DOI: 10.16016/j.1000-5404.1999.08.005 第三军医大学学报 Vol. 21, No. 8
554 1999年 8月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Aug. 1999

胃癌及癌前病变组织中 MUC2核粘蛋白的表达及意义*

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

提 要 目的: 揭示 MUC2核粘蛋白在正常胃肠道粘膜、肠上皮化生和胃癌组织中的表达规律及其临床病理意义。方法: 应用免疫组织化学方法检测组织中 MUC2核粘蛋白的表达。结果: MUC2核粘蛋白在小肠的杯状细胞中表达, 胃粘膜中无表达; 肠化组织和胃癌组织中的表达阳性率分别为 85.2%和 67.4%; 肠化组织中 MUC2基因的表达与肠化分型无关 ($P > 0.05$); 胃癌组织中的表达与肿瘤的大小、浸润和分型、临床分期和淋巴结转移无关 ($P > 0.05$), 而高中分化胃癌中表达明显多, 低分化胃癌中表达明显少 ($P < 0.05$)。结论: MUC2核粘蛋白在胃粘膜癌变过程中是上调表达的, 其表达与肿瘤的分化密切相关。

关键词 胃肿瘤; 核粘蛋白; 免疫组织化学
中图法分类号 R735.2

粘蛋白是一些分布于人上皮细胞表面高度糖化、高分子量的糖蛋白, 肿瘤细胞中粘蛋白表位的增强表达使它们适合于作为肿瘤标志。目前已有 7种不同的粘蛋白基因被相继克隆, 每种编码蛋白质的粘蛋白基因都由可变数目的重复序列组成, MUC2基因是从人小肠 cDNA文库中所克隆[1], 定位于 11p15。在这些基因克隆之前, 对粘蛋白的认识局限在粘蛋白分子上的碳水化合物分子。在炎性疾病和肿瘤的发生发展过程中, 粘蛋白发生了质和量的改变。我们应用针对 MUC2基因编码的核心蛋白的单抗检测人正常胃肠道粘膜、癌前病变组织以及胃癌组织中 MUC2基因的表达, 以揭示该基因在人正常胃粘膜上皮到胃癌的转化的调控规律及其可能的临床病理意义。

1 材料与方法

1.1 实验对象

10例正常胃粘膜取自胃癌手术切缘组织, 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癌切除的空肠部分, 1例胃窦和胃底组织取自胃溃疡患者胃大部切除标本。46例胃癌组织取自本院手术切除标本, 其中 38例含癌旁胃粘膜, 27例含肠化粘膜。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。46例患者中, 男 34例, 女 12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 MUC2核心肽的单克隆抗体 CCP58购自深圳晶美公司 (Neomarker公司进口), 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。

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马血清分别室温孵育 30 min, 以减低非特异性染色; 抗 MUC2核心肽的单抗 (1∶100) 4℃孵育过夜; 生物素标记的二抗和抗生物素-过氧化物酶连接物在室温下分别孵育 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 胃癌的分型和肠化的分型

胃癌的分型和肠化的分型利用 AB/PAS染色和 HID/AB染色方法, 具体参见文献。

1.5 数据处理

数据经 χ^2 检验, $P < 0.05$为相差显著, $P < 0.01$为相差非常显著。

2 结果

2.1 正常胃肠道中 MUC2基因的表达

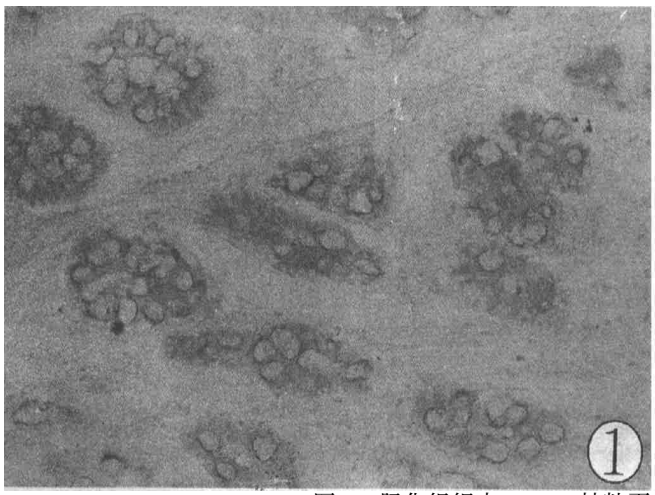
MUC2核粘蛋白主要弥漫分布在十二指肠、空肠的杯状细胞内, 抗原定位于杯状细胞的核周和核上, 在粘液滴周围亦有少量存在, 而粘液滴内阴性, 阳性染色似一"戒指"状, 并以核周最为明显, 而柱状细胞和表面的吸收细胞阴性。正常胃粘膜内无 MUC2核粘蛋白的表达。

2.2 肠上皮化生粘膜中的表达

27例肠化标本中 MUC2核粘蛋白表达 23例, 占 85.2%。MUC2核粘蛋白在肠化组织中的表达呈不均一性, 但大多数的杯状细胞核周出现类似小肠杯状细胞的染色结果, 少数杯状细胞阴性, 见图 1。除 1例杯状细胞的粘液滴内出现表达外, 其余 22例粘液滴内阴性。肠化组织中的表达与小肠相比, 具不规则性。其 2例具肠化的癌旁粘膜中腺颈部细胞出现灶状的 MUC2核粘蛋白的表达, 而阳性表达的细胞不具备杯状细胞的特性-粘液滴, 见图 2。表 1提示不同类型的肠化标本中 MUC2核粘蛋白的表达无差异 ($P > 0.05$)。

* 全军"九五"医药卫生科研基金资助, No. 96M091
** 汪荣泉, 男, 31岁, 主治医师, 博士

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



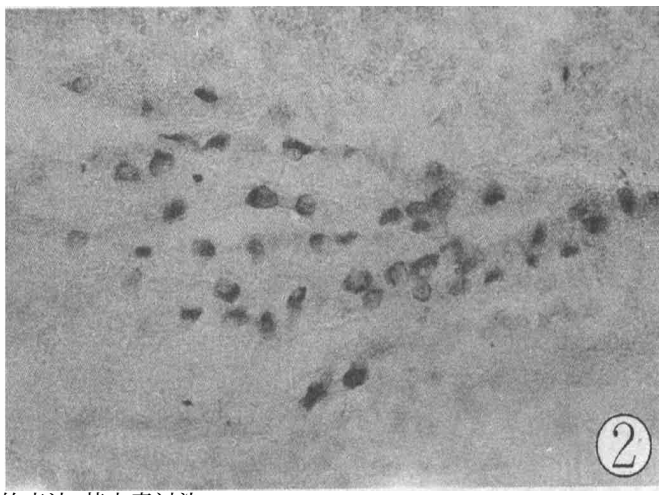


图 1　肠化组织中 **MUC2**核粘蛋白的表达,苏木素衬染　(S-P× 200)

Fig 1　MUC2 apomucin expression in tissue of intestinal metaplasia　(S-P× 200)

图 2　胃粘膜腺颈部细胞胞浆内的 **MUC2**核粘蛋白,苏木素衬染　(S-P× 200)

Fig 2　MUC2 apomucin in the cytoplasm of cells the neck of gastric mucosal gland　(S-P× 200)

表 1　不同类型肠上皮化生组织中 **MUC2**核粘蛋白的表达

Tab 1　Exprssion of MUC2 apomucin in different types of intestinal metaplasia(IM)

Types of IM	*n*	MUC2(+)	MUC2(-)
Ⅰ Ⅱ	21	18	3
Ⅲ	6	5	1

2.3　胃癌及癌旁粘膜中的表达

表 2　胃癌组织中 **MUC2**核粘蛋白表达与患者临床病理参数之间的联系

Tab 2　Relationship between MUC2 apomucin expression in the tissues of gastric cancer and patients' clinicopathological features

Variable	*n*	MUC2(+)	MUC2(-)	χ^2	*P*
Size of tumor					
≤ 5 cm	33	24	9	1.51	> 0.05
> 5 cm	13	7	6		
Metastasis of lymph node					
Present	23	18	5	2.47	> 0.05
Absent	23	13	10		
Grade of differentiation					
Poor*	17	8	9		
Well/moderate	26	21	5	5.28	> 0.05
Mucoid	3	2	1		
Serosal invasion					
Present	20	13	7	0.09	> 0.05
Absent	26	18	8		
Clinical stage					
Ⅰ+Ⅱ	26	16	10	0.93	> 0.05
Ⅲ+Ⅳ	20	15	5		
Type					
Intestinal	21	15	6		
Diffuse	17	11	6	0.30	> 0.05
Mixed	8	5	3		

*: $P < 0.05$ *vs* Well/moderate

46例胃癌组织中阳性表达 31例,占 67.4%。阳性表达的癌细胞呈散在、灶状和弥漫分布,其中散在 5例,灶状 15例,弥漫 11例。MUC2核粘蛋白位于阳性癌细胞的胞浆内,以核周明显,呈细颗粒状,不同患者的表达强度有差别,见图 3 胃癌组织中 MUC2核粘蛋白的表达与肿瘤的大小、淋巴结转移、肿瘤的浸润深度、临床分期和胃癌的分型之间无关($P > 0.05$),而 MUC2核粘蛋白阳性组与阴性组之间,肿瘤的分化类型(低分化和高-中分化)存在明显的差别($P < 0.05$),见表 2



图 3　胃癌组织中 **MUC2**核粘蛋白的表达,苏木素衬染　(S-P× 200)

Fig 3　MUC2 apomucin expression in the tissue of gastric cancer　(S-P× 100)

3　讨论

粘蛋白基因(MUC1-7)有两个共性,其一是存在可变数目的核苷酸重复序列(VNTR),其二是 VNTR

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

所指导的氨基酸重复序列中富含丝氨酸、苏氨酸和脯氨酸。MUC2基因是1989年由美国学者Gum等从人小肠cDNA表达文库中克隆到的一种粘蛋白核心肽基因,与MUC5AC和MUC6一样,定位在11p15上[2,3],编码一种分泌性粘蛋白,其VNTR序列为PTTTPISTTTTVTPTPTPTGTQT。

人上皮细胞的恶性转化涉及粘蛋白的结构和合成改变。在粘蛋白基因克隆之前,这种认识仅限于粘蛋白分子上寡糖链的改变。本研究从正常人胃肠道粘膜上皮中MUC2基因的表达中发现,该基因在正常人胃粘膜不表达,而在肠道粘膜的杯状细胞核周有表达,但在肠化粘膜和癌性上皮中其表达阳性率分别为85.2%和67.4%,提示MUC2基因在肠上皮化生和胃癌的发生发展过程中是上调表达的,即涉及该基因的激活。我们的结果与Ho的结论相比,检出率较之高,但其分布特点与Ho及Carrato的结果近似[4,5]。我们在肠化粘膜中无杯状细胞区域的腺颈部细胞胞浆内发现强阳性的MUC2核粘蛋白的表达,这提示肠化形成之前(即出现杯状细胞),腺颈部的一些细胞就已有结构和功能上的改变-MUC2基因的激活和表达,进一步提示,MUC2核粘蛋白可用作肠化形成前的预告,但这需经进一步的前瞻性研究证实。

在MUC2的表达和胃癌的临床病理因素之间的联系研究中发现,低分化胃癌中MUC2阴性表达明显多,而高-中分化胃癌中MUC2阳性表达明显多,提示MUC2基因主要表达在高-中分化胃癌。而其表达与肿瘤的淋巴结转移、浸润深度、临床分期等预后因素之间无联系,提示MUC2与MUC1基因的核粘蛋白功能有区别,可能与肿瘤细胞的粘附、免疫识别、免疫刺激之间无关[6]。

参考文献

1 Gum J R, Byrd J C, Hicks J W, *et al*. Molecular cloning of human intestinal mucins cDNAs. J Biol Chem, 1989, 26(11): 6480

2 Aubert J P, Porchet N, Crepin M, *et al*. Evidence for different human tracheobronchial mucin peptides deduced from nucleotide cDNA sequences. Am J Respir Cell Mol Biol, 1991, 5(2): 178

3 Toribara N W, Roberton A M, Ho S B, *et al*. Human gastric mucin: identification of a unique species by expression cloning. J Biol Chem, 1993, 268(8): 5878

4 Ho S B, Shckels L L, Toribara N W, *et al*. Mucin gene expression in normal, preneoplastic, and neoplastic human gastric epithelium. Cancer Res, 1995, 55(12): 2681

5 Carrato C, Balaguc C, Bolos C D, *et al*. Differential apomucin expression in normal and neoplastic human gastrointestinal tissues. Gastroenterology, 1994, 107(1): 160

6 Zhang S L, Graeber L A, Helling F, *et al*. Augmenting the immunogenicity of synthetic MUC1 peptide vaccines in mice. Cancer Res, 1996, 56(15): 3315

(收稿: 1998-12-17;修回: 1999-04-23)

(编辑 陈聪连)

Expression of MUC2 apomucin in precancerous lesions and gastric cancer and its clinical significance*

Wang Rongquan, Fang Dianchun, Lu Rong, Liu Weiwen (Department of Gastroenterology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038)

Abstract Objective: To elucidate the expression of MUC2 apomucin in the normal gastrointestinal mucosa, intestinal metaplasia (IM) and gastric cancer and its clinical significance. Methods: Immunohistochemical methods were used. Results: MUC2 apomucin was expressed in the goblet cells of small intestinal but not in gastric mucosa. The positive rates of its expression in intestinal metaplasia and gastric cancer were 85.2% and 67.4% respectively. The expression in the intestinal metaplasia was not related to the types of the lesion ($P > 0.05$). No relationship was found between the expression of MUC2 apomucin in the tumor and tumor's size, invasiveness and Lauren's types, clinical stage and metastasis to lymph nodes ($P > 0.05$). The expression was significantly higher in patients with well/moderately differentiated cancer than in those with poorly differentiated one ($P < 0.05$). Conclusion: The expression of MUC2 apomucin in precancerous lesions and gastric cancer is upregulated and it is closely related to degrees of tumor's differentiation.

Key words gastric cancer; apomucin; immunohistochemistry

* This project was supported by the "Ninth five" obligatory budget of PLA, No. 96M091

?1994-2018 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net