

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2016.21.005

文章编号: 1005-8982(2016)21-0025-05

论著

MACC1 和 CIP2A 蛋白表达的相关性 及其与胃癌预后的关系

黎敏

(包头医学院第一附属医院 消化科, 内蒙古 包头 014010)

摘要:目的 检测结肠癌转移相关基因 1(MACC1)蛋白在胃癌病变组织及癌旁正常组织中的表达,以及
与胃癌各临床病理特征的关系,进一步分析 MACC1 与蛋白磷酸酶 2A 的癌性抑制因子(CIP2A)蛋白表达是否
具有相关性,评估胃癌预后,并为治疗提供思路。**方法** 应用逆转录聚合酶链反应检测胃癌组织和癌旁正常组织
中 MACC1 蛋白的表达,分析其表达差异性。免疫组织化学法测定 30 例胃癌组织和癌旁正常组织中 MACC1
和 CIP2A 蛋白的表达,分析 MACC1 蛋白与胃癌临床不同病理特征的关系,同时分析 MACC1 和 CIP2A 蛋白
的相关性。**结果** MACC1 蛋白在癌旁正常组织和胃癌组织中的阳性表达率分别为 16.7%和 76.7%,差异有统
计学意义。CIP2A 蛋白在癌旁正常组织和胃癌组织中的阳性表达率分别为 23.3%和 73.3%,差异有统计学意义。
不同性别、年龄、组织类型的 MACC1 蛋白阳性表达率比较,差异无统计学意义;不同组织分化程度、肿瘤浸润
程度、淋巴结转移程度、临床分期的 MACC1 蛋白阳性表达率比较,差异有统计学意义;MACC1 与 CIP2A
蛋白表达呈正相关。**结论** MACC1 与 CIP2A 蛋白呈正相关,两者联合检测可以判断患者的预后。

关键词: 结肠癌转移相关基因 1 蛋白;蛋白磷酸酶 2A 的癌性抑制因子蛋白;胃癌;预后

中图分类号: R735.2

文献标识码: A

Expressions of MACC1 and CIP2A proteins and their correlations with prognosis of gastric carcinoma

Min Li

(Department of Digestive Diseases, the First Affiliated Hospital Of Baotou Medical
College, Baotou, Inner Mongolia 014010, China)

Abstract: Objective To investigate the expression of metastasis-associated in colon cancer 1 (MACC1)
protein in gastric cancerous tissue and adjacent noncancerous tissue and its relationships with the clinical
pathological factors and the cancerous inhibitor of protein phosphatase 2A (CIP2A) protein expression, and
evaluate the prognosis so as to provide the train of thought for the treatment of gastric cancer. **Methods** RT-
PCR was used to assay the expression of MACC1 protein in gastric cancerous tissue and adjacent noncancer-
ous tissue. Immunohistochemical assay was used to detect the expressions of MACC1 and CIP2A proteins in
gastric cancerous tissue and adjacent noncancerous tissue of 30 cases. The relationships of the expression of
MACC1 protein with clinical pathological factors and CIP2A protein were analyzed. **Results** The positive rate
of MACC1 in the gastric cancerous tissue and the adjacent noncancerous tissue was 16.7% and 76.7% re-
spectively, the difference was statistically significant. The positive rate of CIP2A protein expression in the gas-
tric cancerous tissue and the adjacent noncancerous tissue was 23.3% and 73.3% respectively with significant
difference. The expression of MACC1 protein was not significantly different between the patients with different
gender, different age or different histological types of gastric cancers. However, the patients with different
depth of tumor invasion, different degree of cancer differentiation, different degree of lymph node metastasis
and different clinical stage had significant differences in MACC1 expression. MACC1 and CIP2A protein ex-

收稿日期:2016-01-25

pressions were positively correlated. **Conclusions** MACC1 protein expression is positively correlated with CIP2A protein expression, combined detection of both can help to determine the prognosis of the patients.

Keywords: metastasis-associated in colon cancer 1 protein; cancerous inhibitor of protein phosphatase 2A protein; gastric carcinoma; prognosis

胃癌在消化道肿瘤的发病率中居首位,患病率高,生存期短,预后差,总体疗效不佳。其预后与很多因素相关,如性别、年龄、Borrmann 分型、肿瘤细胞的分化程度、肿瘤的浸润深度、淋巴结转移情况、手术根治情况、术后化疗的方案及次数、患者本身对化疗的敏感程度等综合因素有关。结肠癌转移相关基因 1 (metastasis-associated in colon cancer 1, MACC1)蛋白是肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)/C-met 信号转导通路的连接蛋白,起纽带作用。结肠癌转移灶内的 MACC1 蛋白表达高,可作为独立的预后评价指标。蛋白磷酸酶 2A 的癌性抑制因子(cancerous inhibitor of protein phosphatase 2A, CIP2A)蛋白通过稳定 c-Myc,促进细胞增殖和锚定独立生长,阻滞衰老和分化来促进体内恶性肿瘤的发生、发展^[1]。本研究旨在寻找 MACC1 蛋白在胃癌组织和癌旁正常组织中的表达,以及与 CIP2A 基因表达的相关性及其意义,为识别与寻找诊断靶点提供新思路。

1 材料与方法

1.1 组织标本收集

选取 2013 年 4 月 -2013 年 10 月于包头医学院第一附属医院手术切取的胃癌组织,配对距癌组织边缘 >5 cm 的正常组织,所有组织经病理科苏木精-伊红染色法(hematoxylin-eosin staining, HE)染色证实,每组 30 例。样本离体后一份立即装入冻存管,30 min 内迅速放置入 -80℃冰箱冷冻保存,另一份石蜡包埋。本研究通过本院伦理委员会批准。

1.2 实验试剂

链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶联结法(streptavidin-peroxidase, SP)免疫组织化学二抗试剂盒(SP-0023, 美国 Zymed 公司),bs-5948R 兔抗人 CIP2A 多克隆抗体、bs-4293R 兔抗人 MACC1 多克隆抗体购自北京博奥森生物科技有限公司,超纯 RNA 提取试剂盒、引物设计为北京德元国际生物公司。

1.3 实验方法

1.3.1 逆转录聚合酶链反应 提取组织总 RNA,

RNA 电泳, RNA 消化, 逆转录反应, 实时定量荧光聚合酶链反应, 结果判定依照实时定量荧光聚合酶链反应最先检测的数据, 按 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 相对定量公式计算, 各反应管 Ct 值进行相关换算, 得到 mRNA 相对表达量。即以正常组织为对照样本, 求出每种被试目的基因对应定量值, 以便找出目的基因 mRNA 转录水平的差异。

$F=2^{-[(\text{待测组目的基因平均 Ct 值} - \text{待测组管家基因平均值 Ct 值}) - (\text{对照组目的基因平均 Ct 值} - \text{对照组管家基因平均 Ct 值})]}$

1.3.2 免疫组织化学法 本实验采用免疫组织化学 SP 染色法, 即过氧化物酶标记的链菌卵白素染色法。根据显色程度: 细胞无着色计 0 分, 弱阳性(+) (淡黄色) 1 分, 中度阳性(++) (棕黄色) 2 分, 强阳性(+++) (棕黑色) 3 分。根据阳性细胞在细胞中所占比例: 弱阳性(+), 阳性细胞数 <25%; 中度阳性(++), 阳性细胞数为 25% ~ 50%; 强阳性(+++), 阳性细胞数 >50%。综合计量 = 弱阳性百分比 × 1 + 中度阳性百分比 × 2 + 强阳性百分比 × 3。最终结果(随机观察 ≥ 10 个高倍视野): 0 分为阴性(-); 总分值 <1 分(+); 总分值 1.0 ~ 1.5 分(++); 总分值 >1.5 分(+++)。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 16.0 统计软件进行数据分析, 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, 两组无序计数资料比较用 χ^2 检验, 两组等级计数资料等级强度比较用秩和检验; 用 Pearson 修正系数检验 MACC1 与 CIP2A 蛋白的相关性, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 逆转录聚合酶链反应

胃癌组织 MACC1 蛋白的相对表达量为(10.75 ± 0.06), 癌旁组织为(1.00 ± 0.06), 经 *t* 检验, 差异有统计学意义($t=627.996, P=0.000$)。

2.2 免疫组织化学法

2.2.1 不同组织中 MACC1 蛋白的表达 MACC1 蛋白多表达于细胞浆, 细胞核内有少量表达。胃癌组织 MACC1 蛋白表达阳性率为 76.7%(23/30), 癌旁组

织为 16.7%(5/30),经 χ^2 检验,差异有统计学意义 ($\chi^2=21.696, P=0.000$)。两组 MACCA 蛋白表达强度比较,经秩和检验,差异有统计学意义($Z=-4.970, P=0.000$),等级强度差别明显。结果证实 MACC1 蛋白在胃癌组织中表达强度高,在癌旁正常组织中表达强度弱。见表 1 和图 1、2。

2.2.2 不同组织中 CIP2A 蛋白的表达 CIP2A 蛋白在胃癌组织和癌旁正常组织中的表达,CIP2A 蛋白多表达于细胞核,细胞浆中有少量表达。胃癌组织 CIP2A 蛋白阳性表达率为 73.3%(22/30),癌旁组织为 23.3%(7/30),经 χ^2 检验,差异有统计学意义($\chi^2=15.017, P=0.000$)。两组间 CIP2A 蛋白表达强度比较,经秩和检验,差异有统计学意义($Z=-4.381, P=0.000$),等级强度差异明显,表明 CIP2A 蛋白在胃癌组织中的表达由低到高呈等级递增关系,而在癌旁正常组织中表达强度由高到低呈等级递减关系。结果证实 MACC1 蛋白在胃癌组织中表达强,在癌旁正常组织中表达弱。见表 2 和图 3、4。

表 1 不同组织中 MACC1 蛋白的表达强度 (n=30,例)

组别	-	+	++	Z 值	P 值
胃癌组织	7	9	14	-4.970	0.000
癌旁组织	25	5	0		

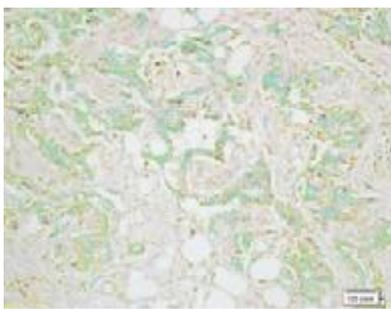


图 1 MACC1 蛋白在胃癌组织中的表达 (Elivision × 400)

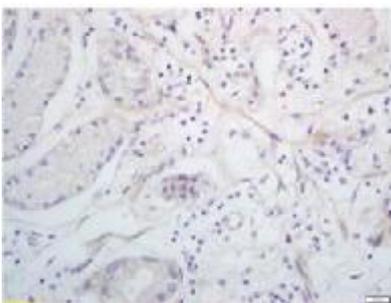


图 2 MACC1 蛋白在正常组织中的表达 (Elivision × 400)

2.2.3 不同病理特征组织中 MACC1 的表达 根据美国癌症联合会胃癌 TNM 分期标准(2010 年第 7 版),收集同期手术切取的胃癌组织及对应的距离癌组织 >5 cm 的癌旁组织各 30 例,收集临床资料,对所收集的胃癌进行分期,对患者临床资料进行统计。结果显示,男性 18 例,平均年龄 56.5 岁;女性 12 例,平均年龄 58.2 岁,两组年龄比较,差异无统计学意义,但男性发病率高于女性。其中,IV 期 6 例患者已发生淋巴结转移,III 期 12 例中有 10 例患者伴淋巴结转移,I 期 5 例无淋巴结转移,T4 组 7 例伴淋巴结转移,T1 组 2 例无淋巴结转移。通过对各临床因素与 MACC1 蛋白的阳性表达进行统计学分析,结果显示,胃癌的临床分期、浸润深度、伴有淋巴结转移、组织分化的 MACC1 蛋白表达比较,差异有统计学意义 ($P<0.05$),说明胃癌组织内的 MACC1 蛋白高表达,MACC1 蛋白表达阳性率与肿瘤的恶性程度相关,而不同性别、年龄、组织类型组的 MACC1 蛋白表达比较,差异无统计学意义,表明肿瘤的发展与性别、年龄、组织类型无关,MACC1 蛋白高表达的患者提示预后差。见表 3。

表 2 不同组织中 CIP2A 蛋白的表达强度 (n=30,例)

组别	-	+	++	Z 值	P 值
胃癌组织	8	9	13	4.381	0.000
癌旁组织	23	7	0		

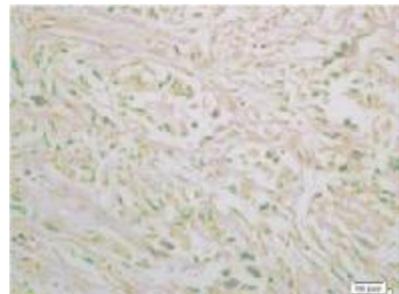


图 3 CIP2A 蛋白在胃癌组织中的表达 (Elivision × 400)

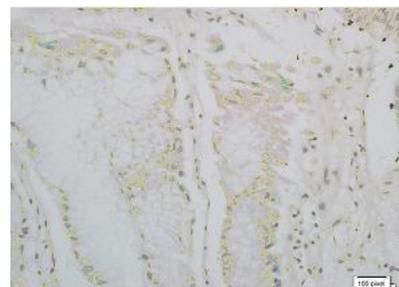


图 4 CIP2A 蛋白在正常组织中的表达 (Elivision × 400)

表 3 不同临床病理特征组织中 MACC1 的表达

临床病理特征	总例数	阳性率 例(%)	χ^2 值	P 值
年龄				
≤50 岁	11	9(81.8)	0.004	0.952
>50 岁	19	14(73.7)		
性别				
女	12	8(66.7)	0.380	0.537
男	18	15(83.3)		
组织分化				
高	6	2(33.3)	7.152	0.022
中	10	7(70.0)		
低	14	13(92.9)		
浸润深度				
T1	2	1(50.0)	7.189	0.042
T2	9	5(55.6)		
T3	12	10(83.3)		
T4	7	7(100.0)		
淋巴结转移				
有	13	11(84.6)	4.474	0.034
无	17	8(47.1)		
临床分期				
I、II	12	9(75.0)	5.625	0.018
III、IV	18	14(77.8)		
组织类型				
腺癌	23	18(78.3)	5.149	0.069
鳞癌	3	2(66.7)		
类癌	4	3(75.0)		

2.2.4 胃癌组织中 MACC1 与 CIP2A 蛋白表达的相关性 CIP2A 蛋白与胃癌的关系比较明确, CIP2A 蛋白与胃癌的恶性程度相关, 在临床分期晚、组织分化低、有转移的患者癌组织内呈高表达, 而在正常组织中不表达或低表达, 恶性程度越高表达越高。本实验证实 MACC1 蛋白在胃癌组织中同样高表达, 且与胃癌的恶性程度密切相关。本实验 30 例胃癌组织中, 83.3%(25/30)MACC1 蛋白和 CIP2A 蛋白表达相同。其中, 19 例 MACC1 和 CIP2A 蛋白表达都为

表 4 胃癌组织中 MACC1 与 CIP2A 蛋白表达的相关性例

MACC1 蛋白	CIP2A 蛋白		合计	r 值	P 值
	+	-			
+	19	3	22	0.478	0.013
-	3	5	8		
合计	22	8	30		

显性, 5 例 MACC1 和 CIP2A 蛋白表达都为隐性, 通过 Pearson 修正系数检验胃癌组织中 MACC1 与 CIP2A 蛋白表达的相关性, 差异有统计学意义($r=0.478, P=0.013$)。见表 4。

3 讨论

CIP2A 位于人类 3 号染色体上, 是蛋白磷酸酶 2A (protein phosphatase 2A, PP2A) 的抑癌基因, 能够抑制 PP2A 对 c-Myc 蛋白 S62 位的去磷酸化作用。c-Myc 蛋白是一种癌基因蛋白, 位于细胞核内, 是一种转录因子, 会导致细胞快速的繁衍、数量剧增, 参与细胞生长、分裂至衰老的整个历程。CIP2A 抑制机体内 PP2A 的抑癌作用, 稳定的 c-Myc 蛋白表达增强可以促进细胞恶变, 最后导致肿瘤的发生, 促进肿瘤的侵袭转移^[2]。c-Myc 可直接影响 CIP2A 的转录。CIP2A 参与 Ras 对 c-Myc 的稳定作用, 促进 c-Myc 的表达。Ras 可激活细胞外调节激酶(extracellular signal regulated kinase, ERK), 使 S62 磷酸化, 同时激活磷脂酰肌醇-3-激酶, 通过抑制糖原合成激酶-3 β 抑制 T58 磷酸化, 将 c-Myc 维持在 S62 磷酸化和 T58 去磷酸化状态, 从而阻断 c-Myc 降解, 稳定 c-Myc 蛋白。但该过程中需要 CIP2A 的共同作用, 因为仅有 ERK 不足以稳定 c-Myc。另外, CIP2A 与 EGFR-MEK1/2-ERK1/2 通路、HGF/c-Met 信号通路均有密切联系^[3]。有研究表明, CIP2A 在人体各种恶性肿瘤中呈高表达状态, 与肿瘤转移密切相关, 在恶性肿瘤发生、发展的进程中起重要作用^[4]。CIP2A 蛋白与肿瘤转移密切相关, 可作为评估预后的指标^[5], 针对转导通路的靶向治疗研究也越来越多^[6-8], 未来可能为癌症带来希望。

MACC1 蛋白又称为结肠癌转移相关基因 1, 位于人类 7 号染色体^[9]。MACC1 蛋白是 HGF/C-met 信号转导通路的连接蛋白, 起重要的桥梁作用, MACC1 蛋白通过激活 c-Met, 协同调节控制 HGF/c-Met 信息传输, 产生 MACC1、HGF/c-Met 信号路线的交互反馈环路, 促进肿瘤细胞恶变、侵袭、转移的进展^[10-11]。实验证明在结肠癌转移灶中, MACC1 蛋白异常高表达, 其调控信号转导通路, 诱导细胞增殖、分化、迁移, 与结肠癌转移密切相关^[12]。本实验通过对 30 例胃癌组织和癌旁组织进行免疫组织化学和逆转录聚合酶链式反应检测 MACC1 蛋白表达, 结果表明, MACC1 蛋白在胃癌组织中同样高表达, 而在正常组织中不表达或低表达, 与胃癌各临床病理特征的相关

系中,MACC1 蛋白与临床分期、淋巴结转移、浸润深度等因素密切相关,而与性别、年龄、组织类别无关,而在 MACC1 蛋白高表达的患者中,多数已经发生转移,提示 MACC1 蛋白在胃癌的发生、发展中起重要的作用,表明 MACC1 蛋白可以作为评估胃癌预后的独立指标。

MACC1 和 CIP2A 两种蛋白对胃癌都有突出的表现,两者呈正相关,如果对两种蛋白所占比例做出确切检测,将可以判断出病情的恶性程度,并以此判断患者的预后。

参 考 文 献:

- [1] 郭庆,程凯. 蛋白磷酸酶 2A 的癌性抑制因子在信号转导中的作用及与肿瘤关系的研究进展[J]. 医学研究生学报, 2014, 27(2): 211-215.
- [2] 师海蓉. 靶向 CIP2A 的 shRNA 对人胃癌 BGC-823 细胞增殖、凋亡及侵袭的影响[J]. 华中科技大学学报(医学版), 2014, 43(5): 528-531.
- [3] 蒋涛,周彩存. HGF/c-MET 抑制剂治疗非小细胞肺癌的研究进展[J]. 中国肺癌杂志, 2015, 18(4): 240-244.
- [4] 张同军,薛栋,李新军,等. 胰腺癌中 CIP2A、PI3K 和 Survivin 的表达及临床意义[J]. 中国医师杂志, 2015, 17(2): 198-201.
- [5] 付玉姣,李志伟,张艳桥. c-Met 信号通路在多种恶性肿瘤中的研究进展[J]. 实用肿瘤学杂志, 2015, 2: 167-172.
- [6] 吕金益,董芷辛,李娅妮. HGF/c-Met 信号通路在克唑替尼诱导不同肺癌细胞株凋亡中的作用[J]. 中国病理生理杂志, 2016, 32(3): 445-450.
- [7] 周韶璋. HGF/c-Met 信号传导通路晚期非小细胞肺癌关系的研究进展[J]. 中国癌症防治杂志, 2015, 7(5): 375-379.
- [8] 张媛,程雨兰,周金培,等. 以 c-Met 为肿瘤治疗靶点的受体酪氨酸激酶抑制剂的研究进展[J]. 中国药科大学学报, 2015, 46(1): 16-27.
- [9] 贺志云,白志刚,张忠涛. 肿瘤转移的一个靶向治疗位点 MACC1[J]. 国际外科学杂志, 2014, 41(5): 338-341.
- [10] 徐徕,玄之玄,林国乐,等. 结肠癌转移相关基因 1 在结直肠癌中的表达及与临床病理特征的关系[J]. 中华胃肠外科杂志, 2015, 10: 1032-1035.
- [11] 刘清泉,刘青光,咎献峰,等. MACC1 基因在肝细胞癌中的表达及临床意义[J]. 华中科技大学学报(医学版), 2010, 39(1): 22-24.
- [12] 祝倩倩,朱正秋. MACC1、HGF/c-Met 和 EMT 在促进恶性肿瘤侵袭转移机制中的相关性研究[J]. 徐州医学院学报, 2013, 33(11): 792-794.

(童颖丹 编辑)