

· 临床研究 ·

FOXC2 和 Vimentin 蛋白在胃癌中的表达及意义*

熊德明, 张 瑶, 王国平, 李 刚, 徐晓刚, 冉文华, 刘学芬

(重庆三峡中心医院肿瘤防治研究所, 重庆万州 404000)

摘要:目的 探讨人叉头框 C2(FOXC2)和 Vimentin 蛋白在胃癌组织中的表达和意义。方法 采用免疫组化 S-P 法检测 65 例胃癌组织及 20 例正常胃黏膜中 FOXC2 和 Vimentin 的表达, 分析两种蛋白与胃癌临床特征之间的关系及两者的相关性。结果 胃癌组织中 FOXC2 和 Vimentin 均呈现高表达, FOXC2 和 Vimentin 在胃癌组织中的阳性表达率分别为 41.53% 和 35.38%。FOXC2 在中晚期胃癌的表达率为 58.60%, 明显高于早期胃癌表达率 27.78% ($P=0.012$); FOXC2 在有淋巴结转移组中的表达率为 55.88%, 明显高于无淋巴结转移组表达率 29.03% ($P=0.018$)。Vimentin 在中晚期胃癌的表达率为 51.72%, 明显高于早期胃癌表达率 22.22% ($P=0.013$); 在有淋巴结转移组的表达率为 41.20%, 高于无淋巴结转移组表达率 14.80% ($P=0.010$)。胃癌组织中 FOXC2 与 Vimentin 的表达呈正相关 ($P=0.037$)。结论 FOXC2 和 Vimentin 可能参与了上皮细胞间质转化过程, 在胃癌转移中扮演重要角色。

关键词: 胃肿瘤; FOXC2; Vimentin; EMT

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.30.008

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2013)30-3612-03

Expression and effect of FOXC2 and Vimentin in gastric carcinoma tissues*

Xiong Deming, Zhang Yao, Wang Guoping, Li Gang, Xu Xiaogang, Ran Wenhua, Liu Xuefen

(Institute for Cancer Prevention and Treatment, Chongqing Three Gorges Central Hospital, Wanzhou, Chongqing 404000, China)

Abstract: Objective To investigate the expression and effect of FOXC2 (forkhead box C2) and Vimentin in gastric carcinoma tissues. Methods To detect the protein expression of FOXC2 and Vimentin in 20 normal gastric tissues and 65 gastric carcinoma tissues with immunohistochemistry. Results FOXC2 and Vimentin were highly expressed in all gastric carcinoma tissues. In all gastric carcinoma cases, the FOXC2 expression rate was 41.53%, the rate of Vimentin was 35.38%. The average expression rates of FOXC2 and Vimentin in TNM (III + IV) group were significantly higher than those in TNM (I + II) group, respectively (58.60% vs. 27.78%, $P=0.012$; 55.88% vs. 29.03%, $P=0.018$). The expression rates of FOXC2 and Vimentin in lymph node transfer group were statistically higher than those in no lymph node transfer group (51.72% vs. 22.22%, $P=0.013$; 41.20% vs. 14.80%, $P=0.010$). The correlation between FOXC2 and Vimentin was positive ($P=0.037$). Conclusion It is possible that FOXC2 and Vimentin are involved in the transformation of epithelial cells into the mesenchymal cells. And they may play an important role in the metastasis of gastric carcinoma.

Key words: stomach neoplasms; FOXC2; Vimentin; EMT

胃癌是全世界最常见的恶性肿瘤之一, 居全球癌症发病率和死亡率的第二位^[1], 虽经过多年的研究, 胃癌的发病机制仍不清楚。叉头框 C2 (forkhead box C2, FOXC2) 属 forkhead 转录因子家族的一员, 有研究表明, FOXC2 在上皮细胞-间质细胞转变 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 过程中, 促进了间质细胞的转化, 对 EMT 起着关键的调节作用。而上皮性癌细胞的浸润和转移过程与 EMT 十分相似, 本文拟通过免疫组化检测胃癌组织中 FOXC2 与 Vimentin 的表达情况, 探索胃癌的高度恶性行为是否与 EMT 有关。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集本院 2008 年 10 月到 2011 年 2 月经病理证实胃癌手术患者 65 例的标本。其中, 患者男 48 例, 女 17 例, 年龄 28~81 岁; 有淋巴转移 34 例, 无淋巴转移为 31 例。另取 20 例健康者正常胃黏膜组织作为阴性对照。

1.2 方法

1.2.1 试剂 抗 FOXC2 多克隆抗体购于 Abcam 公司, 抗 Vi-

mentin 单克隆抗体购于福建迈新公司, SP 免疫组化试剂盒和浓缩型 DAB 试剂均购自北京中杉试剂公司。

1.2.2 实验方法 按 SP 免疫组化试剂盒说明书进行。标本常规 10% 中性甲醛溶液固定, 石蜡包埋制片, 4 μm 切片脱蜡水化, 于枸橼酸钠缓冲液 (PH6.0) 中微波抗原修复, 过氧化物酶阻断内源性过氧化物酶活性, 非免疫性动物血清阻断非特异性反应, 分别滴加山羊抗人 FOXC2 多抗和鼠抗人 Vimentin 单抗, 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜, 37 $^{\circ}\text{C}$ 复温 1 h 后滴加二抗, DAB 显色, 苏木素复染, 梯度酒精脱水, 二甲苯透明, 中性树脂封片, 镜检。

1.2.3 结果判定 FOXC2 与 Vimentin 均主要表达在细胞质内, 以细胞质内明显着色及强着色为阳性细胞, 计数 5 个高倍镜视野, 阳性细胞数小于 5% 为阴性, 大于或等于 5% 为阳性, 判定过程由 2 名经验丰富的病理医生负责。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 17.0 进行统计, 数据比较采取 χ^2 和 Pearson 相关性分析, 两两指标表达相关性用 Spearman 秩相关检验, 检验水准 $\alpha=0.05$, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

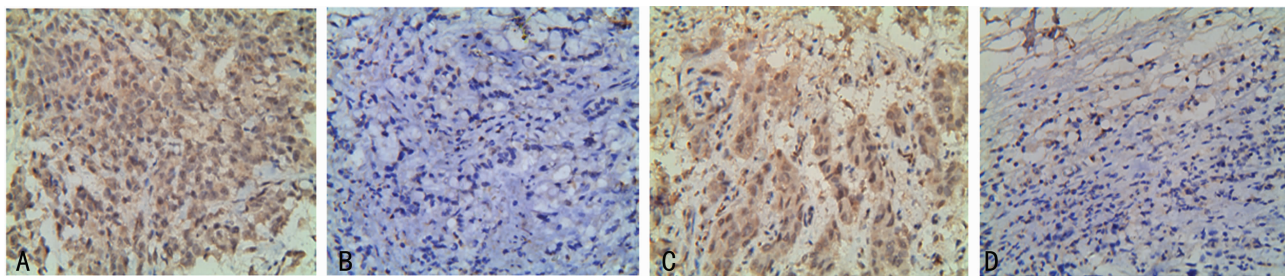
* 基金项目: 重庆市医学重点实验室建设项目 (2007-14)。 作者简介: 熊德明 (1975~), 本科, 主治医师, 主要从事消化道肿瘤相关研究。

△ 通讯作者, E-mail: cqzy920@163.com。

2 结 果

2.1 FOXC2 和 Vimentin 的表达情况 FOXC2 及 Vimentin 在胃癌组织中表达较强,胞浆内颗粒粗大;在正常胃黏膜组织

中表达较弱,颗粒细小。FOXC2 在胃癌组织中的阳性表达率为 41.53%,Vimentin 在胃癌组织中的阳性表达率为 35.38%,见图 1。



A:胃癌组织 FOXC2 阳性;B:胃癌组织 FOXC2 阴性;C:胃癌组织 Vimentin 阳性;D:胃癌组织 Vimentin 阴性。

图 1 胃癌组织中 FOXC2 和 Vimentin 的表达情况(×400)

2.2 FOXC2 和 Vimentin 的表达与临床生物学行为的关系

FOXC2 在中晚期胃癌的表达率为 58.6%,明显高于早期胃癌表达率 27.78%($P=0.012$);FOXC2 在有淋巴结转移组中的表达率为 55.88%,明显高于无淋巴结转移组表达率 29.03%($P=0.018$)。FOXC2 的过表达与年龄、性别、分化程度是否有关,差异无统计学意义。见表 1。

Vimentin 在中晚期胃癌的表达率为 51.72%,明显高于早期胃癌表达率 22.22%($P=0.013$);在有淋巴结转移组的表达率为 41.20%,高于无淋巴结转移组表达率 14.80%($P=0.010$)。差异均有统计学意义。而 Vimentin 的过度表达与年龄、性别、分化程度是否有关,差异无统计学意义($P>0.05$),见表 1。

表 1 FOXC2 和 Vimentin 表达与胃癌临床病理指标的关系

项目	n	FOXC2 阳性			Vimentin 阳性		
		n	χ^2	P	n	χ^2	P
年龄(岁)							
< 60	36	16	0.281	0.596	15	1.393	0.238
≥60	29	11			8		
分化程度							
高	19	8	3.375	0.166	9	0.077	0.782
中	30	10			13		
低	16	0			1		
性别							
男	48	22	1.394	0.238	16	0.338	0.561
女	17	5			7		
淋巴转移							
有	34	19	5.578	0.018	17	6.660	0.010
无	31	8			6		
病理分期							
I~II(早期胃癌)	36	10	6.292	0.012	8	6.114	0.013
III~IV(中晚期胃癌)	29	17			15		

2.3 FOXC2 和 Vimentin 表达的关系 FOXC2 阳性表达的胃癌组织中,Vimentin 的阳性表达为 66.67%,FOXC2 阴性表达的胃癌组织中,Vimentin 的阳性表达为 23.40%,两者成正相关($r=0.405,P=0.037$),见表 2。

表 2 FOXC2 和 Vimentin 的相关性

FOXC2 的表达	Vimentin 的表达		合计
	-	+	
-	36	11	47
+	6	12	18
合计	42	23	65

3 讨 论

虽然现阶段的流行病学调查发现,不同地区胃癌的发病率均较前有所下降,但全球每年仍有超过 93 万的病例确诊胃癌,尽管治疗方案越来越多,每年仍至少有 70 万的胃癌患者死亡^[2]。在我国对胃癌进行了多年的基础和临床研究,但其发病机制仍不完全清楚。有研究发现,EMT 在各种上皮细胞来源的恶性肿瘤的侵袭转移过程中发挥了重要作用。EMT 为暂时而快速的细胞表型可逆性改变,上皮细胞之间的紧密连接消失或者减少,上皮细胞失去其极性并改变其细胞骨架(间质成分增加),细胞运动、迁延、抗凋亡能力提高^[3]。EMT 可以改变肿瘤细胞的表型,从而提高肿瘤细胞浸润和转移的能力^[4]。参与 EMT 中的蛋白分子众多,如:β-Catenin, Paxillin, Vimentin, slug 等^[5],其中代表间质细胞的 Vimentin 由于其高度的选择性表达受到了广泛的研究,近年来发现 FOXC2 作为上皮细胞的新的标志物也受到了越来越多的关注。

FOXC2 属于 FOXC 亚族,经过多年研究发现,它不仅参与调节胚胎的发育,如血管、淋巴管的生成等^[6],还与肥胖、胰岛素抵抗、糖尿病等代谢性疾病相关^[7]。近年来的研究还发现,FOXC2 与肿瘤的浸润和远处转移密切相关,在乳腺基底细胞癌、子宫内膜癌等肿瘤中呈现高表达,其表达量与肿瘤分期及恶性程度呈正相关,这可能与 FOXC2 启动 EMT 促进上皮细胞转化并转移有关^[8]。本实验结果显示,FOXC2 在胃癌组织伴淋巴结转移组及晚期病例中呈高表达,提示其可能通过上述途径参与胃癌的发展。

Vimentin 是一种中间丝蛋白,是连接细胞膜与核膜之间的重要骨架蛋白。Vimentin 主要表达于间叶组织细胞,如内皮细胞、成纤维细胞、巨噬细胞、淋巴细胞等,是 EMT 中的一个重要因子。目前大量报道显示,Vimentin 在许多上皮性肿瘤,尤其是低分化癌中异常表达,可能与肿瘤细胞的浸润和转移有关。本实验结果显示,Vimentin 在胃癌组织伴淋巴结转移组及晚期病例中呈高表达,提示其可能参与胃癌的发展。又有报道称,Vi-

mentin 的过度表达还与肝细胞癌、乳腺癌及结肠癌的高度恶性和不良预后有着明显的联系^[9-11];还在 Vimentin 在膀胱癌中表达异常增加^[12]。因此, Vimentin 可能作为评估上皮性肿瘤有无转移的指标之一。

本实验还表明, FOXC2 和 Vimentin 的表达呈正相关, 随着胃癌的恶性程度增高, FOXC2 及 Vimentin 表达均增加, 促进上皮细胞向间质细胞转化。

大量实验表明, EMT 在结肠癌、乳腺癌、肺癌、肝癌等多种癌症的浸润及转移中起着重要作用^[13]。通过本实验发现, FOXC2 及 Vimentin 参与胃癌的 EMT 过程, 促进肿瘤细胞浸润和转移, 这可能为继续探索胃癌发病机制提供了新的思路, 也为胃癌的诊断及预后判断提供了新的指标。

参考文献:

- [1] Filomena A, Saieva C, Lucchetti V, et al. Gastric Cancer surveillance in a high-risk population in Tuscany (Central Italy): preliminary results [J]. *Digestion*, 2011, 84(1): 70-77.
- [2] Meine GC, Rota C, Dietz J, et al. Relationship between cagA-positive helicobacter pylori infection and risk of gastric cancer: a case control study in porto alegre, RS, Brazil [J]. *Arq Gastroenterol*, 2011, 48(1): 41-45.
- [3] Savagner P. The epithelial-mesenchymal transition (EMT) phenomenon [J]. *Ann Oncol*, 2010, 21(Suppl 7): S89-S92.
- [4] Kokkinos MI, Wafai R, Wong MK, et al. Vimentin and epithelial-mesenchymal transition in human breast cancer—observations in vitro and in vivo [J]. *Cells Tissues Organs*, 2007, 185(1-3): 191-203.
- [5] 洪伦. 上皮-间质转化及相关 microRNA 分子与肿瘤的恶性行为的研究进展 [J]. *中国癌症杂志*, 2011, 21(9): 725-730.

(上接第 3611 页)

- 竭流行病学调查及其患病率 [J]. *中华心血管病杂志*, 2003, 31(1): 3-6.
- [4] Sica DA. Hyponatremia and heart failure—treatment considerations [J]. *Congest Heart Fail*, 2006, 12(1): 55-60.
- [5] Ali SS, Olinger CC, Sobotka PA, et al. Loop diuretics can cause clinical natriuretic failure: a prescription for volume expansion [J]. *Congest Heart Fail*, 2009, 15(1): 1-4.
- [6] 刘英明, 朱智明, 杨晔. 精氨酸加压素受体拮抗剂在心力衰竭治疗中的应用前景 [J]. *中华心血管病杂志*, 2007, 35(7): 678-680.
- [7] 高伟, 王士雯, 赵玉生. 脑钠肽前体 N 末端片段在心血管病研究应用中的现状 [J]. *中华心血管病杂志*, 2004, 32(8): 759-761.
- [8] Gegenhuber A, Muller T, Firlinger F, et al. Time course of B-type natriuretic peptide (BNP) and N-terminal pro-BNP change in patients with decompensated heart failure [J]. *Clin Chem*, 2004, 50(2): 454.
- [9] Gheorghide M, Rossi JS, Cotts W, et al. Characterization and prognostic value of persistent hyponatremia in patients with severe heart failure in the ESCAPE Trial [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2007, 167(18): 1998-2005.

- [6] Hayashi H, Sano H, Seo S, et al. The Foxc2 transcription factor regulates angiogenesis via induction of integrin beta3 expression [J]. *J Biological Chem*, 2008, 283: 23791-23800.
- [7] 彭晓初, 邹大进. 脂肪组织 FOXC2 表达水平与肥胖和胰岛素抵抗的关系 [J]. *医学研究生学报*, 2008, 21(6): 614-618.
- [8] Mani SA, Yang J, Brooks M, et al. Mesenchyme forkhead 1 (FOXC2) plays a key role in metastasis and is associated with aggressive basal-like breast cancers [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104(24): 10069-10074.
- [9] 周顺, 贾筱琴, 喻春钊, 等. 上皮间质转化相关蛋白在肝细胞肝癌组织中的表达鉴定及其小分子 RNA 表达谱的研究 [J]. *中华实验外科杂志*, 2011, 28(1): 68-71.
- [10] Dandachi N, Hauser-Kronberger C, Moré E, et al. Co-expression of tenascin-C and vimentin in human breast Cancer cells indicates phenotypic transdifferentiation during tumour progression: correlation with histopathological parameters, hormone receptors, and oncoproteins [J]. *J Pathol*, 2001, 193(2): 181-189.
- [11] 吴共发, 胡洁, 王雅娟, 等. 结直肠癌与其淋巴结转移癌及结直肠癌细胞上皮-间质转化的对比研究 [J]. *中国癌症杂志*, 2011, 21(4): 251-255.
- [12] Baumgart E, Cohen MS, Silva Neto B, et al. Identification and prognostic significance of an epithelial-mesenchymal transition expression profile in human bladder tumors [J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(6): 1685-1694.
- [13] Sabbah M, Emami S, Redeuilh G, et al. Molecular signature and therapeutic perspective of the epithelial-to-mesenchymal transitions in epithelial cancers [J]. *Drug Resist Updat*, 2008, 11(4-5): 123-151.

(收稿日期: 2013-05-18 修回日期: 2013-08-25)

- [10] Kearney MT, Fox KA, Lee AJ, et al. Predicting sudden death in patients with mild to moderate chronic heart failure [J]. *Heart*, 2004, 90(10): 1137-1143.
- [11] Goldsmith SR. Hyponatremia in heart failure: time for a trial [J]. *J Card Fail*, 2013, 19(6): 98-100.
- [12] Rusinaru D, Buiciuc O, Leborgne L, et al. Relation of serum Sodium level to long-term outcome after a first hospitalization for heart failure with preserved ejection fraction [J]. *Am J Cardiol*, 2009, 103(3): 405-410.
- [13] Klein L, Oconnor CM, Leimberger JD, et al. Lower serum Sodium is associated with increased short term mortality in hospitalized patients with worsening heart failure: results from the OPTIME-CHF study [J]. *Circulation*, 2005, 111(19): 2454-2460.
- [14] Gheorghide M, Abraham WT, Albert NM, et al. Relationship between admission serum Sodium concentration and clinical outcomes in patients hospitalized for heart failure: an analysis from the OPTIMIZE-HF registry [J]. *Eur Heart J*, 2007, 28(8): 980-988.

(收稿日期: 2013-05-25 修回日期: 2013-06-19)