

MACC1 和 CIP2A 蛋白在胃癌组织中的表达及临床意义

高飞, 张立翱, 姚矾

安徽医科大学附属巢湖医院消化科, 安徽 巢湖 238000

摘要: **目的** 探讨结肠癌转移相关基因 1 (MACC1) 蛋白和蛋白磷酸酶 2A 的癌性抑制因子 (CIP2A) 蛋白在胃癌组织中的表达及临床意义。 **方法** 收集 2015 年 6 月-2016 年 12 月安徽医科大学附属巢湖医院收治的 39 例胃癌组织标本以及 50 例癌旁正常组织标本, 采用免疫组织化学法对组织中 MACC1、CIP2A 蛋白进行测定, 并分析其与胃癌病理特征的关系。 **结果** 胃癌组织中 MACC1 蛋白、CIP2A 蛋白阳性表达率分别为 79.49%、71.79%, 高于癌旁正常组织中的 18.00%、22.00%, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 33.476$ 、 22.068 , 均 $P < 0.01$)。MACC1 蛋白、CIP2A 蛋白在胃癌组织中的阳性表达强度明显强于癌旁正常组织, 差异有统计学意义 ($Z = -6.253$ 、 -5.303 , $P < 0.05$)。Ⅲ+Ⅳ期、低分化、有淋巴结转移胃癌患者胃癌组织中 MACC1 蛋白、CIP2A 蛋白阳性表达率高于 I+Ⅱ期、中高分化、无淋巴结转移患者, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 不同性别、年龄、肿瘤位置、肿瘤大小、病理类型胃癌患者胃癌组织中 MACC1 蛋白、CIP2A 蛋白阳性表达率差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。胃癌组织中 MACC1 蛋白与 CIP2A 蛋白的 Pearson 列联系数为 0.361, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

结论 MACC1、CIP2A 蛋白在胃癌组织中呈高表达水平, 可能参与了胃癌的发生发展过程, 联合检测可作为早期评估胃癌病情的重要指标。

关键词: 胃癌; 结肠癌转移相关基因 1 蛋白; 蛋白磷酸酶 2A 的癌性抑制因子蛋白

中图分类号: R735.2 **文献标识码:** B **文章编号:** 1006-3110(2018)01-0107-04 DOI:10.3969/j.issn.1006-3110.2018.01.032

胃癌是临床常见的消化道恶性肿瘤, 具有发病率高、进展快、预后差等特点^[1]。近年来, 在分子水平上探究恶性肿瘤的发生发展过程成为研究热点。结肠癌转移相关基因 1 (metastasis associated with colon cancer, MACC1) 是在结肠癌原发病灶及转移灶中发现的与结肠癌密切相关的基因序列, 它在细胞的生长、迁移、侵袭以及转移过程中有重要作用, 研究发现^[2-3], MACC1 蛋白参与了肝癌、结肠癌的发生发展过程。蛋白磷酸酶 2A 的癌性抑制因子 (cancerous inhibitor of protein phosphatase 2A, CIP2A) 是新近发现的癌蛋白, 通过与癌转录因子 c-myc 蛋白作用可以抑制蛋白磷酸酶 2A 对 c-myc 的去磷酸化作用, 以及抑制 c-myc 蛋白的水解使其稳定, 同时还能促进细胞的增殖以及恶性转化^[4]。本研究通过检测胃癌组织中 MACC1 和 CIP2A 的表达水平, 并分析其与胃癌临床病例特征的关系, 旨在探讨两指标在胃癌发生发展过程中的作用。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源 收集 2015 年 6 月-2016 年 12 月安

基金项目: 安徽省卫计委科技攻关计划基金项目 (项目编号: 08010302103)

作者简介: 高飞 (1979-), 男, 本科学历, 主治医师, 研究方向: 胃肠病。

徽医科大学附属巢湖医院手术获得的 39 例经病理组织学确诊的胃癌组织标本, 其中男 22 例, 女 17 例; 年龄 35~77 岁, 平均 (56.8±7.5) 岁; 分化程度: 低分化 15 例, 中、高分化 24 例; 根据国际抗癌联盟第 7 版的 TNM 分期^[5]: I+Ⅱ期 21 例, Ⅲ+Ⅳ期 18 例; 有淋巴结转移 16 例, 无淋巴结转移 23 例。并于同期随机选取 50 例距离癌组织边缘大于 5 cm 的癌旁正常组织为对照, 其中男 29 例, 女 21 例; 年龄 30~75 岁, 平均 (57.9±6.2) 岁。两组的性别构成比、年龄比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 具有可比性。获得的标本以 10% 的甲醛液固定, 石蜡包埋后制成连续 4 μm 的组织切片。研究中所有标本的患者术前均未接受任何放、化疗等抗肿瘤治疗, 也不合并其它恶性肿瘤。本研究得到医院伦理委员会的知情同意。

1.2 方法

1.2.1 实验试剂 北京博奥森生物科技有限公司提供兔抗人 MACC1 抗体, Santa Cruz 公司提供的工作浓度按照 1:100 稀释过的兔抗人 CIP2A 单克隆抗体冻干粉, TaKaRa 公司提供 RT-qPCR-SYBR Green I 检测试剂盒, 北京中杉金桥生物技术有限公司提供 DAB 显色试剂盒以及免疫组化 SP 检测试剂盒, 上海生工生物股份有限公司提供 RPMI1640。

1.2.2 实验方法 采用过氧化物酶标记的链霉卵蛋白素法 (S-P) 法检测 MACC1 和 CIP2A。MACC1 免疫

组化实验具体操作:采用 pH=6.0 的枸缘酸缓冲液对胃癌石蜡切片进行抗原修复,阴性对照以 PBS 代替一抗。严格按照免疫组化 SP 检测试剂盒上的说明进行相关操作,将兔抗人 MACC1 抗体的浓度稀释为 1:100,在细胞质中,MACC1 蛋白阳性产物呈棕黄色弥漫性分布;CIP2A 免疫组化步骤如下:CIP2A 制作成为石蜡切片后在 60 ℃ 的烤箱中烘烤,时间为 2 h,常规脱蜡和水化,在 37 ℃ 的浓度为 3% 的过氧化氢离子水中孵育,时间为 10 min,将内源性过氧化物酶的活性去除后通过微波法修复抗原,时间 30 min,然后冷却至室温,并滴加封闭的血清在 37 ℃ 环境下孵育,时间 20 min,滴加 CIP2A 一抗,阴性对照以 PBS 代替一抗,4 ℃ 的冰箱中保存,然后滴加生物素标记的二抗,在 37 ℃ 环境下孵育,时间 30 min,并滴加经生物素标记的二抗在 37 ℃ 环境下孵育,时间 39 min,然后滴加 SPP(链霉亲和素-过氧化物酶)在 37 ℃ 环境下孵育,时间 30 min,滴加 DAB 显色,并以苏木精复染。

1.3 结果判断标准 MACC1 和 CIP2A 均采用半定量积分的方法^[6]对阳性结果进行判定:①按照阳性细胞在细胞中所占比例分级:阳性细胞数为 0 计为-, <25% 计为弱阳性(+), 25%~50% 计为中度阳性(++), >50% 计为强阳性(+++);②根据显色程度计分:细胞未着色计为 0 分,淡黄色计为 1 分,棕黄色计为 2 分,棕黑色计为 3 分。总分值=弱阳性百分比×1+中度阳

性百分比×2+强阳性百分比×3。最终结果随机观察超过 10 个高倍视野;其中 0 分计为阴性(-),总分值<1 分计为(+),总分值处于 1.0~1.5 分计为(++),总分值>1.5 分计为(+++)。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 19.0 软件录入数据及统计分析,计数资料采用率(%)对定性资料描述,比较采用 χ^2 检验或者 Fisher 确切概率法,结果为等级资料采用秩和检验,MACC1 与 CIP2A 蛋白之间的相关性采用 Pearson 列联系数分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MACC1、CIP2A 蛋白在不同组织中的表达比较

MACC1 蛋白主要在细胞浆中表达,少量在细胞核内表达,而 CIP2A 蛋白主要在细胞核内表达,少量在细胞浆中表达。胃癌组织中 MACC1 蛋白、CIP2A 蛋白的阳性表达率分别为 79.49%、71.79%,分别高于癌旁正常组织中的 18.00%、22.00%,差异有统计学意义($\chi^2=33.476$ 、22.068,均 $P<0.01$)。经秩和检验,MACC1 蛋白、CIP2A 蛋白在胃癌组织中的阳性表达强度明显强于癌旁正常组织,差异有统计学意义($P<0.05$),MACC1 蛋白、CIP2A 蛋白在胃癌组织中的阳性表达呈等级递增,而在癌旁正常组织中的阳性表达呈等级递减。见表 1。

表 1 MACC1、CIP2A 蛋白在不同组织中的表达比较(n,%)

组别	例数	MACC1 蛋白			CIP2A 蛋白		
		-	+	++	-	+	++
胃癌组织	39	8(20.51)	13(33.34)	18(46.15)	11(28.21)	12(30.77)	16(41.02)
癌旁正常组织	50	41(82.00)	9(18.00)	0(0.00)	39(78.00)	11(22.00)	0(0.00)
Z 值			-6.253			-5.303	
P 值			0.000			0.000	

2.2 MACC1 蛋白、CIP2A 与胃癌临床病理特征的关系

Ⅲ+Ⅳ期、低分化、有淋巴结转移胃癌患者胃癌组织中 MACC1 蛋白、CIP2A 蛋白阳性表达率高于Ⅰ+Ⅱ期、中高分化、无淋巴结转移患者,差异有统计学意义($P<$

0.05);不同性别、年龄、肿瘤位置、肿瘤大小、病理类型胃癌患者胃癌组织中 MACC1 蛋白、CIP2A 蛋白阳性表达率差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

表 2 MACC1 蛋白、CIP2A 与胃癌临床病理特征的关系(n,%)

病理特征		例数	MACC1 蛋白		P 值	CIP2A 蛋白		P 值
			+	-		+	-	
性别	男	22	19(86.36)	3(13.64)	0.261 *	14(63.64)	8(36.36)	0.288 *
	女	17	12(70.59)	5(29.41)		14(82.35)	3(17.65)	
年龄(岁)	≤50	20	15(75.00)	5(25.00)	0.695 *	16(80.00)	4(20.00)	0.301 *
	>50	19	16(84.21)	3(15.79)		12(63.16)	7(36.84)	
肿瘤位置	胃窦	26	20(76.92)	6(23.08)	0.694 *	19(73.08)	7(26.92)	1.000 *
	贲门、胃底及胃体	13	11(84.62)	2(15.38)		9(69.23)	4(30.77)	
肿瘤大小(cm)	<5	29	21(72.41)	8(27.59)	0.086 *	19(65.52)	10(34.48)	0.228 *
	≥5	10	10(100.00)	0(0.00)		9(90.00)	1(10.00)	
TNM 分期	Ⅰ+Ⅱ	21	14(66.67)	7(33.33)	0.049	12(57.14)	9(42.86)	0.038 *
	Ⅲ+Ⅳ	18	17(94.44)	1(5.56)		16(88.89)	2(11.11)	
组织分化	低分化	15	15(100.00)	0(0.00)	0.015 *	14(93.33)	1(6.67)	0.028 *
	中、高分化	24	16(66.67)	8(33.33)		14(58.33)	10(41.67)	

续表 2

病理特征		例数	MACC1 蛋白		P 值	CIP2A 蛋白		P 值
			+	-		+	-	
淋巴结转移	有	16	16(100.00)	0(0.00)	0.013 *	15(93.75)	1(6.25)	0.014 *
	无	23	15(65.22)	8(34.78)		13(56.52)	10(43.48)	
病理类型	腺癌	21	19(90.48)	2(9.52)	0.194 *	16(76.19)	5(23.81)	0.302 *
	鳞癌	15	10(66.67)	5(33.33)		11(73.33)	4(26.67)	
	腺鳞癌	3	2(66.67)	1(33.33)		1(33.33)	2(66.67)	

注：* 采用 Fisher 确切概率法。

2.3 胃癌组织中 MACC1 蛋白与 CIP2A 蛋白阳性表达的相关性分析 胃癌组织中 MACC1 蛋白与 CIP2A 蛋白的 Pearson 列联系数 $r=0.361$, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。见表 3。

表 3 胃癌组织中 MACC1 蛋白与 CIP2A 蛋白阳性表达的相关性

MACC1 蛋白	CIP2A 蛋白		合计	r 值	P 值
	+	-			
+	25	6	31	0.361	0.016
-	3	5	8		
合计	28	11	39		

3 讨 论

胃癌是发病率较高的恶性肿瘤,手术切除是常见的治疗方式,但是术后患者易发生淋巴结转移,复发率高^[7]。组织病理分级、TNM 分期等病理特征是判断恶性肿瘤患者预后的重要因素,但是报道表明^[8],以病理特征来评估肿瘤严重程度的特异性较低。寻找高效的指标评估患者的病情有助于临床采取及时有效的措施进行干预,从而改善预后,延长患者生存率。将肿瘤分子标志物用于临床诊断、评估恶性肿瘤的发生发展过程成为目前研究热点。

MACC1 存在于人类的 7 号染色体上,是在结肠癌组织中呈高表达的致癌基因,它主要在结肠癌细胞的生长、扩散、浸润以及转移过程中发挥作用^[9]。MACC1 蛋白是在 HGF/c-Met 信号转导通路过程中起桥梁作用的联接蛋白,具有上调 c-Met 表达以及增强 HGF/c-Met 信号途径的级联放大功能,激活 cMet 后协同介导 HGF/c-Met 的信息传输,从而通过产生 HGF/c-Met、MACC1 信号路线的交互馈环路而促进恶性肿瘤细胞的侵袭、转移过程^[10]。有报道显示^[11],MACC1 呈高表达的结直肠癌患者术后更易出现预后不良以及发生远处转移。Guo 等^[12]的研究显示,MACC1 在宫颈癌组织中呈高表达时,患者总生存时间明显缩短。CIP2A 位于人体的 3 号染色体上,是参与了恶性肿瘤细胞的增殖、凋亡以及肿瘤细胞生长过程的癌基因^[13]。Junttila 等^[14]的研究表明,CIP2A 作为蛋白磷酸酶 2A 的内源性抑制蛋白,它通过稳定蛋白磷酸酶 2A 所介导的 c-myc 结构而起到致癌的作用,以及促进肿瘤细胞的侵

袭转移。另有研究发现^[15],CIP2A 与 c-myc 具有协同作用,两者联合共同作用促进恶性肿瘤细胞的增殖机生长,Bockelman 等^[16]在结直肠癌中也证实了该结论。

本研究结果显示,MACC1 蛋白主要在细胞浆中表达,CIP2A 蛋白主要在细胞核内表达,胃癌组织中 MACC1 蛋白、CIP2A 蛋白的阳性表达率为 79.49%、71.79%,分别高于癌旁正常组织中的 18.00%、22.00%,并且 MACC1 蛋白、CIP2A 蛋白在胃癌组织中的阳性表达呈等级递增,而在癌旁正常组织中的阳性表达呈等级递减,提示 MACC1 蛋白、CIP2A 蛋白可能参与了胃癌的发生过程,与有关研究结果一致^[17-18],即 MACC1、CIP2A 可能通过促进恶性肿瘤细胞的过度增殖而与恶性肿瘤发生密切相关。恶性肿瘤的发生发展过程中,TNM 分期越晚,分化程度越低、有淋巴结转移的患者肿瘤恶性程度越高、预后越差。本研究结果显示,Ⅲ+Ⅳ期、低分化、有淋巴结转移胃癌患者组织中 MACC1 蛋白、CIP2A 蛋白的阳性表达率越高,而与性别、年龄、肿瘤位置等无明显关系,提示 MACC1 蛋白、CIP2A 蛋白参与了恶性肿瘤的发展过程,且 MACC1 蛋白、CIP2A 蛋白阳性表达率越高,患者预后越差。相关性结果显示,胃癌组织中 MACC1 蛋白与 CIP2A 蛋白呈正相关关系,提示 MACC1 与 CIP2A 蛋白具有协同效应,两者相互作用共同促进胃癌的发生发展。

综上所述,MACC1 蛋白、CIP2A 蛋白在胃癌组织中呈高表达水平,可能参与了胃癌的发生发展过程,联合检测可评估胃癌病情,从而为临床早期制定干预措施改善患者预后提供指导。

参考文献

[1] 叶斌,熊正宁,吴大勇,等. 消化道恶性肿瘤的危险致病因素分析[J]. 实用预防医学,2014,21(7):817-819.

[2] Feng J, Wang J, Chen M, et al. miR-200a suppresses cell growth and migration by targeting MACC1 and predicts prognosis in hepatocellular carcinoma[J]. Oncol Rep, 2015, 33(2):713-720.

[3] Schmid F, Wang Q, Huska MR, et al. SPON2, a newly identified target gene of MACC1, drives colorectal cancer metastasis in mice and is prognostic for colorectal cancer patient survival[J]. Oncogene, 2016, 35(46):5942-5952.

[4] Xiao X, He Z, Cao W, et al. Oridonin inhibits gefitinib-resistant lung cancer cells by suppressing EGFR/ERK/MMP-12 and CIP2A/Akt

瑞安市非 EV71 和 CA16 手足口病并发感染患者病原菌分布及耐药性分析

陈志雄¹, 林峰¹, 洪万胜¹, 林宗泽²

1. 瑞安市疾病预防控制中心检验科, 浙江 瑞安 325200; 2. 瑞安市人民医院

摘要: **目的** 本研究旨在分析瑞安市非 EV71 和 CA16 手足口病患者并发病原菌感染分布及耐药性, 为临床治疗提供参考。**方法** 回顾性分析本地区 2009 年 1 月-2016 年 12 月期间诊治非 EV71 和 CA16 手足口病感染患者临床资料, 分析患者并发病原菌感染病的种类, 并分析相关病原菌的耐药性。**结果** 瑞安市非 EV71 和 CA16 手足口病患者并发病原菌感染以革兰阳性菌为主, 共分离 107 株, 占 61.1%, 革兰阴性菌 68 株, 占 38.9%; 分离的革兰阳性菌和革兰阴性菌具有较强耐药性, 但革兰阴性菌对万古霉素和林可霉素较敏感, 革兰阳性菌对哌拉西林和亚胺培南较敏感。**结论** 瑞安市非 EV71 和 CA16 手足口病患者并发以革兰阳性菌为主的病原菌感染, 且病原菌具有较强的耐药性。

关键词: 手足口病; 耐药性; 亚胺培南; 敏感

中图分类号: R378 **文献标识码:** B **文章编号:** 1006-3110(2018)01-0110-03 **DOI:** 10.3969/j.issn.1006-3110.2018.01.033

手足口病是小儿的常见传染病, 其多由肠道病毒 EV71 和 CA16 等引起^[1]。但近年来的研究发现非 EV71 和 CA16 手足口病的发病率有逐年升高的趋势^[2-3]。手足口病多发生于学龄前儿童, 临床上表现为起病急、发展快、病死率高, 部分患者也表现为肺水肿及出血、心肺功能衰竭等^[4]。同时, 手足口病患者

通常存在免疫功能降低、容易并发其他病原菌感染的状况^[5]。因此, 分析手足口病患者并发感染病原菌种类及耐药性对临床治疗具有重要的价值。本研究旨在分析瑞安市非 EV71 和 CA16 手足口病患者并发感染病原菌的分布及耐药性, 为临床治疗提供参考。

1 对象与方法

1.1 研究对象 回顾性分析本地区 2009 年 1 月-2016 年 12 月期间诊治的非 EV71 和 CA16 感染手足

基金项目: 瑞安市科技创新项目 (MS2016003)

作者简介: 陈志雄 (1982-), 男, 浙江瑞安人, 本科学历, 主管技师, 研究方向: 流行病预防和检测。

signaling pathways[J]. Int J Oncol, 2016, 48(6): 2608-2618.

[5] Tang X, Lan Z, Chen Y, et al. The 7th AJCC/UICC TNM staging system may be not suitable in predicting prognosis of synchronous multiple gastric carcinoma patients with D2 gastrectomy[J]. Tumour Biol, 2015, 36(5): 3653-3659.

[6] 姚志彬, 达明绪, 郭天康, 等. 胃癌组织 MACC1 表达及其临床意义分析[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2013, 20(6): 444-452.

[7] Huh CW, Jung DH, Kim H, et al. Clinicopathologic features of gastric carcinoma with lymphoid stroma in early gastric cancer[J]. J Surg Oncol, 2016, 114(6): 769-772.

[8] Tang J, Chen JX, Chen L, et al. Metastasis associated in colon cancer 1 (MACC1) promotes growth and metastasis processes of colon cancer cells[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2016, 20(13): 2825-2834.

[9] Sueta A, Yamamoto Y, Yamamoto-ibusuki M, et al. Differential role of MACC1 expression and its regulation of the HGF/cMet pathway between breast and colorectal cancer[J]. Int J Oncol, 2015, 46(5): 2143-2153.

[10] Ren B, Zakharov V, Yang Q, et al. MACC1 is related to colorectal cancer initiation and early-stage invasive growth[J]. Am J Clin Pathol, 2013, 140(5): 701-707.

[11] Zhen T, Dai S, Li H, et al. MACC1 promotes carcinogenesis of colorectal

cancer via β -catenin signaling pathway[J]. Oncotarget, 2014, 5(11): 3756-3769.

[12] Guo L, Lu W, Zhang X, et al. Metastasis-associated colon-1 is a novel prognostic marker for cervical cancer[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2014, 7(7): 4150-4155.

[13] Liu CY, Hu MH, Hsu CJ, et al. Lapatinib inhibits CIP2A/PP2A/p-Akt signaling and induces apoptosis in triple negative breast cancer cells[J]. Oncotarget, 2016, 7(8): 9135-9149.

[14] Junttila MR, Puustinen P, Niemela M, et al. CIP2A inhibits PP2A in human malignancies[J]. Cell, 2007, 130(1): 51-62.

[15] Lucas CM, Harris RJ, Giannoudis A, et al. c-Myc inhibition decreases CIP2A and reduces BCR-ABL1 tyrosine kinase activity in chronic myeloid leukemia[J]. Haematologica, 2015, 100(5): e179-e182.

[16] Bockelman C, Koskensalo S, Hagstrom J, et al. CIP2A overexpression is associated with c-Myc expression in colorectal cancer[J]. Cancer Biol Ther, 2012, 13(5): 289-295.

[17] 黎敏. MACC1 和 CIP2A 蛋白表达的相关性及其与胃癌预后的关系[J]. 中国现代医学杂志, 2016, 26(1): 25-29.

[18] Guo Z, Liu D, Su Z. CIP2A mediates prostate cancer progression via the c-Myc signaling pathway[J]. Tumour Biol, 2015, 36(6): 4777-4783.

收稿日期: 2017-02-15