

半乳糖凝集素-3 蛋白在结直肠癌中的表达与意义

王晓磊,段文飞,吴 飞,郭 伟,邢燕来,王贵红,展鹏远

(河南大学第一附属医院,河南 开封 475001)

摘 要: [目的] 探讨 Gal-3 蛋白在结直肠癌中的表达及临床意义。[方法] 采用免疫组织化学 SP 法检测 Gal-3 蛋白在 60 例结直肠癌组织的表达;另取癌旁正常黏膜 20 例及结直肠腺瘤 20 例作为对照组。[结果] 结直肠癌中 Gal-3 蛋白的表达明显高于癌旁正常黏膜和结直肠腺瘤(55.0%,10.0%和 25.0%, $P<0.05$)。Gal-3 蛋白在侵及浆膜外、TNM III+IV 期、有淋巴结转移组中的表达明显高于未侵及浆膜外($P<0.05$)、TNM I+II 期($P<0.01$)、无淋巴结转移组($P<0.05$);与年龄、性别、肿瘤大小和分化程度无关。Gal-3 蛋白阳性表达患者 5 年生存率明显低于阴性表达者($P<0.05$)。[结论] Gal-3 蛋白在结直肠癌中高表达,其可能在结直肠癌的发生发展和浸润转移中起作用,并提示预后不良。

关键词: 半乳糖凝集素-3 蛋白;结直肠癌;免疫组化;预后

中图分类号:R735.3 文献标识码:A 文章编号:1004-0242(2015)08-0715-04

doi:10.11735/j.issn.1004-0242.2015.08.A017

The Expression of Gal-3 Protein in Colorectal Cancer and Its Significance

WANG Xiao-lei, DUAN Wen-fei, WU Fei, et al.

(The First Affiliated Hospital of Henan University, Kaifeng 475001, China)

Abstract: [Purpose] To investigate the expression of Gal-3 protein in colorectal cancer and its clinical significance. [Methods] The expression of Gal-3 protein in 60 cases with colorectal cancer was detected by immunohistochemistry (SP method), and 20 normal adjacent mucosa and 20 colorectal adenoma as control group were served. [Results] The positive rate of Gal-3 protein in colorectal cancer was significantly higher than that in normal adjacent mucosa and colorectal adenoma (55.0%, 10.0% and 25.0%, $P<0.05$). the Gal-3 protein expression level in outside the serosa invasion, lymph node metastasis and TNM stages III+IV group was significantly higher than that in within the serosa ($P<0.05$), lymph node metastasis-free group ($P<0.05$) and TNM stage I+II group ($P<0.01$). And Gal-3 protein expression was not related to age, gender, tumor size and differentiation ($P>0.05$). The 5-year survival rate of the patients with positive expression of Gal-3 protein was significant lower than that with negative expression of Gal-3 protein ($P<0.05$). [Conclusion] Gal-3 protein is overexpressed in colorectal cancer, it might play an important role in the carcinogenesis and development of colorectal cancer, and indicates poor prognosis.

Key words: Gal-3 protein; colorectal cancer; immunohistochemistry; prognosis

结直肠癌是常见的恶性肿瘤;研究表明,多种基因相互作用及其调控蛋白的差异表达在恶性肿瘤发生、发展及侵袭转移中起作用,其中包括半乳糖凝集素-3 (Galectin-3, Gal-3)。Gal-3 是一种半乳糖凝集素,现有的研究表明, Gal-3 与肿瘤相关。本研究应用免疫组织化学 SP 法检测 Gal-3 蛋白在 60 例结直肠癌组织中的表达,取癌旁正常黏膜 20 例及结直肠腺

瘤 20 例作为对照组,并结合 5 年随访资料进行生存分析,探讨 Gal-3 蛋白在结直肠癌患者中的表达规律及其临床意义。

1 资料与方法

1.1 临床资料

收集 2008 年 1 月至 2009 年 6 月在河南大学第一附属医院普通外科手术治疗的结直肠癌标本 60

收稿日期:2014-11-03;修回日期:2015-01-12

基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(201204157)

通讯作者:展鹏远, E-mail: 254698021@qq.com

例,术前均未接受放化疗,术后病理诊断为结肠癌或直肠癌。其中:男性 34 例,女性 26 例;>50 岁 37 例,≤50 岁 23 例;结肠 20 例,直肠 40 例;肿瘤直径>5cm 18 例,≤5cm 42 例;未侵及浆膜外 28 例,侵及浆膜外 32 例;高分化 4 例,中分化 38 例,低分化 18 例;TNM 分期:Ⅰ期 9 例,Ⅱ期 15 例,Ⅲ期 24 例,Ⅳ期 12 例;有淋巴结转移者 35 例。取癌旁正常黏膜组织(距离肿瘤>5cm,无不典型增生及癌浸润)20 例及结直肠腺瘤 20 例作为对照。

全部患者以确诊时间为起点,至患者死亡或最近一次随访时间生存为终点;随访截止日期为 2014 年 6 月 30 日。随访采取电话或书信等方式;不限随访次数,以得到准确随访结果为准;无失访。

1.2 主要试剂

鼠抗人 Gal-3 单克隆抗体(产品编号 MAB-0572),UltraSensitive™ S-P 试剂盒(产品编号:KIT-9701),均购自福州迈新生物技术开发公司。

1.3 方法

应用免疫组织化学 SP 法检测 Gal-3 蛋白的表达,操作步骤按说明书进行;以胰腺癌作为阳性对照,以磷酸盐缓冲盐水代替一抗作阴性空白对照。Gal-3 蛋白主要表达于胞质,也可在胞核;染色呈淡黄色、棕黄色及棕褐色;在 400 倍视野下每张切片随机观察 5 个视野,对着色细胞计数,计算阳性细胞百分比;定位明确且染色明显者为阳性,染色弱或完全不染色者为阴性,阳性细胞比例≤25%为(-),26%~50%为(+),51%~75%为(++),>75%为(+++),将(-)记为阴性,其余定为阳性。

1.4 统计学处理

应用 SPSS17.0 统计软件,计数资料采用 χ^2 检验;生存分析采用 Kaplan-Meier 法;预后影响因素的单因素分析采用 Log-rank 检验; $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Gal-3 表达

如 Table 1 所示:Gal-3 蛋白在癌旁正常组织、结直肠腺瘤和结直肠癌组织的阳性表达率分别为 10.0%(2/20)、25.0%(5/20) 和 55.0%(33/60)。Gal-3 蛋白在结直肠癌组明显高于结直肠腺瘤组及癌旁正常黏膜组,差异有显著性($P<0.05$)。Figure1,2。

2.2 Gal-3 蛋白与结直肠癌临床病理特征的关系

结直肠癌中,Gal-3 蛋白的阳性表达率在侵及浆膜外组为 68.57%(22/32),TNM Ⅲ+Ⅳ期组为 69.44%(25/36),淋巴结转移组 68.57%为(24/35),分别高于未侵及浆膜外组(39.29%,11/28)、TNM Ⅰ+Ⅱ期组(33.33%,8/24)和无淋巴结转移组(36.0%,9/25),差异均有统计学意义($P<0.05$)。Gal-3 蛋白在结直肠癌组织中的表达与患者的性别、年龄、部位、大小、组织学类型、分化程度均无明显相关性($P>0.05$)。见Table 2。

Table 1 Expression of Gal-3 protein in colorectal cancer, normal adjacent mucosa and colorectal adnoma

Group	Gal-3 protein			P*
	Positive	Negative	Positive rate(%)	
Colorectal cancer	33	27	55.0	-
Colorectal adnoma	5	15	25.0	0.020
Normal adjacent mucosa	2	18	10.0	0.001

*:Compared with colorectal cancer.

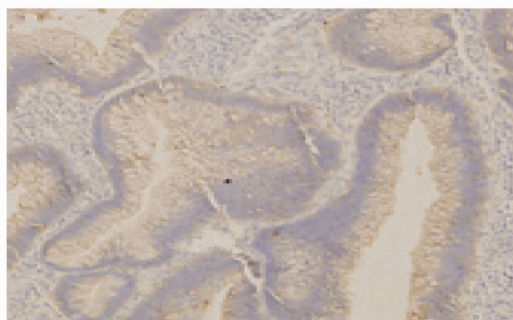


Figure 1 Positive expression of Gal-3 in colorectal cancer(x200)

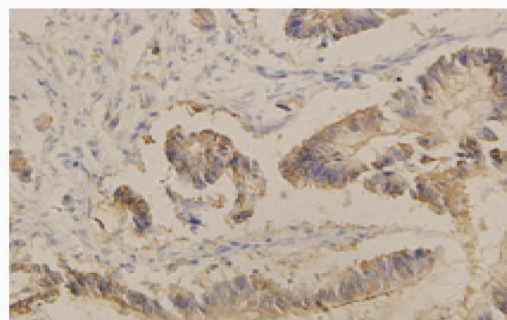


Figure 2 Positive expression of Gal-3 in colorectal adnoma(x400)

Table 2 The relationship between the expression of Gal-3 protein and clinicopathological features in colorectal cancer

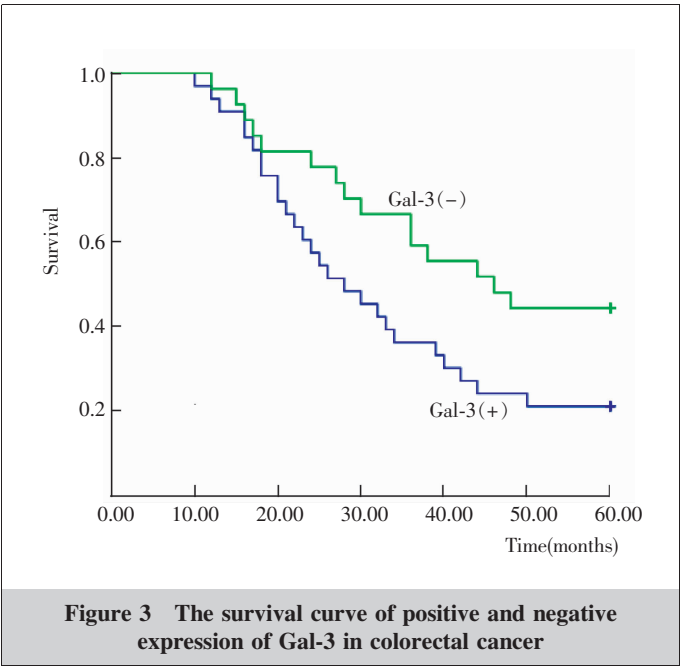
Clinicopathological features	n	Gal-3			χ^2	P
		Positive	Negative	Positive rate(%)		
Depth of invasion						
Within the serosa	28	11	17	39.29	5.24	0.022
Outside the serosa	32	22	10	68.75		
Lymph node metastasis						
No	25	9	16	36.00	6.25	0.012
Yes	35	24	11	68.57		
TNM stage						
I + II	24	8	16	33.33	7.59	0.006
III + IV	36	25	11	69.44		
Differentiation						
Poor	18	12	6	66.67	1.41	0.234
High, moderate	42	21	21	50.00		
Gender						
Male	34	19	15	55.88	0.25	0.875
Female	26	14	12	53.85		
Age(years)						
≤50	23	12	11	52.17	0.12	0.729
>50	37	21	16	56.77		
Occurrence site						
Colon	20	13	7	65.00	1.21	0.271
Rectum	40	20	20	50.00		
Tumor size(cm)						
>5	18	10	8	55.56	0.03	0.955
≤5	42	23	19	54.76		
Histological type						
Tubular adenocarcinoma	29	18	11	55.17	1.40	0.496
Mucinous adenocarcinoma	18	8	10	55.56		
Papillary adenocarcinoma	13	7	6	53.85		

2.3 Gal-3 蛋白与结直肠癌预后的关系

Kaplan-Meier 生存分析显示:Gal-3 蛋白阳性表达组中位生存期为 28.0 个月(95%CI:19.0~37.0 个月);Gal-3 蛋白阴性表达组中位生存期为 46.0 个月,(95%CI:29.0~63.0 个月)。Log-rank 检验显示,Gal-3 蛋白表达阳性组 5 年生存率明显低于阴性表达组,差异有统计学意义 ($P<0.05$)。见 Figure 3。

3 讨 论

Gal-3 是动物半乳糖凝集素家族之一^[1],是异源嵌合体组中的唯一成员,包含一个融合在糖识别域上的富含甘氨酸和脯氨酸的结构域,由于其能与细胞表面分子、细胞内糖蛋白及



ECM 蛋白相互作用,表现出各种生物学功能。

本研究显示 Gal-3 蛋白在各组中均有表达;在癌旁正常组织、结直肠腺瘤和结直肠癌组织的阳性表达率分别为 10.0%(2/20)、25.0%(5/20) 和 55.0%(33/60),呈上升趋势,且结直肠癌组的表达明显高于癌旁正常黏膜组和结直肠腺瘤($P<0.05$),提示 Gal-3 蛋白的高表达可能参与结直肠癌的发生。有研究报道^[2],甲状腺滤泡细胞转染 Gal-3 cDNA 后 Gal-3 的表达增加,获得恶性表型;反义抑制 Gal-3 可抑制甲状腺癌细胞的生长,且与贴壁生长和饱和密度无关,认为 Gal-3 在肿瘤发生过程中发挥作用。还有研究发现^[3],在结肠癌中 Gal-3 与 E-cadherin 异常表达呈负相关,且 E-cadherin 功能异常,细胞间连接机制被破坏。认为 Gal-3 高表达可能与其他相关肿瘤因子形成有利于肿瘤发生的微环境。

Gal-3 蛋白在结直肠癌侵及浆膜外组阳性表达率 68.57%(22/32)、TNM III+IV 期组 69.44%(25/36)、淋巴结转移组 68.57%(24/35);高于未侵及浆膜外组 39.29%(11/28)、TNM I+II 期组 33.33%(8/24)、无淋巴结转移组 36.00% (9/25),差异均有显著性 ($P<0.05$)。表明随着结直肠癌临床分期的进展 Gal-3 蛋白表达逐渐升高,Gal-3 蛋白可能参与了大肠癌的进展及侵袭转移。有研究报道^[4,5],外源性 Gal-3 可通过与 T 细胞表面的 CD29/CD7 结合诱导 T 细胞凋亡;Gal-3 还能阻止 T 细胞或 B 细胞因抗 Fas 抗体引起的凋亡,有利于恶性肿瘤细胞的免疫逃逸及肿瘤进展。研究发现^[6]Gal-3 介导细胞外基质与肿瘤细胞之间的黏附,还可增加肿瘤同型细胞之间的聚集;Gal-3 的高表达使肿瘤细胞聚集并栓塞机体微血管,增加了肿瘤细胞与血管内皮细胞结合,有利于穿过血管内皮及基底膜,从而使肿瘤细胞溢出而增加转移潜能;这是癌细胞浸润转移的重要步骤。体外细胞实验发现^[7,8]:Gal-3 可结合粘蛋白上的 TF 抗原,通过 CD44H、E-选择素等增加对人脐静脉内皮细胞的黏附性,促进癌细胞扩散。此外,Gal-3-C-MUC1 作为依赖 MiR-322 的调控环的一部分,通过调节 EGFR 在肿瘤细胞的生长、修复、新生血管生成、侵袭转移中起作用,认为 Gal-3 在肿瘤的进展过程中起作用。还有研究报道^[9] 外源性的 Gal-3 能选择性激活 ERK1/2,而 ERK1/2 的磷酸化,活化的 ERK1/2 磷酸化所诱导的桩蛋白磷酸化是肿瘤细胞迁徙所必需

的,认为 Gal-3 参与肿瘤细胞迁徙的信号转导,且是潜在的治疗目标。

Gal-3 蛋白在结直肠癌组织中的表达与患者的性别、年龄、肿瘤部位、大小、组织学类型、分化程度均无明显关系($P>0.05$),说明其在促进肿瘤侵袭转移方面比在其促进肿瘤发生方面起着更重要的作用。本研究中生存分析显示,Gal-3 蛋白表达阳性组 5 年生存率显著低于阴性表达组,Gal-3 蛋白可能可作为判断结直肠癌预后的指标。

总之,Gal-3 在结直肠癌发生、发展过程中起作用,检测该指标有助于评估结直肠癌的预后情况,此外,Gal-3 在免疫及基因治疗方面已有研究,这为结直肠癌的基因和免疫治疗也提供了一个新的思路。

参考文献:

- [1] Lepur A,Salomonsson E,Nilsson UJ,et al. Ligand induced galectin-3 protein self-association [J]. J Biol Chem, 2012,287(26):21751-21756.
- [2] Takenaka Y,Inohara H,Yoshii T,et al. Malignant transformation of thyroid follicular cells by Galectin-3[J]. Cancer Lett,2003,195(1):111-119.
- [3] Wu ZH,Gan L. Association of galectin-3 and E-cadherin expressions with lymph node metastasis of colon cancer[J]. J South Med Univ,2007,27 (11):1731-1733.[吴宗辉,甘露.Galectin-3 和 E-cadherin 在结肠癌中的表达及与肿瘤淋巴结转移的关系[J]. 南方医科大学学报,2007,27(11):1731-1733.]
- [4] Lee YM, Lee JB. Prognostic value of epidermal growth factor receptor,p53 and galectin-3 expression in papillary thyroid carcinoma [J]. J Int Med Res,2013,41(3):825-834.
- [5] Sundblad V,Croci DO,Rabinovich GA,et al. Regulated expression of galectin-3,a multifunctional glycan-binding protein,in haematopoietic and non-haematopoietic tissues [J]. Histo Histopathol,2011,26(2):247-265.
- [6] Gao X,Liu D,Fan Y,et al. The two endocytic pathways mediated by the carbohydrate recognition domain and regulated by the collagen-like Domain of Galectin-3 in vascular endothelial cells[J]. PLoS One,2012,7(2):e52430.
- [7] Yu LG,Andrews N,Zhao Q,et al. Galectin-3 interaction with Thomsen-Friedenreich disaccharide on cancer-associated MUC1 causes increased cancer cell endothelial adhesion [J]. J Biol Chem,2007,282(1):773-781.
- [8] Ramasamy S,Duraisamy S,Barboshov S,et al. The MUC1 and galectin-3 oncoproteins function in a microRNA-dependent regulatory loop [J]. Molecular Cells,2007,27(6):992-1004.
- [9] Gao X,Balan V,Tai G. et al. Galectin-3 induces cell migration via a calcium-sensitive MAPK/ERK1/2 pathway[J]. Oncotarget,2014,5(8):2077-2084.