

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.22.005

Neuritin 在胃癌中的表达水平及意义*

李维嘉¹, 钟 晨¹, 王锦国¹, 牛少雄¹, 牛建华^{1△}, 李永康¹, 黄 瑾^{2▲}

(石河子大学医学院:1. 第一附属医院普外三科;2. 生物化学与分子生物学教研室, 新疆石河子 832000)

摘要:目的 了解 Neuritin 在胃癌中的表达情况,探讨 Neuritin 表达与胃癌发生、发展的相关性。方法 收集 2010~2013 年在石河子大学第一附属医院切除胃癌组织标本的患者 58 例,利用免疫组织化学法检测胃癌、癌旁正常胃组织中 Neuritin 的表达水平的差异。结果 免疫组织化学法结果显示 Neuritin 在胃癌组织中阳性率为 96.55%(56/58),在癌旁正常组织中阳性率为 94.83%(55/58),两组比较差异无统计学意义($P>0.05$);Neuritin 在胃癌组织中强阳性率为 82.76%(48/58),在癌旁正常组织中强阳性率为 15.52%(9/58),两组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。Neuritin 的表达与患者性别、年龄、TNM 分期、浸润深度、淋巴结转移、分化程度、病理学类型及远处转移无相关性(均 $P>0.05$)。结论 Neuritin 在胃癌组织与癌旁正常组织中的表达水平存在差异,Neuritin 在胃癌组织中存在高表达。

关键词:Neuritin;胃癌;免疫组织化学

中图分类号:R73-3

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2014)22-2845-03

Expression of Neuritin and its clinical significance in gastric cancer*

Li Weijia¹, Zhong Chen¹, Wang Jinguo¹, Niu Shaoxiong¹, Niu Jianhua^{1△}, Li Yongkang¹, Huang Jin^{2▲}

(1. The Third General Surgery Department, the First Affiliated Hospital of Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832000, China;

2. Department of Biochemistry and Molecular Biology, Medical College of Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832000, China)

Abstract: Objective To research the expression of Neuritin in gastric cancer, and the relationship between the expression of Neuritin with the occurrence and development of gastric cancer. Methods Collected 58 surgical specimens of gastric cancer from 2010 to 2013 in the first affiliated hospital of Shihezi University, immunohistochemistry was used to examine the expression of Neuritin in gastric cancer and normal tissues near the cancer of the stomach. Results Immunohistochemical staining showed that Neuritin was moderately or highly expressed in 96.55%(56/58) of gastric cancer, and Neuritin was moderately or highly expressed in 94.83%(55/58) of normal tissues near the cancer. There was no statistically significantly difference between two groups ($P>0.05$); Neuritin was highly expressed in 82.76%(48/58) of gastric cancer, and Neuritin was highly expressed in 15.52%(9/58) of normal tissues near the cancer, differences between the two groups had statistically significantly ($P<0.05$). Expression of Neuritin was not correlated with gender, age, TNM stage, infiltration depth, lymph node metastasis, differentiated degree, the pathologic type or distant metastasis ($P>0.05$). Conclusion The Neuritin expression level between gastric cancer and normal tissues near the cancer exist differences. There is overexpression of neuritin in gastric cancer.

Key words: neuritin; gastric cancer; immunohistochemistry

Neuritin 是以色列科学家 Nedivi 等^[1]在 1993 年通过构建谷氨酸类似物海人藻酸(kainic acid, KA)激活型大鼠海马齿状回 cDNA 文库得到的一个基因。之前的研究表明,Neuritin 在神经突起的生长和成熟中起着重要作用^[2-4]。但近年来有研究表明,Neuritin 的作用不仅局限于神经系统,在神经系统以外的某些肿瘤组织中存在高表达,且在一定程度上参与了肿瘤的发生、发展^[5-11]。然而,胃癌作为消化系统常见的恶性肿瘤,目前国内外尚未见 Neuritin 在胃癌中表达的研究。本研究旨在通过检测 Neuritin 在胃癌组织中的表达水平,以探讨其与胃癌发生、发展的相关性。

1 材料与方 法

1.1 材料 本实验所采用的标本为 58 例胃癌患者手术存档蜡块(胃癌组织及同一患者的癌旁正常组织),均来自 2010~2013 年石河子大学医学院第一附属医院病理科,均经本院病理科行病理诊断证实。所有患者均经术后组织病理学确诊为胃癌,有明确的手术时间,术前均未接受化疗和放疗,其中男 40 例(68.

97%),女 18 例(31.03%);标本患者年龄 35~80 岁,平均 60 岁;隆起型胃癌 4 例(6.70%),溃疡型胃癌 45 例(77.59%),浸润型胃癌 9 例(15.52%)。Neuritin 抗体购于 Sigma 公司(PRS4101),第二抗体购于中杉金桥公司(PV-6001)。

1.2 方法 免疫组织化学染色,每张切片的厚度为 4 μm 。采用 Envision 两步法:切片脱蜡至水,微波加热(95 $^{\circ}\text{C}$ 、15 min)以修复抗原, H_2O_2 孵育 10 min 以减少背景染色;4 $^{\circ}\text{C}$ 一抗孵育过夜(1:200 稀释);PBS 振洗 3 次,每次 5 min;滴加第二抗体,37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min;PBS 振洗 3 次,每次 5 min。DAB 显色后进行苏木素核复染、脱水、透明、封片、干燥。每次实验均以 PBS 代替第一抗体作为阴性对照。结果判断采用 AB 值法。A:按切片中细胞显色有无及深浅评分,0 分:无着色;1 分:浅黄色;2 分:棕/深黄色;3 分:棕褐色。B:按切片中显色细胞比例评分,1 分:显色细胞占切片中细胞总数的 10%以下;2 分:大于等于 10%至小于 50%的细胞显色;3 分:大于等于 50%至小于 75%以上细胞显色;4 分:75%以上细胞显色。每例样本

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(31060136)。 作者简介:李维嘉(1987-),硕士,主要从事腹腔镜及胃肠外科(研究)工作。 △

通讯作者, Tel:13909930116; E-mail: pwsniu Jianhua@163.com。 ▲ 通讯作者, Tel:18997730139; E-mail: huangjin623@163.com。

积分 = A × B, 按积分高低划分: 小于等于 4 分: 阴性; 5 ~ 8 分: 阳性; 9 ~ 12 分: 强阳性。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件对所得数据进行分析处理, 百分率比较用 χ^2 检验。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结 果

2.1 胃癌石蜡组织免疫组织化学染色结果 Neuritin 表达的阳性部位位于胞浆和胞核, 胞浆着色明显, 着色为棕黄色或棕褐色; 胞核着色较弱, 着色为淡黄色或棕黄色。58 例胃癌组织中有 2 例表达为阴性, 8 例表达为阳性, 48 例表达为强阳性 (图 1、2), 阳性率为 96.55%, 强阳性率为 82.76%; 58 例癌旁正常组织中有 3 例表达为阴性, 46 例表达为阳性 (图 3、4), 9 例表达为强阳性, 阳性率为 94.83%, 强阳性率为 15.52%。图 5 为阴性对照。Neuritin 在两组间表达的阳性率比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 1, 但 Neuritin 在两组间表达的强阳性率比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 2。

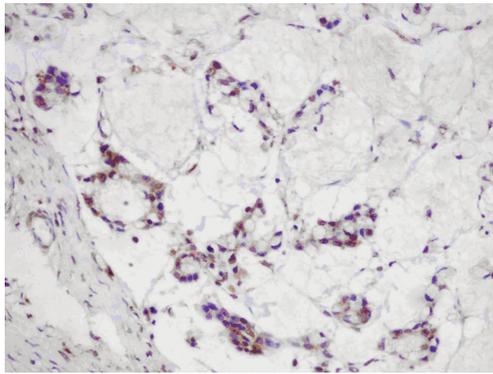


图 1 胃癌组织中 Neuritin 蛋白阳性表达 (×200)

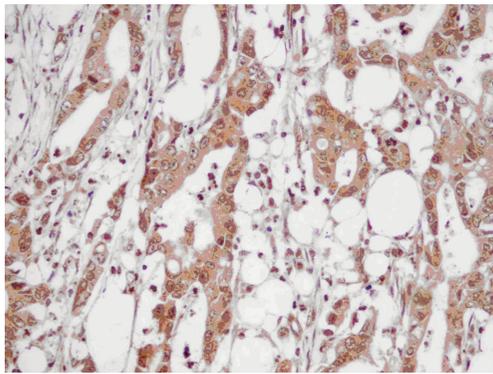


图 2 胃癌组织中 Neuritin 蛋白强阳性表达 (×200)

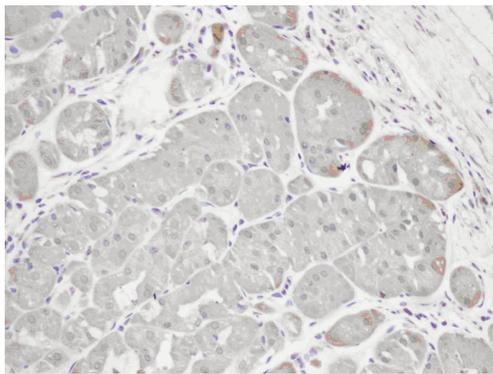


图 3 癌旁正常组织中 Neuritin 蛋白阳性表达 (×200)

2.2 胃癌中 Neuritin 的表达与临床病理参数的关系 Neuritin 高表达与患者的性别、年龄、肿瘤的 TNM 分期、浸润深

度、淋巴结转移、分化程度、病理学类型及有无远处转移均无相关性 (均 $P > 0.05$), 见表 3。

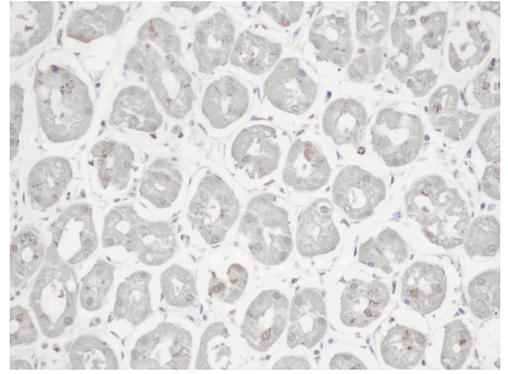


图 4 癌旁正常组织中 Neuritin 蛋白强阳性表达 (×200)

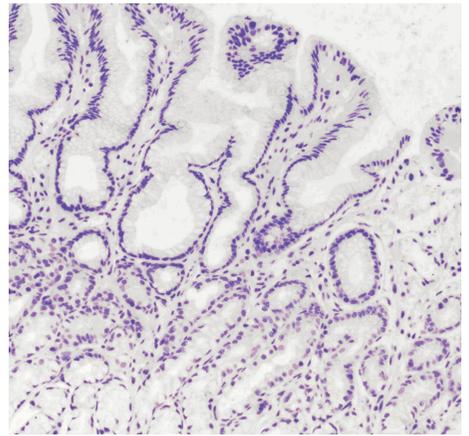


图 5 阴性对照 (×200)

表 1 Neuritin 在胃癌及癌旁正常组织中表达水平比较 [n (%)]

组别	阳性+强阳性	阴性	χ^2	P
胃癌组织	56(96.55)	2(3.45)	0.000	>0.05
癌旁正常组织	55(94.83)	3(5.17)		

表 2 Neuritin 在胃癌及癌旁正常组织中表达的强阳性情况 [n (%)]

组别	强阳性	非强阳性	χ^2	P
胃癌组织	48(82.76)	10(17.24)	52.464	<0.05
癌旁正常组织	9(15.52)	49(84.48)		

表 3 Neuritin 的表达水平与胃癌临床病理参数的关系

临床病理参数	n	阳性	强阳性	χ^2	P
性别				0.000	1.000
男	39	6	33		
女	17	2	15		
年龄(岁)				0.253	0.615
<60	22	2	20		
≥60	34	6	28		
分化程度				0.669	1.000
高分化	1	0	1		
中分化	21	3	18		
低分化	34	5	29		
TNM 分期				2.147	0.718
0 期	1	0	1		
I 期	15	1	14		

续表 3 Neuritin 的表达水平与胃癌临床病理参数的关系

临床病理参数	n	阳性	强阳性	χ^2	P
Ⅱ期	13	2	11	4.456	0.343
Ⅲ期	25	5	20		
Ⅳ期	2	0	2		
浸润深度					
Tis	1	0	1	2.195	0.138
T1	5	1	4		
T2	20	1	19		
T3	10	3	7		
T4	20	3	17		
淋巴结转移				0.000	1.000
N0、N1	31	2	29		
N2、N3	25	6	19		
远处转移				3.602	0.162
有	2	0	2		
无	54	8	46		
病理学类型				0.000	1.000
隆起型	4	0	4		
溃疡型	44	5	39		
浸润型	8	3	5		

3 讨论

Neuritin 是神经营养因子家族中的一种小分子物质,之前 Neuritin 的研究一直集中在神经系统,近年来的研究显示在神经系统外的其他组织也有 Neuritin 的表达^[5-11]。黄瑾等^[7]发现 Neuritin 在人脐静脉内皮细胞、肝细胞等正常人体细胞中存在有表达。Kojima 等^[5]发现 Neuritin 在心、肺、卵巢也有一定的表达。Raggio 等^[12]将转染了 Neuritin 的 3T3 细胞注射到裸鼠体内,发现相应部位可出现肿瘤。巴鹏飞等^[9]发现 Neuritin 在肺癌组织中存在高表达,可能参与了肺癌的发生、发展。曹健等^[13]发现 Neuritin 在乳腺癌组织中存在高表达,且与乳腺癌的淋巴结转移、TNM 分期相关。黄瑾等^[7]发现 Neuritin 在膀胱癌细胞及胆管内皮癌细胞等细胞株中无表达。而胃癌作为消化系统常见的恶性肿瘤,目前国内外尚未见 Neuritin 在胃癌中表达的研究。

本研究发现,Neuritin 在胃癌及癌旁正常组织中均有表达,显微镜下大部分胃癌癌旁正常组织切片中 Neuritin 着色为棕黄色,着色细胞比例大于 50%,表明胃癌癌旁正常组织存在 Neuritin 表达;显微镜下大部分胃癌组织切片中 Neuritin 着色为棕褐色,着色细胞比例大于 75%,统计学分析表明胃癌组织中 Neuritin 的表达程度明显高于癌旁正常组织组中 Neuritin 的表达程度($P < 0.05$),表明 Neuritin 在胃癌组织中存在高表达。钟晨^[14]研究表明,Neuritin 的高表达能够部分抑制 Notch 信号途径配体 JAG1 蛋白的内吞,进而抑制 Notch 信号途径的激活。还有学者发现 Notch1 信号通路的激活可以抑制胃癌细胞的增殖^[15]。所以,Neuritin 的高表达或许在一定程度上通过影响 Notch 信号途径的激活促进了胃癌细胞的增殖,进而影响了胃癌的发生、发展。但 Neuritin 在胃癌组织中的高表达是否能够通过影响 Notch1 通路从而影响胃癌的发生、发展,这还有待于进一步研究。本研究表明 Neuritin 的表达与胃癌患者的年龄、肿瘤的分化程度及病理学类型无相关性,这与曹健等^[13]在乳腺癌中的研究结果相似。但是,曹健等^[13]发现 Neuritin 的表达与乳腺癌的淋巴结转移、TNM 分期相关,而本研究发现 Neuritin 的表达与胃癌的淋巴结转移、TNM 分期等没有相

关性,这或许是因为本实验样本量有限,有待于扩大样本量进一步研究。

综上所述,Neuritin 在胃癌组织与癌旁正常组织中的表达水平存在差异,胃癌组织中 Neuritin 存在高表达,并且 Neuritin 有可能成为胃癌预防和治疗的一个新靶点。

参考文献:

- [1] Nedivi E, Hevroni D, Naot D, et al. Numerous candidate plasticity-related genes revealed by differential cDNA cloning[J]. Nature, 1993, 363(6431): 718-722.
- [2] Putz U, Harwell C, Nedivi E. Soluble CPG15 expressed during early development rescues cortical progenitor from apoptosis[J]. Nat Neurosci, 2005, 8(3): 323-331.
- [3] Cantalops I, Haas K, Cline HT. Postsynaptic CPG15 promotes synaptic maturation and presynaptic axon arbor elaboration in vivo[J]. Nat Neurosci, 2000, 3(10): 1004-1011.
- [4] Klussmann S, Martin-villalba A. Molecular targets in spinal cord injury[J]. J Mol Med (Berl), 2005, 83(9): 657-671.
- [5] Kojima N, Shiojiri N, Sakai Y, et al. Expression of neuritin during liver maturation and regeneration[J]. FEBS Lett, 2005, 579(21): 4562-4566.
- [6] Seale P, Ishibashi J, Holterman C, et al. Muscle satellite cell-specific genes identified by genetic profiling of MyoD-deficient myogenic cell[J]. Dev Biol, 2004, 275(2): 287-300.
- [7] 黄瑾, 杨磊, 应康, 等. Neuritin cDNA 的克隆及表达[J]. 复旦学报: 自然科学版, 2001, 40(5): 521-524.
- [8] 徐芬, 巴鹏飞, 张树军, 等. 人部分正常与肿瘤细胞株中 neuritin 表达的检测[J]. 农垦医学, 2007, 29(3): 161-164.
- [9] 巴鹏飞, 赵瑾, 李新丽, 等. Neuritin 基因在肺癌及正常肺组织中表达的检测[J]. 农垦医学, 2007, 29(4): 254-256.
- [10] 李乐翔, 赵永更, 张磊, 等. Neuritin 基因在胶质瘤组织中的表达研究[J]. 中华神经外科疾病研究杂志, 2009, 8(5): 409-412.
- [11] Zhang L, Zhao YG, Wang CG, et al. Neuritin expression and its relation with proliferation, apoptosis, and angiogenesis in human astrocytoma[J]. Med Oncol, 2011, 28(3): 907-912.
- [12] Raggio C, Ruhl R, McAllister S, et al. Novel cellular genes essential for transformation of endothelial cells by Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus[J]. Cancer Res, 2005, 65(12): 5084-5095.
- [13] 曹健, 王瑞, 侯进, 等. 乳腺癌组织中神经营养因子 Neuritin 的表达及其临床意义[J]. 吉林大学学报: 医学版, 2013, 39(4): 799-803.
- [14] 钟晨. Neuritin 对 Neuralized 介导的 Notch 信号途径配体 JAG1 泛素化的影响[D]. 石河子: 石河子大学, 2011.
- [15] 默娟, 李红. Notch1 信号通路对胃癌细胞增殖的影响[J]. 山东医药, 2012, 52(7): 15-17.