

# 胃泌素与骨桥蛋白在胃癌及癌前病变组织中表达的相关性

苏薇, 吴会超, 杨莹莹, 穆媛媛

苏薇, 吴会超, 杨莹莹, 穆媛媛, 贵州省遵义医学院附属医院  
消化内科 贵州省遵义市 563003

苏薇, 住院医师, 主要从事消化系统肿瘤的研究。

贵州省科技厅基金资助项目, No. 黔科专合字[2010]3085

作者贡献分布: 苏薇与吴会超对此文所作贡献均等; 此课题由苏薇与吴会超设计; 研究过程由苏薇操作完成; 研究所用新试剂与分析工具由吴会超提供; 数据分析由苏薇完成; 本论文写作由苏薇完成, 由所有作者共同完成本文。

通讯作者: 吴会超, 主任医师, 563003, 贵州省遵义市大连路遵义医学院附属医院消化内科。 wuhuichao985@163.com

收稿日期: 2013-12-17 修回日期: 2014-01-20

接受日期: 2014-02-03 在线出版日期: 2014-03-28

## Correlation between expression of gastrin and osteopontin in gastric carcinoma

Wei Su, Hui-Chao Wu, Ying-Ying Yang, Yuan-Yuan Mu

Wei Su, Hui-Chao Wu, Ying-Ying Yang, Yuan-Yuan Mu, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563003, Guizhou Province, China

Supported by: the Foundation of Science and Technology Department of Guizhou Province, No. [2010]3085

Correspondence to: Hui-Chao Wu, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563003, Guizhou Province, China. wuhuichao985@163.com

Received: 2013-12-17 Revised: 2014-01-20

Accepted: 2014-02-03 Published online: 2014-03-28

## Abstract

**AIM:** To explore the correlation between the expression of gastrin and osteopontin (OPN) in gastric cancer.

**METHODS:** The expression of gastrin and OPN was determined by immunohistochemistry in 60 gastric specimens including 20 cases of normal gastric mucosa, 20 cases of dysplasia and 20 cases of gastric carcinoma.

**RESULTS:** The expression levels of OPN and gastrin had an increasing tendency from normal gastric mucosa to precancerous lesions and gastric carcinoma ( $P < 0.05$ ). Correlation analysis showed that there was a positive correlation between the expression of gastrin and OPN. The expression of OPN was significantly related to

tumor differentiation and stage ( $P < 0.05$  for both), but not to age or sex.

**CONCLUSION:** OPN and gastrin expression is increased in gastric cancer. There was a positive relationship between the expression of gastrin and OPN. Up-regulated expression of OPN may be the reason why gastrin plays a key role in the development of gastric cancer.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Gastrin; Osteopontin; Gastric cancer

Su W, Wu HC, Yang YY, Mu YY. Correlation between expression of gastrin and osteopontin in gastric carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(9): 1275-1279 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1275.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i9.1275>

## 摘要

**目的:** 探讨胃泌素(gastrin, Gas)和骨桥蛋白(osteopontin, OPN)在胃癌组织中表达的相互关系。

**方法:** 取正常胃黏膜(normal gastric mucosa, NGM)、不典型增生(dimethyl sulfoxide, Dys)及胃癌组织(gastric cancer, GC)各20例, 采用SP免疫组织化学法检测各组织中Gas、OPN蛋白的表达变化。

**结果:** 免疫组织化学结果显示: Gas的表达在胃癌组和不典型增生组均高于正常组, 差异存在统计学意义( $P < 0.05$ ), 胃癌组高于不典型增生组( $P < 0.05$ ); OPN的表达在胃癌组和不典型增生组均高于正常组( $P < 0.05$ ), 胃癌组高于不典型增生组( $P < 0.05$ )。经Spearman等级相关分析结果显示: 胃泌素与OPN表达呈正相关( $r = 0.483, P < 0.05$ )。OPN表达与胃癌分期、浸润深度及有无远处转移有关( $P < 0.05$ ), 随胃癌的进展和浸润深度表达增多( $P < 0.05$ ), 与分化程度、性别、年龄无关。

**结论:** OPN与Gas在胃癌组织中均表达增加, OPN表达与Gas表达呈正相关关系。胃泌素诱

## ■背景资料

胃癌是危害人类健康的主要恶性肿瘤之一, 胃癌的致死率位居所有肿瘤致死率的第2位。据流行病学资料显示, 大多数胃癌患者因治疗后复发和远处转移, 最终导致机体多器官功能衰竭而引发死亡。胃癌的发生、发展和转移是一个比较复杂的生物学过程, 常伴随着某些细胞因子及信号通路的改变, 近年来随着研究的不断深入, 对胃泌素(gastrin, Gas)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor)、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases)及表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor)等细胞因子的研究逐渐成为探索胃癌转移机制的热点, 并且发现他们在胃癌转移过程中发挥着重要作用, 与胃癌的发生、发展、浸润及转移密切相关。

## ■同行评议者

蒋敬庭, 教授, 常州市第一人民医院(苏州大学附属第三医院)肿瘤生物诊疗中心

## ■ 研究前沿

较多的研究发现Gas可以促进MMP的分泌,从而促进胃癌细胞的侵袭转移潜能。同样,OPN促进肿瘤细胞侵袭转移也与其促进MMP表达密切相关。迄今,调控Gas和OPN分泌的机制尚不完全清楚。Gas与OPN之间是否具有相关性,尚需进一步探索。随着研究的进一步深入, Gas与OPN有望成为肿瘤治疗中的新靶点。

导OPN表达增强,可能是胃泌素促进胃癌发生发展的机制之一。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 胃泌素; 骨桥蛋白; 胃癌

**核心提示:** 胃泌素(gastin)和骨桥蛋白(osteopontin, OPN)在肿瘤的发生、发展及转移中发挥着重要作用,由于其可以释放入患者的血液循环中,可作为一种无创性的肿瘤诊断及治疗标志应用于临床中,现已有很多研究发现多种肿瘤血浆胃泌素和OPN表达水平与肿瘤进展及预后相关。

苏薇, 吴会超, 杨莹莹, 穆媛媛. 胃泌素与骨桥蛋白在胃癌及癌前病变组织中表达的相关性. 世界华人消化杂志 2014; 22(9): 1275-1279 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1275.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i9.1275>

## 0 引言

胃癌是一种消化系统最常见的恶性肿瘤。研究发现胃泌素(gastin, Gas)可通过多种途径促进胃癌的发生发展<sup>[1]</sup>,但其具体作用机制目前还不完全清楚,是否还有其他因子与其促癌作用有关尚待实验证明。近年来骨桥蛋白(osteopontin, OPN)与胃肠道肿瘤密切相关的报道日渐增多。研究显示OPN与各种癌症的致癌潜能相关,他能作用于肿瘤转移的多个环节,促进细胞黏附、浸润,促进血管生成和抑制凋亡<sup>[2-5]</sup>。Junnilla等<sup>[4]</sup>研究发现,OPN在胃癌组织中过表达,提示OPN在胃癌的发生、发展中具有重要的作用。胃癌组织中OPN mRNA表达增高的患者的复发率明显高于低表达患者,提示OPN mRNA的表达与胃癌的预后具有密切的关系。较多的研究发现胃泌素可以促进基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)的分泌,从而促进胃癌细胞的侵袭转移潜能<sup>[6,7]</sup>。同样,OPN促进肿瘤细胞侵袭转移也与其促进MMP表达密切相关<sup>[8-10]</sup>。迄今,调控Gas和OPN分泌的机制尚不完全清楚。Gas与OPN之间是否具有相关性,尚需进一步探索。随着研究的进一步深入, Gas与OPN有望成为肿瘤治疗中的新靶点。本文采用免疫组织化学法测定胃癌及癌前病变组织中Gas和OPN表达的相关情况,据此探讨骨桥蛋白在胃癌变过程中的作用及分析Gas和骨桥蛋白两者之间表达的相互关系和生物学意义,深入了解胃癌发生的具体机制,并为以Gas受体拮抗剂及OPN为靶点防治胃癌开辟新的途径提供理论依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取2011-01/2011-03我院内镜中心,内镜钳取及手术切除的正常胃黏膜、不典型增生及胃癌组织各20例,其中男32例,女28例,中位年龄56岁。胃癌组织中:早期胃癌6例,中晚期胃癌(进展期)14例;高分化胃癌(分化好)8例,中分化及低分化胃癌(分化较差及分化差)12例。入选标准:(1)有明确的病理资料,诊断清楚;(2)未接受过放、化疗等抗肿瘤治疗及非甾体抗炎药(nonsteroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs)、质子泵抑制剂(proton pump inhibitors, PPIs)、糖皮质激素治疗的患者。排除标准:入选标准外的均排除。兔抗人OPN单克隆抗体(即用型)购自Abcam公司,兔抗人Gas多克隆抗体(即用型)购自北京博奥森生物技术公司。

**1.2 方法** 采用SP免疫组织化学法测定不同胃黏膜组织中Gas和OPN蛋白的表达,应用IPP6.0(image proplus6.0)软件,对染色阳性区域的染色累积光密度(sum IA)及平均光密度(density mean)进行测定。固定采图的光源强度、曝光时间、增益、伽玛值及IPP选取阳性区域时的条件,且采图前均进行白平衡设定。累积光密度反映整张切片上阳性目标的总量,即目标抗原蛋白的总量,因累积光密度太大,以平均光密度(density mean)表示并进行统计分析。

**统计学处理** 采用SPSS17.0统计软件对数据进行分析。组间比较采用单因素方差分析,实验结果用mean±SD表示; Gas与OPN在胃癌病变过程中表达的相关性采用Spearman相关分析。检验水准 $\alpha = 0.05$ ,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 OPN在不同胃黏膜组织中的表达情况** OPN蛋白表达主要在细胞质,阳性颗粒呈棕黄色或棕褐色,OPN在正常胃黏膜鲜见表达;在胃癌组织中和不典型增生胃黏膜中均有表达,不典型增生胃黏膜中OPN多数为浅着色;在胃癌组织中OPN主要在胃癌细胞表达,颜色较深,呈弥漫分布(图1)。从正常胃黏膜组织→不典型增生组织→胃癌组织,OPN的表达强度呈逐渐递增趋势(表1),差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ),其中胃癌组的染色强度明显高于正常胃黏膜,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。

在胃癌组织中,OPN表达无性别差异,无年龄差异(患者分为<60岁及>60岁两个年龄组);高分化组与低分化组中OPN表达无统计学差异。

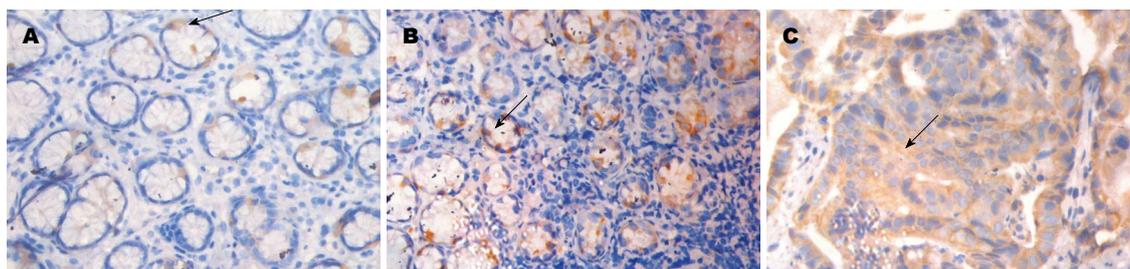


图 1 OPN的表达(SP × 100). A: 正常胃黏膜; B: 不典型增生中; C: 胃癌组织. OPN: 骨桥蛋白.

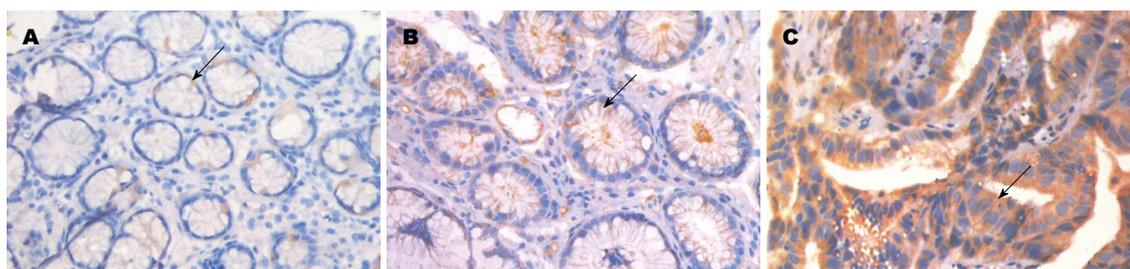


图 2 Gas的表达(SP × 100). A: 正常胃黏膜; B: 不典型增生中; C: 胃癌组织. Gas: 胃泌素.

**■ 创新盘点**  
迄今, 调控Gas和OPN分泌的机制尚不完全清楚. Gas与OPN之间是否具有相关性, 尚需进一步探索. 随着研究的进一步深入, Gas与OPN有望成为肿瘤治疗中的新靶点.

表 1 Gas、OPN在不同病变胃黏膜中表达的情况( $n = 20$ , mean ± SD)

分组	Gas表达水平	OPN表达水平
NGM组	0.0784 ± 0.0234	0.0543 ± 0.0175
DYS组	0.1091 ± 0.0286 <sup>a</sup>	0.0768 ± 0.0254 <sup>a</sup>
GC组	0.1486 ± 0.0314 <sup>ac</sup>	0.1168 ± 0.0334 <sup>ac</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs NGM组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs DYS组. Gas: 胃泌素; OPN: 骨桥蛋白. NGM: 正常胃黏膜; DYS: 不典型增生; GC: 胃癌.

早期胃癌组与进展期胃癌组的OPN表达存在统计学差异( $P < 0.05$ )(表2).

**2.2 Gas在不同胃黏膜组织中的表达情况** Gas蛋白主要表达于细胞质或细胞膜, 阳性颗粒呈棕黄色或棕褐色. 在正常胃黏膜组织中, Gas阳性细胞散在点状分布; 在不典型增生组织中可见Gas阳性细胞呈片状分布、着色较强; 在胃癌组织中Gas阳性细胞着色强、呈弥漫性分布(图2). 从正常胃黏膜组织→不典型增生组织→胃癌组织, Gas的表达强度呈逐渐递增趋势(表1). Gas表达在胃癌组和不典型增生组均高于正常组( $P < 0.05$ ), 胃癌组高于不典型增生组( $P < 0.05$ ).

**2.3 胃黏膜组织中Gas表达与OPN表达的相关性** 经Spearman等级相关分析结果显示: 从NGM→GC, 胃黏膜组织中Gas与OPN表达呈正相关( $r = 0.483$ ,  $P < 0.05$ ).

### 3 讨论

胃癌是危害人类健康的主要恶性肿瘤之一, 胃癌的致死率位居所有肿瘤致死率的第2位<sup>[1]</sup>. 胃癌的发生、发展和转移是一个比较复杂的生物学过程, 常伴随着某些细胞因子及信号通路的改变, 近年来随着研究的不断深入, 对Gas、VEGF、MMPs及EGFR等细胞因子的研究逐渐成为探索胃癌转移机制的热点, 并且发现他们在胃癌转移过程中发挥着重要作用, 与胃癌的发生、发展、浸润及转移密切相关. 随着分子生物学技术的发展, 进一步研究肿瘤侵袭和转移的分子基础, 寻找与胃癌侵袭转移相关的分子生物学标志物, 对胃癌侵袭转移的预测、预后评估及合理的综合治疗等均有十分重要的意义.

**3.1 Gas、OPN与胃癌的相关性** 人们研究最早、最多的胃肠肽类激素就是Gas, 其促癌作用已得到充分肯定. 目前有大量研究证实Gas能够促进胃癌的发生发展, 但具体机制还不明确. Goetze等<sup>[11]</sup>研究表明胃癌组织内可检出Gas表达, 阳性率为80%. Mishra等<sup>[10,12]</sup>和Ito等<sup>[13]</sup>研究表明Gas参与胃癌的生长及转移过程, 本实验结果显示: 在胃癌组织中存在Gas的高表达, 此结果与上述文献报道的一致.

OPN是一种分泌性非胶原型、富含唾液酸的磷酸化糖蛋白, 是SIBLING家族中的一员. Coppola等<sup>[14]</sup>应用免疫组织化学方法对11例胃

### 同行评价

本文有一定新颖性,具有一定指导意义。

表 2 胃癌组织中OPN的表达 (mean ± SD)

临床病理特征	OPN表达水平
性别	
男	0.0861 ± 0.0343
女	0.0897 ± 0.0365
年龄(岁)	
>60	0.1043 ± 0.0513
<60	0.0932 ± 0.0411
分化程度	
高分化	0.0663 ± 0.0427
低分化	0.0667 ± 0.0361
时期	
早期	0.0729 ± 0.0272
进展期	0.1428 ± 0.0314

OPN: 骨桥蛋白。

癌组织的OPN表达状况进行了检测, 结果发现, OPN蛋白的表达率为100%。Imano等<sup>[15]</sup>研究结果提示: OPN在胃癌的侵袭和远处转移过程中可能起着重要的作用。本实验结果表明: 与正常胃黏膜相比较, 胃癌组织中存在OPN蛋白的过表达。另外, 我们研究还发现OPN在早期胃癌组与进展期组中表达存在差异性( $P<0.05$ ), 随胃癌的进展OPN表达增多, OPN蛋白的过表达可能与胃癌的侵袭转移有密切关系; 该结果与以上文献报道结果一致。

**3.2 Gas、OPN在不同胃组织中的差异表达** 王丽等<sup>[2]</sup>研究发现Gas在浅表性胃炎中表达很低, 在不典型增生及胃癌中表达增高, 且呈逐渐增高的趋势; 郝波等<sup>[16]</sup>的研究中, 80.4%(37/46)的胃癌标本呈OPN阳性表达, 而12例正常胃黏膜组织均未见OPN阳性表达, 本实验结果表明: 在正常黏膜、不典型增生胃黏膜、胃癌3种病变组织中, OPN和Gas的阳性表达率随病变程度加重呈逐渐上升趋势, 差异具有统计学意义( $P<0.05$ ), 该结果与文献报道一致。

**3.3 Gas与OPN表达的相互关系** 本实验结果表明人胃癌及癌前病变组织中均有Gas及OPN表达, 胃癌组织中存在OPN蛋白的过表达, OPN蛋白的过表达可能与胃癌的侵袭转移有密切关系, 且Gas与OPN的蛋白表达呈正相关; 由此推断: Gas可能通过诱导OPN表达的升高促进胃癌的发生发展。另外, 我们研究还发现OPN在早期胃癌组与进展期组中表达存在差异性( $P<0.05$ ), 随胃癌的进展OPN表达增多, 提示OPN可能是胃癌预后不良的预测因子之一, 这可能与促进新生

血管形成, 从而促进肿瘤生长、转移有关。随着对Gas促癌作用机制的深入研究, 相信在不久的将来会出现愈来愈多的相关分子靶向药物, 从而为胃肠肿瘤的综合防治开辟新的途径。

### 4 参考文献

- Hotta K, Oyama T, Akamatsu T, Tomori A, Hasebe O, Nakamura N, Kojima E, Suga T, Miyabayashi H, Ohta H. A comparison of outcomes of endoscopic submucosal dissection (ESD) For early gastric neoplasms between high-volume and low-volume centers: multi-center retrospective questionnaire study conducted by the Nagano ESD Study Group. *Intern Med* 2010; 49: 253-259 [PMID: 20154428]
- 王丽, 周丽雅, 李渊, 金珠, 韩亚京. 胃泌素在胃炎与胃癌中表达的差异及意义. *中国微创外科杂志* 2011; 11: 435-438
- Higashiyama M, Ito T, Tanaka E, Shimada Y. Prognostic significance of osteopontin expression in human gastric carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2007; 14: 3419-3427 [PMID: 17896150]
- Junnilla S, Kokkola A, Mizuguchi T, Hirata K, Karjalainen-Lindsberg ML, Puolakkainen P, Monni O. Gene expression analysis identifies over-expression of CXCL1, SPARC, SPP1, and SULF1 in gastric cancer. *Genes Chromosomes Cancer* 2010; 49: 28-39 [PMID: 19780053 DOI: 10.1002/gcc.20715]
- 商冠宁, 赵岩, 王玉名, 孙平. 骨桥蛋白与肿瘤侵袭转移关系的研究进展. *现代肿瘤医学* 2012; 20: 0419-0422
- 陈军, 陈发龙, 曾丽霞. 骨桥蛋白与MMP-9在胃癌中的表达及其临床意义. *现代肿瘤医学* 2008; 16: 0592-0594
- Weber GF. The metastasis gene osteopontin: a candidate target for cancer therapy. *Biochim Biophys Acta* 2001; 1552: 61-85 [PMID: 11825687]
- Rittling SR, Chambers AF. Role of osteopontin in tumour progression. *Br J Cancer* 2004; 90: 1877-1881 [PMID: 15138464]
- Kermorgant S, Lehy T. Glycine-extended gastrin promotes the invasiveness of human colon cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 285: 136-141 [PMID: 11437383]
- Mishra P, Senthivinayagam S, Rangasamy V, Sondarva G, Rana B. Mixed lineage kinase-3/JNK1 axis promotes migration of human gastric cancer cells following gastrin stimulation. *Mol Endocrinol* 2010; 24: 598-607 [PMID: 20150185]
- Goetze JP, Eiland S, Svendsen LB, Vainer B, Hannibal J, Rehfeld JF. Characterization of gastrins and their receptor in solid human gastric adenocarcinomas. *Scand J Gastroenterol* 2013; 48: 688-695 [PMID: 23544442 DOI: 10.3109/00365521.2013.783101]
- Mishra P, Senthivinayagam S, Rana A, Rana B. Glycogen Synthase Kinase-3beta regulates Snail and beta-catenin during gastrin-induced migration of gastric cancer cells. *J Mol Signal* 2010; 5: 9 [PMID: 20637111 DOI: 10.1186/1750-2187-5-9]
- Ito M, Tanaka S, Maeda M, Takamura A, Tatsugami M, Wada Y, Matsumoto Y, Yoshihara M, Haruma K, Chayama K. Role of the gastrin-gastrin receptor system in the expansive growth of human gastric neoplasms. *Digestion* 2008; 78: 163-170 [PMID: 19065055 DOI: 10.1159/000181146]
- Coppola D, Szabo M, Boulware D, Muraca P, Alsarraj M, Chambers AF, Yeatman TJ. Correlation of

- osteopontin protein expression and pathological stage across a wide variety of tumor histologies. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 184-190 [PMID: 14734468]
- 15 Imano M, Satou T, Itoh T, Sakai K, Ishimaru E, Yasuda A, Peng YF, Shinkai M, Akai F, Yasuda T, Imamoto H, Okuno K, Ito H, Shiozaki H, Ohyanagi H. Immunohistochemical expression of osteopontin in gastric cancer. *J Gastrointest Surg* 2009; 13: 1577-1582 [PMID: 19582521 DOI: 10.1007/s11605-009-0955-y]
- 16 郝波, 张国新, 张炜明, 施瑞华, 王宏娣, 赵志泉. 骨桥蛋白在人胃癌中的表达及其临床意义. *中华消化内镜杂志* 2005; 22: 111-112

编辑 田滢 电编 鲁亚静

