DOI:10.16016/j.1000-5404.2001.01.005
第23卷第1期 第三军医大学学报 Vol. 23, No. 1
2001年1月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jan. 2001

文章编号:1000-5404(2001)01-0009-03

论著

胃癌及癌前病变组织中MUC6核粘蛋白的表达及其意义

汪荣泉,房殿春,刘为纹,门荣甫 (第三军医大学附属西南医院消化内科,重庆 400038)

提 要:目的 探讨正常胃粘膜、癌前病变组织以及胃癌组织中MUC6核粘蛋白的表达规律,及其与患者临床病理因素之间的联系。方法 应用兔抗人MUC6核粘蛋白的抗体和免疫组织化学SP法检测人正常胃粘膜(n=10)、癌前病变肠上皮化生粘膜(n=29)和胃癌组织(n=47)中MUC6核粘蛋白的表达。结果 人正常胃粘膜中胃腺的基底部广泛分布MUC6核粘蛋白(100%),而肠上皮化生、不典型增生和胃癌组织中的表达阳性率分别为13.8%、70%、44.7%。胃癌组织中MUC6核粘蛋白的表达与胃癌患者的性别、肿瘤的部位和大小、淋巴结转移、肿瘤的分化与浸润、临床分期和Lauren氏分型之间差异无显著性($P>0.05$)。结论 MUC6基因是组成胃粘膜的粘蛋白基因之一,在胃癌前病变和胃癌组织中的表达呈下调趋势,但与患者的一些临床病理指标之间不存在关联。

关键词:MUC6基因;核粘蛋白;免疫组织化学
中图法分类号:R446.6;R735.2 文献标识码:A

Expression of MUC6 apomucin in the tissues of precancerous lesion and gastric carcinoma and its significance

WANG Rong-quan, FANG Dian-chun, LIU Wei-wen, MEN Rong-pu (Department of Gastroenterology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To explore the expression of MUC6 apomucin in the normal gastric mucosa, precancerous lesion and gastric carcinoma and the association with clinical pathological factors. Methods The specimens were collected from 10 normal gastric mucosa tissues, 29 intestinal metaplasia tissues as precancerous lesion and 47 gastric cancer tissues respectively. The expression of MUC6 apomucin was detected in all specimens by immunohistochemical SP method with rabbit multiclonal antibody against human MUC6 apomusin. Results MUC6 apomucin was extensively distributed in the basilar part of gastric gland in the normal gastric mucosa (100%), but the expression rates were 13.8%, 70% and 44.7% in the tissues of intestinal metaplasia, atypical hyperplasia and gastric cancer, respectively. No association was found between the expression of MUC6 apomucin in the neoplastic epithelium and patients' sexes, locations and sizes of tumor, lymph node metastases, differentiations of cancerous cells, invasiveness, clinical stages and Lauren's types of the disease. Conclusion MUC6 gene, one of the mucin genes expressed in normal gastric carcinoma, its expression is markedly down-regulated in the precancerous lesion and gastric carcinoma, but not associated with patients' clinical pathological factors.

Key words: MUC6 gene; apomucin; immunohistochemistry

粘蛋白是粘液凝胶的主要组成成分,是一组高度糖化的不同糖蛋白的总称。这些糖蛋白均存在一个蛋白骨架,被称之为核粘蛋白或粘蛋白核心蛋白。粘蛋白主要起细胞保护、粘性维持、细胞识别作用。在肿瘤发生过程中,诸如MUC1、MUC2和MUC3粘蛋白可影响肿瘤细胞的粘附力、免疫识别、转移和预后[1,2]。粘蛋白的上述功能由其核粘蛋白和经O-糖苷键连接在核粘蛋白上的低聚糖所决定,既往多围绕低聚糖的一些表位的改变进行研究。目前人粘蛋白基因的分离成功及核粘蛋白的特异性抗体的产生为研究正常人胃粘膜上皮到肿瘤组织的转化过程中粘蛋白基因表达的精细分析提供了可能[3]。本研究对新近克隆的MUC6基因在正常人粘膜、癌前病变组织以及胃癌组织中表达规律作一探讨,并揭示其与患者临床病理因素之间的可能联系。

1 材料与方法

1.1 实验标本

10例正常胃粘膜取自胃癌手术切除标本的切缘组织,经HE染色不存在癌组织及癌前病变,2例十二指肠组织取自胃癌切除标本的十二指肠部分;1例空肠组织取自残胃切除的空肠部分,1例胃窦和胃底组织取自胃溃疡患者胃切除标本。47例胃癌组织取自本院手术切除标本,39例含癌旁胃粘膜,其中29例含肠化粘膜,4例具转移淋巴结。所有标本均经10%福尔马林固定,石蜡包埋,5μm连续切片,HE染色,病理确诊。47例胃癌患者,男34例,女13例,年龄32~72岁,平均54.6岁。胃癌患者的分期以TNM国际分期法进行,癌组织大小、淋巴结转移、浸润深度以术中所见,病理检查以及术前的辅助检查为准。

1.2 试剂

抗MUC6核粘蛋白的多克隆抗体由西班牙巴塞罗那大学临床医学研究所的Carme De Bolos教授惠赠,该多抗以合成肽SFQTTTTYPTPSHPQTTLP免疫新西兰兔后制备[4]。SP试剂盒、DAB显色试剂盒、多聚赖氨酸购自福州迈新生物技术公司。

作者简介:汪荣泉(1968-),男,浙江省常山市人,博士,主治医师,讲师,主要从事胃癌和肝癌的发生机制方面的研究,发表论文30篇。电话:(023)65314116

收稿日期:2000-05-19;修回日期:2000-11-01

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

1.3 免疫组织化学染色

切片经常规脱蜡、水化后，用内源性过氧化物酶阻断剂和正常非免疫马血清室温孵育 30 min，以减低非特异性染色；抗 MUC6 核粘蛋白的多抗(1∶100)4 ℃孵育过夜；生物素标记的二抗和抗生物素-过氧化物酶连接物室温分别孵育 30 min，DAB 显色 1～3 min，苏木素衬染、脱水、透明、封片，光镜观察。实验中以空白试验和替代试验作为阴性对照，以确保实验的特异和可靠性。

1.4 胃癌和肠化的分型

参见文献[5]。

1.5 统计学处理

采用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 正常胃肠道中 MUC6 核粘蛋白的表达

正常胃粘膜的上皮层无 MUC6 核粘蛋白的表达，腺颈部的细胞有少量表达，而在基底部胃腺的细胞核周有强阳性的抗原表达，呈细颗粒状，胃窦与胃底的表达一致，见图 1。十二指肠腺上皮内弥漫表达的 MUC6 核粘蛋白，位于细胞浆内，呈均质状，杯状细胞和柱状细胞的表达无区别，但杯状细胞的粘液滴内无反应，其染色程度较胃腺弱。空肠组织内无 MUC6 核粘蛋白的表达。

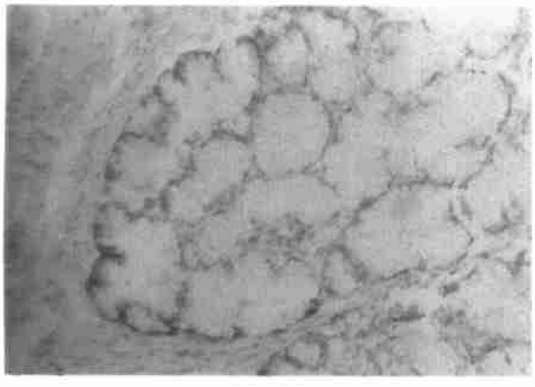


图 1 正常胃粘膜组织中 **MUC6** 核粘蛋白的表达，其主要位于胃腺基底细胞的核周 (S-P× 200)

Fig 1 Expression of MUC6 apomucin in the normal gastric mucosa located in peri-nuclear area of basal cells in gastric glands (S-P× 200)

2.2 癌前病变粘膜中 MUC6 核粘蛋白的表达

29 例肠化组织中阳性 4 例，占 13.8%；10 例癌旁不典型增生粘膜中阳性 7 例，占 70%。肠化和不典型增生组织中 MUC6 核粘蛋白强弱不等，肠化组织中 MUC6 基因表达阳性者呈不均一性，阳性者中部分肠化组织可以为阴性，且比例亦多少不一。阳性的肠化组织类似于十二指肠腺的染色结果，杯状和柱状细胞均有阳性反应物质，见图 2，肠化粘膜的表皮细胞亦出现阳性表达。经 χ^2 检验提示不同类型肠化组织中 MUC6 基因表达差别无显著性($P>0.05$)。但 6 例 III型肠化均无 MUC6 核粘蛋白的表达，见表 1。

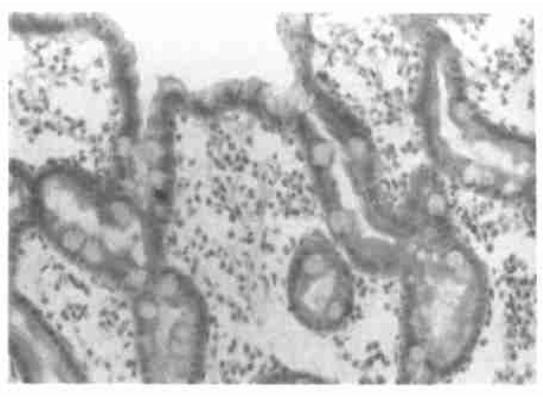


图 2 肠上皮化生组织中 **MUC6** 核粘蛋白的表达，其位于胃腺杯状细胞和柱状细胞的核周 (S-P× 200)

Fig 2 Expression of MUC6 apomucin in the tissue of intestinal metaplasia located in peri-nuclear area of global cells and columnar cells(S-P× 200)

表 1 不同类型肠上皮化生组织中 **MUC6** 核粘蛋白的表达

Tab 1 Expression of MUC6 apomucin in the tissues of different types of intestinal metaplasia

Types	MUC6(+)	MUC6(-)
I～II	4	19
III	0	6

2.3 胃癌及癌旁组织中 MUC6 核粘蛋白的表达

47 例胃癌组织中 MUC6 核粘蛋白阳性表达 21 例，占 44.7%。癌旁粘膜组织 MUC6 核粘蛋白的表达相似，MUC6 核粘蛋白主要位于胃腺腺颈至基底的腺上皮核周，表达呈逐渐增强。21 例阳性胃癌组织中阳性癌细胞呈散在分布 4 例，灶状分布 12 例，弥漫分布 5 例。MUC6 核粘蛋白在阳性癌细胞中以弥漫胞浆为主，呈细颗粒状，反应程度及反应阳性细胞数不一，见图 3。胃癌组织中 MUC6 核粘蛋白的表达与患者的性别、部位、大小、淋巴结转移、分化类型、浸润、临床分期和胃癌的 Lauren 氏分型之间差异无显著性($P>0.05$)，见表 2。

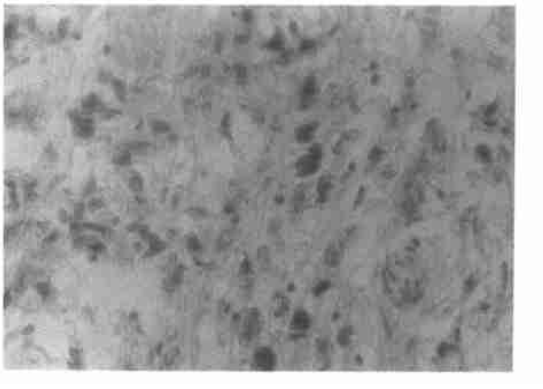


图 3 胃癌组织中 **MUC6** 核粘蛋白的表达，其位于胃癌细胞的胞浆内 (S-P× 200)

Fig 3 Expression of MUC6 apomucin in the tissue of gastric carcinoma located in cytoplasm of neoplastic cells (S-P× 200)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 2　胃癌组织中 **MUC6** 核粘蛋白的表达与患者的临床病理因素之间的联系

Tab 2　Expression of MUC6 apomucin in the tissues of gastric carcinoma and its association with the clinicopathological parameters of patients

Parameters	*n*	MUC6(+)	MUC6(−)	χ^2	*P*
Gender					
Male	34	16	18	0.28	＞0.05
Famale	13	5	8		
Lymph-node metastasis					
Positive	24	11	13	0.0006	＞0.05
Negative	23	10	12		
Differentiation					
Poor	16	5	11		
Well-moderate	27	13	14	2.79	＞0.05
Mucinous	4	3	1		
Depth of infiltration					
Mucosa and submucosa	8	5	3		
Muscularis propria	12	4	8	1.65	＞0.05
Serosa	27	12	15		
Location					
Cardia	7	3	4		
Body	13	8	5	2.14	＞0.05
Antrum	27	12	15		
Size					
≤3 cm	34	17	17	1.41	＞0.05
＞3 cm	13	4	9		
Clinical stage					
Ⅰ ~ Ⅱ	27	10	17	1.50	＞0.05
Ⅲ~ Ⅳ	20	11	9		
Lauren's classification					
Intestinal type	22	10	12		
Diffuse type	17	6	11	1.64	＞0.05
Mixed type	8	5	3		

3　讨论

粘蛋白核心蛋白骨架成分在其基因克隆之前, 人们对它们的认识几乎是空白, 最近, 从乳腺、胰腺、胃肠道粘膜和气管支气管粘膜的 cDNA 文库中克隆到至少 7 种不同的人粘蛋白基因(MUC1-7), 这对该基因表达的异质性、多态性和功能的理解具有重要的意义。MUC6 基因是 Kim 等人于 1993 年从人胃 cDNA 文库中所克隆到的一种粘蛋白基因[3], 该基因是由随机数目重复单位(VNTR), 每个重复单位由 169 个氨基酸组成, 本研究所用的多抗是针对 169 个氨基酸重复单位中的 19 个氨基酸。

我们对正常胃、十二指肠、空肠中 MUC6 核粘蛋白的表达检测发现, 其主要分布于胃腺的基底部(阳性率为 100%), 十二指肠腺, 而空肠无表达, 这与 Samuel 应用 MUC6 核粘蛋白重复序列的另一段氨基酸所制备的多抗检测 MUC6 核粘蛋白在胃肠道的表达的结论相近[4]。

既往对粘蛋白的外周碳水化合物的研究提示正常胃粘膜的中性粘液到肠化的硫酸粘液的转变是胃癌发生的高危险标志, 肠化到胃癌的转变与粘蛋白相关抗原的变化密切相关。并且粘蛋白的改变可能导致癌细胞生长调节、免疫识别和细胞粘附能力的改变, 这方面我们有 MUC1 和 MUC3 等粘蛋白的证据[7,8]。这种碳水化合物结构-糖化模式的改变是否是粘蛋白的核粘蛋白指导所致以及这种核粘蛋白所可能预示的作用对我们进一步理解粘蛋白分子具有重要的意义。

本研究提示肠上皮化生、不典型增生和胃癌组织中 MUC6 核粘蛋白的表达阳性率分别为 13.8%、70% 和 44.7%, 该结果可能提示 MUC6 基因在胃粘膜的癌变过程中是下调表达的, 尤其是在肠上皮化生和胃癌组织中更明显。正常粘蛋白基因表达的大量丢失, 与胃癌发生过程可能有关, 至少提示胃癌的恶变过程中涉及粘蛋白基因表达的改变。

本研究的另一个结果是胃癌组织中 MUC6 核粘蛋白的表达与胃癌患者的性别、部位、大小、淋巴结转移、分类、浸润、临床分期和 Lauren 氏分型之间无关。该结果提示 MUC6 核粘蛋白作为一种分泌型粘蛋白, 与 MUC1 核粘蛋白不同, 与患者的临床病理指标之间无关联, 可能的原因是 MUC6 核粘蛋白不是 T 细胞抗原决定簇, 不能诱导抗肿瘤免疫反应, 或者是其不具备影响肿瘤细胞的生长及粘附力的改变。所以该基因编码产物有无这方面功能, 尚需作进一步的探讨。

参考文献:

[1] Nakamori S, Ota D M, Cleary K R, *et al*. MUC1 mucin expression as a marker of progression and metastasis of human colorectal carcinoma[J]. Gastroenterology, 1994, 106(2): 353−361.

[2] Mcguckin M A, Walsh M D, Hohn B G, *et al*. Prognostic significance of MUC1 epithelial mucin expression in breast cancer[J]. Human Pathol, 1995, 26(4): 432−439.

[3] Toribara N W, Roberton A M, Ho S B, *et al*. Human gastric mucin: identification of a unique species by expression cloning[J]. J Biol Chem, 1993, 268(8): 5 879−5 885.

[4] Bolos C D, Garrido M, Real F X, *et al*. MUC6 apomucin shows a distinct normal tissue distribution that correlates with Lewis antigen expression in the human stomach[J]. Gastroenterology, 1995, 109(4): 723−734.

[5] 房殿春, 刘为纹. 胃粘膜肠化与胃癌-112 例临床内镜结果[J]. 中华内科杂志, 1990, 29(4): 465−467.

[6] Ho S B, Shekel L L, Toribara N W, *et al*. Mucin gene expression in normal preneoplastic and neoplastic human gastric epithelium[J]. Cancer Res, 1995, 55(15): 2 681−2 690.

[7] Wang R Q, Fang D C, Liu W W. Aberrant expression of MUC2 and MUC3 genes in gastric carcinoma and its significance[J]. Chinese Medical J, 2000, 113(6): 502−507.

[8] 汪荣泉, 房殿春, 晋华源, 等. 胃癌及癌前病变组织中 MUC1 基因的表达及其意义[J]. 中华医学杂志, 1999, 79(6): 443−444.

(编辑　汪勤俭)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net