

· 论 著 ·

食管癌组织肿瘤转移相关基因 1 表达 与临床病理特征及预后的关系

朱琳燕¹, 王争君²

1. 鄂东医疗集团黄石市中心医院 湖北理工学院附属医院肿瘤内科, 湖北 黄石 435000;

2. 鄂东医疗集团黄石市中心医院 湖北理工学院附属医院胸外科, 湖北 黄石 435000

摘要: **目的** 研究食管癌组织中肿瘤转移相关基因 1 (MTA1) 蛋白的表达及其与患者临床病理特征和预后的关系。**方法** 选取黄石市中心医院病理科 2010 年 1 月至 2013 年 1 月收集的术后病理确诊的食管癌组织标本 69 例 (食管癌组) 及距离食管癌组织 5 cm 以上的正常食管组织标本 30 例 (正常组) 进行免疫组化染色观察, 比较两组标本中 MTA1 蛋白阳性表达率的差异, 分析 MTA1 蛋白阳性表达率与食管癌患者临床病理特征和预后的关系。**结果** 食管癌组织中的 MTA1 蛋白阳性表达率 72.46% 显著高于癌旁组织中的 0 ($\chi^2 = 51.652, P < 0.01$); 食管癌组织中的 MTA1 蛋白阳性表达与患者的 TNM 分期、浸润程度、淋巴结转移具有显著的关系 ($P < 0.05, P < 0.01$); 经过 36 个月的随访观察, MTA1 蛋白阳性表达食管癌患者的 3 年存活率为 32.00% (16/50), 显著低于 MTA1 蛋白阴性表达患者的 63.16% (12/19) ($\chi^2 = 5.543, P < 0.05$); MTA1 蛋白阳性表达食管癌患者的 3 年中位生存时间 29.0 个月, 显著低于 MTA1 蛋白阴性表达食管癌患者的 33.0 个月。**结论** MTA1 蛋白在食管癌组织中呈高表达, 并且与患者的不良预后具有一定的关系。

关键词: 食管癌组织; 肿瘤转移相关基因 1; 免疫组织化学; TNM 分期; 浸润程度; 淋巴结转移; 3 年存活率; 中位生存时间

中图分类号: R 735.1 文献标识码: A 文章编号: 1674-8182(2016)04-0461-04

Association of MTA1 expression with clinical-pathological features and prognosis of esophageal carcinoma

ZHU Lin-yan*, WANG Zheng-jun

* Department of Medical Oncology, Huangshi Central Hospital, Affiliated Hospital to Hubei Polytechnic University, Huangshi, Hubei 435000, China

Corresponding author: WANG Zheng-jun, E-mail: 13712239@qq.com

Abstract: Objective To study the expression of tumor metastasis associated gene 1 (MTA1) in esophageal cancer tissues and its relationship with the patients' clinical-pathological features and prognosis. **Methods** A total of 69 specimens of esophageal carcinoma tissues confirmed by postoperative pathology (esophageal cancer group) and 30 specimens of normal esophageal tissues beyond 5 cm from esophageal cancer tissues (normal group) from January 2010 to January 2013 in Department of Pathology in Huangshi Central Hospital were collected. By immunohistochemical staining, the difference of MTA1 protein positive expression rate in two groups was observed, and the relationship between MTA1 protein expression and clinical-pathological characteristics of esophageal carcinoma patients was analyzed. **Results** The positive expression rate of MTA1 protein in esophageal carcinoma tissues was significantly higher than that in para-cancerous normal tissues (72.46% vs 0, $\chi^2 = 51.652, P < 0.01$). MTA1 protein positive expression in esophageal cancer tissues was closely associated with TNM staging, invasion degree and lymph node metastasis ($P < 0.05, P < 0.01$). At 36 months of follow-up, 3-year survival rate in patients with positive MTA1 protein expression was significantly lower than that in patients with negative MTA1 protein expression (32.00% vs 63.16%, $\chi^2 = 5.543, P < 0.05$). The median survival time in patients with MTA1 protein positive expression (29.0 months) was obviously lower than that in patients with MTA1 protein negative expression (33.0 months). **Conclusion** MTA1 protein presents high expression in esophageal carcinoma tissues and is associated with poor prognosis of patients with esophageal carcinoma.

Key words: Esophageal carcinoma tissues; Tumor metastasis associated genes 1; Immunohistochemistry; TNM staging; Invasion degree; Lymph node metastasis; 3-year survival rate; Median survival time

多数食管癌患者确诊时已处于中、晚期^[1],肿瘤细胞已浸润、转移至其他器官和组织,导致其治疗难度及病死率均较高^[2]。临床上,若能对食管癌患者早期诊断,在肿瘤浸润及转移前及时发现病灶,并有效治疗,可有效提高其生存率及生活质量。随着对肿瘤发生、发展和浸润、转移病理机制研究的进展^[3],发现肿瘤转移相关基因 1 (tumor metastasis-associated gene 1, MTA1) 能够调控肿瘤细胞染色质复制和组蛋白脱乙酰基,在多种恶性肿瘤组织内呈现高表达,显著影响恶性肿瘤生长、浸润及转移^[4]。本文分析 69 例术后病理确诊的食管癌患者的临床资料,探讨 MTA1 表达与食管癌的临床病理特征及患者预后的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2010 年 1 月至 2013 年 1 月本院病理科收集的术后病理确诊的食管癌组织标本 69 例(食管癌组)及距离食管癌组织 5 cm 以上的正常食管组织标本 30 例(正常组)。食管癌组 69 例中,男 42 例,女 27 例;年龄 38 ~ 75 (58.6 ± 11.5) 岁;分化程度:高分化 21 例,中分化 24 例,低分化 24 例;溃疡型 47 例,蕈伞型 12 例,髓质型 6 例,缩窄型 4 例;临床 TNM 分期:Ⅰ期 20 例,Ⅱ期 29 例,Ⅲ期 20 例;淋巴结转移 23 例。正常组 30 例中,男 18 例,女 12 例;年龄 40 ~ 72 (56.7 ± 9.8) 岁。两组患者的年龄、性别差异无统计学意义(P 均 > 0.05)。

1.2 纳入与排除标准

1.2.1 纳入标准^[5] (1) 所有纳入患者的诊断结果均以病理学检查作为依据;(2) 食管癌患者在手术前均未接受放疗、化疗治疗;(3) 纳入研究对象的临床资料完整,能满足本研究所有分析要求;(4) 获得患者至少 12 个月的随访资料。

1.2.2 排除标准 (1) 术前接受过放疗、化疗的患者;(2) 各项资料不完整不能满足分析要求的患者^[6]。

1.3 检测仪器与试剂 切片机、包埋机、自动脱水机和自动染色机均购自德国 LEICA 公司;CKX41 型倒置相差显微镜购自日本 OLYMPUS 公司;MTA1 (C-17) 及抗山羊 HR 购自福建迈新生物技术开发公司;免疫组化 SP 法试剂盒和二氨基联苯(DAB)显色剂购自北京中杉金桥生物技术公司。

1.4 免疫组化方法及判断标准

1.4.1 免疫组化法 取食管癌组织标本或正常食管组织用 40 μg/L 的甲醛固定,行常规脱水、透明,包蜡机上渗蜡、包埋,连续切片,片厚 4 μm,对切片脱蜡、水化;取切片,磷酸盐缓冲液(PBS)洗 3 次,单次 5 min,滴入 3% 双氧水溶液,放于室温下静置培育 15 min;蒸馏水洗 3 次,单次 5 min,取出放入 PBS 液内浸泡 5 min,取出进行高压抗原修复;蒸馏水洗 3 次,单次 5 min,PBS 洗 3 次,单次 3 ~ 4 min,滴 50 μl 一抗覆盖切片,37 °C 水浴 30 min,PBS 洗 3 次,单次 5 min;滴 50 μl 生物素标记二抗,PBS 洗 3 次,单次 5 min,选择 DAB 显色、苏木素复染,2% HCl 溶液分化,梯度酒精对切片进行脱水干燥,用二甲苯对切片透明,最后用中性树胶对切片封固,置于光镜下观察。SP 染色具体操作依照试剂盒说明书严格进行。

1.4.2 结果判断 免疫组化结果判定:MTA1 蛋白的阳性着色表达于细胞核,呈淡黄色、棕黄色、褐色表达^[7]。根据着色强度评分:0 分为无色,1 分为淡黄色,2 分为棕黄色,3 分为褐色或黑色。根据阳性细胞比例评分:阳性细胞数所占比例 ≤ 10% 为 1 分,阳性细胞 11% ~ 50% 为 2 分,阳性细胞数 51% ~ 75% 为 3 分,阳性细胞数 > 75% 为 4 分。以两种积分相乘计算总分:< 3 分为(-)阴性表达;3 ~ 5 分为(+)弱阳性表达;6 ~ 9 分为(++)中等阳性表达;> 9 分为(+++)强阳性表达。即总分 < 3 分为阴性,≥ 3 分均为阳性。

1.5 统计学方法 数据分析采用 SAS 9.0 软件包处理。计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示;计数资料采用频数和百分率表示,比较采用 χ^2 检验;生存分析采用 Kaplan-Meier 法,生存时间比较采用 Log-rank 法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MTA1 蛋白表达情况 食管癌组织中的 MTA1 蛋白阳性表达率 72.46% 显著高于食管癌旁组织中的 0 ($P < 0.01$)。见表 1。图 1 为 MTA1 蛋白在食管癌及癌旁组织中的表达,在食管癌组织中细胞核呈显著褐色着色。

2.2 MTA1 蛋白表达与食管癌患者临床病理特征的关系 食管癌组织中的 MTA1 蛋白阳性表达与患者的 TNM 分期、浸润程度、淋巴结转移具有显著的关联性 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。见表 2。

2.3 MTA1 蛋白表达与食管癌患者预后的关系 经

过 36 个月的随访观察, MTA1 蛋白阳性表达的食管癌患者 3 年存活率为 32.00% (16/50) 显著低于 MTA1 蛋白阴性表达患者的 63.16% (12/19) ($\chi^2 = 5.543, P = 0.019$); MTA1 蛋白阳性表达的食管癌患者中位生存时间(29.0 个月)显著低于 MTA1 蛋白阴性表达的食管癌患者的中位生存时间(33.0 个月)。见图 2。

表 1 MTA1 蛋白的阳性表达率比较 例(%)

组织类型	例数	阳性	阴性	χ^2 值	P 值
食管癌组织	69	50(72.46)	19(27.54)	51.652	<0.01
癌旁组织	30	0	30(100.00)		

表 2 MTA1 蛋白表达与食管癌患者临床病理特征的关系 例(%)

临床病理因素	阳性(n=50)	阴性(n=19)	χ^2 值	P 值
性别			0.747	0.387
男	32(76.19)	10(23.81)		
女	18(66.67)	9(33.33)		
年龄(岁)			0.539	0.463
≥60	26(76.47)	8(23.53)		
<60	24(68.57)	11(31.43)		
病灶最大径(cm)			0.119	0.731
<5	32(71.11)	13(28.89)		
≥5	18(75.00)	6(25.00)		
肿瘤部位			0.472	0.568
上段	9(75.00)	3(25.00)		
中段	22(73.33)	8(26.67)		
下段	19(70.37)	8(29.63)		
病变分型			0.804	0.326
蕈伞型	9(75.00)	3(25.00)		
溃疡型	33(70.21)	14(29.79)		
缩窄型	3(75.00)	1(25.00)		
髓质型	5(83.33)	1(16.67)		
TNM 分期			4.34	0.037
I + II 期	32(65.31)	17(34.69)		
III 期	18(90.00)	2(10.00)		
分化程度			0.829	0.363
高、中分化	31(68.89)	14(31.11)		
低分化	19(79.17)	5(20.83)		
浸润程度			4.17	0.041
T1 + T2	29(64.44)	16(35.56)		
T3 + T4	21(87.50)	3(12.50)		
淋巴结转移			9.297	0.002
是	22(95.65)	1(4.35)		
否	28(60.87)	18(39.13)		

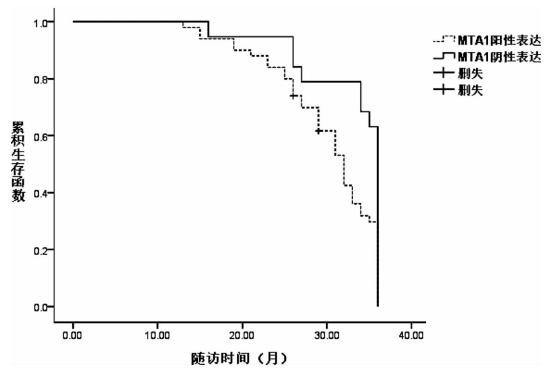


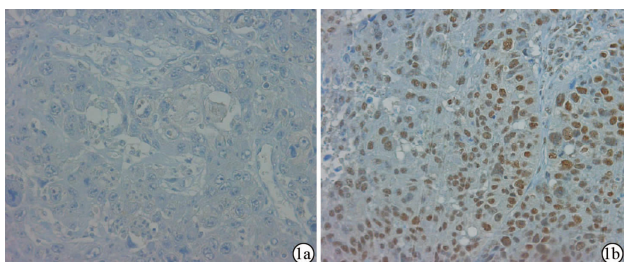
图 2 MTA1 蛋白表达与食管癌患者预后的生存函数图

3 讨论

在全世界范围内,食管癌是属于最常见、发病率最高的消化道恶性肿瘤之一。我国属于食管癌高发地区,年均约 20 万人死于该病。临床中,关于食管癌治疗已取得长足进步,有效改善了患者短期预后,提高了其生存质量。但多数食管癌患者被确诊时均处于晚期,其肿瘤细胞已浸润、转移至其他器官或组织,导致多发转移灶,极大降低其 5 年生存率,因此,诸多研究者致力于探讨恶性肿瘤的浸润及转移机制,以改善患者预后,提高其生存质量。

由于诱发和影响恶性肿瘤向其他组织及器官浸润、转移因素较多、机制较复杂,故目前尚未得出统一、清晰的研究结论,但既往研究均显示,机体内多种细胞因子及基因与恶性肿瘤产生、发展、浸润及转移具有明显相关性,其具体作用机制可分为如下步骤^[8]:(1)细胞黏附分子功能减弱,导致恶性肿瘤细胞间相互牵引力、黏附力降低;(2)肿瘤细胞严密黏合、牵附于肿瘤基底膜,当细胞外基质脱落、溶解,使得肿瘤细胞脱落变成游离细胞透过管腔内皮细胞进入血液或(和)淋巴管;(3)肿瘤细胞和血管或淋巴管内皮细胞相互结合并黏附其上,同时聚集于远隔部位,达到一定数量后再向其他组织、器官浸润,且诱导新生血管生成;(4)机体细胞免疫能力及基因免疫能力下降,同时肿瘤细胞分泌抗免疫因子,使得其成功逃脱被转移器官、组织的抗肿瘤免疫机制,最终致肿瘤细胞在转移处生成新的肿瘤转移灶。通过研究,多种可影响和调控肿瘤浸润、转移机制的相关基因均被发现,其中包括最新发现的 MTA1 基因^[9]。该基因可促进染色质复制及组蛋白脱乙酰基,从而间接调控细胞(含肿瘤细胞)的增殖及生长^[10]。既往研究证明,MTA1 在乳腺、胃肠、卵巢、肺、肝等器官恶性肿瘤的细胞内呈现高表达,并可显著诱导这些恶性肿瘤进一步发展和向其他器官、组织浸润及转移^[11]。

MTA1 基因包括一个由 715 个氨基酸残基组成



注:1a:癌旁组织;1b:食管癌组织。

图 1 MTA1 在癌旁组织及食管癌组织中的表达(SP, x200)

的蛋白质,其包括酪氨酸激酶、蛋白激酶 C 及酪蛋白激酶 2 磷酸化位点,而其 696 ~ 705 氨基酸残基位置上存在一条由大量脯氨酸构成的基因支链。基因研究显示,该支链和肉瘤(Src)基因内 XPXXPPFPXP 或 XPFPXP 等 SH3 结构域达到 100% 配对,能够间接促进基因信号转导通路中细胞蛋白质间融合作用以形成可供细胞复制的“骨架”,诱导健康细胞及肿瘤细胞生成,导致基因信号转导通路内促进肿瘤细胞浸润、转移的因子表达上调。MTA1 蛋白内第 392 号氨基酸残基后附着单个 GATA 锌指结构,第 250 号氨基酸残基后附着单个亮氨酸拉链、5 个 SPXX 模序^[12],这些氨基酸残基结构可和组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylases, HDACs) 相互结合,促使 HDACs 聚集后将其迁移到目标基因,作为细胞增殖启动因子,同时结合去除组蛋白的乙酰基诱使细胞染色质结构改变。于特定条件下,其也可致细胞染色体异变形成肿瘤细胞,并上调其基因转录;MTA1 能够显著影响细胞角蛋白丝系统形成,促使骨架蛋白定位,使得肿瘤细胞具备侵袭、转移的能力。

本研究通过免疫组化法分别测定食管癌组织及癌旁正常组织内 MTA1 蛋白的表达,结果食管癌组织中的 MTA1 蛋白阳性表达率达 72.46%,显著高于癌旁组织中的 0;同时食管癌组织中的 MTA1 蛋白阳性表达与患者的 TNM 分期、浸润程度、淋巴结转移具有显著的关联性。而且还可看到,MTA1 蛋白过表达患者的食管癌组织标本中,其肿瘤细胞已浸润到食管壁,淋巴结转移率更高、临床病理分期更晚、患者预后更差,提示 MTA1 蛋白表达水平越高,食管癌的浸润和转移程度越高。因此,MTA1 表达水平可能用于早期食管癌的诊断和恶性程度及发展趋势的评估。对手术切除术后食管癌患者进行随访观察结果显示,MTA1 蛋白阳性表达食管癌患者的 3 年存活率、中位生存时间均显著低于 MTA1 蛋白阴性表达患者,提示 MTA1 蛋白的表达水平降低,在食管癌患者肿瘤转移及浸润的控制、患者预后的改善、生存率的提高方面可能获益。

综上所述,MTA1 蛋白在食管癌组织的表达水平明显高于正常食管组织,并且与患者的不良预后具有相关性。研究 MTA1 蛋白的表达水平,有利于从基因分子水平了解食管癌的产生及发展,在有效抑制肿瘤细胞的浸润、转移,改善食管癌患者预后的探索上具有积极的意义。

参考文献

- [1] 刘欢,王海娟,李春晓,等. 肿瘤转移相关基因 1 在食管癌细胞上皮间质转化过程中的促进作用[J]. 中国综合临床, 2015, 31(6):498-502.
- [2] 刘涛,张瑜红,郭建极,等. IIIA 期食管癌组织肿瘤转移相关蛋白 1 表达与预后的相关性[J]. 广东医学, 2014, 35(23):3670-3673.
- [3] 刘晨旭,周斌. MTA1 和 FLIP 在食管鳞状细胞癌中的表达及意义[J]. 陕西医学杂志, 2013, 42(10):1299-1301.
- [4] 郭旭峰,杨文涛,施立,等. 检测 MTA1 表达用于判断 pN0 食管鳞癌术后淋巴结转移[J]. 中华医学杂志, 2012, 92(45):3204-3206.
- [5] 张素洁,王海娟,刘健,等. 食管癌细胞系 KYSE150 中 RNA 干扰 MTA1 的基因芯片分析[J]. 癌症进展, 2012, 10(3):211-215.
- [6] Wang W, Yin J, Zhang Y, et al. Metastasis-associated protein 1 promotes tumor invasion by downregulation of E-cadherin[J]. Int J Oncol, 2014, 44(3):812-818.
- [7] 洪卫康. 内镜下粘膜分片切除术治疗 56 例早期食管癌及癌前病变疗效观察[J]. 现代医疗与仪器, 2013, 19(3):77-79.
- [8] 程阳,唐桥斐,赵丽妮. MTA1 基因表达与下咽癌颈淋巴结转移的关系[J]. 沈阳医学院学报, 2015, 17(1):28-30.
- [9] 原甜甜,衣艳梅,李济伟,等. 沉默 MTA1 表达对胃癌 SGC7901 细胞增殖和侵袭能力的影响[J]. 现代肿瘤医学, 2015, 23(14):1944-1947.
- [10] He X, Zhou C, Zheng L, et al. Overexpression of MTA1 promotes invasiveness and metastasis of ovarian cancer cells[J]. Ir J Med Sci, 2014, 183(3):433-438.
- [11] 张建国,秦晓宁,阎庆辉,等. 肿瘤转移相关基因-1 和血管内皮生长因子 C 在胃癌中的相关性[J]. 中华实验外科杂志, 2014, 31(03):499-501.
- [12] Kang HJ, Lee MH, Kang HL, et al. Differential regulation of estrogen receptor α expression in breast cancer cells by metastasis-associated protein-1[J]. Cancer Res, 2014, 74(5):1484-1494.

收稿日期:2015-11-03 修回日期:2015-12-06 编辑:王国品