

· 临床研究 ·

## 胃癌组织中 OPN、c-Met 蛋白的异常表达及其意义\*

马桂芳<sup>1</sup>, 蔡红星<sup>1</sup>, 丁凤云<sup>1</sup>, 兰建云<sup>2</sup>

(1. 盐城卫生职业技术学院, 江苏盐城 224006; 2. 江苏省盐城市第一人民医院 224005)

**摘要:**目的 研究骨桥蛋白(OPN)与肝细胞生长因子受体(c-Met)在胃癌组织中的表达特征,探讨其与临床病理参数的关系。方法 采用免疫组织化学法检测 69 例胃癌组织、15 例胃黏膜不典型增生组织及 10 例正常胃黏膜组织中 OPN 和 c-Met 蛋白的表达水平。结果 OPN 在胃癌组织中的阳性表达率为 69.6%,高于胃黏膜不典型增生组织(40%)及正常胃黏膜组织(20%)差异有统计学意义( $P < 0.05$ );OPN 表达与肿瘤的浸润深度、临床 TNM 分期、淋巴结转移之间有明显的相关性。c-Met 在胃癌组织中的阳性表达率为 65.2%,明显高于胃黏膜不典型增生组织(26.7%)及正常胃黏膜组织(10%, $P < 0.01$ );c-Met 表达与肿瘤的淋巴结转移、临床 TNM 分期之间有明显的相关性。结论 OPN 与 c-Met 在胃癌中高表达,在肿瘤的浸润转移过程中存在一定协同性,在胃癌的发生、发展过程中具有重要作用。

**关键词:**骨桥蛋白;原癌基因蛋白 c-met;胃肿瘤

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.36.009

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2012)36-3823-02

## Abnormal expressions and significances of OPN and c-Met in gastric cancer\*

Ma Gui fang<sup>1</sup>, Cai Hongxing<sup>1</sup>, Ding Fengyun<sup>1</sup>, Lan Jianyun<sup>2</sup>

(1. Yancheng Health Vocational and Technical College, Yancheng, Jiangsu 224006, China;

2. Department of First People's Hospital of Yancheng, Yancheng, Jiangsu 224005, China)

**Abstract:**Objective To investigate the expression of Osteopontin(OPN) and Hepatocyte growth factor acceptor(c-Met) in gastric cancer tissue and their clinical significances. **Methods** Immunohistochemical method was used to detect the expression levels of OPN and c-Met protein in 69 tissue specimens from the patients with gastric cancer, 15 cases with nontypical hyperplasia, and 10 normal gastric mucosa specimens. **Results** The positive rate of OPN was 69.6% in gastric cancer, which was significantly higher than 40% in nontypical hyperplasia tissues and 20% in normal gastric mucosa ( $P < 0.05$ ). The expression of OPN protein was closely correlated to the invasive depth, TNM stage and lymph node metastasis. The positive rate of c-Met was 65.2% in gastric cancer, which was significantly higher than 26.7% in nontypical hyperplasia tissues and 10% in normal gastric mucosa ( $P < 0.01$ ). The expression of c-Met protein was closely correlated to the lymph node metastasis and TNM stage. **Conclusion** Expression of OPN and c-Met are high in gastric cancer, and there may be a synergy in the process of tumor invasion and metastasis, which may play an important role in the carcinogenesis and progression of gastric cancer.

**Key words:** osteopontin; proto-oncogene proteins c-met; stomach neoplasms

胃癌是严重危害人类健康的常见恶性肿瘤之一,中国是胃癌的高发区,每年新发现 40 万胃癌患者,占世界胃癌发病人数的 42%,病死率居各种癌症之首。随着分子生物学发展,人们逐渐对于肿瘤浸润、转移过程有了深入的认识,并发现了一些与侵袭转移相关的基因及基因产物。近年来,国内外研究发现骨桥蛋白(OPN)和肝细胞生长因子受体(c-Met)可作为反映肿瘤的生物学行为的参考指标,在多种恶性肿瘤的侵袭、转移过程中都发挥着重要作用<sup>[1-7]</sup>。本研究采用免疫组织化学法检测胃癌组织中 OPN、c-Met 蛋白表达情况,探讨它们与胃癌的浸润转移之间的相关性,现报道如下。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 收集盐城市第一人民医院病理科 2011 年 1~12 月手术切除并经病理证实的胃癌石蜡标本 69 例,另取同期胃黏膜不典型增生组织标本 15 例及因胃良性病变行部分胃切除的正常胃黏膜标本 10 例作对照。所有患者术前均未接受放疗、化疗。

**1.2 主要试剂** 鼠抗人骨桥蛋白单克隆抗体即用型(编号 ZM-0174)、兔抗人 c-Met 多克隆抗体即用型(ZA-0412)购自北

京中杉金桥公司;二抗及 DAB 显色液均为福州迈新生物技术公司产品。

## 1.3 方法

**1.3.1 免疫组化染色方法** 采用链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶连接法(SP)检测胃癌及正常胃黏膜组织中 OPN、c-Met 蛋白的表达。将存档的石蜡块行 4  $\mu$ m 厚切片,常规脱蜡至水,具体操作步骤按说明书进行。用已知的 OPN 和 c-Met 阳性胃癌切片染色作阳性对照,用磷酸盐缓冲液(PBS)代替一抗作阴性对照。

**1.3.2 结果判定** OPN 表达以细胞质呈棕黄色或棕褐色为阳性染色;c-Met 的表达以细胞质(少数细胞膜)呈棕黄色或棕褐色为阳性染色。每份标本置高倍镜下选取 5 个不同视野,每个视野计数 200 个肿瘤细胞,由两位病理医师进行盲法判读,计算阳性肿瘤细胞所占的百分数。结果分为 4 级:未见明显阳性细胞为“-”;阳性细胞数  $< 25\%$  为“+”; $25\% \sim 50\%$  为“++”; $> 50\%$  为“+++”。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS19.0 软件进行统计分析,病理参数采用  $\chi^2$  检验,相关性采用 Spearman 分析,以  $P < 0.05$  为

\* 基金项目:盐城市医学科技发展计划项目(YK2011129)。

差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 OPN、c-Met 在胃癌和不典型增生、正常胃黏膜组织中的表达** OPN 蛋白在胃癌组织中阳性染色主要定位于细胞质,为棕黄色或棕褐色颗粒(封 2 图 1)。OPN 在胃癌组织中的阳性表达率为 69.6%(48/69),胃黏膜不典型增生组织 40%(6/15),正常胃黏膜组织 20%(2/10)。结果显示,OPN 蛋白在胃癌组织的表达高于胃黏膜不典型增生组织( $\chi^2 = 4.691, P < 0.05$ )和正常胃黏膜组织( $\chi^2 = 7.225, P < 0.01$ )。c-Met 阳性染色主要定位于细胞质,少数在细胞膜,为棕黄色或棕褐色颗粒(封 2 图 2)。c-Met 在胃癌组织中的阳性表达率为 65.2%(45/69),胃黏膜不典型增生组织 26.7%(4/15),正常胃黏膜组织 10%(1/10)。结果显示,c-Met 蛋白在胃癌组织的表达显著高于胃黏膜不典型增生组织( $\chi^2 = 7.534, P < 0.01$ )和正常胃黏膜组织( $\chi^2 = 8.796, P < 0.01$ )。

**2.2 OPN、c-Met 表达与肿瘤临床病理参数的关系** 胃癌组织中 OPN 表达与肿瘤临床 TNM 分期、浸润深度、淋巴结转移等有相关性( $P < 0.01$ );而与患者年龄、肿瘤大小、肿瘤组织分化等无明显相关性。c-Met 表达与肿瘤的淋巴结转移、临床 TNM 分期等有相关性( $P < 0.01$ );与患者年龄、肿瘤大小、浸润深度、肿瘤组织分化等无相关性,见表 1。

**2.3 胃癌组织中 OPN 和 c-Met 表达的相关性** 在 48 例 OPN 阳性的胃癌组织中,c-Met 阳性者 37 例(77.1%),21 例 OPN 阴性胃癌组织中,c-Met 阳性者 8 例(38.1%)( $\gamma = 0.35248, P < 0.05$ ),相关分析表明,胃癌组织中 OPN 蛋白的表达与 c-Met 蛋白表达呈正相关。

表 1 胃癌 OPN 与 c-Met 蛋白表达与临床病理参数关系(n)

临床参数	n	OPN			c-Met		
		(-)	(+)	P	(-)	(+)	P
性别							
男	44	14	30	>0.05	15	29	>0.05
女	25	7	18		9	16	
年龄(岁)							
≥60	42	13	29	>0.05	14	28	>0.05
<60	27	8	19		10	17	
分化程度							
高-中分化	39	13	26	>0.05	16	23	>0.05
低分化	30	8	22		8	22	
浸润深度							
T1~T2	24	13	11	<0.01	10	14	>0.05
T3~T4	45	8	37		14	31	
TNM 分期							
I~II	29	15	14	<0.01	16	13	<0.01
III~IV	40	6	34		8	32	
淋巴结转移							
有	43	8	35	<0.01	10	33	<0.01
无	26	13	13		14	12	

## 3 讨 论

OPN 是近年来发现的一种糖磷酸化蛋白,是细胞外基质(ECM)中一种重要的非胶原蛋白。OPN 是一种转移相关蛋白,能够促进肿瘤组织细胞的生存、增殖和迁移,参与肿瘤组织

中毛细血管床的形成,在肿瘤的发展及转移过程中发挥着重要作用。人 OPN 基因定位于人染色体 4q13,OPN 蛋白中的特异精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(Arg-Gly-Asp, RGD)序列与许多细胞外基质蛋白的黏附序列相同,对 OPN 的黏附功能起着重要作用。在 RGD 结构域下游 6 个氨基酸处有凝血酶裂解位点,凝血酶可把 OPN 裂解成 2 个大小相近的片段 C 端和 N 端,以暴露整合素和 CD44 等结合位点。OPN 主要是通过整合素和 CD44 结合参与肿瘤的发生发展及侵袭和转移<sup>[1]</sup>,目前许多研究表明 OPN 在肺癌<sup>[2]</sup>、肝癌<sup>[3]</sup>、胃癌<sup>[4]</sup>、乳腺癌<sup>[5]</sup>、宫颈癌<sup>[6]</sup>、卵巢癌<sup>[7]</sup>等多种肿瘤中呈高水平表达,与本研究的结果相一致。Hotte 等<sup>[8]</sup>通过用癌基因 H-ras 转染 NIH3T3 细胞模型能使其获得致瘤性,ras 表达水平升高的同时 OPN 分泌增加,使细胞的转移能力增强;然而转染 OPN 反义 RNA 后,细胞的转移能力显著下降,说明 OPN 和肿瘤的转移有关。本研究表明,OPN 的表达与肿瘤的浸润深度、TNM 分期及淋巴结转移有关,表明了病情的进展程度,可以作为判断胃癌患者预后的良好指标。

原癌基因 c-Met 的编码产物是肝细胞生长因子(HGF)的细胞膜受体,属酪氨酸激酶受体,在细胞内信号转导中发挥重要作用。c-Met 位于人类 7 号染色体长臂(7q31)。HGF 与其受体 c-Met 蛋白相结合,启动一系列跨膜信号转导通路,刺激多种类型细胞的增殖、分化、运动及形态发生,对多种组织器官的生长发育具有重要的生理调节作用<sup>[9]</sup>。异常因素的持续刺激,使 HGF/c-Met 系统过度激活,细胞过度表达 HGF 或 c-Met 时,常常导致细胞发生癌变,通过影响细胞的黏附、ECM 的降解、促进肿瘤细胞的运动及肿瘤血管生成等促进肿瘤的浸润转移。大量研究表明在人的许多肿瘤组织中有 c-Met 蛋白过表达,如肺癌<sup>[10]</sup>、胰腺癌<sup>[11]</sup>、肝癌<sup>[12]</sup>、胃癌<sup>[13]</sup>、卵巢癌<sup>[14]</sup>等。本研究发现,随着临床 TNM 分期的增加,伴有淋巴结转移的发生等 c-Met 在蛋白水平也有逐渐增高的趋势,提示随着肿瘤恶性程度的增加,c-Met 的表达率也增加,患者的预后也差,与国内外文献一致。

OPN 和 c-Met 在肿瘤的侵袭转移中有许多联系,Bramwell 等<sup>[15]</sup>研究表明,OPN 诱导癌细胞迁移依赖于 HGF/c-Met 途径的激活。Medico 等<sup>[16]</sup>证实,HGF 与 c-Met 结合后激活 Ras、PI-3K、PLC- $\gamma$  及 STAT 信号通路,促进 OPN 生成,并使 OPN 与 CD44 结合,促进肿瘤细胞浸润、转移。本研究结果发现,胃癌组织中 OPN 蛋白的表达与 c-Met 蛋白表达呈正相关,说明二者在肿瘤的发生发展,浸润转移中可能存在一定的内在联系性,并共同促进肿瘤细胞的侵袭转移。因此 OPN 和 c-Met 可作为反映胃癌生物学行为的参考指标,有助于胃癌的预后判断,并提供肿瘤转移基因治疗的干预靶点。

## 参考文献:

- [1] Sodek J,Zhu B,Huyhn MH,et al. Novel functions of the matricellular Proteins osteopontin and osteonectin SPARC [J]. Connect Tissue Res,2002,43(223):308-319.
- [2] Li T,Zhou J,Deng Z,et al. Expression of FGF-2 and Osteopontin in non-small Cell lung cancer[J]. Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban,2009,34(11):1114-1119.
- [3] Xie H,Song J,Du R,et al. Prognostic significance of osteopontin in hepatitis B Virus-related hepatocellular carcinoma[J]. Dig Liver Dis,2007,39(2):167-172. (下转第 3827 页)

不良反应经调整辐照时间、辐照功率、控制治疗强度、改变治疗区域后消失或缓解,停止治疗后以上反应消失;部分患者术后出现阴道排液,大部分患者 7 d 内阴道排液消失,少部分至治疗后第 1 次月经后消失。两组间比较,以上不良反应发生率无显著性差异。表明缩宫素的使用既无缩宫素本身所致不良反应,也未增加超声消融本身的不良反应。

研究表明缩宫素能安全有效提高子宫腺肌症的消融效率,降低超声消融子宫腺肌症病灶所需的超声能量,且无明显不良反应,具有很好的临床应用前景。

#### 参考文献:

[1] Levгур M. Therapeutic options for adenomyosis; a review [J]. Arch Gynecol Obstet, 2007, 276(1): 1-15.

[2] Zhou M, Chen JY, Tang LD, et al. Ultrasound-guided high-intensity focused ultrasound ablation for adenomyosis; the clinical experience of a single center [J]. Fertil Steril, 2011, 95(3): 900-905.

[3] Fan TY, Zhang L, Chen W, et al. Feasibility of MRI-guided high intensity focused ultrasound treatment for adenomyosis [J]. Eur J Radiol, 2012, 81(11): 3624-3630.

[4] Dong X, Yang Z. High-intensity focused ultrasound ablation of uterine localized adenomyosis [J]. Curr Opin Obstet Gynecol, 2010, 22(4): 326-330.

[5] Viero C, Shibuya I, Kitamura N. REVIEW: Oxytocin: Crossing the bridge between basic science and pharmacotherapy [J]. CNS Neurosci Ther, 2010, 16(5): 138-156.

[6] Dyer RA, Butwick AJ, Carvalho B. Oxytocin for labour and caesarean delivery; implications for the anaesthesiolo-

gist [J]. Curr Opin Anaesthesiol, 2011, 24(3): 255-261.

- [7] Richer O, Wardelmann E, Schneider C, et al. Extracorporeal perfusion of the Human uterus as an experimental model in gynaecology and reproductive medicine [J]. Hum Reprod, 2000, 15(6): 1235-1240.
- [8] 孙立群, 邹建中, 陈文直, 等. 缩宫素对子宫良性病变滋养血管频谱变化的超声观察 [J]. 第三军医大学学报, 2008, 30(22): 2100-2102.
- [9] 张卓梅. 子宫腺肌症中缩宫素受体的分布及其与痛经间的关系研究 [J]. 中国妇产科临床杂志, 2008, 9(4): 262-264.
- [10] Chen YL, Shepherd C, Spinelli W, et al. Oxytocin and vasopressin constrict rat isolated uterine resistance arteries by activating vasopressin V1A receptors [J]. Eur J Pharmacol, 1999, 376(1/2): 45-51.
- [11] Mariam M. Magnetic Resonance-Guided Focused [J]. Semin Reprod Med, 2010, 28: 242-249.
- [12] 张奕, 邹建中. 改变组织声环境增强 HIFU 能量沉积的研究现状 [J]. 中国医学影像学杂志, 2010, 19(2): 191-192.
- [13] 刘政, 陈文直, 陈锦云, 等. 非常规剂量缩宫素对子宫肌瘤血供影响的超声研究 [J]. 中国超声医学杂志, 2012, 22(7): 645-647.
- [14] Tita AT, Szychowski JM, Rouse DJ, et al. Higher-dose oxytocin and hemorrhage after vaginal delivery: a randomized controlled trial [J]. Obstet Gynecol, 2012, 119(2): 293-300.

(收稿日期: 2012-07-26 修回日期: 2012-11-16)

(上接第 3824 页)

[4] Higashiyama M, Ito T, Tanaka E, et al. Prognostic significance of osteopontin expression in human gastric carcinoma [J]. Ann Surg Oncol, 2007, 14(12): 3419-3427.

[5] 解华, 郑荣生, 葛霞, 等. OPN 和 NF-KB/P65 在乳腺癌中的表达及临床意义 [J]. 临床肿瘤学杂志, 2010, 15(12): 1078-1082.

[6] Cho H, Hong SW, Oh YJ, et al. Clinical significance of osteopontin expression in cervical [J]. Cancer Res Clin Oncol, 2008, 134(8): 909-917.

[7] Zhang LL, Shao SL, Wu Y. Expression of osteopontin and B7-H4 in epithelial ovarian neoplasm and their significance [J]. Chin J Cancer, 2010, 9(1): 25-29.

[8] Hotte ST, Winqvist EW, Stitt L, et al. Plasma osteopontin associations with survival and metastasis to bone in men with Hormonerefractory prostate carcinoma [J]. Cancer, 2002, 95(3): 506-512.

[9] Birchmeier C, Birchmeier W, Gherardi E, et al. Met, metastasis, motility and more [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2003, 4(12): 915-925.

[10] Puri N, Salaria R. Synergism of EGFR and c-met pathways, cross-talk and inhibition, in non-small cell lung cancer [J]. J Carcing, 2008, 7: 9.

- [11] Ketterer K, Kong B, Frank D, et al. Neuromedin U is overexpressed in pancreatic cancer and increases invasiveness via the hepatocyte growth factor c-met pathway [J]. Cancer Lett, 2009, 277(1): 72-81.
- [12] Takami T, Novak KP, Uchida K, et al. Loss of hepatocyte growth factor/c-met signaling pathway accelerates early stages of N-nitrosodiethylamine induced hepatocarcinogenesis [J]. Cancer Res, 2007, 67(20): 9844-9851.
- [13] Uen YH, Lin SR, Wu CH, et al. Clinical significance of MUC1 and c-Met RT-PCR detection of circulating tumor cells in patients with gastric carcinoma [J]. Clin Chim Acta, 2006, 367(1/2): 55-61.
- [14] 俞维. C-Met 和 MMP-2 在卵巢癌中的表达及相关研究 [J]. 中国妇产科临床杂志, 2010, 11(6): 440-442.
- [15] Bramwell VH, Tuck AB, Wilson SM, et al. Expression of osteopontin and HGF/met in adult soft tissue tumors [J]. Cancer Biol Ther, 2005, 4(12): 1336-1341.
- [16] Medico E, Gnetile A, Locelso C, et al. Osteopontin is an autocrine mediator of hepatocyte growth factor-induced invasive growth [J]. Cancer Res, 2001, 61(15): 5861-5868.

(收稿日期: 2012-07-09 修回日期: 2012-09-22)