较广泛。Vav1 蛋白结构较为复杂, 由 DH、PH、CH、AC、SH2 及 SH3 结构域组成, 各结构域功能相辅相成, DH 结构域起催化作用, PH 和 AC 结构域可调节蛋白活性, CH 结构域使 Vav1 处于失活状态, SH2 和 SH3 结构域主要介导 Vav1 与其他蛋白的相互作用。有研究显示, Vav1 蛋白在许多恶性肿瘤中表达升高, 具有促进肿瘤生长、扩散、侵袭及远处

转移的作用, 其表达与肿瘤的恶性程度呈正相关^[7-8]。本研究发现, Vav1 在胃癌肿瘤组织中的表达强于正常胃黏膜组织, 说明 Vav1 蛋白表达与肿瘤发生、发展关系密切。研究结果还发现, 复发组肿瘤组织 Vav1 表达也增强, 甚至高于手术组胃癌组织, 说明 Vav1 表达在肿瘤复发过程中进一步增强, 提示 Vav1 可能对胃癌的复发有促进作用。但本研究也发现, 术前有无淋巴结转移者外周血 Vav1 水平无差异, 提示 Vav1 水平可能与胃癌淋巴结转移情况无关。

实验结果表明, 手术组患者术前外周血中 Vav1 水平高于对照组, 根治性手术去除肿瘤后 Vav1 水平降低, 降至与对照组 Vav1 水平无差异。由此可见, 外周血中 Vav1 水平高低与肿瘤组织的存续有十分密切的关系, 肿瘤组织的存在与否直接影响 Vav1 水平的变化。对于复发组患者, 外周血中 Vav1 水平升高, 且高于手术组术前, 说明 Vav1 水平与肿瘤的复发关系密切, 笔者认为肿瘤的复发刺激 Vav1 水平升高, 同时 Vav1 水平升高也通过某种机制刺激肿瘤的生长和复

发。相关分析发现,手术组和复发组患者外周血与肿瘤组织中 Vav1 表达呈正相关,说明外周血中 Vav1 水平可以反映机体肿瘤组织状态。

综上所述,胃癌患者肿瘤组织 Vav1 过表达,外周血中 Vav1 水平升高,且外周血与肿瘤组织中 Vav1 表达呈正相关。Vav1 与胃癌的关系十分密切,早期动态监测外周血中 Vav1 蛋白水平,可以及时准确地掌握肿瘤在患者体内的发展、变化,对预测术后生存率和肿瘤复发提供重要的参考价值。

参 考 文 献:

- [1] GHOSN M, TABCHI S, KOURIE H R, et al. Metastatic gastric cancer treatment: second line and beyond[J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(11): 3069-3077.
- [2] CHEN X F, QIAN J, PEI D, et al. Prognostic value of perioperative leukocyte count in resectable gastric cancer[J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(9): 2818-2827.
- [3] QI Y, KONG F M, DENG Q, et al. Clinical significance and prognostic value of Vav1 expression in non-small cell lung cancer[J]. *Am J Cancer Res*, 2015, 5(8): 2491-2497.
- [4] DU M J, CHEN X D, ZHOU X L, et al. Estrogen induces Vav1 expression in human breast cancer cells[J]. *PLoS One*, 2014, 9(6), DOI: org/10.1371/journal.pone.0099052.
- [5] KATZAV S. Vav1: A Dr. Jekyll and Mr. Hyde protein--good for the hematopoietic system, bad for cancer[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(30): 28731-28742.
- [6] DEGIULI M, de MANZONI G, DI LEO A, et al. Gastric cancer: current status of lymph node dissection[J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(10): 2875-2893.
- [7] KHAN M K, SYED A A, KHATTAK S, et al. Surgical management of gastric cancer: single center experience from a developing country[J]. *South Asian J Cancer*, 2015, 4(3): 127-129.
- [8] SEBBAN S, FARAGO M, RABINOVICH S, et al. Vav1 promotes lung cancer growth by instigating tumor-microenvironment cross-talk via growth factor secretion[J]. *Oncotarget*, 2014, 5(19): 9214-9226.

(童颖丹 编辑)