

# 胃癌患者紧密连接蛋白 1 的表达及意义

杨 巍, 谷小虎, 苏晓晖, 郑志超, 赵 岩  
(辽宁省肿瘤医院, 辽宁 沈阳 110042)

**摘要:** [目的] 研究胃癌组织中紧密连接蛋白 1(ZO-1) 的表达及意义。 [方法] 采用免疫组织化学方法检测辽宁省肿瘤医院 2001 年 1 月~2006 年 12 月期间收集的 50 例正常胃组织和 100 例胃癌及其癌旁组织标本中 ZO-1 表达情况, 并分析胃癌组织中 ZO-1 表达水平与各临床参数之间的关系。 [结果] ZO-1 在胃癌组织中表达下调, 在胃癌组织中的表达率(40.0%) 显著低于癌旁组织(84.0%) 和正常胃组织(84.0%)( $P=0.000$ )。ZO-1 表达水平与胃癌患者年龄、性别和组织学类型无关( $P$ 均 $>0.05$ )。ZO-1 表达水平与分化程度、浸润深度、区域淋巴结转移、远处转移及临床分期具有相关性, 分化程度越低、浸润越深、伴有淋巴结转移和远处转移、临床分期越高, ZO-1 表达水平越低 ( $P$ 均 $<0.05$ )。ZO-1 高表达组 5 年生存率高于低表达组 (70% vs 20%,  $P<0.05$ )。 [结论] ZO-1 在胃癌组织中表达下调, 与肿瘤的临床分期、转移和预后密切相关, 可作为胃癌诊断和预后评价的标志物之一。

**关键词:** 胃肿瘤; 紧密连接蛋白 1; 免疫组织化学  
**中图分类号:** R735.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2012)04-0250-04

## Expression of Zonula Occludens-1 (ZO-1) in Gastric Cancer and Its Significance

YANG Wei, GU Xiao-hu, SU Xiao-hui, et al.  
(Liaoning Cancer Hospital, Shenyang 110042, China)

**Abstract:** [Purpose] To investigate the expression of zonula occludens-1(ZO-1) in gastric cancer tissue and its clinical significance. [Methods] The expression of ZO-1 in 50 cases of normal gastric tissues, 100 cases of gastric cancer tissues and cancer adjacent tissues was detected immunohistochemically. The relationship between ZO-1 expression in gastric tissues and clinical parameters was analyzed. [Results] The expression of ZO-1 was downregulated in gastric cancer tissues. ZO-1 expression in gastric cancer(40.0%) was significantly lower than that in cancer adjacent tissues(84.0%) or normal gastric tissues(84.0%)( $P=0.000$ ). The expression of ZO-1 did not correlate with age, gender and histologic type( $P>0.05$ ). It correlated with the degree of differentiation, depth of invasion, regional lymph node metastasis, distant metastasis and clinical stage. The lower differentiation grade, or deeper invasion, or regional lymph node metastasis, or distant metastasis, or higher clinical stage, the lower the expression of ZO-1 ( $P<0.05$ ). The 5-year survival rate of patients with a high expression of ZO-1 was significantly higher than that in patients with low expression(70.0% vs 20%,  $P<0.05$ ). [Conclusions] ZO-1 expression down-regulates in gastric cancer and correlates with clinical stage, metastasis and prognosis. It may be as a biomarker to diagnosis and prognosis for gastric cancer.

**Subject words:** gastric neoplasms; zonula occludens-1(ZO-1); immunohistochemistry

紧密连接蛋白 1(zonula occludens-1, ZO-1)介导细胞之间的紧密连接, 可与其他许多细胞连接蛋白相互作用, 参与维持和调节上皮屏障功能, 多用于观察各种组织紧密连接屏障功能和通透性功能的指标, 如血脑屏障、肠上皮细胞等。近年研究显示, ZO-1 在多种肿瘤组织中均有表达<sup>[1-5]</sup>。为探讨 ZO-1 与胃癌临床及病理特性的关系, 本研究通过免疫组织化

学方法检测胃癌组织中 ZO-1 表达情况。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究对象

收集辽宁省肿瘤医院 2001 年 1 月~2006 年 12 月外科手术切除且病理证实的胃癌标本 100 例, 其中男性 68 例, 女性 32 例, 年龄 40~84 岁, 平均

收稿日期: 2012-02-27; 修回日期: 2012-03-26

(60.41±5.69)岁。所选胃癌患者术前均未行放射、化学或生物学治疗。根据世界卫生组织(WHO)2002年制定的胃癌组织学分类,有4例乳头状腺癌,74例管状腺癌,3例黏液腺癌,19例印戒细胞癌;根据分化程度分类,有6例高分化腺癌,32例中分化腺癌,62例低分化腺癌;14例有远处转移,86例无远处转移;TNM分期,I期20例,II期24例,III期42例,IV期14例。选择正常人胃组织50例作为对照。

## 1.2 方法

免疫组织化学染色同常规方法。兔抗人ZO-1多克隆抗体购自上海亿欣生物科技有限公司。已知阳性对照片作阳性对照。免疫组织化学SP试剂盒及DAB显色试剂盒购自福建迈新生物技术开发有限公司。

## 1.3 免疫组织化学结果判断

由两位病理医师分别双盲阅片,按阳性细胞率和着色强度分别进行计分。每张切片随机选取10个高倍视野,记录阳性细胞的百分率,根据阳性细胞百分率计分:≤5%为0分,6%~25%为1分,26~50%为2分,51%及以上为3分;按染色强度计分:0分为无染色,1分为弱染色、浅黄色,2分为中染色、棕黄色,3分为强染色、棕褐色。阳性细胞百分率和染色强度分数之和为最后得分,即染色指数。染色指数≥4分为高表达,≤3分为低表达。

## 1.4 统计学处理

采用SPSS17.0软件进行分析。免疫组化结果采用 $\chi^2$ 检验。生存分析采用Kaplan-Meier法,组间差异采用Log-Rank检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

# 2 结果

## 2.1 免疫组化染色结果

ZO-1定位于胞膜和胞质。胃癌组织中ZO-1高表达40例(40.0%),癌旁组织中为84例(84.0%),正常胃组织中为42例(84.0%),3组比较差异有统计学意义( $\chi^2=69.989, P=0.000$ )。

## 2.2 胃癌组织ZO-1的表达与临床病理特征的关系

ZO-1的表达在不同年龄、性别、组织学分型之间差异无统计学意义( $P>0.05$ );在分化程度上,由高分化到低分化,ZO-1表达水平逐渐下调;在T分期上,由T<sub>1</sub>到T<sub>4</sub>表达水平下调;在N分期上,由N<sub>0</sub>到N<sub>3</sub>表达水平逐渐下调;有远处转移的患者ZO-1的表达水平明显低于无转移者;在临床分期上,由I期到IV期,表达水平也是逐渐下调(表1)。

## 2.3 ZO-1表达与胃癌患者术后生存率的关系

将100例胃癌按ZO-1表达分为低表达及高表达两组,高表达组的5年总生存率为70.0%(28

表1 胃癌组织中ZO-1表达与临床病理指标的关系

临床病理指标	例数	低表达		高表达		$\chi^2$	P
		例数	百分率(%)	例数	百分率(%)		
年龄(岁)							
≥50	74	46	62.2	28	37.8	0.623	0.448
<50	26	14	53.8	12	46.2		
性别						1.933	0.210
男性	68	38	55.9	30	44.1		
女性	32	22	68.8	10	31.2		
组织学分型						2.978	0.097
乳头状腺癌	4	1	25.0	3	75.0		
管状腺癌	74	45	60.8	29	39.2		
黏液腺癌	3	2	66.7	1	33.3		
印戒细胞癌	19	12	63.2	7	36.8		
分化程度						7.954	0.006
高	6	1	16.7	5	83.3		
中	32	18	56.3	14	43.8		
低	62	41	66.1	21	33.9		
T分期						16.456	0.000
T <sub>1</sub>	14	3	21.4	11	78.6		
T <sub>2</sub>	26	14	53.8	12	46.2		
T <sub>3</sub>	54	39	72.2	15	27.8		
T <sub>4</sub>	6	4	66.7	2	33.3		
N分期						11.222	0.001
N <sub>0</sub>	38	16	42.1	22	57.9		
N <sub>1</sub>	32	22	68.8	10	31.3		
N <sub>2</sub>	22	16	72.7	6	27.3		
N <sub>3</sub>	8	6	75.0	2	25.0		
M分期						6.121	0.015
M <sub>0</sub>	86	49	57.0	37	43.0		
M <sub>1</sub>	14	11	78.6	3	21.4		
临床分期						23.179	0.000
I期	20	5	25.0	15	75.0		
II期	24	14	58.3	10	41.7		
III期	42	29	69.0	13	31.0		
IV期	14	12	85.7	2	14.3		

例), 高于 ZO-1 低表达组 (12 例, 20.0%), 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见图 1。在 I 期, ZO-1 低表达组的 5 年生存率为 60.0% (3 例), 而在高表达组为 93.3% (14 例,  $P = 0.043$ )。在 II 期, 低表达组的 5 年生存率为 42.9% (6 例), 在高表达组为 80.0% (8 例,  $P = 0.041$ )。在 III 期, 低表达组的 5 年生存率为 10.3% (3 例), 而在高表达组为 46.2% (6 例,  $P = 0.04$ )。在 IV 期, 低表达组和高表达组的 5 年生存率均为 0, ZO-1 的表达水平与 5 年生存率没有相关性。单因素分析显示 ZO-1 低表达胃癌患者预后较差 ( $P = 0.000$ )。

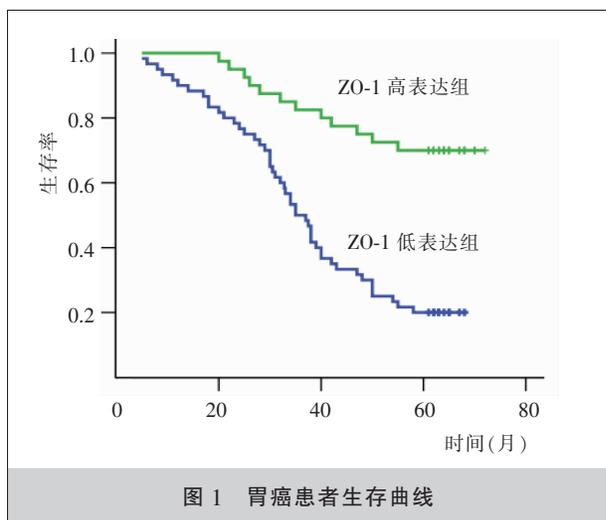


图 1 胃癌患者生存曲线

### 3 讨论

ZO-1 与抑癌基因编码产物同源, 其表达水平变化与肿瘤的发生发展相关。在 ZO-1 与肿瘤关系的研究中, Orban 等<sup>[6]</sup>发现, ZO-1 mRNA 水平在原发性肝癌和肝脏转移性肿瘤中均显著降低; 有学者亦发现, ZO-1 在原发性结肠癌和胃肠道肿瘤中表达下调<sup>[7,8]</sup>; 但 Smalley 等<sup>[9]</sup>发现 ZO-1 mRNA 水平在黑色素细胞瘤中表达上调, 提示 ZO-1 表达上调促进黑色素瘤的发生发展; Hoover 等<sup>[10]</sup>利用免疫组织化学技术检测 ZO-1 在乳腺上皮细胞中的表达, 发现 ZO-1 在正常输乳管和腺体上皮细胞的顶端强烈表达, 但在上皮癌细胞中却出现了胞膜异位至胞浆的异常表达, 并且提示癌组织中腺体的分化程度与 ZO-1 的表达水平呈一定的相关性; Zhang 等<sup>[11]</sup>发现 ZO-1 在乳腺癌和肠癌中表达下调。这些均提示 ZO-1 与

肿瘤的发生发展相关。研究表明, ZO-1 表达的变化调控肿瘤的侵袭转移可能是通过上皮间质转化 (EMT) 途径实现的。EMT 是指具有极性的上皮细胞转换成有活动能力并具备间质表型细胞的过程, 上皮细胞表型的缺失及间质细胞表型的获得是其主要特征。这个过程涉及包含紧密连接和黏附连接的细胞间连接复合体的重组。而在上皮肿瘤的发生发展过程中, 紧密连接 (TJ) 蛋白表达异常导致信号传导功能紊乱引起上皮细胞表型的丢失, 间质表型的获得; 细胞极性功能紊乱引起上皮细胞形态的改变, 使其细胞间的黏附力下降, 而侵袭性增强; 而通透性屏障功能紊乱则导致通透性增加, 有利于肿瘤细胞摄取丰富的营养物质, 从而促进肿瘤细胞的异常增殖<sup>[12]</sup>。

本研究通过免疫组织化学法检测 ZO-1 在胃癌组织标本的表达, 显示大部分胃癌组织表达较低水平的 ZO-1, 这提示在一定程度上 ZO-1 表达下调可能是胃癌的一个普遍特征, 这可能是由于在胃癌的发生中, ZO-1 的结构域断裂, 破坏其与其他细胞连接蛋白的相互连接作用, 使 ZO-1 表达下调。此结论与其他大多数 ZO-1 与肿瘤的研究结论一致。但我们也注意到, 有少数研究提示, 高表达的 ZO-1 能促进肿瘤的发展, 这可能与不同的肿瘤细胞侵袭转移机制不同有关。同时也有研究发现, 在肿瘤组织中 ZO-1 表达在胞膜逐渐下降, 在胞质表达逐渐增多, 这也可能是 ZO-1 异常表达或功能丧失的表现之一。通过进一步分析胃癌组织 ZO-1 低表达的临床意义, 发现 ZO-1 的表达水平与胃癌患者的年龄、性别和组织学类型无关 ( $P > 0.05$ ), 而与肿瘤的分化程度、TNM 分期等有关 ( $P < 0.05$ ), 提示 ZO-1 与胃癌的侵袭转移相关, 这可能是由于在胃癌进展中, ZO-1 的结构域的断裂程度逐渐加重, 结构域的进一步丢失可能导致紧密连接结构和功能的紊乱, 致使肿瘤细胞间的黏附能力进一步下降, 演进而更具侵袭力和转移力的癌细胞; ZO-1 高表达患者的 5 年生存率明显高于低表达患者, 提示 ZO-1 与胃癌患者的预后相关, 可以作为一种预测胃癌患者预后的一种新的标志物。

综上所述, 我们的研究仅是一个单中心的回顾性研究, 结果表明 ZO-1 与胃癌的发生相关, 特别是在胃癌的侵袭转移过程中发挥着重要作用, 但其作用的机制并不完全清楚, 如果 ZO-1 的低表达确实

是促进胃癌细胞侵袭和转移的使动因素之一,那么我们能否通过保护 ZO-1 蛋白的正常表达,从而减慢胃癌细胞的侵袭转移呢?这还需要进一步的大样本、多中心、前瞻性研究来证明。同时,还应该从分子理论探讨 ZO-1 发挥其作用的机制,从而为胃癌的基因治疗提供有效靶点。

### 参考文献:

- [1] Ouakaa-Kchaou A, Elloumi H, Gargouri D, et al. Helicobacter pylori and gastric cancer [J]. *Tunis Med*, 2010, 88(7):459-461.
- [2] Zhan W, Han F. Surgical therapy of gastric cancer in China [J]. *J Pract Oncol*, 2008, 23:91-93.
- [3] Shaw LM. The insulin receptor substrate (IRS) proteins: at the intersection of metabolism and cancer [J]. *Cell Cycle*, 2011, 10(11):1750-1756.
- [4] Umeda K, Ikenouchi J, Katahira-Tayama S, et al. ZO-1 and ZO-2 independently determine where claudins are polymerized in tight-junction strand formation [J]. *Cell*, 2006, 126(4):741-754.
- [5] Laing JG, Manley-Markowski RN, Koval M, et al. Connexin45 interacts with zonula occludens-1 and connexin43 in osteoblastic cells [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(25):23051-23055.
- [6] Orbán E, Szabó E, Lotz G, et al. Different expression of occludin and ZO-1 in primary and metastatic liver tumors [J]. *Pathol Oncol Res*, 2008, 14(3):299-306.
- [7] Kaihara T, Kawamata H, Imura J, et al. Redifferentiation and ZO-1 reexpression in liver metastasized colorectal cancer: possible association with epidermal growth factor receptor-induced tyrosine phosphorylation of ZO-1 [J]. *Cancer Sci*, 2003, 94(2):166-172.
- [8] Ohtani S, Terashima M, Satoh J, et al. Expression of tight-junction-associated proteins in human gastric cancer; down-regulation of claudin-4 correlates with tumor aggressiveness and survival [J]. *Gastric Cancer*, 2009, 12(1):43-51.
- [9] Smalley KS, Brafford P, Haass NK, et al. Up-regulated expression of zonula occludens protein-1 in human melanoma associates with N-cadherin and contributes to invasion and adhesion [J]. *Am J Pathol*, 2005, 166(5):1541-1554.
- [10] Hoover KB, Liao SY, Bryant PJ. Loss of the tight junction MAGUK ZO-1 in breast cancer relationship to glandular differentiation and loss of heterozygosity [J]. *Am J Pathol*, 1998, 153(6):1767-1773.
- [11] Zhang Y, Yeh S, Appleton BA. Convergent and divergent ligand specificity among PDZ domains of the LAP and zonula occludens (ZO) families [J]. *Biol Chem*, 2006, 281(31):22299-22311.
- [12] Xu J, Kausalya PJ, Phua DC, et al. Early embryonic lethality of mice lacking ZO-2, but not ZO-3 reveals critical and nonredundant roles for individual zonula occludens proteins in mammalian development [J]. *Mol Cell Bio*, 2008, 28(5):1669-1678.