

胃癌组织中eIF4E、VEGF和Cyclin D1的表达及其意义

方向明, 胡继军

■背景资料

目前我国胃癌死亡率在所有恶性肿瘤中位居首位。近年来, 不少学者对胃癌的防治进行了研究, 并取得一些进展, 但由于对其发病机制尚未阐明, 因而胃癌的发病率与死亡率并未得到根本改善。因此, 深入研究胃癌的发生机制, 尤其是寻找和发现与胃癌发生密切相关的新基因变异, 对提高胃癌的防治水平具有重要意义。

方向明, 胡继军, 武汉大学医学院同仁医院消化科 湖北省武汉市 430060

方向明, 2002年武汉大学博士, 主任医师, 主要从事消化系统肿瘤的研究。

作者贡献分布: 此课题由方向明和胡继军设计; 研究过程由方向明和胡继军操作完成; 数据分析由方向明完成; 本论文写作由方向明和胡继军完成。

通讯作者: 方向明, 430060, 湖北省武汉市武昌区彭刘杨路241号, 武汉大学医学院同仁医院消化科, fmxmk@sina.com

电话: 027-68894659 传真: 027-88873219

收稿日期: 2007-11-06 修回日期: 2008-03-11

Expression of eukaryotic initiation factor 4E, vascular endothelial growth factor and Cyclin D1 in gastric carcinoma and their significances

Xiang-Ming Fang, Ji-Jun Hu

Xiang-Ming Fang, Ji-Jun Hu, Department of Gastroenterology, Tongren Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, Hubei Province, China

Correspondence to: Xiang-Ming Fang, Department of Gastroenterology, Tongren Hospital of Wuhan University, 241 Pengliuyang Road, Wuchang District, Wuhan 430060, Hubei Province, China. fmxmk@sina.com

Received: 2007-11-06 Revised: 2008-03-11

Abstract

AIM: To investigate the expression of eukaryotic initiation factor 4E (eIF4E), vascular endothelial growth factor (VEGF) and Cyclin D1 in gastric cancerous tissues and their correlations with the clinical pathology.

METHODS: Immunohistochemistry was used to detect the expression of eIF4E, VEGF and Cyclin D1 in 91 specimens of gastric cancer and 30 specimens of normal gastric tissues. The corresponding clinical data were analyzed retrospectively.

RESULTS: In comparison with those in normal gastric mucosa, the expression of eIF4E, VEGF and Cyclin D1 were significantly increased (95.6%, 68.1%, 84.6% vs 0.0%, all $P < 0.01$), which were significantly correlated with the depth of invasion, lymph node metastasis and clinical stages ($P < 0.05$), but not with the age, sex of patients and tumor differentiation. There was a positive

correlation between eIF4E and VEGF expression ($r = 0.407, P < 0.05$) as well as between eIF4E and Cyclin D1 expression ($r = 0.780, P < 0.01$).

CONCLUSION: The expression of eIF4E, VEGF and Cyclin D1 are closely correlated with the invasion and metastasis of gastric carcinoma, and moreover, eIF4E expression is positively correlated with VEGF and Cyclin D1 expression.

Key Words: Gastric carcinoma; Eukaryotic initiation factor 4E; Vascular endothelial growth factor; Cyclin D1; Immunohistochemistry

Fang XM, Hu JJ. Expression of eukaryotic initiation factor 4E, vascular endothelial growth factor and Cyclin D1 in gastric carcinoma and their significances. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(12): 1304-1308

摘要

目的: 研究胃癌组织中真核细胞起始因子4E(eukaryotic initiation factor 4E, eIF4E), 血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和细胞周期素D1(Cyclin D1)蛋白的表达水平及其与临床病理的关系。

方法: 胃癌组织91例和正常胃黏膜组织30例采用免疫组织化学方法检测eIF4E, VEGF和Cyclin D1的表达, 分析其表达差异, 并结合其临床病理资料进行综合分析。

结果: 与正常胃组织相比, eIF4E, VEGF和Cyclin D1蛋白在胃癌组织中均呈高表达(95.6%, 68.1%, 84.6% vs 0.0%, 均 $P < 0.01$)。eIF4E, VEGF和Cyclin D1的阳性表达率与患者的年龄、性别以及肿瘤分化程度均无明显相关性, 但随着肿瘤浸润深度加深、淋巴转移产生、临床分期提高而升高($P < 0.05$)。eIF4E与VEGF, eIF4E与Cyclin D1的表达呈正相关($r = 0.407, P < 0.05; r = 0.780, P < 0.01$)。

结论: eIF4E, VEGF和Cyclin D1的表达与胃癌的侵袭、转移密切相关, eIF4E表达与VEGF以及Cyclin D1显著相关。

关键词: 胃癌; 真核细胞起始因子4E; 血管内皮生

■同行评议者

姜春萌, 教授, 大连医科大学附属第二医院消化科

长因子; 细胞周期素D1

方向明, 胡继军. 胃癌组织中eIF4E, VEGF和Cyclin D1的表达及意义. 世界华人消化杂志 2008; 16(12): 1304-1308
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/1304.asp>

0 引言

胃癌是危害人类健康的常见恶性肿瘤. 我国属胃癌高发国家, 目前我国胃癌死亡率在所有恶性肿瘤中居第1位^[1]. 胃癌的发生发展尽管存在着基因变异的复杂性和多样性, 但现有的研究认为, 任何形式的基因变异均在蛋白质水平上发挥功能^[2-3], 因此, 真核细胞(蛋白翻译)起始因子与肿瘤的关系日益受到重视, 其中尤以真核细胞起始因子4E(eukaryotic initiation factor 4E, eIF4E)与肿瘤的关系最为密切^[4-8]. 有资料显示, eIF4E能使一些肿瘤恶性相关基因的表达量发生变化, 是肿瘤恶性表型产生的决定子; 通过调节一些特异的恶性相关分子的翻译表达量, 促使细胞跃过正常生长限制而发生癌变^[9-10]. 我们对胃癌组织中eIF4E, 血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF), 细胞周期素D1(Cyclin D1)的表达进行研究, 并结合临床病理情况进行分析, 以探讨其在胃癌发生发展过程中的意义.

1 材料和方法

1.1 材料 2002-10/2004-10我院经手术切除并经病理学证实的胃癌组织标本91例, 术前均未接受放疗. 男61例, 女30例, 年龄37-79(平均51.2)岁; 肿瘤高分化31例, 中分化18例, 低分化39例, 未分化3例; 侵犯浆膜者58例, 未侵犯浆膜者33例; 有淋巴结转移53例, 无淋巴结转移38例; TNM分期: I期14例, II期22例, III期45例, IV期10例. 另选择同期经胃镜及病理组织学检查正常的胃黏膜标本30例作为研究对照. 男20例, 10例, 年龄35-74(平均48.4)岁. 鼠抗人eIF4E mAb, 鼠抗人VEGF mAb, 鼠抗人Cyclin D1 mAb均购自美国Santa Cruz公司. 免疫组化二步法试剂盒购自美国Antibody Diagnostic公司. DAB显色试剂盒购自北京中山生物技术有限公司.

1.2 方法 采用免疫组织化学二步法检测上述抗体对应抗原, 所有实验操作均按说明书操作规范进行, 实验中同时采用PBS代替一抗作为阴性对照, 以已知阳性反应的组织切片作为阳性对照. eIF4E阳性细胞为细胞质出现棕黄色颗粒, VEGF阳性细胞亦为细胞质出现棕黄色颗粒, Cyclin D1阳性细胞为细胞核出现棕黄色颗粒.

表 1 eIF4E, VEGF, Cyclin D1阳性表达与胃癌临床病理因素之间的关系 $n(\%)$

临床病理	<i>n</i>	eIF4E	VEGF	Cyclin D1
肿瘤分化				
高中	49	46(93.9)	30(61.2)	41(83.7)
低未	42	41(97.6)	32(76.2)	36(85.7)
浸润深度				
未及浆膜	33	29(87.9)	15(45.5)	24(72.7)
浆膜及以外	58	58(100.0) ^a	47(81.0) ^a	53(91.4) ^a
淋巴结转移				
无	38	34(89.5)	18(47.4)	28(73.7)
有	53	53(100.0) ^a	44(83.0) ^a	49(92.5) ^a
TNM分期				
I + II	36	32(88.9)	16(44.4)	26(72.2)
III + IV	55	55(100.0) ^a	46(83.6) ^a	51(92.7) ^a

^a $P < 0.05$.

显微镜下随机选取5个高倍镜视野(>500个细胞), 分别计数阳性细胞数和总细胞数, 以阳性细胞数 $\geq 10\%$ 为阳性表达^[11-12].

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件包进行统计学分析. 各指标之间相关因素的差异性比较采用 χ^2 检验, 各指标间的相关性研究采用Spearman相关分析, 检验水准为 $P < 0.05$.

2 结果

2.1 胃癌eIF4E, VEGF, Cyclin D1表达 胃癌组eIF4E, VEGF, Cyclin D1阳性表达率分别为95.6%(87/91), 68.1%(62/91)和84.6%(77/91), 均明显高于正常胃黏膜组织(均未见eIF4E, VEGF或Cyclin D1阳性表达; $\chi^2 = 102.072, P < 0.01$; $\chi^2 = 41.921, P < 0.01$; $\chi^2 = 69.813, P < 0.01$, 图1-3).

2.2 eIF4E, VEGF, Cyclin D1表达与胃癌临床病理因素的关系 eIF4E, VEGF, Cyclin D1的阳性表达率与患者的年龄、性别以及肿瘤分化程度均无明显相关性($P > 0.05$). 而与肿瘤的浸润深度、淋巴转移及临床分期有关($P < 0.05$). 即: eIF4E, VEGF, Cyclin D1的阳性表达率随着肿瘤浸润深度加深、淋巴转移产生、临床分期提高而升高($P < 0.05$, 表1).

2.3 胃癌组织eIF4E, VEGF, Cyclin D1表达的相关性 胃癌组织eIF4E与VEGF的表达呈正相关($r = 0.407, P < 0.05$). eIF4E与Cyclin D1的表达亦呈正相关($r = 0.780, P < 0.01$). 而VEGF与Cyclin D1的表达无明显相关($r = 0.143, P > 0.05$, 表2).

3 讨论

1996年Jones *et al*^[13]使用人小鼠体细胞杂交体分

■研发前沿

真核细胞(蛋白翻译)起始因子与肿瘤的关系日益受到重视, 其中尤以真核细胞起始因子4E(eIF4E)与肿瘤的关系最为密切.

■相关报道

有资料显示, eIF4E能使一些肿瘤恶性相关基因的表达量发生变化, 是肿瘤恶性表型产生的决定子, 其通过调节一些特异的恶性相关分子的翻译表达量, 促使细胞跃过正常生长限制而发生癌变.

■应用要点

本研究为通过抑制或降低eIF4E表达水平来降低VEGF和Cyclin D1表达,从而抑制胃癌细胞增殖提供了一定的依据。

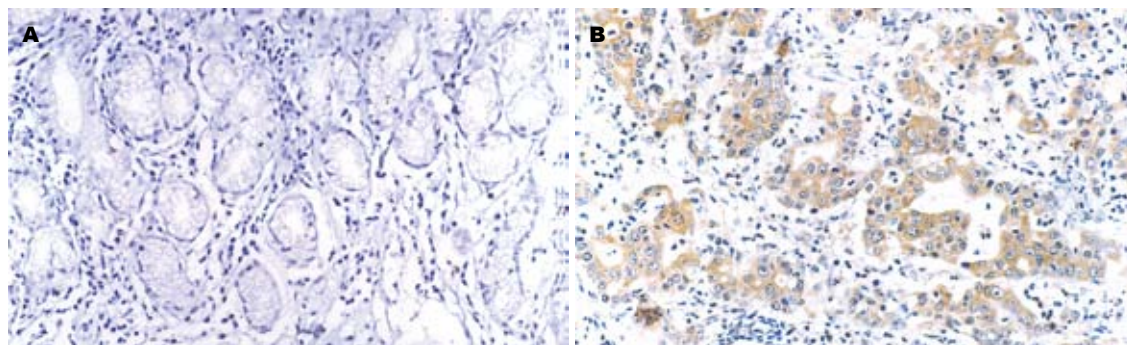


图 1 eIF4E在组织中的表达(EnVision × 200). A: 正常胃黏膜; B: 胃癌组织.

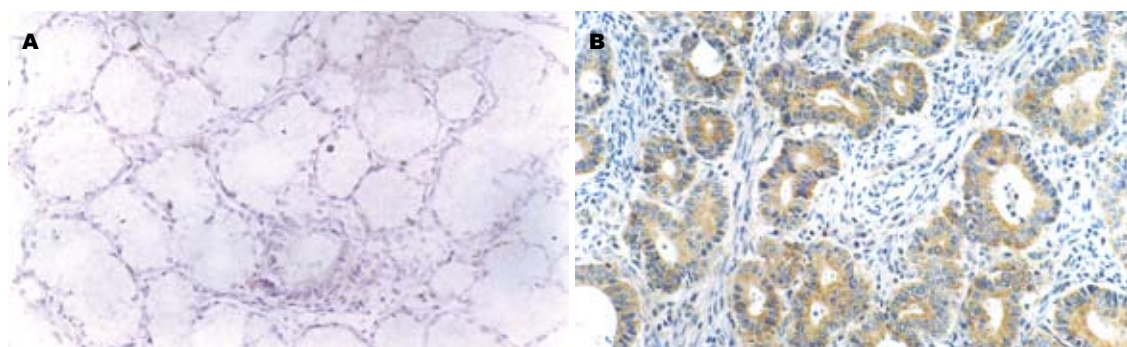


图 2 VEGF在组织中的表达(EnVision × 200). A: 正常胃黏膜; B: 胃癌组织.

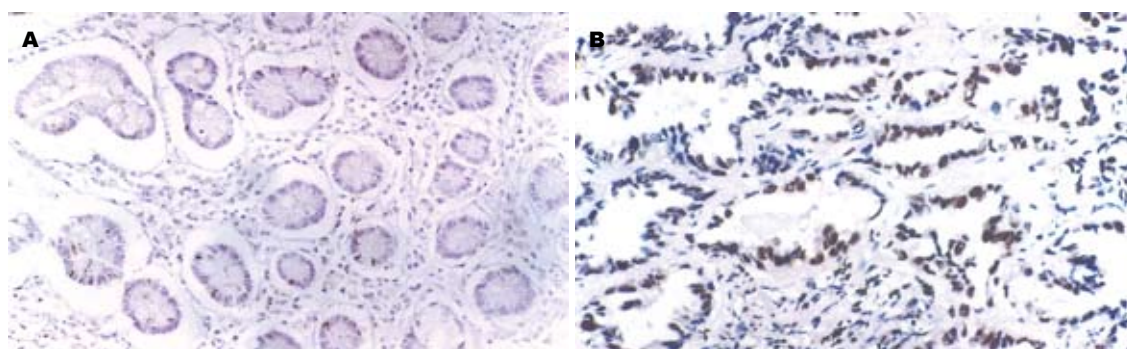


图 3 Cyclin D1在组织中的表达(EnVision × 200). A: 正常胃黏膜; B: 胃癌组织.

析技术将人eIF4E基因定位于染色体4q21-q25. eIF4E基因编码25 kDa的多肽eIF4E可特异性地与真核细胞mRNA的5'末端帽结构结合,参与mRNA的翻译,在帽依赖的翻译起始阶段起限制调控作用^[14-15]. eIF4E的作用一般认为是通过增强某些生长因子或重要的细胞生长调节因子的翻译而发挥的^[16-17]. 在恶性肿瘤形成过程中,细胞的增殖需要大量的蛋白合成, eIF4E的表达增高是一个必然的事件^[18-19]. eIF4E的过度表达不仅能促进细胞的增殖反应,而且更能促进细胞的恶性转化^[20-22]. Kerekatte *et al*^[23]首先在乳腺癌中发现eIF4E的过度表达,且不存在于乳房良性组织. Li *et al*^[24]进一步发现,在乳腺癌 I -III期

表 2 胃癌组织中eIF4E与VEGF, Cyclin D1表达的相关性

eIF4E	n	VEGF		Cyclin D1	
		阳性	阴性	阳性	阴性
阳性	87	61 ^a	26	77 ^b	10
阴性	4	1	3	0	4

^aP<0.05, ^bP<0.01.

患者中,当肿块标本中eIF4E的含量超过正常对照7倍时,肿瘤复发率、癌症致死率在统计学上有显著意义. 乳腺癌eIF4E的过度表达与肿瘤的复发、肿瘤的死亡有关,可作为独立的预后因子. 我们发现,胃癌中有95.6%的标本有eIF4E的

阳性表达, 而正常胃组织中无1例阳性表达, 两者相比差异有显著性($P<0.01$), 且eIF4E阳性表达率与肿瘤浸润深度、淋巴结转移以及TNM分期有关($P<0.05$). 提示eIF4E基因表达上调与胃癌的形成密切相关, 并随着本病恶化程度的增加而持续增加, 其表达水平对评价胃癌的恶性程度有一定价值.

VEGF是一种非常重要的血管形成因子, 他在肿瘤新生血管形成以及肿瘤的生长、浸润及转移中起重要作用^[25-26]. Cyclin D1是一种重要的细胞周期调控蛋白, 当Cyclin D1表达失控时, 则将引起细胞增殖失调, 进而导致肿瘤形成及发展^[27-28]. 从本研究结果来看, 胃癌中VEGF, Cyclin D1阳性表达率分别为68.1%和84.6%, 而正常胃组织中均未见阳性表达, 同时随着胃癌浸润深度的增加、有淋巴结转移以及TNM分期愈晚者Cyclin D1表达水平明显升高, 表明Cyclin D1可能参与促进胃黏膜细胞恶性转化, 其过度表达预示肿瘤有较高的侵袭性、容易发生转移和不良预后. 目前认为, 在正常的eIF4E极低水平情况下, 肩负有“看家”功能的大多数拥有短5'非翻译区(UTR)的Strong mRNA, 他们在翻译时与含有长5'-UTR的Weak mRNA竞争中处于优势, 所以细胞功能得以维持; 然而, 在eIF4E过度表达情况下, 这些正常情况下不被翻译的含长5'-UTR mRNA的基因产物上调. 这些基因产物中包括一些原癌基因及一些重要的细胞生长调节因子, 如c-Myc, Cyclin D1, VEGF, bFGF等^[29-30]. 上述所提到的基因产物对细胞恶性转化和分裂有重要影响. 本研究通过检测eIF4E与VEGF及Cyclin D1在胃癌中表达, 分析他们之间的相关性, 结果表明, eIF4E分别与VEGF及Cyclin D1呈非常显著正相关, 提示胃癌中eIF4E高表达可能导致VEGF以及Cyclin D1表达水平增高. 这不仅有助于深入认识eIF4E致癌的分子机制, 而且有鉴于此, 可通过抑制或降低eIF4E表达水平来降低VEGF和Cyclin D1表达, 从而抑制胃癌细胞增殖, 这将是很好的抗肿瘤策略, 可能具有良好的应用前景.

4 参考文献

- 1 肖炜明, 施瑞华, 丁岩冰, 龚卫娟, 丁永玲, 薛艳. 胃癌组织中EGFR和COX-2表达的意义及其相关性. 世界华人消化杂志 2007; 15: 123-128
- 2 Rosenwald IB. The role of translation in neoplastic transformation from a pathologist's point of view. *Oncogene* 2004; 23: 3230-3247
- 3 Barnhart BC, Simon MC. Taking aim at translation for tumor therapy. *J Clin Invest* 2007; 117: 2385-2388
- 4 Parker A, Anderson C, Weiss KL, Grimley M,

- Sorrells D. Eukaryotic initiation factor 4E staining as a clinical marker in pediatric neuroblastoma. *J Pediatr Hematol Oncol* 2004; 26: 484-487
- 5 Matthews-Greer J, Caldito G, de Benedetti A, Herrera GA, Dominguez-Malagon H, Chanona-Vilchis J, Turbat-Herrera EA. eIF4E as a marker for cervical neoplasia. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2005; 13: 367-370
- 6 Gu X, Jones L, Lowery-Norberg M, Fowler M. Expression of eukaryotic initiation factor 4E in astrocytic tumors. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2005; 13: 178-183
- 7 Zhou S, Wang GP, Liu C, Zhou M. Eukaryotic initiation factor 4E (eIF4E) and angiogenesis: prognostic markers for breast cancer. *BMC Cancer* 2006; 6: 231
- 8 Salehi Z, Mashayekhi F, Shahosseini F. Significance of eIF4E expression in skin squamous cell carcinoma. *Cell Biol Int* 2007; 31: 1400-1404
- 9 Mamane Y, Petroulakis E, Rong L, Yoshida K, Ler LW, Sonenberg N. eIF4E--from translation to transformation. *Oncogene* 2004; 23: 3172-3179
- 10 Culjkovic B, Topisirovic I, Skrabanek L, Ruiz-Gutierrez M, Borden KL. eIF4E is a central node of an RNA regulon that governs cellular proliferation. *J Cell Biol* 2006; 175: 415-426
- 11 Nathan CO, Sanders K, Abreo FW, Nassar R, Glass J. Correlation of p53 and the proto-oncogene eIF4E in larynx cancers: prognostic implications. *Cancer Res* 2000; 60: 3599-3604
- 12 Lan J, Xiong YY, Lin YX, Wang BC, Gong LL, Xu HS, Guo GS. Helicobacter pylori infection generated gastric cancer through p53-Rb tumor-suppressor system mutation and telomerase reactivation. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 54-58
- 13 Jones RM, Branda J, Johnston KA, Polymenis M, Gadd M, Rustgi A, Callanan L, Schmidt EV. An essential E box in the promoter of the gene encoding the mRNA cap-binding protein (eukaryotic initiation factor 4E) is a target for activation by c-myc. *Mol Cell Biol* 1996; 16: 4754-4764
- 14 Richter JD, Sonenberg N. Regulation of cap-dependent translation by eIF4E inhibitory proteins. *Nature* 2005; 433: 477-480
- 15 Culjkovic B, Topisirovic I, Borden KL. Controlling gene expression through RNA regulons: the role of the eukaryotic translation initiation factor eIF4E. *Cell Cycle* 2007; 6: 65-69
- 16 Ruggero D, Montanaro L, Ma L, Xu W, Londei P, Cordon-Cardo C, Pandolfi PP. The translation factor eIF-4E promotes tumor formation and cooperates with c-Myc in lymphomagenesis. *Nat Med* 2004; 10: 484-486
- 17 Wolford R, de Benedetti A, Nuthalapaty S, Yu H, Chu QD, Li BD. Up-regulation of TLK1B by eIF4E overexpression predicts cancer recurrence in irradiated patients with breast cancer. *Surgery* 2006; 140: 161-169
- 18 McClusky DR, Chu Q, Yu H, DeBenedetti A, Johnson LW, Meschonat C, Turnage R, McDonald JC, Abreo F, Li BD. A prospective trial on initiation factor 4E (eIF4E) overexpression and cancer recurrence in node-positive breast cancer. *Ann Surg* 2005; 242: 584-590; discussion 590-592
- 19 Salehi Z, Mashayekhi F. Expression of the eukaryotic translation initiation factor 4E (eIF4E) and 4E-BP1 in esophageal cancer. *Clin Biochem* 2006; 39: 404-409
- 20 Larsson O, Li S, Issaenko OA, Avdulov S, Peterson M, Smith K, Bitterman PB, Polunovsky VA. Eukaryotic

■名词解释

真核细胞起始因子: 指参与真核细胞蛋白质生物合成起始阶段作用的蛋白因子. 目前已发现包括eIF2A、eIF2B、eIF4A、eIF4B和eIF4E在内的多种真核细胞起始因子, 其中以eIF4E与肿瘤的关系最为密切.

■同行评价

本研究具有一定的先进性, 设计规范, 讨论切题, 具有一定的参考价值.

- translation initiation factor 4E induced progression of primary human mammary epithelial cells along the cancer pathway is associated with targeted translational deregulation of oncogenic drivers and inhibitors. *Cancer Res* 2007; 67: 6814-6824
- 21 Byrnes K, White S, Chu Q, Meschonat C, Yu H, Johnson LW, DeBenedetti A, Abreo F, Turnage RH, McDonald JC, Li BD. High eIF4E, VEGF, and microvessel density in stage I to III breast cancer. *Ann Surg* 2006; 243: 684-690; discussion 691-692
- 22 Defatta RJ, De Benedetti A. Translational upregulation of yes accompanies eIF4E-mediated oncogenic transformation. *Int J Oncol* 2003; 23: 1709-1713
- 23 Kerekatte V, Smiley K, Hu B, Smith A, Gelder F, De Benedetti A. The proto-oncogene/translation factor eIF4E: a survey of its expression in breast carcinomas. *Int J Cancer* 1995; 64: 27-31
- 24 Li BD, Liu L, Dawson M, De Benedetti A. Overexpression of eukaryotic initiation factor 4E (eIF4E) in breast carcinoma. *Cancer* 1997; 79: 2385-2390
- 25 Bando H. Vascular endothelial growth factor and bevacitumab in breast cancer. *Breast Cancer* 2007; 14: 163-173
- 26 Lazăr D, Raica M, Sporea I, Tăban S, Goldiș A, Cornianu M. Cornianu M. Tumor angiogenesis in gastric cancer. *Rom J Morphol Embryol* 2006; 47: 5-13
- 27 Tashiro E, Tsuchiya A, Imoto M. Functions of cyclin D1 as an oncogene and regulation of cyclin D1 expression. *Cancer Sci* 2007; 98: 629-635
- 28 Musgrove EA. Cyclins: roles in mitogenic signaling and oncogenic transformation. *Growth Factors* 2006; 24: 13-19
- 29 Schmidt EV. The role of c-myc in regulation of translation initiation. *Oncogene* 2004; 23: 3217-3121
- 30 Graff JR, Zimmer SG. Translational control and metastatic progression: enhanced activity of the mRNA cap-binding protein eIF-4E selectively enhances translation of metastasis-related mRNAs. *Clin Exp Metastasis* 2003; 20: 265-273

编辑 潘伯荣 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2008年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

世界华人消化杂志性质、刊登内容及目标

本刊讯 《世界华人消化杂志(国际标准刊号ISSN 1009-3079, 国内统一刊号CN 14-1260/R, Shijie Huaren Xiaohua Zazhi/World Chinese Journal of Digestology)》, 是一本由来自国内23个省、市、自治区、特别行政区的496位胃肠病学和肝病学专家支持的开放存取的同行评议的旬刊杂志, 旨在推广国内各地的胃肠病学和肝病学领域临床实践和基础研究相结合的最具有临床意义的原创性及各类评论性的文章, 使其成为一种公众资源, 同时科学家、医生、患者和学生可以通过这样一个不受限制的平台来免费获取全文, 了解其领域的所有的关键的进展, 更重要的是这些进展会为本领域的医务工作者和研究者服务, 为他们的患者及基础研究提供进一步的帮助.

除了公开存取之外, 《世界华人消化杂志》的另一大特色是对普通读者的充分照顾, 即每篇论文都会附带有一组供非专业人士阅读的通俗易懂的介绍大纲, 包括背景资料、研发前沿、相关报道、创新盘点、应用要点、名词解释、同行评价.

《世界华人消化杂志》报道的内容包括食管、胃、肠、肝、胰肿瘤, 食管疾病、胃肠及十二指肠疾病、肝胆疾病、肝脏疾病、胰腺疾病、感染、内镜检查法、流行病学、遗传学、免疫学、微生物学, 以及胃肠道运动对神经的影响、传送、生长因素和受体、营养肥胖、成像及高科技技术.

《世界华人消化杂志》的目标是出版高质量的胃肠病学和肝病学领域的专家评论及临床实践和基础研究相结合具有实践意义的文章, 为内科学、外科学、感染病学、中医药学、肿瘤学、中西医结合学、影像学、内镜学、介入治疗学、病理学、基础研究等医生和研究人员提供转换平台, 更新知识, 为患者康复服务. (常务副总编辑: 张海宁 2008-04-28)