

胃肠免疫标志物在胃印戒细胞癌中的表达意义

叶淑芳,毛卫波,黄 渊,刘央央,朱忆凌,黎庆荣,施 骅
(丽水市中心医院,浙江 丽水 323000)

摘要: [目的] 探讨胃肠免疫表型标志物在胃印戒细胞癌中的表达及其与临床病理特征的关系。 [方法] 免疫组织化学 EnVision 法检测 94 例胃印戒细胞癌中胃免疫表型标志物 MUC1、MUC5AC 和肠免疫表型标志物 MUC2、CD10 的表达。 [结果] 胃肠免疫表型标志物表达水平与印戒细胞癌形态学分型无关 ($P>0.05$)。MUC2、CD10 在进展期癌中阳性表达率均显著高于早期癌,差异有统计学意义 ($P<0.01$)。MUC1、MUC5AC 在进展期癌中的阳性表达率均低于早期癌,差异有统计学意义 ($P<0.05$)。生存分析显示,胃型印戒细胞癌 5 年生存率明显高于肠型和混合型印戒细胞癌 ($P<0.05$)。 [结论] 胃型印戒细胞癌的生物行为学和预后均较肠型和混合型印戒细胞癌好。胃肠免疫表型标志物对胃印戒细胞癌的治疗及预后评估有一定的指导意义。
关键词: 胃肿瘤;印戒细胞癌;免疫表型分型;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)10-0753-04

The Expression of Gastric and Intestinal Phenotypic Markers in Gastric Signet-ring Cell Carcinoma

YE Shu-fang, MAO Wei-bo, HUANG Yuan, et al.
(The Central Hospital of Lishui City, Lishui 323000, China)

Abstract: [Purpose] To investigate the expression of gastric and intestinal phenotypic markers in gastric signet-ring cell (SRC) carcinoma and its relationship with clinicopathologic features. [Methods] Gastric phenotypic markers (MUC1 and MUC5AC) and intestinal phenotypic markers (MUC2 and CD10) were detected by immunohistochemistry in 94 cases with SRC carcinoma. [Results] There was no significant association between the expression of gastric and intestinal phenotypic markers and the morphological classification of SRC carcinoma ($P>0.05$). The positive rates of MUC2 and CD10 in advanced gastric carcinoma were significantly higher than those in early gastric carcinoma ($P<0.01$). On the other hand, the rates of MUC5AC and MUC1 expression in advanced gastric carcinoma were significantly lower than those in early gastric carcinoma ($P<0.05$). The 5-year survival rate in patients with gastric type SRC carcinoma was higher than that in intestinal and mixed type SRC carcinoma ($P<0.05$). [Conclusions] The intestinal type and mixed type SRC carcinoma have poorer biologic behavior and prognosis, as compared with the gastric type. Gastric and intestinal phenotypic markers may be useful in predicting prognosis and guiding treatment for patients with gastric signet-ring cell carcinoma.

Subject words: gastric neoplasms; signet-ring cell carcinoma; immunophenotyping; immunohistochemistry

基于临床病理特征的不同,胃癌可分为肠型和弥漫型两类^[1]。近年的流行病学调查显示,胃癌的总体发病率已明显下降^[2],但弥漫型胃癌尤其是印戒细胞癌的发病率却显著升高^[3],因其弥漫性浸润性生长,好发于年轻女性,侵袭力强,预后差,已引起学者们的广泛关注。近年来出现了一些针对胃肠道上皮的特征性标志物,为研究上皮异型增生与印戒细胞癌的发生发展与预后评估提供了新的工具。其中常用的标志物有 MUC1、MUC5AC、MUC6、MUC2、

CD10、CDX2 等,其中 MUC1、MUC5AC 主要表达于胃体、胃窦的胃小凹上皮,是胃小凹细胞的特异性标志物^[1]; MUC6 则局限于胃体的颈黏液细胞和幽门腺上皮,故 MUC5AC 和 MUC6 常被用来作为胃上皮分化的标志物。肠免疫表型特异性标志物 CD10 表达于大小肠吸收上皮的刷状缘^[1], MUC2 表达于大小肠的杯状细胞^[1], CDX2 为肠特异性转录因子,在肠上皮的分化中起重要作用,而这 3 种标志物在正常胃黏膜中无表达。我们应用免疫组织化学方法检测 94 例早、晚期胃印戒细胞癌的免疫表型标志物表达,并探讨其临床病理学特点及意义,为临床治疗和预后

基金项目:丽水市科技计划项目(2010JYZB29)
收稿日期:2012-05-09;修回日期:2012-07-30

的评估提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 资料收集

收集丽水市中心医院 2001~2008 年间手术切除后经病理确诊且临床随访资料较完整的 42 例早期胃印戒细胞癌(癌细胞占 50%以上,浸润深度不超过黏膜下层)和 52 例进展期胃印戒细胞癌(癌细胞占 50%以上,癌细胞浸润肌层及脉管或淋巴结转移)作为研究对象,其中男性 41 例,女性 53 例;年龄 31~78 岁,中位年龄 52.5 岁。均诉有中上腹不适或隐痛;术前未行放化疗。另外随机选取同期 20 例肠型胃癌作为对照。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学染色

采用 EnVision 二步法染色,鼠抗人单克隆抗体 MUC1、MUC2、MUC5AC 和 CD10 均为工作液,连同广谱二抗购自上海长岛公司。免疫组化染色按产品说明书进行,以 PBS 代替一抗作为空白对照。

1.2.2 结果判读

MUC1、MUC2、MUC5AC 蛋白均以细胞质或(和)细胞膜中出现棕黄色颗粒的细胞数 $\geq 10\%$ 为阳性表达(图 1、2)^[1];CD10 定位于细胞膜的管腔面,以阳性细胞比例 $>10\%$ 为确认病变阳性的标准。并根据上述标志物表达水平差异,将胃印戒细胞癌分为 3 型:胃型(仅表达胃型标志物)、肠型(仅表达肠型标志物)和混合型(胃型和肠型标志物均表达)^[4]。

1.2.3 随访

中位随访时间 3 年(1~7 年),患者预后以 5 年累积生存率表示。随访问隔第 1 年为每 3 个月 1 次,第 2 年起为每半年 1 次。随访率 96.2%。

1.3 统计学处理

计数资料的比较采用 χ^2 检验及 Fisher 确切概率检验,统计软件为 SPSS13.0。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 形态学观察

胃印戒细胞癌 I 型(经典型,细胞内含大量黏液,核被推至一侧的典型印戒细胞)80 例;II 型(组

织细胞样型,核居中,类似组织细胞)14 例,未发现 III 型(胞质嗜伊红型)、IV 型(小细胞型)和 V 型(间变细胞型)病例。经统计分析,印戒细胞癌形态学类型与临床病理参数无相关性(表 1)。本组胃印戒细胞癌中,有 10 例存在上皮异型增生过渡为印戒细胞癌的病变,癌旁增殖区上皮呈 MUC5AC 弱阳性表达(图 3);作为对照组的 20 例肠型胃癌病例中,有 18 例可见到异型增生向癌过渡的病变。

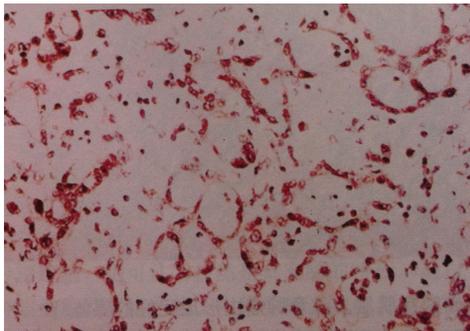


图 1 MUC5AC(红色)呈阳性表达(EnVision 法 $\times 100$)

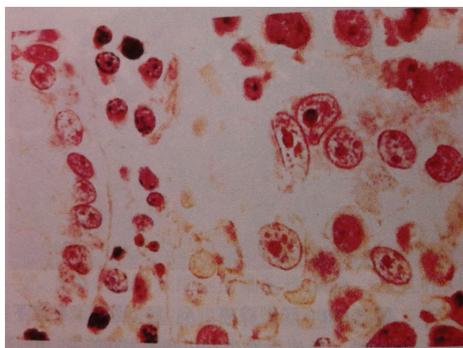


图 2 MUC2 在癌细胞呈强阳性表达(EnVision 法 $\times 100$)

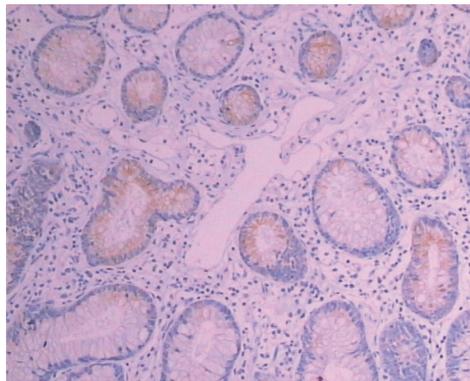


图 3 增殖区细胞呈 MUC5AC 弱表达(EnVision 法 $\times 100$)

表 1 印戒细胞癌形态学类型与不同临床病理特征之间的关系

临床病理因素	例数	I 型	II 型	χ^2	P
性别					
男性	41	36	5	0.418	0.518
女性	53	44	9		
年龄(岁)					
>52	43	34	9	2.279	0.131
≤52	51	46	5		
临床分期					
早期	42	35	7	0.188	0.664
进展期	52	45	7		

2.2 免疫表型分型

本组印戒细胞癌按胃免疫表型标志物 MUC1 和 MUC5AC 的阳性表达和肠免疫表型标志物 MUC2 和 CD10 的阳性表达所呈现的胃、肠型分化特点, 归类为胃型 54 例 (57.4%)、肠型 17 例 (18.1%) 和混合型 23 例 (24.5%)。

2.3 胃、肠免疫表型标志物表达与临床病理特征关系

胃免疫标志物 MUC1 和 MUC5AC 的阳性表达率分别为 14.9% (14 例) 和 76.6% (72 例)。肠免疫表型标志物 MUC2 和 CD10 的阳性表达率分别为 40.4% (38 例) 和 34.0% (32 例)。MUC1 和 MUC5AC 的阳性表达率在进展期癌 (3.8% 和 57.7%) 均显著低于早期癌组 (28.6% 和 95.2%), 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。MUC2 的阳性表达率在进展期癌组 (63.5%)、淋巴结转移组 (73.3%) 均显著高于早期癌组 (11.9%) 和无淋巴结转移组 (50.0%), 差异亦有统计学意义 ($P < 0.05$)。CD10 的阳性表达率在进展期癌组 (55.7%) 和脉管浸润组 (72.0%) 均显著高于早期癌组 (7.1%) 和无脉管浸润组 (40.7%), 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。然而不同性别、年龄间胃、肠免疫表型表达差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2、3。

对照组 20 例肠型胃癌标本中, 6 例癌细胞表达 MUC5AC (胃型), 8 例癌细胞表现肠型分化, 表达 CD10 或 MUC2, 6 例为胃肠混合型。与对照组相比, 印戒细胞癌更容易表现为单纯的胃型分化, 而出现单纯肠型分化的概率较低 ($P < 0.05$)。见表 4。

2.4 免疫表型与预后的关系

本组病例中生存期大于 5 年共 35 例, 其中胃型 25 例 (71.42%), 肠型 3 例 (17.64%), 混合型 7 例 (30.43%)。经生存分析显示, 胃型印戒细胞癌 5 年生存率明显高于肠型和混合型印戒细胞癌 ($P < 0.05$)。见图 4。

表 2 MUC1、MUC5AC、MUC2、CD10 在 94 例胃印戒细胞癌病例中的表达

临床病理因素	例数	MUC1 表达	MUC5AC 表达	MUC2 表达	CD10 表达
性别					
男性	41	6	32	15	13
女性	53	8	40	23	19
年龄(岁)					
>52	43	7	31	18	14
≤52	51	7	41	20	18
临床分期					
早期	42	12	40	5	3
进展期	52	2	32	33	29

表 3 MUC2、CD10 在进展期胃印戒细胞癌病例中的表达

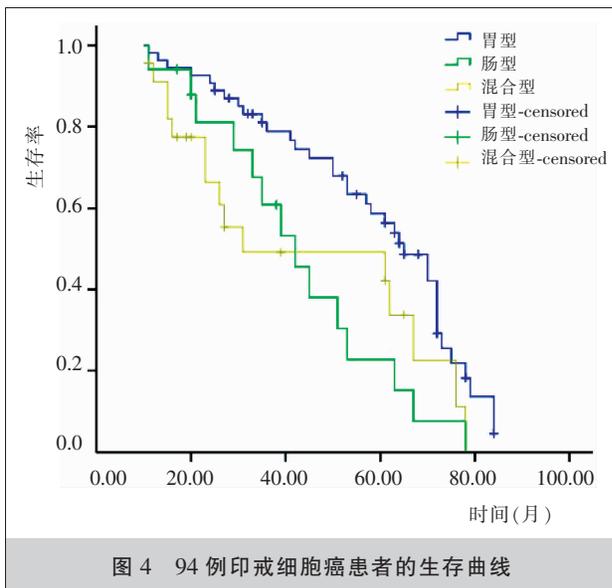
临床病理因素	例数	MUC2 表达	CD10 表达
淋巴结转移			
有	30	22	16
无	22	11	13
脉管浸润			
有	25	20	18
无	27	13	11

表 4 病例组及对照组在分化表型上的关系

分组	胃型	肠型	χ^2	P
病例组(印戒细胞癌)	54	17	4.712	0.030
对照组(肠型胃癌)	6	8		

3 讨论

胃印戒细胞癌均起源于胃黏膜上皮。组织学上胃黏膜的基本结构单位是胃单元 (gastric units), 该结构为单克隆起源^[6], 由胃小凹和胃腺组成, 胃腺依次分为峡部、腺颈和基底部, 其峡部及腺颈上部的细胞增殖活跃, 被称为增殖区。研究表明, 增殖区是胃印戒细胞癌起源的部位^[7], 然而, 这一区域实际上含有多种低分化细胞, 并具有不同分化方向^[8], 印戒细胞癌究竟来源于增殖区的何种细胞, 目前尚不清楚。近年来, 随着肿瘤干细胞学说的兴起, 有学者提出了胃癌干细胞的概念, 并认为胃癌干细胞是驱动胃癌发生和发展的根源^[9,10], 这在针对胃癌细胞系的研究中也获得初步证据^[11], 而在胃印戒细胞癌中, Humar 等^[11]发现同一癌灶内的印戒细胞其 CDH 基因甲基化的位点相同, 说明病灶具有单克隆性, 起源于同一始祖细胞, 提示胃印戒细胞癌内可能存在胃癌干细胞。另据研究报道, 与结直肠腺瘤形成有重要关系的抑癌基因 APC 在小鼠的结肠干细胞失活后可诱发



腺瘤形成,并可演进为腺癌^[12],这也支持胃干细胞是印戒细胞癌的起源细胞具有一定的合理性。

有关胃印戒细胞癌是否存在癌前病变目前仍有不同观点, Humar 等^[5]认为增殖区细胞由于 *CDH1* 基因失活导致细胞失去黏附性和分化极性,直接从腺体基板上脱离进入间质,形成了印戒细胞癌,这一发生模式并不包括上皮内瘤变的阶段,但周志华等^[1]观察印戒细胞癌标本发现,癌旁黏膜内存在印戒细胞癌病灶和上皮内瘤变细胞,说明胃印戒细胞癌的发生同其他类型的肿瘤一样,是一个多步骤多阶段的过程,而上皮内瘤变可能为此类肿瘤的癌前病变。本组有 12 例和 9 例存在癌旁上皮内瘤变细胞,其免疫表型分别为混合型和胃型,提示含有混合型和胃型分化的上皮内瘤变可能是印戒细胞癌的癌前病变,而肠型分化的上皮内瘤变与印戒细胞癌无明显相关性。

胃、肠免疫表型标志物在胃印戒细胞癌组织中的表达结果显示两种肠上皮表型标志物 MUC2 和 CD10 在进展期癌中阳性率均显著高于早期癌。相反,两种胃上皮表型标志物 MUC1 和 MUC5AC 在进展期癌中阳性率则显著低于早期癌,这提示随着肿瘤的进展、浸润的加深与转移,胃免疫表型表达率下降,而肠免疫表型表达率则明显上升,肿瘤组织存在胃免疫表型向肠免疫表型的转换。此外,在淋巴结转移阳性组和脉管浸润组中, MUC2 和 CD10 的阳性表达率均显著增高,这些结果表明肿瘤的免疫表型标志物表达模式可能反映肿瘤侵袭与转移潜能,肠免疫表型标志物与印戒细胞癌生物学行为恶性度高易

侵袭与转移密切相关,提示检测印戒细胞癌组织中胃、肠免疫表型标志物在一定程度上反映了胃印戒细胞癌不同的临床生物学行为。根据胃肠免疫表型标志物在胃印戒细胞癌中的表达可将其分为胃型、肠型和混合型,3 种分型印戒细胞癌的功能分化诊断,对指导患者治疗和预后的评估具有一定的参考价值。

临床上,胃印戒细胞癌好发于年轻女性,其总体预后较肠型胃癌差,被诊断时多处于中晚期。而发生于 *E-cadherin* 基因种系突变背景之下且又非常年轻的个体,并且出现多部位的黏膜内印戒细胞癌则应高度怀疑这种遗传综合征^[13]。本研究结果也提示胃腺上皮内瘤变与印戒细胞癌的关系,并提出伴有胃型和胃肠型分化的上皮内瘤变是胃印戒细胞癌的癌前病变,也支持肿瘤来自局部干细胞或多种前体细胞的假设,对此类胃癌的防治可能具有一定意义。

参考文献:

- [1] 周志华,赵海滨,张建东,等.胃上皮异型增生在印戒细胞癌发生中的作用[J].实用医学杂志,2009,25(22):3791-3795.
- [2] Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistics, 2008[J]. CA Cancer J Clin, 2008, 58(2):71-96.
- [3] 周志华,张建东,赵海滨,等.胃印戒细胞癌的起源及其癌前病变的病理学[J].世界华人消化杂志,2010,18(19):2001-2006.
- [4] Yamazaki K, Tajima Y, Makino R, et al. Tumor differentiation phenotype in gastric differentiated-type tumors and its relation to tumor invasion and genetic alteration[J]. World J Gastroenterol, 2006, 12(24):3803-3809.
- [5] Humar B, Guilford P. Hereditary diffuse gastric cancer and lost cell polarity: a short path to cancer [J]. Future Oncol, 2008, 4(2):229-239.
- [6] McDonald SA, Greaves LC, Gutierrez-Gonzalez L, et al. Mechanisms of field cancerization in the human stomach: the expansion and spread of mutated gastric stem cells[J]. Gastroenterology, 2008, 134(2):500-510.
- [7] Humar B, Fukuzawa R, Blair V, et al. Destabilized adhesion in the gastric proliferative zone and c-Src kinase activation mark the development of early diffuse gastric cancer[J]. Cancer Res, 2007, 67(6):2480-2489.
- [8] Karam SM, Straiton T, Hassan WM, et al. Defining epithelial cell progenitors in the human oxyntic mucosa[J]. Stem Cells, 2003, 21(3):322-336.
- [9] Takaishi S, Okumura T, Wang TC. Gastric cancer stem cells[J]. J Clin Oncol, 2008, 26(17):2876-2882.
- [10] Takaishi S, Okumura T, Tu S, et al. Identification of gastric cancer stem cells using the cell surface marker CD44 [J]. Stem Cells, 2009, 27(5):1006-1020.
- [11] Humar B, Blair V, Charlton A, et al. E-cadherin deficiency initiates gastric signet-ring cell carcinoma in mice and man[J]. Cancer Res, 2009, 69(5):2050-2056.
- [12] Barker N, Ridgway RA, van Es JH, et al. Crypt stem cells as the cells-of-origin of intestinal cancer [J]. Nature, 2009, 457(7229):608-611.
- [13] Rogers WM, Dobo E, Norton JA, et al. Risk-reducing total gastrectomy for germline mutations in E-cadherin(CDH1): pathologic findings with clinical implication[J]. Am J Surg Pathol, 2008, 32(6):799-809.