DOI:10.16016/j.1000-5404.1999.07.004

Connexin32在胃粘膜肠上皮化生、不典型增生和胃癌中的表达和意义

秦 荣* 晏才杰 唐开业 罗云生 (第三军医大学附属新桥医院普通外科) 重庆,400037

提 要 目的:检测肠上皮化生、不典型增生的胃粘膜组织和胃癌组织中间隙连接蛋白Connexin32(Cx32)的表达,探讨其变化规律及意义。方法:应用免疫组化染色S-P法对21例肠上皮化生、19例不典型增生和32例胃癌标本间隙连接蛋白Cx32表达进行研究。结果:肠上皮化生、不典型增生和胃癌组织中均有不同程度的Cx32表达,但同正常胃粘膜相比,Cx32阳性率明显下降($P<0.05$),在胃癌组织中,Cx32只表达在粘膜下层和肌层的肿瘤细胞内,粘膜层的肿瘤细胞内未见阳性着色。结论:间隙连接可能参与了胃癌发生。

关键词 胃肿瘤;癌前病变;间隙连接;Connexin32(Cx32)
中图法分类号 R392.31;R735.2

胃粘膜肠上皮化生(肠化)和不典型增生是胃癌癌前病变或早期表现[1],对其深入研究有利于对胃癌发生发展机制的认识,进而有可能为胃癌的诊治提供依据。间隙连接位于细胞侧面,沟通相邻细胞,允许一些离子、小分子量物质及重要的代谢产物通过,在细胞稳态维持及细胞增殖、分化中起重要作用[2],其异常可能参与肿瘤发生[3]。人胃粘膜组织间隙连接由连接蛋白Cx32组成,其相关研究较少,尤其胃癌变过程中其表达情况尚未见报道,本实验对此进行免疫组化水平上的研究,旨在加深对胃癌发生的进一步认识。

1 材料与方法

1.1 材料来源

正常胃粘膜标本15例,肠上皮化生标本21例,不典型增生标本19例及胃癌标本32例,均取自我科1996~1998年手术切除的胃癌及胃良性病变标本,其中包括轻、中度肠上皮化生11例,重度肠上皮化生10例;轻度不典型增生7例,中度不典型增生5例,重度不典型增生7例;高分化腺癌6例,中分化腺癌9例,低分化腺癌17例。

1.2 S-P免疫组化染色方法及阳性评定标准

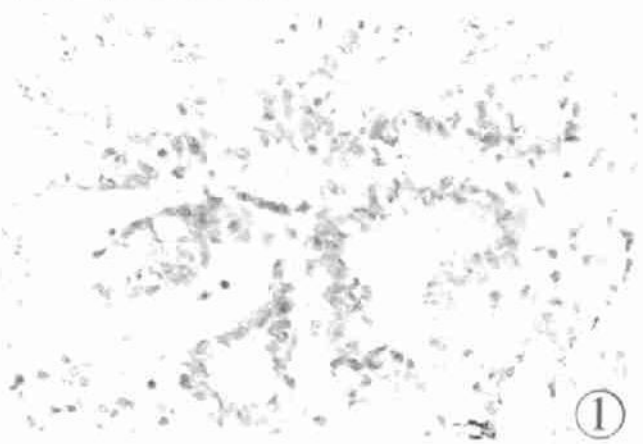
所有标本经10%福尔马林液固定,石蜡包埋,连续切片,分别用于HE染色及免疫组化染色。抗Cx32单克隆抗体由日本Masaru Iwai博士惠赠,S-P试剂盒购自中山公司。以PBS代替一抗作阴性对照,以鼠血清代替一抗作替代对照。DAB显色。光镜下胞膜、胞浆呈黄色到棕黄色为阳性;细胞膜、细胞浆无着色为阴性。

1.3 统计学方法

组间比较用χ^2检验,$P<0.05$为相差显著。

2 结果

Cx32阳性染色呈颗粒状或细线状。正常胃粘膜中其分布呈现一定规律:自胃小凹下部至胃腔表层的粘液上皮细胞,阳性染色有递增趋势。部分轻、中度肠上皮化生及部分轻、中度不典型增生阳性着色,见图1,2。重度不典型增生组织内未见阳性染色。胃癌细胞中Cx32阳性率为25%,皆见于粘膜下层和肌层的低分化腺癌细胞内,见图3。而在粘膜层的肿瘤细胞内则未见阳性染色,见图4。肠化组织、不典型增生组织及胃癌组织内Cx32阳性率同正常胃粘膜相比显著降低($P<0.05$),见表1。



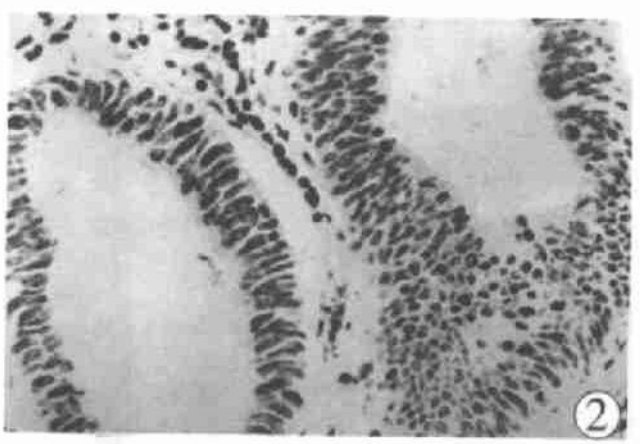


图1 中度肠上皮化生组织中细胞相邻区Cx32颗粒状着色 (S-P×200)

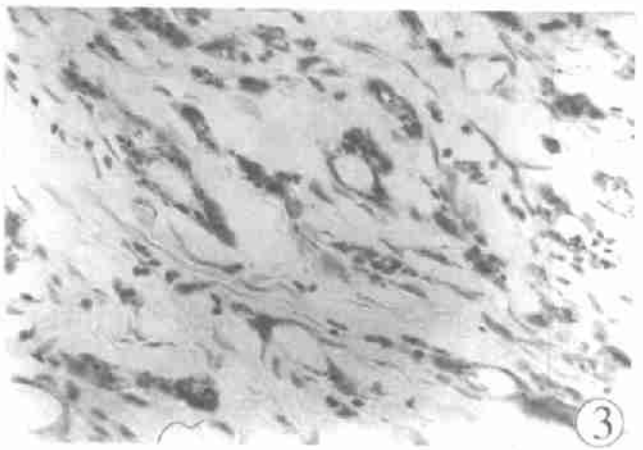
Fig 1 **Immunohistochemical staining of connexin 32 in moderate intestinal metaplasia** Granular positive staning was found intercellularly on the cell membrane (S-P×200)

图2 轻度不典型增生组织中,细胞相邻区Cx32线状、颗粒状着色 (S-P×400)

Fig 2 **Immunohistochemical staining of connexin 32 in mild atypical hyperplasis** Positive staining was found in epithelial cells in linear or granular pattern (S-P×400)

* 秦 荣,男,30岁,住院医师,博士研究生

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



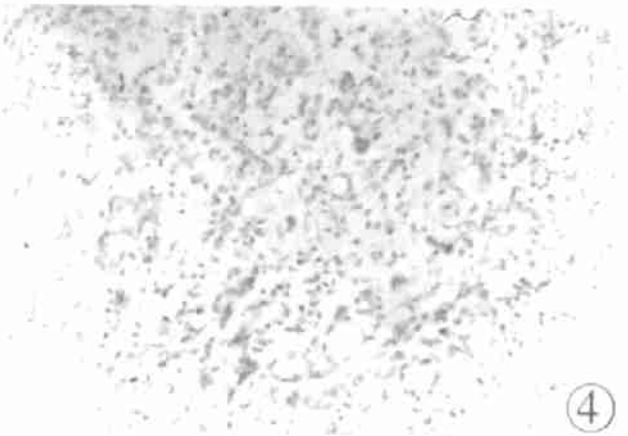


图 3　低分化腺癌组织，浸润至粘膜下层内的肿瘤细胞中 Cx32 阳性着色　(S-P×200)

Fig 3　Immunohistochemical staining of connexin 32 in poorly-differentiated gastric adenocarcinoma　Positive staining was found infiltrated to the carcinoma cells in the submucosa　(S-P×200)

图 4　低分化腺癌组织，位于粘膜层内的肿瘤细胞中无 Cx32 阳性染色　(S-P×100)

Fig 4　Immunochemical staining of connexin 32 in poorly-differentiated gastric adenocarcinoma　No detectable postitive staining was found in the carcinoma cells in the layer of mucosa　(S-P×100)

表 1　不同胃组织中 Cx32 表达结果

Tab 1　Expression of the Cx32 in different gastric tissues

Group	n	Positive	%
Normal mucosa	15	15	100.0
Intestinal metaplasia	21	10	47.6
Atypical hyperplasia	19	6	31.6
Gastric carcinoma	32	8	25.0

3　讨论

本研究结果显示：肠上皮化生、不典型增生及胃癌组织中 Cx32 阳性率降低，同正常胃粘膜相比差异显著($P<0.05$)。肠上皮化生及不典型增生是重要的胃癌前病变，上述结果说明胃癌发生过程中存在间隙连接蛋白的异常表达。

胃粘膜上皮细胞的成熟过程体现为从胃粘膜增殖区向表层的移行过程[4]，本研究显示：正常胃粘膜 Cx32 阳性染色分布同胃粘膜上皮细胞的成熟过程基本一致，说明随胃粘膜上皮细胞分化成熟，Cx32 表达增多，即 Cx32 表达的多少与细胞的分化相关。这与对大鼠胃粘膜间隙连接蛋白的研究结果一致[5]。

间隙连接是由连接蛋白构成的相邻细胞间相互沟通的膜通道，允许细胞间进行细胞间通讯(Intercellular communication)，间隙连接借助调控细胞间通讯而在细胞增殖、分化及肿瘤发生中起作用，细胞间通讯一方面与间隙连接的数目有关，数目的多寡调节着量的多少；另一方面也与间隙连接本身的结构和功能有关，结构及功能不同，细胞间通讯物质的种类就不同。在本研究中，胃粘膜癌前病变连接蛋白 Cx32 的阳性率明显降低，说明 Cx32 数目减少及由此引起的细胞间通讯的减少可能参与了胃癌发生；而 Cx32 仍可有一定表达，推测一方面可能有功能上的改变而使其不具备相应的细胞间通讯能力；另一方面这种现象也可能是癌前病变逆转的结构基础之一，通过一定数目的间隙连接及相应的细胞间通讯，周围正常细胞可以使已有改变的相邻细胞得以恢复。关于不典型增生病灶的转归一直有争论，或认为胃癌是其必然结局，或认为可有部分病灶长期保持不变甚至可逆转。本结果表明，在重度不典型增生灶中没有 Cx32 的表达，而部分轻、中度不典型增生灶中则可表达，故间隙连接的表达可能与轻度或中度异型增生的逆转有关，但需进一步研究证实。

Cx32 在粘膜层的胃癌细胞内无表达，而只出现于粘膜下层和肌层组织内的胃癌细胞中，结合其在癌前病变中的表达结果，说明在胃癌的发生、发展过程中，间隙连接可能经历了一个从表达减少到缺乏再到重新表达的过程，即在胃癌发生的早期，胃癌组织中缺乏间隙连接的表达。我们发现粘膜下层和浸润至肌层的 Cx32 阳性表达者均为低分化腺癌，由于间隙连接增多

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

代表了正常细胞分化较为成熟，所以，在低分化的胃癌组织中出现了间隙连接的表达就不易理解，不过已有研究指出，对于肿瘤组织而言，间隙连接的缺乏并不必须，因为其存在可以使肿瘤细胞获得氧及营养物质[6]，Wilgenbus 等[7]发现在肝癌细胞之间或肝癌细胞与血管内皮细胞之间就有间隙连接的存在；同时，间隙连接也与肿瘤细胞转移有关，有研究发现携带了荧光染色的高度恶性的黑色素细胞或大鼠乳腺癌细胞很快就会将荧光染料转移到血管内皮细胞中，而无转移或低转移的癌细胞则没有这样的细胞间通讯[8]。Braunder 等[9]的研究则显示：只有能与心肌纤维形成间隙连接的肿瘤细胞才能浸润至该组织中，这表明间隙连接可能也与肿瘤细胞的浸润行为有关。可能正是因为间隙连接是一种细胞间的跨膜通道，故其功能会因为其所传递的物质及信息的不同而有所不同，这表明随着胃癌的进展，间隙连接的出现可能具有其它功能，如参与了肿瘤的浸润及/或转移，总之，这种现象值得深入研究。

参考文献

1 Rokkas T, Filipe M I, Sladen G E, *et al*. Detection of an increased incidence of early gastric cancer in patients with intestinal metaplasia type Ⅲ who are closely followed up. Gut, 1991, 32(10): 110

2 Pitts J D, Finbow M E. The gap junction. J Cell Sci, 1986, (Suppl 4): 239

3 Klaunig J E, Ruch R J. Role of inhibition of intercellular communication in carcinogenesis. Lab Invest, 1990, 62(2): 135

4 Whitehead. Mucosal biopsy of the gastrointestinal tract. 2nd ed. Philadelphia: W B Saunders Company, 1993. 15～20

5 Kyoi T, Ueda F, Kimura K, *et al*. Development of gap junctions between gastric surface mucous cells during cell maturation in rats. Gastroenterology, 1992, 102(6): 1930

6 Kanno Y. Modulation of cell communication and carcinogenesis. Jpn J Physiol, 1985, 35(5): 693

7 Wilgenbus K K, Kirkpatrick C J, Knuechel R, *et al*. Expression of Cx26, Cx32 and Cx43 gap junction proteins in normal and neoplastic human tissues. Int J Cancer, 1992, 51(4): 522

8 El-Sabban M E, Pauli B U. Cytoplasmic dye transfer between metastatic tumor cells and vascular endothelium. J Cell Biol, 1991, 115(5): 522

9 Braunder T, Hulser D. Tumor cell invasion and gap junctional communication Ⅱ Normal and malignant cells confronted in multicell spheroids. Invasion Metastasis, 1990, 10(1): 31

（收稿：1998-11-26；修回：1999-03-24）

（编辑 张大春）

Expression of connexin 32 in precancerous lesions and carcinoma of the stomach

Qin Rong, Yan Caijie, Tang Kaiye, Luo Yunsheng (Department of General Surgery, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400037)

Abstract **Objective**: To investigate the changes of connexin 32 (Cx32), a gap junctional protein, in the mucosa of intestinal metaplasia, atypical hyperplasia and carcinoma of the stomach and explore its significance. **Methods**: The expression of Cx32 in the mucosa of normal individuals, 21 patients with intestinal metaplasia, 19 with atypical hyperplasia and 32 with gastric carcinoma was determined with immunohistochemical S-P staining. **Results**: The positive rate of Cx32 expression was significantly lower in patients with intestinal metaplasia, those with atypical hyperplasia and those with gastric carcinoma than in the normal individuals ($P<0.05$). In the gastric cancer tissue, the expression of Cx32 was seen in the poorly differentiated cancer cells that invaded the submucosa and mascularis propria but not the gastric mucosa. **Conclusion**: The declination of Cx32 expression might participate in the carcinogenesis of gastric carcinoma.

Key words gastric neoplasm; gap junction; precancerous lesion; connexin 32

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