doi:10.11659/jjssx.12E021188

·基础研究·

ITGAV 过表达与胆管癌转移及预后的关系

陈平平,张震生,武金才,郑进方,唐 荣,李梦婷,章家超,曾勇超,陈 良 (海南省人民医院/海南医学院附属海南医院肝胆外科,海南 海口 570311)

[摘 要] **目的** 探讨整合素 αv(ITGAV)过表达与胆管癌侵袭转移及预后的关系。**方法** 选取我院行根治性手术切除的胆管癌患者共 374 例,随机分为Ⅰ组(80 例)和Ⅱ组(294 例),取患者术中切除的癌组织及癌旁组织。采用 RT-PCR 和 Western blot 检测Ⅰ组胆管癌患者手术切除标本中 ITGAV 的 mRNA 与蛋白表达;应用组织芯片检测Ⅱ组胆管癌患者手术切除标本中 ITGAV 的表达,分析 ITGAV 表达与胆管癌临床病理特征、复发及预后的关系。**结果** 胆管癌组织中 ITGAV mRNA 及蛋白表达水平均高于癌旁组织($P<0.05$)。组织芯片检测结果显示 ITGAV 阳性表达率为 54.8%。按复发时间进行分组,ITGAV 在早期复发组(复发时间<1 年)过表达,在未复发或晚期复发组(复发时间≥1 年)则低表达($P=0.025$)。与 ITGAV 低表达胆管癌患者比较,ITGAV 过表达胆管癌患者术后更易复发,复发时间较短($HR=1.90$;95% CI:1.41~2.62;$P<0.001$),术后生存时间较短($HR=1.95$;95% CI:1.42~2.73;$P<0.001$)。ITGAV 过表达是胆管癌患者术后复发时间($HR=1.73$;95% CI:1.13~2.63;$P=0.011$)和术后生存时间($HR=1.65$;95% CI:1.08~2.51;$P=0.021$)的独立影响因素。**结论** 胆管癌中 ITGAV 过表达可以促进胆管癌侵袭转移,ITGAV 过表达预示胆管癌患者预后不良,可作为胆管癌术后复发和预后的潜在分子预测指标。

[关键词] ITGAV;肿瘤转移;癌;胆管癌;预后

[中图分类号] R73-37;R735.8 [文献标识码] A [收稿日期] 2021-12-26

Relationship between over-expression of ITGAV and metastasis and prognosis of cholangiocarcinoma

CHEN Ping-ping, ZHANG Zhen-sheng, WU Jin-cai, ZHENG Jin-fang, TANG Rong, LI Meng-ting, ZHANG Jia-chao, ZENG Yong-chao, CHEN Liang (Department of Hepatobiliary Surgery, Hainan General Hospital/Hainan Affiliated Hospital of Hainan Medical University, Haikou Hainan 570311, China)

Abstract: Objective To investigate the relationship between the over-expression of integrin αv (ITGAV) and the invasion, metastasis and prognosis of cholangiocarcinoma. **Methods** A total of 374 patients with cholangiocarcinoma who underwent radical resection in our hospital were selected and randomly divided into group Ⅰ (80 cases) and group Ⅱ (294 cases), and the cancer tissues and adjacent tissues were taken during the operation. RT-PCR and Western blot were used to detect the expressions of ITGAV mRNA and protein in surgically resected specimens of patients with cholangiocarcinoma in group Ⅰ; the tissue microarray was used to detect the expression of ITGAV in surgically resected specimens of patients with cholangiocarcinoma in group Ⅱ; and the relationship between ITGAV expression and clinicopathological characteristics, recurrence and prognosis of cholangiocarcinoma were analyzed. **Results** The expression levels of ITGAV mRNA and protein in the cholangiocarcinoma tissues were higher than those in the adjacent tissues ($P<0.05$). The results of tissue microarray showed that the positive expression rate of ITGAV was 54.8%. The groups were divided according to the recurrence time, ITGAV was over-expressed in the early recurrence group (recurrence time <1 year), but the expression in the non-recurrence or late recurrence group (recurrence time ≥1 year) was low ($P=0.025$). Compared with patients with cholangiocarcinoma with low-expression of ITGAV, patients with cholangiocarcinoma with over-expression of ITGAV were more likely to relapse after operation, with shorter recurrence time ($HR=1.90$; 95% CI: 1.41 to 2.62; $P<0.001$) and shorter postoperative survival time ($HR=1.95$; 95% CI: 1.42 to 2.73; $P<0.001$). The over-expression of ITGAV was the independent influencing factor of postoperative invasion and metastasis ($HR=1.73$; 95% CI: 1.13 to 2.63; $P=0.011$) and postoperative survival time ($HR=1.65$; 95% CI: 1.08 to 2.51; $P=0.021$) in patients with cholangiocarcinoma. **Conclusion** The over-expression of ITGAV in cholangiocarcinoma can promote the invasion and metastasis of cholangiocarcinoma. The over-expression of ITGAV can predict the poor prognosis of patients with cholangiocarcinoma, and it can be used as a potential molecular marker for postoperative recurrence and prognosis prediction of cholangiocarcinoma.

Keywords: ITGAV; neoplasm metastasis; carcinoma; cholangiocarcinoma; prognosis

近年来,胆管癌(发生于胆管上皮的腺癌)的发病率明显上升。胆管癌起病隐匿,临床表现无特异性,早期诊断困难,临床确诊时大部分患者已属晚期,失去了有效的手术治疗机会,同时术后复发率高,对放化疗不敏感,患者预后极差[1-2]。因此,研究胆管癌的生物学特性,探究其发病机制,寻找早期诊断和及时干预的方法,是提高胆管癌诊治效果的关键。整合素是由 α、β

[基金项目] 海南省自然科学基金(817317);海南省重点研发计划项目(ZDYF2019120)

[通信作者] 张震生,E-mail:ZZS1968@163.com

两个亚基组成的一组跨膜糖蛋白及细胞黏附受体蛋白,其主要作用为介导细胞与细胞外基质之间的连接,能够调节细胞内外信号、基因表达及细胞分化,激活相关通路,同时,其在调控细胞的生物学功能,促进肿瘤细胞侵袭转移,增强肿瘤血管形成能力及诱导药物耐受等方面具有非常重要的作用[3-5]。整合素 αv(integrin αv,ITGAV)为整合素家族的重要成员之一,在改变肿瘤微环境、促进肿瘤的发展及侵袭转移过程中发挥重要作用,其过表达与前列腺癌、口腔鳞癌、胃癌、肺癌的侵袭转移具有显著相关性[4-7]。ITGAV 在眼睑鳞状癌中过表达,其过表达与肿瘤侵袭转移密切相关。在喉癌和咽癌中 ITGAV 过表达,其过表达与肿瘤分化、转移密切相关,ITGAV 过表达患者的淋巴结转移率明显高于低表达患者[8-9]。有研究发现,ITGAV 过表达可促进乳腺癌侵袭转移[10]。进一步研究发现整合素可与四跨膜蛋白相结合形成复合体,其复合体是肿瘤转移的一个重要分子[11]。目前有关 ITGAV 在胆管癌中的表达及其在胆管癌侵袭转移和预后判断等方面的潜在价值尚不明确,本研究通过检测 ITGAV 在胆管癌中的表达水平,结合临床病理特征,初步探讨其在胆管癌中的潜在临床价值。

1 材料与方法

1.1 标本

选取我院 2010 年 1 月至 2016 年 1 月行根治性手术切除的胆管癌患者 374 例,随机分为Ⅰ组(80 例)和Ⅱ组(294 例),取患者术中切除的癌组织及癌旁组织(癌旁组织均取自距离肿瘤组织边缘 2 cm 以外区域)。纳入标准:样本经术后病理证实为胆管癌;患者术前未行放疗、化疗、靶向治疗及免疫治疗;肿瘤切除完整,切缘净,无癌组织残留,局部受累淋巴结清扫完全;临床及随访资料完整。所有患者术后随访 5 年,随访时间截止到 2020 年 12 月。肿瘤 TNM 分期参考国际抗癌联盟(Union for International Cancer Control,UICC)标准。根据术后复发时间分为早期复发组(复发时间 <1 年)和未复发或晚期复发组(复发时间≥1 年)。2 组患者的临床病理特征见表 1。采用 RT-PCR 和 Western blot 检测Ⅰ组 ITGAV 的表达;Ⅱ组用于大样本组织芯片检测。本研究通过我院伦理委员会审查批准[医伦研(2018)202 号]。

表 1 2 组患者临床病理特征[例(%)]

临床病理特征		Ⅰ组 (n=80)	Ⅱ组 (n=294)	χ^2	P
年龄	≥55 岁	37(46.3)	128(43.5)	0.267	0.646
	<55 岁	43(53.8)	166(56.5)		
性别	男	67(83.8)	243(82.7)	0.031	0.826
	女	13(16.3)	51(17.3)		
HBsAg	阳性	11(13.8)	33(11.2)	0.253	0.672
	阴性	69(86.3)	261(88.8)		
肝硬化	有	10(12.5)	55(18.7)	0.197	0.774
	无	70(87.5)	239(81.3)		
血清 CA199 水平	≥100 U/mL	62(77.5)	218(74.1)	0.352	0.578
	<100 U/mL	18(22.5)	76(25.9)		
肿瘤直径	≥5 cm	51(63.8)	191(65.0)	0.186	0.787
	<5 cm	29(36.2)	103(35.0)		
肿瘤个数	≥2 个	29(36.3)	109(37.1)	0.027	0.839
	1 个	51(63.7)	185(62.9)		
TNM 分期	Ⅱ~Ⅲ期	42(52.5)	155(52.7)	0.010	0.918
	Ⅰ期	38(47.5)	139(47.3)		
肿瘤包膜完整	否	71(88.8)	248(84.4)	0.510	0.442
	是	9(11.3)	46(15.6)		
Edmondson 分级	Ⅲ~Ⅳ级	46(57.5)	157(53.4)	0.501	0.455
	Ⅰ~Ⅱ级	34(42.5)	137(46.6)		
肝门淋巴结转移	有	23(28.8)	92(31.3)	0.232	0.711
或局部侵犯	无	57(71.3)	202(68.7)		
血管或胆管侵犯	有	16(20.0)	65(22.1)	0.218	0.739
	无	64(80.0)	229(77.9)		

1.2 主要试剂

ITGAV 单克隆抗体、GAPDH 抗体购自英国 Abcam 公司;ITGAV 及 GAPDH 引物由美国 Invitrogen 公司合成;TRIzol提取试剂盒购自美国Gibco公司;逆转录、聚合酶链反应试剂盒购自北京百泰克生物技术有限公司;蛋白印迹杂交显影化学发光显色系统购自美国 Pierce 公司;RPMI-1640 培养基、胎牛血清标记辣根过氧化物酶的羊抗兔二抗均购自武汉博士德公司。

1.3 RT-PCR 检测

按照 TRIzol 提取试剂盒说明书从胆管癌组织及癌旁组织提取总 RNA,反转录为 cDNA。以 cDNA 为模板,建立 RT-PCR 反应体系,以 GAPDH 为内参。引物由 Primer 5.0 引物设计软件设计,选择最佳引物,ITGAV 上游引物序列 5'-AAGCTGAGCTATCGTTTCC-3',下游引物序列 5'-GCACAGGAAAGTCTTGCTAAGG-3';GAPDH 上游引物序列 5'-CCACTAGGCGCTCACTGTTCT-3',下游引物序列 5'-GCGAACTCACCCGTTGACT-3'。PCR 反应条件:94 ℃ 45 s,57 ℃ 40 s,72 ℃ 45 s,共 25 个循环,72 ℃延伸 10 min。1.5% 琼脂糖凝胶电泳,紫外灯下分析 PCR 结果。拍照后用图像分析仪分析 ITGAV 条带和 GAPDH 条带的灰度,计算两者的比值。

1.4 Western blot

参考文献[12-13]从实验样本组织提取细胞总蛋白,以 BCA 法测定蛋白浓度。将样品与蛋白加样缓冲液混合后 100 ℃水浴 5 min 变性,经 12% 聚丙烯酰胺

凝胶电泳(20 mA 恒定电流条件下电泳 60 min),在恒定电压 20 V 条件下转膜 17 min,5% 脱脂奶粉室温封闭 20 min 后,转至聚偏二氟乙烯膜上。10% 脱脂奶粉室温封闭 1 h,一抗为 ITGAV(1∶200)和 GAPDH(1∶1 000),二抗为辣根过氧化物酶标记的 IgG(1∶4 000)。聚偏二氟乙烯膜依次与抗体作用后,加入蛋白印迹化学发光试剂,以化学发光法将膜孵育 5 min,曝光、显影、定影成像。

1.5 TGAV 组织芯片和免疫组化染色

组织芯片检测 294 例胆管癌患者的 ITGAV 表达。组织芯片制备参考文献[14],ITGAV 免疫组化染色采用 SP 法,操作过程严格按照说明书进行。DAB 显色,苏木素复染后镜检。ITGAV 表达阳性细胞为细胞膜有棕褐色颗粒,计算阳性细胞数占同类计数细胞的百分比:阳性细胞数 <50% 为阴性,阳性细胞数≥50% 为阳性[14]。每组实验均设有阴性和阳性对照,以磷酸盐缓冲液代替一抗作为阴性对照,以已知阳性肝癌组织片作为阳性对照。

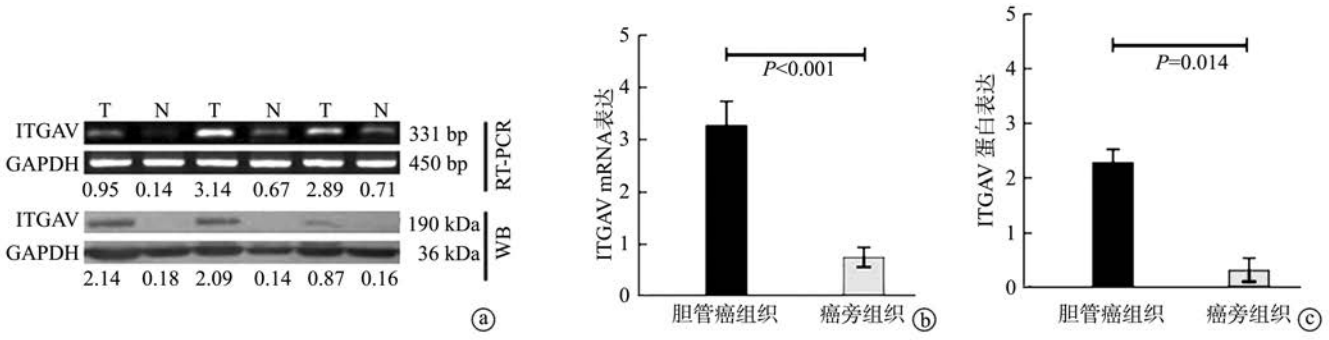
1.6 统计学处理

采用 SPSS 19.0 统计软件分析数据,计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验,计数资料以率(%)表示,采用 χ^2 检验。生存时间和复发时间计算参考文献[15],*Kaplan-Meier* 法和 *Log-rank* 分析组间复发时间和生存时间。*COX* 回归模型分析各临床变量和 ITGAV表达对复发时间和生存时间的影响。采用双尾检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义,以 $P<0.01$ 为差异有显著统计学意义。

2 结果

2.1 胆管癌组织及癌旁组织中 ITGAV 的表达

胆管癌组织中 ITGAV mRNA 及蛋白表达水平均明显高于癌旁组织,差异有统计学意义($P<0.05$),见图 1。



a~c: RT-PCR 与 Western blot 检测 ITGAV 在胆管癌组织及癌旁组织中的表达 WB:Western blot;T:胆管癌组织;N:癌旁组织

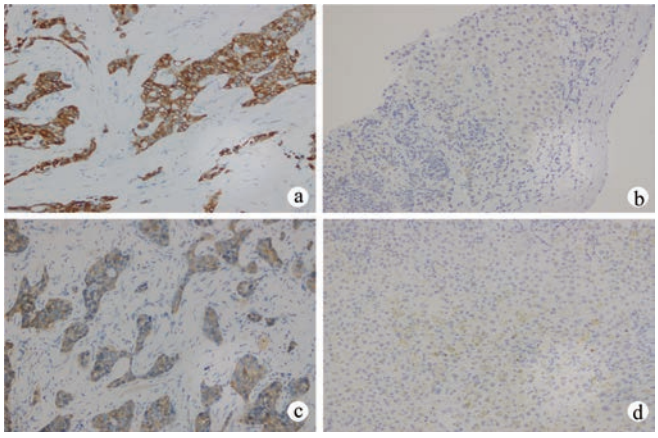
图 1 胆管癌组织和癌旁组织中 ITGAV 的 mRNA 和蛋白表达水平

2.2 组织芯片检测 ITGAV 表达

免疫组化染色结果显示,ITGAV 阳性表达于胆管癌细胞膜或细胞浆中,黄染,阳性高表达者着色深,呈深棕色,在胆管癌组织中呈不均一性;而在癌旁组织中 ITGAV 呈淡染(图 2)。在 161 例患者的胆管癌组织中 ITGAV 阳性表达,在 133 例患者的胆管癌组织中 ITGAV低表达或不表达,ITGAV 阳性表达率为 54.8%。

2.3 ITGAV 在胆管癌组织中差异表达与术后侵袭转移和预后的关系

ITGAV 差异表达与肿瘤个数、肿瘤直径、肿瘤包膜完整(边界完整)、肝门淋巴结转移或局部侵犯、血管或胆管侵犯、TNM 分期、Edmondson 分级等转移潜能指标相关($P<0.05$),而与性别、年龄、血清 CA199 水平、肝硬化、HBsAg 等无关($P>0.05$),见表 2。ITGAV 在早期复发组中过表达,ITGAV 过表达的 161 例患者中有 119 例出现术后早期复发;而 ITGAV 在未复发或



a:ITGAV 在胆管癌组织中阳性表达;b:ITGAV 在癌旁组织中阴性表达;c:ITGAV 在胆管癌组织中低表达;d:ITGAV 在癌旁组织中低表达

图 2 组织芯片检测 ITGAV 在胆管癌组织及癌旁组织中的表达(免疫组化染色 ×200)

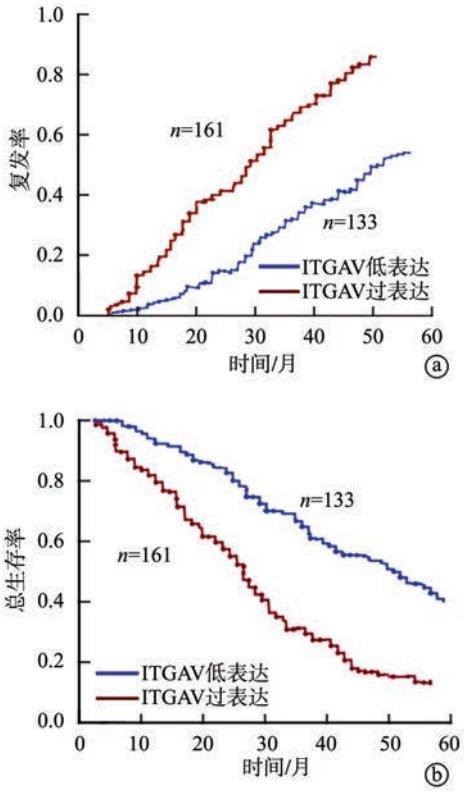
晚期复发组中低表达,ITGAV 低表达的 133 例患者中有 44 例出现术后早期复发,差异具有统计学意义($P=0.025$),见表 3。*Kaplan-Meier* 分析显示,与ITGAV低表达胆管癌患者比较,ITGAV 过表达胆管癌患者术后更易复发,复发时间较短($HR=1.90$;95% CI:1.41 ~ 2.62;$P<0.001$),且术后生存时间较短($HR=1.95$;95% CI:1.42 ~ 2.73;$P<0.001$),差异具有显著统计学意义(图 3)。*COX* 回归模型分析显示,ITGAV 过表达是胆管癌患者术后复发时间($HR=1.73$;95% CI:1.13 ~ 2.63;$P=0.011$)和术后生存时间($HR=1.65$;95% CI:1.08 ~ 2.51;$P=0.021$)的独立影响因素(表 4)。

表 2 ITGAV 差异表达与胆管癌患者临床病理特征的关系[例(%)]

临床病理特征		ITGAV 免疫组化染色($n=294$) 阳性($n=161$)	阴性($n=133$)	χ^2	P
年龄	≥55 岁	72(44.7)	56(42.1)	0.253	0.672
	<55 岁	89(55.3)	77(57.9)		
性别	男	133(82.6)	110(82.7)	0.009	0.938
	女	28(17.4)	23(17.3)		
HBsAg	阳性	17(10.6)	16(12.0)	0.035	0.814
	阴性	144(89.4)	117(88.0)		
肝硬化	有	31(19.3)	24(18.0)	0.028	0.827
	无	130(80.7)	109(82.0)		
血清 CA199 水平	≥100 U/mL	122(75.8)	96(72.2)	0.394	0.552
	<100 U/mL	39(24.2)	37(27.8)		
肿瘤直径	≥5 cm	118(73.3)	73(54.9)	6.721	0.006
	<5 cm	43(26.7)	60(45.1)		
肿瘤个数	≥2 个	98(60.9)	11(8.4)	11.620	<0.001
	1 个	63(39.1)	122(91.6)		
TNM 分期	Ⅱ ~ Ⅲ期	108(67.1)	47(35.3)	10.049	<0.001
	Ⅰ期	53(32.9)	86(64.7)		
肿瘤包膜完整	否	149(92.5)	99(74.4)	6.423	0.007
	是	12(7.5)	34(25.6)		
Edmondson 分级	Ⅲ ~ Ⅳ级	108(67.1)	49(36.9)	10.032	<0.001
	Ⅰ ~ Ⅱ级	53(32.9)	84(63.1)		
肝门淋巴结转移	有	78(48.4)	14(10.5)	8.779	<0.001
或局部侵犯	无	83(51.6)	119(89.5)		
血管或胆管侵犯	有	53(32.9)	12(9.0)	7.821	<0.001
	无	108(67.1)	121(91.0)		

表 3 294 例胆管癌患者肿瘤组织中 ITGAV 表达与肿瘤转移潜能的关系

组别	ITGAV 免疫组化染色 过表达($n=161$)	低表达($n=133$)	χ^2	P
早期复发组	119	44	5.009	0.025
未复发或晚期复发组	42	89		



a:复发曲线;b:总生存曲线

图 3 ITGAV 表达水平与术后复发率及生存率的关系

表 4 294 例胆管癌患者肿瘤组织中 ITGAV 表达与复发时间及生存时间的 *COX* 回归分析

变量	复发时间 HR(95% CI)	P	生存时间 HR(95% CI)	P
年龄≥55 岁	1.09(0.77 ~ 1.55)	0.624	1.15(0.81 ~ 1.63)	0.448
男性	0.76(0.47 ~ 1.25)	0.279	0.84(0.52 ~ 1.37)	0.480
HBsAg 阳性	0.69(0.67 ~ 1.38)	0.830	1.02(0.71 ~ 1.46)	0.925
有肝硬化	1.17(0.78 ~ 1.76)	0.452	1.17(0.78 ~ 1.76)	0.439
血清 CA199 水平≥100 U/mL	0.94(0.65 ~ 1.36)	0.741	0.94(0.65 ~ 1.36)	0.747
肿瘤直径≥5 cm	1.48(1.03 ~ 2.14)	0.034	1.56(1.08 ~ 2.24)	0.017
肿瘤个数≥2 个	1.83(1.27 ~ 2.64)	0.001	1.86(1.29 ~ 2.68)	0.001
TNM 为Ⅱ ~ Ⅲ期	1.50(1.32 ~ 1.83)	0.047	1.43(1.25 ~ 1.75)	0.051
包膜不完整	1.57(1.06 ~ 2.33)	0.024	1.82(1.23 ~ 2.67)	0.003
Edmondson 为Ⅲ ~ Ⅳ级	1.05(0.75 ~ 1.48)	0.782	1.05(0.75 ~ 1.48)	0.766
有血管侵犯	1.47(1.01 ~ 2.13)	0.042	1.52(1.06 ~ 2.19)	0.022
有肝门淋巴结转移或局部侵犯	1.51(1.11 ~ 2.04)	0.009	1.44(1.04 ~ 1.91)	0.036
ITGAV 过表达	1.73(1.13 ~ 2.63)	0.011	1.65(1.08 ~ 2.51)	0.021

生存时间:从手术治疗到随访截止的时间

3 讨论

本团队前期的研究发现,整合素 α6 在肝癌组织中过表达,其过表达与肝癌肝内转移密切相关[12]。本实验通过检测整合素家族另一重要成员 ITGAV 在胆管癌组织和癌旁组织中的表达情况,分析 ITGAV 表达与胆管癌转移潜能及预后的关系,结果显示,ITGAV 过表达可促进胆管癌转移,且与术后复发及生存时间

密切相关,ITGAV 可作为胆管癌术后早期复发和生存时间的潜在分子预测指标。

整合素是一类细胞外基质的跨膜黏附受体家族,目前发现整合素家族共有26个成员,其成员是由α亚基和β亚基结合构成的异源二聚体跨膜糖蛋白,并以异二聚体的方式发挥功能,参与肿瘤细胞的增殖、凋亡、迁移、侵袭,细胞转化,血管生成及转移等过程[16-18]。有研究表明,整合素与细胞外配体的结合可把细胞外信号传入细胞内,同时整合素(特别是β亚基)通过其胞内域直接作用于许多胞内结合蛋白,促进细胞骨架重组,影响细胞与基质的黏附或者改变骨架蛋白,从而提高或降低细胞的迁移和浸润能力[19-21]。ITGAV 作为家族重要成员,可与多个β亚基结合组成异二聚体,在多种肿瘤细胞的侵袭转移中发挥非常重要的作用[8]。有研究表明,ITGAV 过表达于食管癌,其过表达与淋巴结转移、TNM 分期及预后不良显著相关[22]。ITGAV 过表达可提高肿瘤细胞的迁移能力已在结肠癌细胞系实验中得到验证[23]。有研究发现,前列腺癌中肿瘤侵袭转移能力与 ITGAV 过表达密切相关[24]。目前已经证实 ITGAV 在子宫内膜癌、鼻咽癌、胃癌、胰腺癌等多种癌症中过表达,其过表达与肿瘤的侵袭转移密切相关[3]。

本实验随机选择胆管癌患者的胆管癌组织及癌旁组织(Ⅰ组),通过 RT-PCR 与 Western blot 检测发现 ITGAV 在胆管癌组织中的 mRNA 及蛋白表达水平明显高于癌旁组织,提示在胆管癌及癌旁组织中 ITGAV 存在显著差异表达;ITGAV 的差异表达可能与胆管癌的侵袭转移密切相关。我们在上述实验基础上进行另外一组(Ⅱ组)组织芯片检测分析,结果显示,ITGAV 过表达与肿瘤个数、肿瘤直径、肿瘤包膜完整(边界完整)、肝门淋巴结转移或局部侵犯、血管或胆管侵犯、TNM 分期、Edmondson 分级等转移潜能指标密切相关,而与性别、年龄、血清 CA199 水平、肝硬化、HBsAg 等无关。提示 ITGAV 是胆管癌侵袭转移的相关指标。*Kaplan-Meier* 分析显示,ITGAV 过表达患者术后更易复发,生存时间更短,表明 ITGAV 过表达可促进胆管癌的侵袭转移,并与患者的生存预后密切相关,提示检测 ITGAV 表达对胆管癌患者的预后判断有一定的临床价值。有研究表明,沉默 ITGAV 后可抑制乳腺癌细胞增殖、侵袭和转移[8];在肝癌细胞研究中 ITGAV 过表达可促进肝癌细胞侵袭转移[25]。据此,本实验下一步拟应用慢病毒干扰等技术建立 ITGAV 高低表达胆管癌细胞株,通过体内外实验进一步证实 ITGAV 表达与胆管癌侵袭转移的相关性。

已有研究发现,整合素可与多种四跨膜蛋白相结合形成复合体,该复合体目前被认为是与恶性肿瘤进展相关的关键分子,是目前的研究热点[9]。进一步研究发现,复合体主要通过加强整合素介导的黏附能力,使得细胞从整合素配体上分离的能力大大减弱[9,26]。在胰腺癌细胞系中研究发现,整合素 α6β4 可与 Tspan8结合形成四跨膜网络,诱导上皮间质转化,促进恶性肿瘤细胞的迁移[27]。在 Tspan1 与整合素 α6β1 相互作用研究中发现,复合体可通过诱导胆管癌上皮间质转化,从而加速胆管肿瘤细胞转移[28]。我们前期研究发现,整合素 α6 可以与 Tspan8 形成复合体(ITGα6-Tspan8)并相互作用,诱导肝癌细胞上皮间质转化,共同推进肝癌细胞的侵袭转移[12]。据此我们认为,ITGAV 可与四跨膜蛋白结合形成 ITGAV-TM4SF 复合体,复合体相互作用共同促进胆管癌侵袭转移。但 ITGAV 与何种 TM4SF 结合形成复合体?复合体共同作用是否因诱导了上皮间质转化从而推进肿瘤的进展?其具体作用的分子机制仍需进一步深入研究。目前四跨膜蛋白与整合素的关系在肿瘤进展中的作用机制仍未阐明,下一步我们拟通过信号网络通路进一步阐述 ITGAV 促进胆管癌侵袭转移的分子机制。

综上,本研究结果初步证明胆管癌中 ITGAV 过表达可以促进胆管癌侵袭转移,并与胆管癌患者术后复发及生存预后密切相关,可作为胆管癌术后复发和预后的潜在分子预测指标。

[参考文献]

[1] Yao X, Wang X, Wang Z, et al. Clinicopathological and prognostic significance of epithelial mesenchymal transition-related protein expression in intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. Onco Targets Ther, 2012, 5(2):255 - 261. doi:10.2147/OTT.S36213.

[2] Dong Z, Zhao L, Lu S, et al. Overexpression of TSPAN8 promotes tumor cell viability and proliferation in nonsmall cell lung cancer[J]. Cancer Biother Radiopharm, 2016, 31(10):353 - 359. doi:10.1089/cbr.2016.2108.

[3] Legate KR, Wickstrom SA, Fassler R. Genetic and cell biological analysis of integrin outside-in signaling[J]. Genes Dev, 2009, 23(4):397 - 418. doi:10.1101/gad.1758709.

[4] Xu GK, Yang C, Du J, et al. Integrin activation and internalization mediated by extracellular matrix elasticity:a biomechanical model[J]. J Biomech, 2014, 47(6):1479 - 1484. doi:10.1016/j.jbiomech.2014.01.022.

[5] Liu J, Huang J, He Y, et al. Genetic variants in the integrin gene predicted microRNA-binding sites were associated with the risk of prostate cancer[J]. Mol Carcinog, 2014, 53(4):280 - 285. doi:10.1002/mc.21973.

[6] Hoshino A, Costa-Silva B, Shen TL, et al. Tumour exosome integrins determine organotropic metastasis[J]. Nature, 2015, 527(7578):329 -

335. doi:10.1038/nature15756.

[7] Ma XR, Cheng H, Wang XY, et al. Single-nucleotide polymorphisms of integrins are associated with the risk and lymph node metastasis of oral squamous cell carcinoma[J]. Med Oncol, 2012, 29(4): 2492 - 2498. doi:10.1007/s12032 - 012 - 0167 - 2.

[8] Hsu A, Esmaeli B, Hayek B, et al. Analysis of αv integrin protein expression in human eyelid and periorbital squamous cell carcinomas [J]. J Cutan Pathol, 2011, 38(7): 570 - 575. doi:10.1111/j.1600 - 0560.2011.01687.

[9] Lu JG, Li Y, Li L, et al. Overexpression of osteopontin and integrin αv in laryngeal and hypopharyngeal carcinomas associated with differentiation and metastasis[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2011, 137(11): 1613 - 1618. doi:10.1007/s00432 - 011 - 1024 - y.

[10] Cheuk IW, Siu MT, Ho JC, et al. ITGAV targeting as a therapeutic approach for treatment of metastatic breast cancer[J]. Am J Cancer Res, 2020, 10(1): 211 - 223.

[11] Berditchevski F. Complexes of tetraspanins with integrins: more than meets the eye[J]. J Cell Sci, 2001, 114(Pt 23): 4143 - 4151. doi: 10.1242/jcs.114.23.4143.

[12] 武金才,周开伦,陈家诚,等. 四跨膜蛋白 Tspan8 过表达与肝癌上皮间变及转移的关系[J]. 中华肝胆外科杂志, 2016, 22(11): 775 - 780. doi:10.3760/cma.j.issn.1007 - 8118.2016.11.016.

[13] 陈平平,张震生,武金才,等. 四跨膜蛋白 CO-029 过表达与胆管癌上皮间变及转移的关系[J]. 中华肝胆外科杂志, 2021, 27(2): 118 - 123. doi:10.3760/cma.j.cn113884 - 20200126 - 00046.

[14] Ke AW, Shi GM, Zhou J, et al. Role of overexpression of CD151 and/or c-Met in predicting prognosis of hepatocellular carcinoma[J]. Hepatology, 2009, 49(2): 491 - 503. doi:10.1002/hep.22639.

[15] Ren N, Wu JC, Dong QZ, et al. Association of specific genotypes in metastatic suppressor HTPAP with tumor metastasis and clinical prognosis in hepatocellular carcinoma[J]. Cancer Res, 2011, 71(9): 3278 - 3286. doi:10.1158/0008 - 5472.CAN - 10 - 3100.

[16] 吕 凤,郭晓静,付 丽. 整合素表达变化在乳腺癌发生及发展中的作用研究进展[J]. 中华病理学杂志, 2015, 44(4): 294 - 296. doi:10.3760/cma.j.issn.0529 - 5807.2015.04.023.

[17] Park YS, Hwang S, Jin YM, et al. CCN1 secreted by tonsil-derived mesenchymal stem cells promotes endothelial cell angiogensis via integrin αv β3 and AMPK[J]. Cell Physiol, 2015, 23(1): 140 - 149. doi: 10.1002/jcp.24690.

[18] Gagen D, Faralli JA, Filla MS, et al. The role of integrins in the trabecular meshwork[J]. J Ocul Pharmacol Ther, 2014, 30(2/3): 110 - 120. doi:10.1089/jop.2013.0176.

[19] Miranti CK, Brugge JS. Sensing the environment: a historical perspective on integrin signal transduction[J]. Nat Cell Biol, 2002, 4(4): E83 - E89. doi:10.1038/ncb0402 - e83.

[20] Liu S, Calderwood DA, Ginsberg MH. Integrin cytoplasmic domain-binding proteins[J]. J Cell Sci, 2000, 113(Pt 20): 3563 - 3571. doi: 10.1023/A:1008312217045.

[21] Bonifacino JS, Traub LM. Signals for sorting of transmembrane proteins to endosomes and lysosomes[J]. Annu Rev Biochem, 2003, 72: 395 - 447. doi:10.1146/annurev.biochem.72.121801.161800.

[22] Loeser H, Scholz M, Fuchs H, et al. Integrin alpha V(ITGAV) expression in esophageal adenocarcinoma is associated with shortened overall-survival[J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 18411. doi:10.1038/s41598 - 020 - 75085 - 7.

[23] Waisberg J, De Souza Viana L, Affonso Junior RJ, et al. Overexpression of the ITGAV gene is associated with progression and spread of colorectal cancer[J]. Anticancer Res, 2014, 34(10): 5599 - 5607.

[24] Ju G, Zhu Y, Du T, et al. MiR-197 inhibitor loaded AbCD133@MSNs@GNR affects the development of prostate cancer through targeting ITGAV[J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 9: 646884. doi:10.3389/fcell.2021.646884.

[25] Weiler SME, Lutz T, Bissinger M, et al. TAZ target gene ITGAV regulates invasion and feeds back positively on YAP and TAZ in liver cancer cells[J]. Cancer Lett, 2019, 473: 164 - 175. doi:10.1016/j.canlet.2019.12.044.

[26] Te Molder L, Juksar J, Harkes R, et al. Tetraspanin CD151 and integrin α3β1 contribute to the stabilization of integrin α6β4-containing cell-matrix adhesions[J]. J Cell Sci, 2019, 132(19): jcs235366. doi:10.1242/jcs.235366.

[27] Herlevsen M, Schmidt DS, Miyazaki K, et al. The association of the tetraspanin D6.1A with the α6β4 integrin supports cell motility and liver metastasis formation[J]. J Cell Sci, 2003, 116(Pt 21): 4373 - 4390. doi:10.1242/jcs.00760.

[28] Wang Y, Liang Y, Yang G, et al. Tetraspanin 1 promotes epithelial-to-mesenchymal transition and metastasis of cholangiocarcinoma via PI3K/AKT signaling[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2018, 37(1): 300. doi:10.1186/s13046 - 018 - 0969 - y.

(编辑:贺绍梅)