

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.01.005

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2020.01.005>

内镜活检胃癌组织中 MUC3A, MUC13 表达及与病理参数和预后的关系

沙金平, 刁云辉, 薛萌

(南阳市中心医院消化内科, 河南 南阳 473000)

[摘要] 目的: 探讨内镜活检胃癌组织中黏蛋白3A(MUC3A)、黏蛋白13(MUC13)表达及与病理参数和预后的关系。方法: 选取2013年1月至2014年12月南阳市中心医院肿瘤科收治的接受内镜活检的116例患者胃癌组织和癌旁正常组织进行分析, 采用免疫组织化学法检测所有组织样本中MUC3A, MUC13表达, 观察二者表达情况, 并分析二者与临床病理参数及预后的关系。结果: 胃癌患者组织MUC3A, MUC13阳性率分别为68.97%和66.38%, 高于正常组织的32.76%和7.76%($P<0.05$); 胃癌组织中MUC3A, MUC13表达与年龄、性别、肿瘤大小无关($P>0.05$), 与组织分化、浸润深度、TNM分期、淋巴结转移有关($P<0.05$); 随访5年结果显示: 胃癌组织中MUC3A阳性患者中位生存时间为(40.50±1.95)个月, 低于阴性患者的(48.67±2.51)个月($P<0.05$), MUC3A阳性患者预后5年生存率为32.50%, 低于阴性患者的55.56%($P<0.05$); MUC13阳性患者中位生存时间为(38.52±1.92)个月, 低于阴性患者的(49.06±2.71)个月($P<0.05$), MUC13阳性患者预后5年生存率为30.00%, 低于阴性患者的61.11%($P<0.05$); COX多因素回归分析显示: TNM分期, 淋巴结转移, MUC3A, MUC13是影响胃癌预后的独立危险因素($P<0.05$)。结论: MUC3A, MUC13在胃癌组织中呈高表达, 且与临床病理参数及预后密切相关, 二者均有望作为判定胃癌发生发展及预后评估的参考指标。

[关键词] 胃癌; 黏蛋白3A; 黏蛋白13; 病理参数; 预后

Expressions of MUC3A and MUC13 in endoscopic biopsy of gastric cancer tissues and their relationships with pathological parameters and prognosis

SHA Jinping, DIAO Yunhui, XUE Meng

(Department of Gastroenterology, Nanyang Central Hospital, Nanyang Henan 473000, China)

Abstract **Objective:** To investigate the expressions of mucin 3A (MUC3A) and mucin 13 (MUC13) in endoscopic biopsy of gastric cancer and their relationships with pathological parameters and prognosis. **Methods:** A total of 116 cases of gastric cancer tissues and adjacent normal tissues which underwent endoscopic biopsy in the Oncology Department of our hospital from January 2013 to December 2014 were selected, the expressions of

收稿日期 (Date of reception): 2019-04-03

通信作者 (Corresponding author): 沙金平, Email: svyoyj6@163.com

MUC3A and MUC13 in all tissue samples were detected by immunohistochemistry, the relationships between them with clinicopathological parameters and prognosis were analyzed. **Results:** The positive rates of MUC3A and MUC13 in gastric cancer tissues were 68.97% and 66.38%, respectively, which were higher than those in normal tissues (32.76% and 7.76%, $P<0.05$); the expressions of MUC3A and MUC13 in gastric cancer tissues were not related to age, sex and tumor size ($P>0.05$), but to tissue differentiation, depth of invasion, TNM stage and lymph node metastasis ($P<0.05$); the results of 5-year follow-up showed that the median survival time of MUC3A positive patients in gastric cancer tissues was (40.50±1.95) months, which was lower than (48.67±2.51) months of negative patients ($P<0.05$), the 5-year survival rate of MUC3A positive patients was 32.50%, which was lower than 55.56% of negative patients ($P<0.05$); the median survival time of MUC13 positive patients was (38.52±1.92) months, which was lower than (49.06±2.71) months of negative patients ($P<0.05$), the 5-year survival rate of MUC13 positive patients was 30.00%, which was lower than 61.11% of negative patients ($P<0.05$); COX multivariate regression analysis showed that TNM stage, lymph node metastasis, MUC3A and MUC13 were independent risk factors affecting the prognosis of gastric cancer ($P<0.05$). **Conclusion:** MUC3A and MUC13 are highly expressed in gastric cancer tissues, which are closely related to clinicopathological parameters and prognosis. Both of them are expected to be used as reference indicators for judging the occurrence, development and prognosis of gastric cancer.

Keywords gastric cancer; mucin 3A; mucin 13; pathological parameters; prognosis

胃癌是临床常见消化道恶性肿瘤之一, 其全球范围内病死率居恶性肿瘤第2位, 国内居于第3位, 是导致恶性肿瘤患者死亡的主要病因之一, 严重威胁患者生命健康^[1]。胃癌临床主要采用手术综合治疗, 早期患者5年生存率高达95%, 但其早期无特征性症状, 加之国内胃癌早期筛查机制不健全, 大部分患者确诊时已发展为进展期胃癌, 增加手术病灶清除难度, 术后5年生存率仅为30.0%~57.1%^[2]。因此, 寻求胃癌有效的治疗及预后评估指标成为医学研究的热点。黏蛋白(mucin, MUC)参与多种疾病发生发展, MUC3A, MUC13是MUC家族重要组成成员, 在结肠癌、肝外胆管癌等消化道恶性肿瘤中呈阳性表达, 并参与肿瘤发生发展。研究^[3-4]发现: MUC13在胃癌组织中呈阳性表达, 而关于MUC3A在胃癌组织中表达及对预后影响的研究报道较少。因此, 本研究旨在探讨内镜活检胃癌组织中MUC3A, MUC13表达及与病理参数和预后的关系。

1 对象与方法

1.1 对象

选取2013年1月至2014年12月南阳市中心医院肿瘤科收治的接受内镜活检的116例患者胃癌组织和癌旁正常组织进行研究, 纳入标准: 1)经病理

组织学确诊; 2)入组前无手术、放化疗及其他针对胃癌的治疗; 3)患者对本研究详细了解, 并签署知情同意书; 4)经南阳市中心医院伦理委员会审核批准。排除标准: 1)有胃部疾病手术史者; 2)经专家确诊预测生存期低于3个月者; 3)合并严重糖尿病、高血压等慢性代谢疾病者; 4)合并白血病、血小板减少症等血液系统疾病者; 5)合并类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮等自身免疫缺陷性疾病者; 6)合并其他部位恶性肿瘤者; 7)妊娠期或哺乳期患者。

1.2 试剂与仪器

小鼠抗MUC3A(编号: ab199260)抗体购自美国LifeSpan Biosciences公司, 兔抗人MUC13(编号: ab235450)抗体购自香港Abcam公司, SP免疫组织化学试剂盒、DAB显色液均购自北京中杉金桥生物科技有限公司, LEICA-RM2025组织切片机购自上海徕卡仪器有限公司。

1.3 方法

采用链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶连接法(SP法)免疫组织化学染色, PBS作阴性对照, 步骤如下: 1)切片机制备4 μm石蜡切片, 脱蜡和梯度脱水; 2)PBS反复冲洗3次; 3)3% H₂O₂溶液浸泡切片10 min, 清除内源性过氧化氢酶; 4)PBS

反复冲洗3次; 5)滴加山羊血清封闭切片, 室温15 min, 弃血清; 6)分别滴加1~2滴MUC3A(1:150稀释)、MUC13(1:200稀释)一抗工作液, 湿盒内4℃过夜; 7)PBS反复冲洗3次; 8)滴加辣根过氧化物酶标记二抗工作液, 室温孵育15 min; 9)PBS反复冲洗3次; 10)滴加SP工作液, 室温孵育15 min; 11)PBS反复冲洗3次; 12)滴加1~2滴现配DAB显色液, 自来水冲洗终止显色; 13)苏木精复染3 min, 乙醇脱水, 二甲苯透明, 中性胶封片。

1.4 染色结果判定

MUC3A和MUC13染色均定位于细胞质, 高倍镜随机选5个视野, 以染色深度和阳性细胞比例判断结果。细胞着色强度断标准: 不着色为0分, 浅黄色为1分, 棕黄色为2分, 棕褐色为3分。阳性细胞百分比判断: <30%为1分, 30%~70%为2分, >70%为3分。细胞着色强度计分和阳性细胞数占百分比评分乘积为最终积分, 0~1分为阴性(-), 1~2分为弱阳性(+), 2~3分为中度阳性(++), ≥4分为强阳性(+++)^[5]。

1.5 统计学处理

采用SPSS 19.0统计软件处理实验数据, 计数资料用率(%)描述, 两组间或多组间非等级资料比较采用卡方检验; 多组间等级资料比较采用Mann-Whitney U法; 采用Kaplan-Meier法来衡量生存时间, 采用COX比例回归模型分析影响预后的独立因素, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胃癌患者基本资料

116例患者中, 男78例, 女38例; 组织分化: 高分化18例, 中分化39例, 低分化59例; 浸润深度: 黏膜及黏膜下16例, 肌层35例, 浆膜及浆膜外65例; TNM I期20例, II期40例, III期51例, IV期5例; 淋巴结转移31例, 无转移85例(表1)。

2.2 胃癌组织中 MUC3A, MUC13 阳性表达情况

胃癌组织MUC3A阳性率为68.97%, 高于正常组织的32.76%($P<0.05$), MUC13阳性率为66.38%, 高于正常组织的7.76%($P<0.05$; 表2, 图1)。

表1 胃癌患者基本资料

Table 1 Basic data of patients with gastric cancer

指标	例数(%)
性别	
男	78 (67.24)
女	38 (32.76)
组织分化	
高分化	18 (15.52)
中分化	39 (33.62)
低分化	59 (50.82)
浸润深度	
黏膜及黏膜下	16 (13.79)
肌层	35 (30.17)
浆膜及浆膜外	65 (56.03)
TNM分期	
I	20 (17.24)
II	40 (34.48)
III	51 (43.97)
IV	5 (4.31)
淋巴结转移	
是	31 (26.72)
否	85 (73.28)

表2 胃癌组织中MUC3A, MUC13阳性率($n=116$)

Table 2 Positive rates of MUC3A and MUC13 in gastric cancer tissues ($n=116$)

组别	MUC3A			MUC13		
	阳性/例	阴性/例	阳性率/%	阳性/例	阴性/例	阳性率/%
正常组织	38	78	32.76	9	107	7.76
胃癌组织	80	36	68.97	77	39	66.38
χ^2	30.423			85.439		
P	<0.001			<0.001		

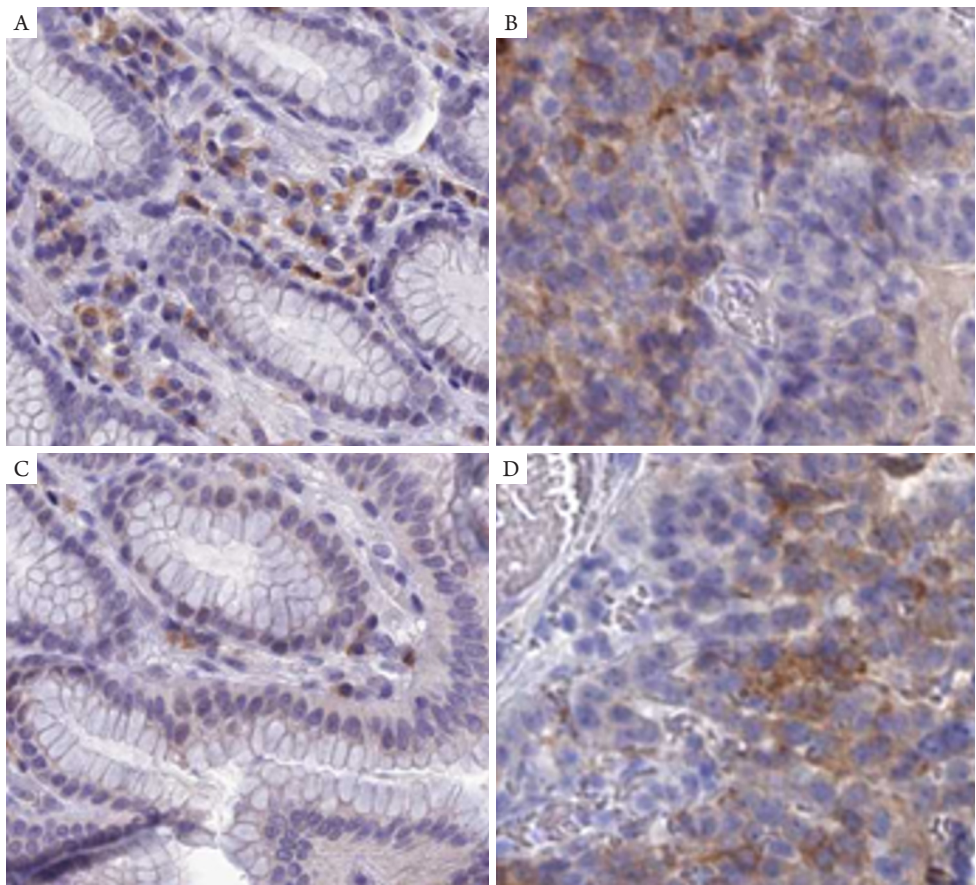


图1 胃癌组织和癌旁组织中MUC3A, MUC13免疫组织化学染色结果(SP, × 200)

Figure 1 Immunohistochemical staining results of MUC3A and MUC13 in gastric cancer tissues and adjacent tissues (SP, × 200)

(A)癌旁组织中MUC3A阴性表达;(B)胃癌组织中MUC3A阳性表达;(C)癌旁组织中MUC13阴性表达;(D)胃癌组织中MUC13阳性表达。

(A) Negative expression of MUC3A in adjacent tissues; (B) Positive expression of MUC3A in gastric cancer tissues; (C) Negative expression of MUC13 in adjacent tissues; (D) Positive expression of MUC13 in gastric cancer tissues.

2.3 MUC3A, MUC13 表达与临床病理参数关系

胃癌组织中MUC3A, MUC13在年龄、性别、肿瘤大小中表达差异无统计学意义($P>0.05$), MUC3A, MUC13在组织分化、浸润深度、TNM分期、淋巴结转移中表达差异有统计学意义($P<0.05$, 表3)。

2.4 MUC3A, MUC13 表达与胃癌患者预后关系

随访期间死亡患者以死亡时间为随访结束时间, 随访期间仍存活患者随访5年结束。胃癌组织中MUC3A阳性患者生存时间为(40.50±1.95)个月, 低于阴性患者的(48.67±2.51)个月($P<0.05$), MUC3A阳性患者预后5年生存率为32.50%, 低于

阴性患者的55.56%($P<0.05$, 图2); MUC13阳性患者生存时间为(38.52±1.92)个月, 低于阴性患者的(49.06±2.71)个月($P<0.05$), 阳性患者预后5年生存率为30.00%, 低于阴性患者的61.11%($P<0.05$, 图3)。

2.5 胃癌预后独立危险因素分析

先将患者的年龄、性别、组织分化、浸润深度、TNM分期、淋巴结是否转移、MUC3A, MUC13表达进行COX单因素回归分析, 再对有统计学差异的进行COX多因素回归分析, 结果显示TNM分期、淋巴结转移、MUC3A, MUC13是影响胃癌预后的独立危险因素($P<0.05$, 表4)。

表3 MUC3A, MUC13表达与临床病理参数关系

Table 3 Relationship between expression of MUC3A and MUC13 and clinicopathological parameters

参数	总例数 (n=116)	MUC3A				MUC13			
		阳性 (n=80)	阴性 (n=36)	χ^2	P	阳性 (n=77)	阴性 (n=39)	χ^2	P
年龄/岁				0.420	0.517			0.520	0.471
≥60	47	34	13			33	14		
<60	69	46	23			44	25		
性别				1.427	0.232			1.351	0.245
男	78	51	27			49	29		
女	38	29	9			28	10		
肿瘤大小/cm				1.041	0.308			1.244	0.265
>5	66	43	23			41	25		
≤5	50	37	13			36	14		
组织分化				7.297	0.026			10.402	0.006
高	18	15	3			14	4		
中	39	31	8			32	7		
低	59	34	25			31	28		
浸润深度				6.742	0.034			8.247	0.016
黏膜及黏膜下	16	8	8			7	9		
肌层	35	21	14			20	15		
浆膜及浆膜外	65	51	14			50	15		
TNM分期				6.564	0.010			8.784	0.003
I~II	60	35	25			34	26		
III~IV	56	45	11			46	10		
淋巴结转移				6.498	0.011			10.867	0.001
是	31	27	4			28	3		
否	85	53	32			49	36		

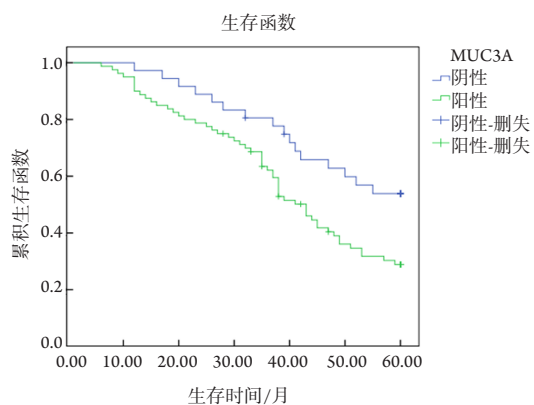


图2 MUC3A阳性和阴性表达患者生存曲线图

Figure 2 Survival curve of patients with positive and negative MUC3A expression

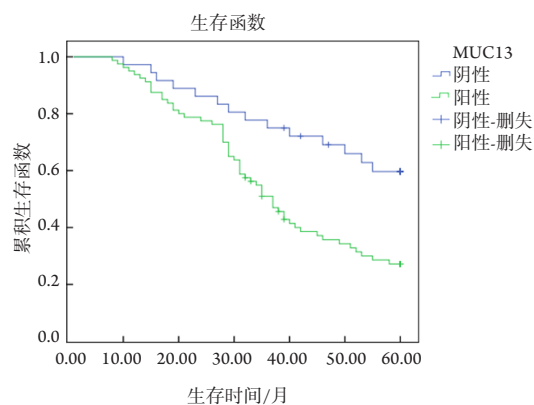


图3 MUC13阳性和阴性表达患者生存曲线图

Figure 3 Survival curve of patients with MUC13 positive and negative expression

表4 影响胃癌预后的COX多因素回归分析
Table 4 Multivariate regression analysis of COX of influencing prognosis of gastric cancer

因素	B	SE	Wald χ^2	HR	95% CI	P
组织分化(高/中/低)	0.070	0.196	0.128	1.072	0.907~1.267	0.375
浸润深度(黏膜及黏膜下/肌层/浆膜及浆膜外)	0.131	0.216	0.368	1.140	0.759~1.635	0.216
TNM分期(I~II/III~IV)	1.100	0.426	6.668	3.005	1.942~4.651	<0.001
淋巴结转移(是/否)	1.276	0.483	6.979	3.582	2.018~6.357	<0.001
MUC3A	0.594	0.385	2.380	1.811	1.116~2.938	0.036
MUC13	0.633	0.397	2.542	1.884	1.193~2.975	0.030

3 讨论

MUC家族是一类分子质量相对较大的糖基化蛋白家族, 目前家族包括MUC1/2~20等在内的20多个成员, 根据其结构与功能不同分为分泌型和跨膜型, 广泛存在于正常机体的黏膜表面, 起到润滑和保护的作用^[6]。近年来有研究^[7]发现: MUC在一定环境下通过其特殊结构参与细胞间信号转导、免疫抗原提呈及细胞凋亡调控, 在肿瘤中可促进肿瘤细胞增殖及转移。MUC3A属于MUC3的一个亚型, 为膜相关黏蛋白, 与恶性肿瘤的发生发展密切相关。Jonckheere等^[8]研究发现: MUC3A表达受蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)信号通路调控, 调节癌细胞侵袭与转移。Niu等^[9]研究发现: MUC3A在局部透明细胞肾细胞癌患者组织中呈阳性表达, 与肿瘤高pT期、高Fuhrman分级及复发相关, 同时还是患者总生存期和无复发生存期不良预后的生物标志物。本研究结果显示: 胃癌患者组织MUC3A阳性率为68.97%, 明显高于正常组织的32.76%, 与周海斌等^[10]的研究结果相似, 提示MUC3A在胃癌患者组织中呈阳性表达, 可能参与其致病过程。

MUC13是一种跨膜型黏蛋白, 其载脂蛋白结构包含1个串联重复序列结构域, 使其细胞外结构长于其他细胞表面分子, 使其能够将细胞表面其他分子覆盖, 发挥抑制细胞间及与基质间连接、细胞毒性细胞的抗肿瘤活性, 帮助细胞进行免疫逃逸, 促肿瘤发生^[11-12]。Khan等^[13]研究发现: MUC13在胰腺导管腺癌组织中过表达, 其高表达能够激活表生长因子受体-2, 促进肿瘤细胞生长, 增强肿瘤细胞侵袭能力, 可作为侵袭性胰腺导管

腺癌患者治疗靶点。本研究结果显示: 胃癌患者组织中MUC13阳性率为66.38%, 高于正常组织的7.76%, 与He等^[14]的研究结果相似, 提示胃癌患者组织中MUC13呈阳性表达, 可能参与肿瘤发生发展。

另外本研究结果显示: 胃癌组织中MUC3A, MUC13表达与年龄、性别、肿瘤大小无关, 与组织分化、浸润深度、TNM分期、淋巴结转移相关, 与Cui等^[15]研究结果相似, 提示MUC3A, MUC13参与胃癌发生发展。进一步的生存曲线分析显示: 胃癌组织中MUC3A, MUC13阳性患者中位生存时间低于阴性患者, MUC3A, MUC13阳性患者预后5年生存率分别为32.50%和30.00%, 低于阴性患者的55.56%和61.11%, 与Mito等^[16]的研究结果相似, 提示MUC3A, MUC13阳性表达胃癌患者生存期短, 病死率高, 预后较差, 可作为胃癌患者不良预后的生物标志物。最后COX多因素回归分析显示: 组织分化、浸润深度与胃癌预后无关, TNM分期、淋巴结转移、MUC3A, MUC13是影响胃癌预后的独立危险因素, 提示MUC3A, MUC13高表达是影响胃癌预后的危险因素, 可能成为胃癌治疗的新靶点。

综上所述, MUC3A, MUC13在胃癌组织中高表达, 与组织分化、浸润深度、TNM分期、淋巴结转移相关, 可能参与疾病发生发展, 二者高表达患者预后不良, 可作为胃癌预后评估的检测指标。但是由于本研究纳入样本量有限, 仅为单中心研究, 且关于MUC3A, MUC13在胃癌组织中的具体作用机制目前尚不明确, 还有待进一步进行多中心、大样本的研究, 以验证MUC3A, MUC13表达对胃癌的影响。

参考文献

- Dai J, Li Z X, Zhang Y, et al. Whole genome messenger RNA profiling identifies a novel signature to predict gastric cancer survival[J]. Clin Transl Gastroenterol, 2019, 10(1): e00004-e00010.
- Aoyama J, Kawakubo H, Goto O, et al. Potential for local resection with sentinel node basin dissection for early gastric cancer based on the distribution of primary sites[J]. Gastric Cancer, 2019, 22(2): 386-391.
- Yang J, Jin H, Gu W, et al. Sa1460-diagnosis value of serum MUC3A in extrahepatic cholangiocarcinoma[J]. Gastroenterology, 2017, 152(5): S296-S300.
- Sheng YH, He Y, Hasnain SZ, et al. MUC13 protects colorectal cancer cells from death by activating the NF- κ B pathway and is a potential therapeutic target[J]. Oncogene, 2017, 36(5): 700-713.
- 杨国栋, 赵乐. MUC13基因在卵巢癌中的表达及其与临床病理因素的关系[J]. 中国妇幼保健, 2015, 30(24): 4228-4230.
- 张海涛, 马春涛, 刘欣. 黏蛋白在结肠息肉中的表达及临床意义[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(10): 1211-1214.
- 李宝玉, 何立杰. 黏蛋白与消化系统肿瘤关系研究进展[J]. 国际生物医学工程杂志, 2018, 41(1): 85-89.
- Jonckheere N, Van Seuningen I. The membrane-bound mucins: from cell signalling to transcriptional regulation and expression in epithelial cancers[J]. Biochimie, 2010, 92(1): 1-11.
- Niu T, Liu Y, Zhang Y, et al. Increased expression of MUC3A is associated with poor prognosis in localized clear-cell renal cell carcinoma[J]. Oncotarget, 2016, 7(31): 50017-50026.
- 周海斌, 金杭斌, 谢璐, 等. MUC3A在肝外胆管癌组织中的表达及临床意义[J]. 现代实用医学, 2016, 28(8): 1040-1042.
- Kumari S, Khan S, Gupta SC, et al. MUC13 contributes to rewiring of glucose metabolism in pancreatic cancer[J]. Oncogenesis, 2018, 7(2): 19.
- Filippou PS, Ren AH, Korbakis D, et al. Exploring the potential of mucin 13 (MUC13) as a biomarker for carcinomas and other diseases[J]. Clin Chem Lab Med, 2018, 56(11): 1945-1953.
- Khan S, Sikander M, Ebeling MC, et al. MUC13 interaction with receptor tyrosine kinase HER2 drives pancreatic ductal adenocarcinoma progression[J]. Oncogene, 2017, 36(4): 491-500.
- He L, Qu L, Wei L, et al. Reduction of miR 132 3p contributes to gastric cancer proliferation by targeting MUC13[J]. Mol Med Rep, 2017, 15(5): 3055-3061.
- Cui J, Yin Y, Ma Q, et al. Comprehensive characterization of the genomic alterations in human gastric cancer[J]. Int J Cancer, 2015, 137(1): 86-95.
- Mito K, Saito M, Morita K, et al. Clinicopathological and prognostic significance of MUC13 and AGR2 expression in intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas[J]. Pancreatol, 2018, 18(4): 407-412.
- ZHOU Haibin, JIN Hangbin, XIE Lu, et al. Expression of MUC3A in extrahepatic cholangiocarcinoma and its clinical significance[J]. Modern Practical Medicine, 2016, 28(8): 1040-1042.
- YANG Guodong, ZHAO Le. MUC13 gene expression in ovarian cancer and its relationship with clinicopathological factors[J]. Maternal & Child Health Care of China, 2015, 30(24): 4228-4230.
- ZHANG Hailing, MA Chuntao, LIU Xin. Mucin in colonic polyps and its clinical significance[J]. International Journal of Laboratory Medicine, 2018, 39(10): 1211-1214.
- LI Baoyu, HE Lijie. Research progress on the relationship between mucins and digestive system cancers[J]. International Journal of Biomedical Engineering, 2018, 41(1): 85-89.

本文引用: 沙金平, 刁云辉, 薛萌. 内镜活检胃癌组织中 MUC3A, MUC13表达及与病理参数和预后的关系[J]. 临床与病理杂志, 2020, 40(1): 28-34. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.01.005

Cite this article as: SHA Jinping, DIAO Yunhui, XUE Meng. Expressions of MUC3A and MUC13 in endoscopic biopsy of gastric cancer tissues and their relationships with pathological parameters and prognosis[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2020, 40(1): 28-34. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.01.005