



DOI: 10.3969/j.issn.2095-1264.2023.04.12

文章编号: 2095-1264(2023)04-0475-05

胃癌组织中自噬相关蛋白与上皮间质转化的关系及意义[★]

王小文¹, 谢金龙², 朱晓芸^{2*}, 蒋海兵³

(¹鄂南肿瘤医院 肿瘤二科, 湖北 赤壁, 437300; ²解放军联勤保障部队第 922 医院 血液肿瘤科, 湖南 衡阳, 421001; ³南华大学附属第二医院 消化内科, 湖南 衡阳, 421001)

摘要: **目的** 探讨胃癌组织中自噬蛋白微管相关蛋白轻链 3B(LC3B)和上皮间质转化(EMT)标志物的表达及其临床意义。**方法** 随机选取 2018 年 1 月—2019 年 12 月我院收治的胃癌患者术后癌组织 110 例和癌旁组织 40 例, 采用免疫组织化学法检测 LC3B、E-cadherin 和 vimentin 的表达, 并分析这些标志物与胃癌患者临床病理特征的关系。**结果** 与癌旁正常组织相比, 胃癌组织中 LC3B 和 vimentin 蛋白表达水平显著升高, E-cadherin 表达水平显著降低($P<0.05$); LC3B、E-cadherin 和 vimentin 表达水平与肿瘤分化程度、T 分期、TNM 分期及淋巴结转移密切相关($P<0.05$), 与年龄、性别和肿瘤大小无关($P>0.05$); LC3B 表达与 vimentin 呈正相关($r=0.320, P=0.001$), 与 E-cadherin 呈负相关($r=-0.484, P<0.001$)。**结论** 胃癌组织中 LC3B、vimentin 表达上调, E-cadherin 表达下调, 且三者与肿瘤分化程度、T 分期、TNM 分期及淋巴结转移密切相关, 可能作为预测胃癌的潜在生物标志物。

关键词: 胃癌; 微管相关蛋白轻链 3B; E-钙黏蛋白; 波形蛋白; 生物标志物

中图分类号: R735.2 **文献标识码:** A

Relationship between autophagy-related proteins and epithelial-mesenchymal transition in gastric cancer[★]

WANG Xiaowen¹, XIE Jinlong², ZHU Xiaoyun^{2*}, JIANG Haibing³

(¹Oncology Department 2, Southern Hubei Cancer Hospital, Chibi, 437300, Hubei, China; ²Department of Hematology and Oncology, PLA Joint Support Force 922 Hospital, Hengyang, 421002, Hunan, China; ³Department of Gastroenterology, Second Affiliated Hospital of South China University, Hengyang, 421001, Hunan, China)

Abstract: Objective To investigate the expression and clinical significance of autophagy protein microtubule-associated protein 1 light chain 3B (LC3B) and epithelial-mesenchymal transition (EMT) markers in gastric cancer. **Methods** After surgery for gastric cancer patients from January 2018 to December 2019, 110 cases of gastric cancer tissue and 40 cases of paracancerous tissue were randomly selected. The expression of LC3B, E-cadherin and vimentin were detected by immunohistochemistry and the relationship between these markers and clinicopathological features of gastric cancer was analyzed. **Results** Compared with the expression of LC3B and vimentin in adjacent normal tissues, the expression of LC3B and vimentin in GC was upregulated, while the expression of E-cadherin was downregulated ($P<0.05$). The expressions of LC3B, E-cadherin and vimentin were closely correlated with the tumor differentiation, T stage, TNM stage and lymph node metastasis ($P<0.05$), but not with age, gender and tumor size ($P>0.05$). LCB expression was positively correlated with vimentin ($r=0.320, P=0.001$), and negatively correlated with E-cadherin ($r=-0.484, P<0.001$). **Conclusion** The expression of LC3B and vimentin increased, while the expression of E-cadherin decreased in GC. The expression of LC3B, E-cadherin and vimen-

[★]基金项目: 衡阳市科技局 2019 年指导性项目(139)。

作者简介: 王小文, 硕士, 副主任医师, 研究方向: 肿瘤。

*通信作者: 朱晓芸, 主管护师, 研究方向: 肿瘤护理。

tin was closely related to tumor differentiation, T stage, TNM stage and lymph node metastasis. The expression of these markers may be used as potential biomarkers for predicting gastric cancer.

Keywords: Gastric cancer; Microtubule-associated protein 1 light chain 3B; E-cadherin; Vimentin; Biomarkers

前言

作为胃癌(gastric cancer, GC)大国,我国胃癌发病率仅次于日本,全世界有一半以上的新发胃癌在中国。据统计,我国男性和女性胃癌发病率分别位居恶性肿瘤第 2 位和第 3 位,死亡率仅次于肺癌^[1-2],但我国早期胃癌诊断率仅为 5%~10%,远低于日本^[3],大多数胃癌患者在首次确诊时已达到中晚期,预后不佳^[4]。因此,进一步了解胃癌转移的机制,对于寻求诊断和治疗的方法都尤为重要。

自噬可通过 SNAIL 转录因子、Wnt、Notch 及 Hedgehog 等信号转导途径影响细胞上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)进程和迁移^[5]。微管相关蛋白轻链 3B(microtubule-associated protein 1 light chain 3B, LC3B)被认为是自噬标志分子以及多种肿瘤的潜在预后生物标志物,在黑色素瘤、食管腺癌和乳腺癌中报道较多,但在胃癌中的相关报道很少^[6]。肿瘤细胞发生 EMT 是获得侵袭和转移能力的关键之一,表现为上皮细胞特征消失,E-钙黏蛋白(E-cadherin)、波形蛋白(vimentin)等的表达发生变化,这些 EMT 相关分子标志物的变化也是检测 EMT 发生和进展的关键因子^[7]。在不同的细胞中,自噬通过不同的信号途径对 EMT 过程发挥重要作用,然而在胃癌中,两者之间的关系尚不明确。本研究通过观察胃癌组织和癌旁正常组织中 LC3B、E-cadherin 和 vimentin 的表达变化,分析三者的相关性以及与胃癌患者临床病理特征的关系,以为临床应用提供一定的理论依据。

1 资料和方法

1.1 一般资料 收集 2018 年 1 月—2019 年 12 月于我院行手术治疗的 110 例胃癌患者的病例资料,取胃癌组织 110 例及癌旁组织(距离胃癌组织 5 cm 以上)40 例作为研究对象。纳入标准:①患者术前未接受化疗、放疗或靶向治疗等抗肿瘤治疗;②临床病理资料完整;③病理学确诊为胃腺癌。由两位胃肠病专家独立评估肿瘤相关临床病理因素,回顾性收集年龄、性别、肿瘤分化程度、分期、淋巴结转移等临床病理资料。本研究已征得所有患者或家属同意并签署知情同意书,且通过我院伦理委员会

批准。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学染色 胃癌及癌旁正常组织标本经 4% 多聚甲醛固定,石蜡包埋,采用 SP 法进行免疫组化染色,操作严格按照试剂盒说明书进行。石蜡切片常规脱蜡、水化,置于修复液中高压修复 2 min, H₂O₂ 封闭;分别加入 LC3B(1:500 稀释)、E-cadherin(1:500 稀释)和 vimentin(1:200 稀释)一抗,4 °C 过夜, PBS 洗涤;加入二抗,37 °C 孵育 30 min; DAB 显色,苏木素复染,脱水,透明,中性封片。显微镜下观察,阳性反应呈棕色。

兔抗人 LC3B 抗体、兔抗人 E-cadherin 抗体、vimentin 抗体、二氨基联苯氨(diaminobenzidine, DAB)显色系统和免疫组化 SP 试剂盒均购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.2.2 结果判断 由两名对患者临床病理资料不知情的病理学专家独立评估免疫染色结果。每张切片随机选取具有代表性的 5 个视野进行观察计数,每个视野计数 100 个细胞,分别根据染色程度及阳性细胞百分率进行分级评分。染色程度:未见阳性细胞为阴性(0 分)、淡黄色为弱阳性(1 分)、棕黄色为中等阳性(2 分)、棕褐色为强阳性(3 分)。阳性细胞百分率计分:阳性细胞数 < 5% 为 0 分、5%~25% 为 1 分、26%~50% 为 2 分、>50% 为 3 分、<4 分为低表达, ≥4 为高表达。以两项评分之和 ≤ 2 分为阴性, > 2 分为阳性。

1.3 统计学分析 统计学分析采用 SPSS 20.0 软件, LC3B、E-cadherin 和 vimentin 蛋白表达与胃癌临床病理特征之间的关系采用 χ^2 检验或 Fisher 精确概率法,采用 Spearman 相关分析判断三者间的相关性,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 LC3B、E-cadherin 和 vimentin 在胃癌中的表达及其与患者临床病理特征的关系 LC3B 表达与肿瘤浸润程度($P=0.006$)、淋巴结转移($P=0.026$)、TNM 分期($P=0.001$)、分化程度($P=0.007$)密切相关; E-cadherin 表达与肿瘤浸润程度($P=0.033$)、淋巴结转移($P=0.032$)、TNM 分期($P=0.007$)和分化程度($P=0.024$)密切相关; vimentin 表达与肿瘤浸润程度

($P=0.039$)、淋巴结转移($P=0.013$)和 TNM 分期($P=0.000$)密切相关。LC3B、E-cadherin 和 vimentin 表达均与胃癌患者的年龄、性别和肿瘤大小无关($P>0.05$)(表 1)。

表 1 LC3B、E-cadherin 和 vimentin 表达与胃癌患者临床病理特征的关系[例(%)]

Tab. 1 Relationship between LC3B, E-cadherin and vimentin expressions and clinicopathological characteristics in gastric cancer [n (%)]

一般资料	例数	LC3B			P	E-cadherin			P	vimentin			P
		高表达	低表达			高表达	低表达			高表达	低表达		
性别	男	89	56(62.9)	33(37.1)	0.464	28(31.5)	61(68.5)	0.767	66(74.2)	23(25.8)	0.123		
	女	21	15(71.4)	6(28.6)		6(28.6)	15(71.4)		12(57.1)	9(42.9)			
年龄/岁	≥60	48	33(68.8)	15(31.2)	0.417	17(35.4)	31(64.6)	0.368	32(66.6)	16(33.3)	0.628		
	<60	62	38(61.3)	24(38.7)		17(27.4)	45(72.6)		44(72.6)	18(27.4)			
肿瘤浸润程度	T ₁ /T ₂	17	6(35.3)	11(64.7)	0.006	9(52.9)	8(47.1)	0.033	8(47.1)	9(52.9)	0.039		
	T ₃ /T ₄	93	65(69.9)	28(30.1)		25(26.9)	68(73.1)		70(75.3)	23(24.7)			
淋巴结转移	无	36	18(50.0)	18(50.0)	0.026	16(44.4)	20(55.6)	0.032	20(55.6)	16(44.4)	0.013		
	有	74	53(71.6)	21(28.4)		18(24.3)	56(73.7)		58(78.4)	16(21.6)			
临床分期	I-II	44	20(45.5)	24(54.5)	0.001	20(45.5)	24(54.5)	0.007	18(40.9)	26(59.1)	0.000		
	III-IV	66	51(77.3)	15(22.7)		14(21.2)	52(78.8)		60(90.0)	6(9.1)			
肿瘤大小/cm	≥5	64	40(62.5)	24(37.5)	0.597	18(28.1)	46(71.9)	0.456	42(65.6)	22(34.4)	0.150		
	<5	46	31(67.4)	15(32.6)		16(34.8)	30(65.2)		36(78.3)	10(21.7)			
分化程度	低	50	39(78.0)	11(22.0)	0.007	10(20.0)	40(80.0)	0.024	31(68.0)	19(32.0)	0.060		
	中、高	60	32(53.3)	28(46.7)		24(40.0)	36(60.0)		47(78.3)	13(21.7)			

2.2 临床标本检测结果 LC3B 高表达的胃癌组织中 LC3B 检出率[64.5%(71/110)]明显高于癌旁正常组织[20.0%(8/40)]($P<0.001$);vimentin 高表达的胃癌组织中 vimentin 检出率[70.9%(78/110)]明显高于癌旁正常组织[30.0%(12/40)]($P<0.001$);E-cad-

herin 高表达的胃癌组织中 E-cadherin 检出率[30.9%(34/110)]明显低于癌旁正常组织[77.5%(31/40)]($P<0.001$)(图 1、表 2)。LC3B 表达与 vimentin 表达呈正相关($r=0.320$, $P=0.001$),与 E-cadherin 表达呈负相关($r=-0.484$, $P<0.001$)(表 3)。

表 2 胃癌和癌旁正常组织中 LC3B、E-cadherin 和 vimentin 蛋白的表达[例(%)]

Tab. 2 The expressions of LC3B, E-cadherin and vimentin in GC and paracancerous normal tissues [n (%)]

组别	例数	LC3B			P	E-cadherin			P	vimentin			P
		高表达	低表达			高表达	低表达			高表达	低表达		
胃癌组织	110	71(64.5)	39(35.5)	0.000	34(30.9)	76(69.1)	0.000	78(70.9)	32(29.1)	0.000			
癌旁组织	40	8(20.0)	32(80.0)		31(77.5)	9(22.5)		12(30.0)	28(70.0)				

表 3 胃癌组织中 LC3B 与 E-cadherin 和 vimentin 的相关性

Tab. 3 Correlations between LC3B with E-cadherin and vimentin in GC

EMT 标志物	例数	LC3B		r	P
		高表达	低表达		
E-cadherin	高表达	34	10%	-0.484	<0.001
	低表达	76	61%		
vimentin	高表达	78	58%	0.320	0.001
	低表达	32	13%		

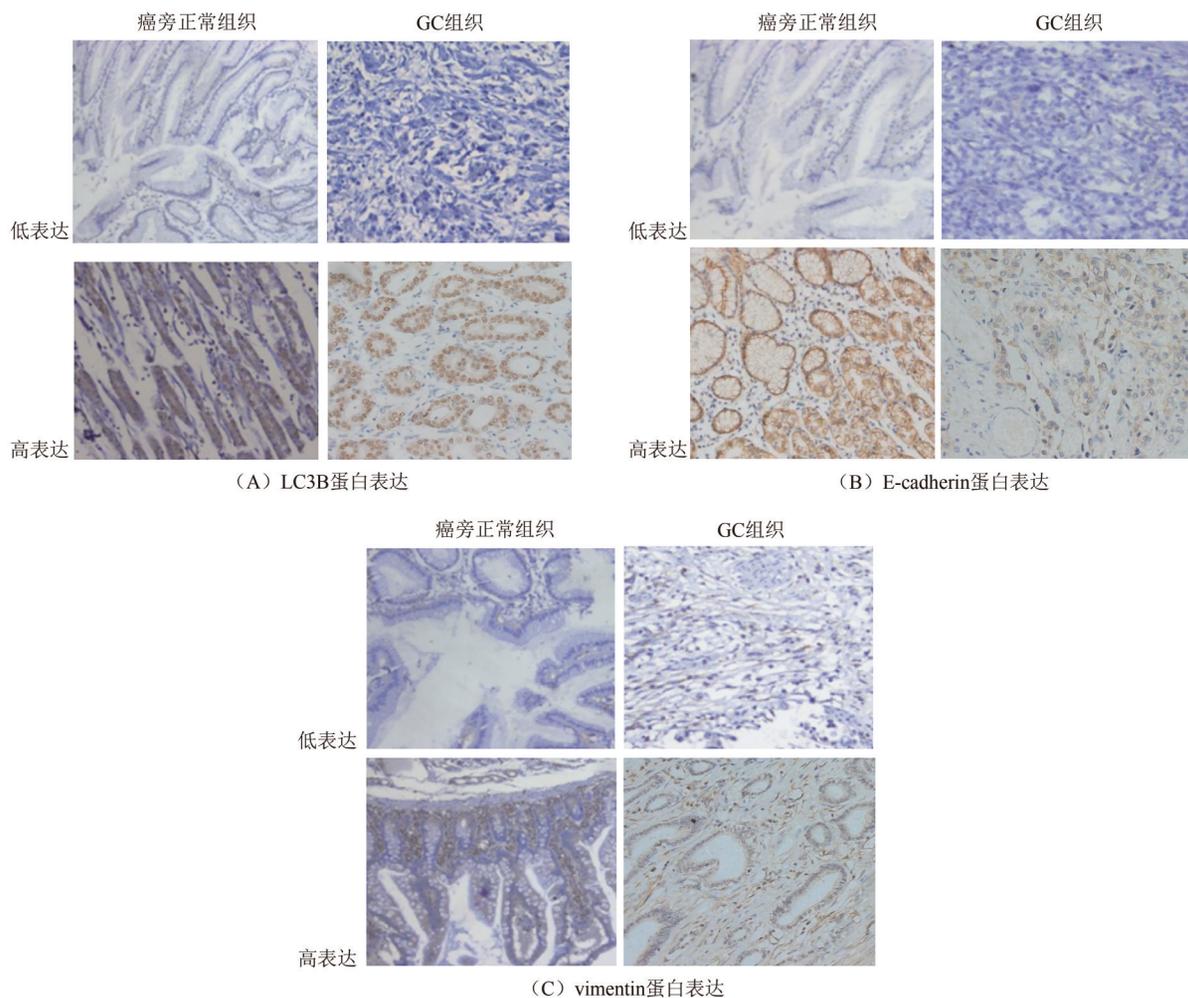


图1 胃癌和癌旁正常组织中 LC3B、E-cadherin 和 vimentin 蛋白的表达($\times 200$)

Fig. 1 The expressions of LC3B, E-cadherin and vimentin in GC and paracancerous normal tissues

3 讨论

目前,临床针对胃癌主要采用X线钡餐、胃镜和细胞学等检查进行诊断,但胃癌早期筛查缺乏特异性,因此,寻找新的胃癌标志物受到广大医学工作者的重视。本研究采用免疫组化法检测 LC3B、E-cadherin 和 vimentin 蛋白在胃癌组织中的表达,并分析其与临床特征的关系,结果显示,LC3B、E-cadherin 和 vimentin 蛋白普遍表达于胃癌组织及癌旁正常组织中,但胃癌组织中 LC3B、vimentin 蛋白表达水平均显著高于癌旁正常组织($P < 0.05$),E-cadherin 蛋白表达水平显著低于癌旁正常组织($P < 0.05$);这些标志物的表达与肿瘤分化程度、T分期、TNM分期、淋巴结转移密切相关($P < 0.05$)。

越来越多的研究表明,自噬在胃癌的发展中发挥着重要作用^[8-9]。本研究结果显示,LC3B与肿瘤

浸润程度($P = 0.006$)、淋巴结转移($P = 0.026$)、TNM分期($P = 0.001$)、分化程度($P = 0.007$)密切相关。Yoshioka 等^[10]研究显示,58%(22/38)的胃癌患者中 LC3 蛋白呈高表达;Masuda 等^[11]发现,LC3 与肿瘤浸润深度和淋巴结转移相关,与本研究结果基本一致。此外,本研究结果显示,胃癌组织中 LC3B 和 vimentin 的检出率(64.5% 和 70.9%)明显高于癌旁正常组织(20.0% 和 30.0%)($P < 0.001$),E-cadherin 蛋白的检出率(30.9%)明显低于癌旁正常组织(77.5%)($P < 0.001$),且上述 EMT 标志物的表达与肿瘤分化程度、淋巴结转移等密切相关($P < 0.05$),与文献报道的自噬通过影响 EMT、肿瘤血管生成和炎症反应促进肿瘤转移基本一致^[12],这也能部分解释 LC3B 高表达与胃癌患者更易发生肿瘤转移有关。但也有研究显示,LC3B 高表达预示着三阴性乳腺癌和口腔鳞癌患者的不良预后^[13]。以上研究提示,自噬在不同类

型的肿瘤中可能发挥着不同的作用。

EMT 是细胞通过瞬时去分化转变为间充质表型,在分子水平上表现为 E-cadherin 表达减少, vimentin 表达增加。EMT 在肿瘤中的作用机制复杂,但大量研究表明其是胃癌进展的关键驱动因素,可促进胃癌的侵袭和转移^[14-16]。进一步分析结果显示, LC3B 表达与 vimentin 表达呈正相关,与 E-cadherin 表达呈负相关,提示在胃癌中,自噬和 EMT 之间存在着复杂的关系,二者可能共享相同的分子介质和信号通路,如 TGF β 、STAT3 和 PI3K/AKT/mTOR 信号级联等^[5]。

不同阶段自噬发挥的作用有所不同^[17-19]。一方面,在肿瘤早期阶段,自噬可作为抑癌信号,通过选择性地使该过程的关键介质失衡来对抗 EMT 的激活;另一方面,在某些肿瘤的发生过程中,自噬也可促进 EMT 的发生和发展。有文献报道,自噬缺陷可稳定 TWIST1,促进 EMT^[20]。目前,有关胃癌中自噬和 EMT 的相互作用仍未明确,二者调控胃癌的关键分子机制还有待进一步探讨。

综上所述,胃癌中自噬和 EMT 之间存在相关性,但具体作用机制仍需要进一步研究探索;LC3B、E-cadherin 和 vimentin 可能作为预测胃癌的潜在生物标志物,但也需要更多证据来进一步证实。

参考文献

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2017 [J]. CA Cancer J Clin, 2017, 67(1): 7-30. DOI: 10.3322/caac.21387.
- [2] IRINO T, TAKEUCHI H, TERASHIMA M, et al. Gastric cancer in Asia: unique features and management [J]. Am Soc Clin Oncol Educ Book, 2017, 37: 279-291. DOI: 10.1200/EDBK_175228.
- [3] JUNG K W, WON Y J, OH C M, et al. Cancer statistics in Korea: incidence, mortality, survival, and prevalence in 2014 [J]. Cancer Res Treat, 2017, 49(2): 292-305. DOI: 10.4143/crt.2017.118.
- [4] YAMAGUCHI K, YOSHIDA K, TANAHASHI T, et al. The long-term survival of stage IV gastric cancer patients with conversion therapy [J]. Gastric Cancer, 2018, 21(2): 315-323. DOI: 10.1007/s10120-017-0738-1.
- [5] GUGNONI M, SANCISI V, MANZOTTI G, et al. Autophagy and epithelial-mesenchymal transition: an intricate interplay in cancer [J]. Cell Death Dis, 2016, 7(12): e2520. DOI: 10.1038/cddis.2016.415.
- [6] 彭玥, 蒋宇, 欧好, 等. 自噬在大蒜素减轻脓毒症小鼠急性肺损伤中的作用[J]. 中南大学学报(医学版), 2017, 42(8):

899-905. DOI: 10.11817/j.issn.1672-7347.2017.08.005.

- [7] 曾祥岳, 孙振强, 王琦三, 等. E-钙黏蛋白和波形蛋白的表达情况与结肠癌相关临床病理因素的关联性及其对患者预后的影响[J]. 中国全科医学, 2017, 20(27): 3360-3367. DOI: 10.3969/j.issn.1007-9572.2017.27.008.
- [8] 陈刚, 张敏敏, 李玉民. 自噬在胃癌发生发展和化疗中的作用[J]. 中华实验外科杂志, 2019, 36(3): 580-584.
- [9] 阙月一, 王娅杰, 李琦, 等. 肿瘤发展过程中自噬与凋亡的相互作用[J]. 中国比较医学杂志, 2018, 28(2): 106-112. DOI: 10.3969/j.issn.1671-7856.2018.02.019.
- [10] YOSHIOKA A, MIYATA H, DOKI Y, et al. LC3, an autophagosome marker, is highly expressed in gastrointestinal cancers [J]. Int J Oncol, 2008, 33(3): 461-468.
- [11] MASUDA G O, YASHIRO M, KITAYAMA K, et al. Clinicopathological correlations of autophagy-related proteins LC3, beclin 1 and p62 in gastric cancer [J]. Anticancer Res, 2016, 36(1): 129-136.
- [12] 童行, 何卫阳. 自噬在肿瘤上皮-间充质转化以及侵袭转移中的作用[J]. 现代泌尿外科杂志, 2019, 24(5): 404-408. DOI: 10.3969/j.issn.1009-8291.2019.05.018.
- [13] 王梦川, 张健, 纪术峰, 等. 肿瘤相关成纤维细胞自噬对三阴性乳腺癌细胞转移的影响[J]. 中华乳腺病杂志(电子版), 2019, 13(1): 8-15. DOI: 10.3877/j.issn.1674-0807.2019.01.002.
- [14] 毛竹君, 祝利民, 卢艳琳, 等. miRNA 通过转录因子及 EMT 相关调控蛋白在胃癌侵袭转移中的作用机制研究[J]. 癌症进展, 2019, 17(8): 890-892. DOI: 10.11877/j.issn.1672-1535.2019.17.08.06.
- [15] 陈彦臻, 刘沈林, 邹奎. 胃癌干细胞与上皮间质转化研究进展[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2018, 25(10): 750-754. DOI: 10.16073/j.cnki.cjcp.2018.10.013.
- [16] 陈美玲, 姜迎宵, 王淑晓, 等. Gab2 通过调节 EMT 促进胃癌的侵袭转移[J]. 肿瘤防治研究, 2018, 45(6): 381-385. DOI: 10.3971/j.issn.1000-8578.2018.17.0881.
- [17] 李泊宁, 赖东梅. 自噬在肿瘤上皮间质转化中的作用[J]. 上海交通大学学报(医学版), 2017, 37(9): 1270-1274. DOI: 10.3969/j.issn.1674-8115.2017.09.014.
- [18] 魏艳杰, 田炜. 自噬及其在肿瘤发生发展中作用的研究进展[J]. 中国医学创新, 2016, 13(23): 137-140. DOI: 10.3969/j.issn.1674-4985.2016.23.039.
- [19] 徐然, 邵弘, 朱静. 自噬在肿瘤发生发展中的调控作用以及通过靶向自噬抑制肿瘤的研究进展[J]. 生命科学, 2018, 30(7): 723-731. DOI: 10.13376/j.cbbs/2018085.
- [20] QIANG L, HE Y Y. Autophagy deficiency stabilizes TWIST1 to promote epithelial-mesenchymal transition [J]. Autophagy, 2014, 10(10): 1864-1865. DOI: 10.4161/auto.32171.

校稿: 于静 李征

本文引用格式: 王小文, 谢金龙, 朱晓芸, 等. 胃癌组织中自噬相关蛋白与上皮间质转化的关系及意义[J]. 肿瘤药学, 2023, 13(4): 475-479. DOI: 10.3969/j.issn.2095-1264.2023.04.12.

Cite this article as: WANG Xiaowen, XIE Jinlong, ZHU Xiaoyun, et al. Relationship between autophagy-related proteins and epithelial-mesenchymal transition in gastric cancer [J]. Anti-tumor Pharmacy, 2023, 13(4): 475-479. DOI: 10.3969/j.issn.2095-1264.2023.04.12.