

胃癌中 Musashi-1 及 Thy-1 的表达及临床意义

黎美仁¹ 程林¹ 李婷¹ 魏淑飞¹ 袁燕平¹ 王丽丽^{2*}

(1 九江学院附属医院病理科; 2 九江市妇幼保健院儿内科门急诊护理单元)

【摘要】目的 探讨胃癌中 Musashi-1 及 Thy-1 的表达及临床意义。方法 应用免疫组化染色方法检测 120 例胃腺癌及相应癌旁组织中 Musashi-1 及 Thy-1 的表达, 分析两者表达与胃癌临床病理特征之间的关系。结果 1. Musashi-1 在胃腺癌及癌旁组织中的阳性率分别为 19.2% 及 1.7%, 二者中 Musashi-1 的表达差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 对比胃腺癌中 Musashi-1 表达仅在有无淋巴结转移及不同临床分期期间的差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。2. Thy-1 在胃腺癌及癌旁组织中的强阳性率分别为 32.5% 及 3.33%, 二者中 Thy-1 的表达差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 胃腺癌中 Thy-1 表达也仅在有无淋巴结转移及不同临床分期期间的差异 ($P < 0.05$)。3. 胃腺癌组织中 Musashi-1 与 Thy-1 的表达存在正相关 ($r=0.205, P=0.025 < 0.05$)。结论 干细胞标记物 Musashi-1 及 Thy-1 在胃癌中的表达呈正相关, 与胃腺癌的发生、发展密切相关。

【关键词】胃腺癌; 肿瘤干细胞; Musashi-1; Thy-1; 免疫组化

Expression and clinical significance of Musashi-1 and Thy-1 in gastric cancer (

Li Meiren¹ Cheng Lin¹ Li Ting¹ Wei Shufei¹ Yuan Yanping¹ Wang Lili^{2*}

(1. Department of Pathology, Affiliated Hospital of Jiujiang University;

2. Outpatient and emergency nursing unit of Pediatric Medicine Department of Jiujiang Maternal and Child Health Care Hospital)

[Abstract] Objective To investigate the expression and clinical significance of Musashi-1 and Thy-1 in gastric cancer. Methods The expression of Musashi-1 and Thy-1 in 120 cases was analyzed, and the relationship between the expression and the clinicopathological features was analyzed. Results 1. The positive rate of Musashi-1 in gastric adenocarcinoma and adjacent cancer tissues were 19.2% and 1.7% respectively, and the difference of Musashi-1 expression was statistically significant ($P < 0.05$); the difference of Musashi-1 expression in gastric adenocarcinoma was only significant in the presence of lymph node metastasis and during different clinical stages ($P < 0.05$). 2. The strong positive rate of Thy-1 in gastric adenocarcinoma and adjacent tissues was 32.5% 3% and 3.33% respectively, and the difference of Thy-1 expression was statistically significant ($P < 0.05$); Thy-1 expression in gastric adenocarcinoma was only different in the presence of lymph node metastasis and in different clinical periods ($P < 0.05$). 3. There was a positive correlation between Musashi-1 and Thy-1 expression in gastric adenocarcinoma tissues ($r=0.205, P=0.025 < 0.05$). Conclusion The expression of the stem cell markers Musashi-1 and Thy-1 in gastric cancer are closely related to the occurrence and development of gastric adenocarcinoma.

[Key words] gastric adenocarcinoma; tumor stem cells; Musashi-1; Thy-1; immunohistochemistry

胃癌是最常见的消化道恶性肿瘤, 而 70% 的胃癌发生在发展中国家。在我国, 胃癌的发病率高居所有恶性肿瘤的第二位, 病死率排名第三, 严重威胁了人们的生命健康^[1]。众所周知, 胃癌的发生、发展是多因素共同作用的结果, 多数患者确诊时已经处于中晚期, 如何提高患者的生存期及生活质量变得尤为关键。Musashi-1 及 Thy-1 作为肿瘤干细胞的标记物, 能否成为新型靶向药物的靶点值得期待。本研究通过免疫组化 MaxVision 法检测胃腺癌组织中 Musashi-1 及 Thy-1 蛋白的以及其与临床病理特征间的关系, 进而探讨二者与胃癌发生、发展及转移中的作用, 为评估患者预后及相应治疗提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

收集 2013~2015 年九江学院附属医院胃腺癌根治标本 120 例, 其中男性 86 例, 女性 34 例; 年龄 33~81 岁, 中位年龄 62 岁。取距离肿瘤大于 5cm 处胃黏膜作为对照组织, 每例标本的病理组织学诊断都经过两位有经验的高年资病理医师重新复片、审核。

1.2 试剂

浓缩型兔抗人 Musashi-1 及 Thy-1 抗体 (工作浓度 1:200, 上海碧云天生物技术有限公司); MaxVision 试剂盒及 DAB 显色试剂均购自福州迈新生物公司。

1.3 方法

所有标本均经 10% 中性缓冲福尔马林固定, 石蜡包埋, 4 μ m 切片, 于二甲苯及梯度乙醇溶液中脱蜡水洗。免疫组化采用 MaxVision 法, 应用 PBS 代替一抗作为阴性对照, 已

知阳性片作为阳性对照，按照试剂说明书进行操作。

1.4 结果判定

免疫组化结果由两位有经验的高年资病理医师采用双盲法独立阅片做出判断。判读标准：Musashi-1 阳性定位于细胞质或细胞核，Thy-1 阳性定位于细胞质，用半定量的方法对切片的染色面积及染色强度分别进行评分。其中染色面积评分标准如下：着色面积 > 2/3 计为 3 分，1/3~2/3 计为 2 分，< 1/3 计为 1 分，无着色计为 0 分；染色强度评分如下：黄褐色计为 3 分，棕黄色计 2 分，淡黄色计为 1 分，无色计为 0 分；两项分数和大于或等于 3 分即为阳性，反之即为阴性。

1.5 统计学方法

采用 SPSS19.9 软件进行数据处理及统计学分析，技术资料以例数或百分率表示，组间比较采用 χ^2 检验，各指标相关性分析采用 Spearman 分析，结果以 $P < 0.05$ 有统计学意义。

2 结果

表 1 Musashi-1 和 Thy-1 表达与胃腺癌临床病理参数间的关系

临床病理参数	例数	Musashi-1 阳性率		χ^2	P 值	Thy-1 强阳性率		χ^2	P 值	
		n	%			n	%			
性别	男	86	14	16.3	1.634	0.201	28	32.6	0.000	0.983
	女	34	9	26.4			11	32.4		
年龄	> 60 岁	72	16	22.2	1.085	0.298	24	33.3	0.057	0.811
	≤ 60 岁	48	7	14.6			15	31.3		
肿瘤直径	> 5cm	22	6	27.3	1.143	0.285	10	45.5	2.061	0.151
	≤ 5cm	98	17	17.3			29	29.6		
Lauren 分级	弥漫型	46	5	10.9	3.315	0.067	19	41.3	2.636	0.104
	肠型	74	18	24.3			20	27.01		
脉管瘤栓	有	44	12	27.3	2.946	0.086	18	40.9	2.239	0.135
	无	76	11	14.5			21	27.6		
淋巴结转移	有	73	19	26.0	5.663	0.017	29	39.7	4.436	0.035
	无	47	4	8.5			10	21.3		
临床分期	I + II	68	8	11.8	5.549	0.018	15	22.1	7.798	0.005
	III + IV	52	15	28.8			24	38.5		

表 2 Musashi-1 及 Thy-1 在胃腺癌中表达的相关性 / 例

Thy-1	Musashi-1		r	P
	阴性	阳性		
阴性	70	11	0.205	0.025
阳性	27	12		

2.3 相关性分析

在 120 例胃腺癌组织中，Musashi-1 及 Thy-1 同时阳性者 12 例，二者同时阴性 70 者例，Musashi-1 阳性同时 Thy-1 阴性者 11 例，Musashi-1 阴性同时 Thy-1 阳性者 27 例，经 Spearman 等级相关性分析结果提示，胃腺癌中 Musashi-1 与 Thy-1 表达存在正相关 ($r=0.205$, $P=0.025 < 0.05$)。(见表 2)

2.1 120 例胃腺癌及其癌旁组织中 Musashi-1 和 Thy-1 的表达

120 例胃腺癌患者中，Musashi-1 蛋白阳性率 19.2% (23/120)，癌旁组织中 Musashi-1 表达率 1.7% (2/120)，比较二者间差异， P 值 < 0.01 ($\chi^2=19.691$, $P=0.000$)，差异存在显著统计学意义；Thy-1 强阳性率 32.5% (39/120)，癌旁组织中 Thy-1 表达率 3.33% (4/120)，比较二者间差异， P 值 < 0.01 ($\chi^2=34.707$, $P=0.000$)，差异存在显著统计学意义。

2.2 120 例胃腺癌中 Musashi-1 和 Thy-1 表达与各临床病理参数间的关系

120 例胃腺癌患者 Musashi-1 蛋白的表达仅在有无淋巴结转移 ($\chi^2=5.663$, $P=0.017$) 和不同临床分期 ($\chi^2=5.549$, $P=0.018$) 间的差异有统计学意义 (< 0.05)；同样，Thy-1 蛋白的表达也仅在有无淋巴结转移 ($\chi^2=4.436$, $P=0.035$) 和不同临床分期 ($\chi^2=7.798$, $P=0.005$) 间的差异有统计学意义 (< 0.05)；两种蛋白在不同性别、年龄、肿瘤大小、Lauren 分型及有无脉管瘤栓之间的表达差异均不存在统计学意义 ($P > 0.05$)。(见表 1)；

3 讨论

Musashi-1 是一类进化保守型的 RNA 结合蛋白，位于染色体 12q24 和 1q24.31，内含 14 个外显子，最初发现在果蝇中，与果蝇的感觉器官的细胞分化有关。人类中 Musashi-1 蛋白通常在中枢神经系统干细胞及祖细胞中高表达^[9]。

Musashi-1 作为一种癌基因, 通过激活 Wnt 和 Notch 通路, 从而抑制 Numb 和 P21 通路的表达, 促进细胞增殖, 抑制细胞凋亡, 最终导致肿瘤的发生^[4]。Takahashi 等^[5]研究认为 Musashi-1 作为胃肠道干/祖细胞的标记物, 通过增强 m-Numb 蛋白表达, 能够促进胃黏膜再生过程。Sureban 等^[6]通过实验发现, 通过 siRNA 介导, 敲低 Musashi-1 表达, 可诱导肿瘤抑制 miRNA 的表达增加, 有效的抑制肿瘤的活性。在多种肿瘤中存在 Musashi-1 的异常表达, 如: 胶质瘤、膀胱癌、口腔鳞状上皮癌、子宫内膜癌、结肠癌等, 与肿瘤发生发展和预后存在密切关系^[7-11]。有学者等研究发现 Musashi-1 在肠化生、不典型增生及侵袭性胃癌中表达增强, 明显高于正常胃黏膜^[12]。国内 SHOU 等^[13]的一项研究表明, 胃癌中 Musashi-1 的表达与肿瘤的脉管瘤栓及 TNM 分期密切相关, 同时指出在相同 TNM 分期中, Musashi-1 低表达的患者的平均生存期明显高于高表达患者, 认为 Musashi-1 蛋白表达水平是胃癌患者生存率的独立预后指标。本组研究结果显示, 胃腺癌中 Musashi-1 蛋白存在过表达, 明显高于癌旁组织, 同时 Musashi-1 蛋白的表达在有无淋巴结转移和不同临床分期期间的差异有统计学意义 (< 0.05)

Thy-1, 又称 CD90, 属于细胞黏附分子免疫球蛋白家族, 借助甘油二酯锚定于糖基磷脂酰肌醇羧基端而附着于细胞膜, 在内皮细胞、平滑肌细胞、成纤维细胞以及多种干细胞中表达。最初发现于小鼠白血病细胞的异种抗血清实验中, 称为 Thy-1 抗原, 是小鼠 T 淋巴细胞的同种异体抗原^[14]。

参考文献:

- [1]国家消化系统疾病临床医学研究中心, 中华医学会消化内镜学分会, 中华医学会健康管理学分会, 等.中国早期胃癌筛查流程专家共识意见(草案 2017年, 上海)[J].中华消化内镜杂志, 2018, 35(2): 77-83.
- [3]Macnicol A M, Hardy L L, Spencer H J, et al.Neural stem and progenitor cell fate transition requires regulation of Musashi 1 function[J].Bmc Developmental Biology, 2015, 15(1): 15.
- [4]Lan L, Appelman C, Smith A R, et al.Natural product (-) - gossypol inhibits colon cancer cell growth by targeting RNA - binding protein Musashi - 1[J].Molecular Oncology, 2015, 9(7): 1406-1420.
- [5]Tetsufumi T, Hidekazu S, Takao I, et al.Musashi-1 Post-Transcriptionally Enhances Phosphotyrosine-Binding Domain-Containing m-Numb Protein Expression in Regenerating Gastric Mucosa[J].Plos One, 2013, 8(1): e53540.
- [6]Sureban S M, Qu D, Houchen C W.Regulation of miRNAs by agents targeting the tumor stem cell markers DCLK1, MSI1, LGR5, and BMI1[J].Curr Pharmacol Rep.2015, 1(4): 217-222.
- [7]Dahlrot R H, Hansen S, Herrstedt J, et al.Prognostic value of Musashi-1 in gliomas[J].Journal of Neuro-Oncology, 2013, 115(3): 453-461.
- [8]Nikpour P, Mowla S J, Forouzandehmoghaddam M, et al.The stem cell self-renewal gene, Musashi 1, is highly expressed in tumor and non-tumor samples of human bladder [J].Indian Journal of Cancer, 2013, 50(3): 214-218.
- [9]Ravindran G, Devaraj H.Aberrant expression of CD133 and musashi - 1 in preneoplastic and neoplastic human oral squamous epithelium and their correlation with clinicopathological factors[J].Head & Neck, 2012,

*通讯作者: *王丽丽

基金项目: 江西省教育厅科学技术研究一般项目, 编号 GJJ190908 江西省卫生健康委科技计划, 编号 20197213。

人 Thy-1 于 1980 年在 MOLT-3 T 淋巴细胞株中分离出来^[15], 染色体位于 q22.3 节段^[16]。在体内实验中, Thy-1 阳性的胃癌细胞比 Thy-1 阴性的胃癌细胞具有更强的致瘤能力, 并能从单个肿瘤细胞中重建分级肿瘤, 显示其自我更新特性^[17]。另有实验显示^[18], THY-1 在营养供应不足的情况下, 能促进胃癌细胞增殖, 降低胃癌细胞凋亡率。Thy-1 在细胞-细胞、细胞-细胞质之间以及细胞与细胞外基质之间起着重要的调节作用。如在乳腺癌模型中, Thy-1 通过与肿瘤细胞间和旁分泌网络的相互作用, 促进了肿瘤的侵袭和迁移^[19]。有研究报道, Thy-1 在多种恶性肿瘤中表达, 如乳腺癌、鼻咽癌、肝癌以及宫颈癌等, 显示了 Thy-1 与预后的相关性, Thy-1 可以作为肿瘤患者预后的潜在标记物。在一组 96 例胃癌的研究中发现, Thy-1 在胃癌组织中的表达量显著高于癌旁组织和慢性胃炎组织, 并随 TNM 分期升高而升高, 认为其参与了胃癌的进展及转移过程^[20]。最近研究表明^[21], Thy-1 是通过靶向 PI3K/AKT/HIF-1 α 信号通路影响胃癌细胞的生物学行为和能量代谢水平。本组研究结果显示, Thy-1 蛋白在胃腺癌中存在过表达, 远高于癌旁组织, 同时存在淋巴结转移及临床分期高的患者中 Musashi-1 蛋白的表达明显升高, 且与无淋巴结转移及临床分期低的患者间差异有统计学意义 (< 0.05)

不难看出, Musashi-1 及 Thy-1 在胃癌的发生发展过程中发挥了重要作用, 同时也是新型靶向药物的潜在靶点。