

# SEPTIN 9 在胃癌组织中的表达及临床意义

李楠\* 王贺玲 梁晓平 杨明

(沈阳市第一人民医院消化内科, 沈阳 110041)

**【摘要】 目的** 探讨 SEPTIN 9 在胃癌组织中的表达及临床意义。 **方法** 从我院内镜室收集 102 例胃癌组织及其癌旁组织标本,通过组织微阵列和免疫组织化学染色方法检测胃癌及其癌旁组织中 SEPTIN 9 蛋白表达水平,并结合相应的病理资料,分析 SEPTIN 9 与胃癌组织分化程度的关系。 **结果** 在 102 例胃癌组织中,84 例(82.4%)SEPTIN 9 表达阳性;在 102 例癌旁组织中,35 例(34.3%)表达阳性,胃癌组织中 SEPTIN 9 的阳性表达率显著高于癌旁组织( $\chi^2 = 48.424, P = 0.000$ )。在 58 例高中分化胃癌组织中,23 例(39.6%)SEPTIN 9 高表达,在 44 例低分化胃癌组织中,40 例(90.9%)SEPTIN 9 高表达,二者高表达率有显著性差异( $\chi^2 = 27.931, P = 0.000$ )。 **结论** SEPTIN 9 在胃癌组织中高达,且与胃癌的分化程度有关。

**【关键词】** SEPTIN 9; 胃癌; 免疫组织化学

中图分类号:R735.204

文献标识:A

文章编号:1009-6604(2014)12-1125-03

doi:10.3969/j.issn.1009-6604.2014.12.019

**Expression of SEPTIN 9 in Gastric Cancer Tissues and Its Clinical Significance** Li Nan, Wang Heling, Liang Xiaoping, et al.

Department of Digestive Medicine, First People's Hospital, Shenyang 110041, China

Corresponding author: Li Nan, E-mail: baichunxin413@163.com

**【Abstract】 Objective** To explore the clinical significance of SEPTIN 9 expression in gastric cancer (GC) tissues. **Methods** A total of 102 GC tissues and 102 para-cancer tissues from surgical resected specimen were included in this study. Tissue microarray and immunohistochemistry (IHC) were used to detect SEPTIN 9 protein expression in the tissues. The clinical pathological data were collected for reviewing the relation between SEPTIN 9 expression and tissue differentiation. **Results** The SEPTIN 9 protein was mainly expressed in the cytoplasm. The expression rate in GC tissues was significantly higher than that in para-cancer normal tissues (82.4% vs. 34.3%,  $\chi^2 = 48.424, P = 0.000$ ). The SEPTIN 9 protein overexpression rate in lowly differentiated GC tissues was significantly higher than that in highly and moderately differentiated GC tissues (90.9% vs. 39.6%,  $\chi^2 = 27.931, P = 0.000$ ). **Conclusions** The level of SEPTIN 9 protein is higher in GC tissues than that in para-cancer normal tissues. The expression of SEPTIN 9 protein is associated with the degree of cancer differentiation.

**【Key Words】** SEPTIN 9; Gastric cancer; Immunohistochemistry

由于现代生活节奏及生活习惯的改变,我国胃癌的发病率逐渐增高,因此,胃癌的早期诊断具有重要的临床意义。SEPTIN 是一类广泛分布于真核生物中的保守骨架蛋白基因家族,共有 14 个成员,分别命名为 SEPTIN 1~14。研究<sup>[1]</sup>表明该家族与细胞分裂有关,其中 SEPTIN 9 参与血液肿瘤<sup>[2]</sup>、乳腺癌<sup>[3,4]</sup>、肝癌<sup>[5]</sup>、结直肠癌<sup>[6]</sup>等很多肿瘤的发生,但有关 SEPTIN 9 与胃癌的报道很少。本研究利用组织微阵列技术及免疫组织化学染色观察 SEPTIN 9 在胃癌及癌旁组织的表达,探讨其与胃癌

组织分化程度的关系。

## 1 材料与方法

### 1.1 标本

标本均为胃癌术后石蜡包埋组织。将 204 个蜡块包埋组织制成组织芯片,其中 102 例为胃癌组织,102 例为癌旁形态学正常组织。中高分化腺癌 58 例,低分化腺癌 44 例。术前均未经放化疗治疗。

### 1.2 方法

1.2.1 组织微阵列构建 光镜下对肿瘤组织和癌

\* 通讯作者, E-mail: baichunxin413@163.com

旁组织的 HE 染色切片进行形态学观察并进行标记。用组织芯片仪在受体蜡块上定位并钻直径 1 mm 的孔,丢弃蜡芯;用组织芯片仪在肿瘤组织中钻取 2 个直径为 1 mm 的组织柱,置入受体蜡块的孔中。将制作好的组织芯片蜡块在 37 ℃ 温箱孵育 1 h。室温冷却后 4 μm 厚切片,置 60 ℃ 烤箱中过夜,HE 染色判断取样是否正确,若取样为坏死或非肿瘤组织者为无效点<sup>[7]</sup>。

1.2.2 免疫组织化学 免疫组化染色采用 PowerVisionTM (PV6001) 二步法,将切片经脱蜡、水化、抗原修复、过氧化氢孵育及脱脂牛奶封闭后,加入 1:400 兔抗人 SEPTIN 9 多克隆抗体 (santa, sc-130263),湿盒孵育,4 ℃ 过夜。以 PBS 代替一抗作阴性对照,二抗采用 HRP 标记羊抗兔多聚体,DAB 显色,显微镜下控制时间,充分冲洗中止反应,苏木素复染、脱水、透明、封固<sup>[7]</sup>。结果判定由 2 位病理医师在未知肿瘤级别的情况下进行双盲阅片。分别在低倍视野 (×40) 观察,在高倍视野 (×200) 确认,随意计数 5 个高倍视野,根据阳性细胞染色强

度确定染色结果:细胞膜和 (或) 细胞质染淡棕色为弱阳性 (+),棕色者为阳性 (++) ,深棕色为强阳性 (+++)。染色阴性或弱阳性为低表达,染色阳性或强阳性为高表达。

1.3 统计学处理

采用统计软件 SPSS13.0 对数据进行处理。SEPTIN 9 基因在胃癌及癌旁组织中的阳性表达率和在不同分化程度胃癌组织中高表达率采用  $\chi^2$  检验, $P<0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SEPTIN 9 在胃癌及癌旁组织中的表达

SEPTIN 9 蛋白主要以细胞质表达为主 (图 1)。在 102 例胃癌组织中,阳性表达 84 例 (82.4%),阴性表达 18 例 (17.6%)。102 例癌旁组织中,阳性表达 35 例 (34.3%),其余 67 例 (65.7%) 为阴性表达。SEPTIN 9 在胃癌组织显著高于癌旁组织 (表 1)。

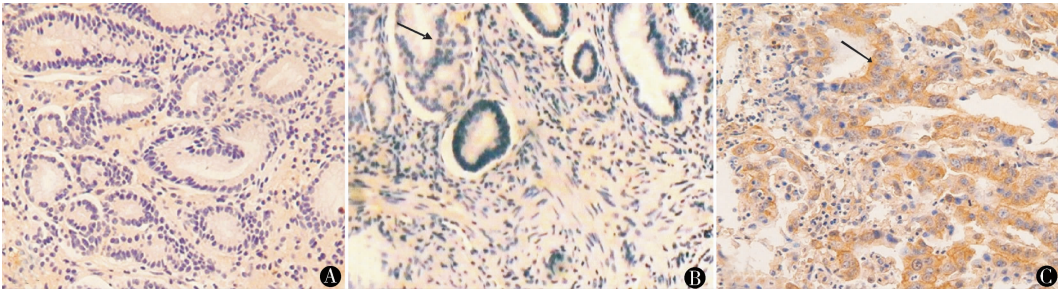


图 1 SEPTIN 9 在不同组织中表达不同,SEPTIN 9 蛋白主要以细胞质着色为主,棕色为阳性着色 A. 癌旁组织 (-);B. 高中分化胃癌组织 (++) ;C. 低分化胃癌组织 (+++) 免疫组化染色 ×200

表 1 SEPTIN 9 在胃癌组织及癌旁组织中的表达

组织类型	SEPTIN 9		阳性表达率 (%)
	阴性 (-)	阳性 (+~+++)	
胃癌组织 (n=102)	18	84	82.4
癌旁组织 (n=102)	67	35	34.3
$\chi^2$ 值			48.424
P 值			0.000

2.2 SEPTIN 9 在胃癌组织中的表达与胃癌分化程度的关系

高中分化胃癌组织中,SEPTIN 9 高表达 23 例 (39.6%);低分化胃癌组织中,SEPTIN 9 高表达 40 例 (90.9%)。SEPTIN 9 在低分化胃癌组织中的高表达率显著高于高中分化胃癌组织,见表 2。

表 2 SEPTIN 9 在胃癌组织中的表达与胃癌组织分化程度的关系

分化程度	SEPTIN 9		高表达率 (%)
	低表达 (-~+)	高表达 (++~+++)	
高中分化 (n=58)	35	23	39.6
低分化 (n=44)	4	40	90.9
$\chi^2$ 值			27.931
P 值			0.000

3 讨论

世界范围内,胃癌的病死率居恶性肿瘤第 2 位<sup>[8]</sup>,我国胃癌的患病率和病死率超过世界平均水平的 2 倍。肿瘤标志物与肿瘤相关基因的激活或失活有关,且可以在肿瘤病人的组织、体液和排泄物中

检测,故对于肿瘤的诊断和治疗有重要意义。SEPTIN 基因家族编码的蛋白质参与细胞分裂、细胞极化、囊泡运输及胞膜重构等多个过程<sup>[9]</sup>。有大量数据表明,这一家族的一些成员与肿瘤发生、神经功能障碍和病原微生物感染的过程直接相关。因此,近年来,SEPTIN 家族的功能研究正逐步成为细胞生物学及病理学研究的新热点。

SEPTIN 9 定位于染色体 17q25.3,很多研究表明,SEPTIN 9 为潜在原癌基因<sup>[3,10]</sup>。7287 例人新鲜组织和 292 个人细胞系的 Affymetrix HG-U133 基因芯片检测结果的分析表明,SEPTIN 9 在乳腺、中枢神经系统、子宫内膜、肾脏、肝、肺、淋巴、食管、卵巢、胰腺、软组织、皮肤、甲状腺等来源的肿瘤中高表达<sup>[10]</sup>。还有研究表明,前列腺癌细胞系中,MSF-A (SEPTIN 9-vla) 可以通过抑制缺氧诱导因子 1 $\alpha$  (HIF1 $\alpha$ ) 的泛素化降解途径,促进 HIF1 $\alpha$  的表达,并促进肿瘤血管形成<sup>[11]</sup>,该研究为 SEPTIN 9 在肿瘤发生、发展中的作用提供了直接证据,但 SEPTIN 9 在胃癌中的表达情况研究并不多见。

本研究通过组织微阵列技术和免疫组织化学方法分析胃癌及其癌旁组织中 SEPTIN 9 的表达情况,研究表明 SEPTIN 9 在胃癌组织中的表达高于其癌旁形态学正常组织,与以往研究报道的 SEPTIN 9 在乳腺癌、肾细胞癌、子宫内膜癌、胰腺癌、卵巢癌等恶性肿瘤中的高表达情况一致<sup>[12]</sup>。Loftonday 等<sup>[13]</sup>通过 RT-PCR 分析结直肠癌患者血浆样本,SEPTIN 9 在结直肠癌患者的血浆中高表达,进一步研究表明结直肠癌患者 SEPTIN 9-v2 启动子区域的甲基化水平也高于正常人群。Ahlquist 等<sup>[14]</sup>的研究也证实了这一点,从而揭示了 SEPTIN 9 甲基化是参与结直肠癌发生的分子机制之一。胡笑蓉<sup>[15]</sup>研究了胃癌组织中 SEPTIN 9 的甲基化水平,结果显示:中、高分化程度的胃癌组织 SEPTIN 9 甲基化明显高于分化程度低的胃癌组织,提示 SEPTIN 9 在不同分化程度的胃癌组织中的表达可能与 SEPTIN 9 启动子区域高度甲基化有关,但尚需进一步研究证实,我们将继续进行胃癌中 SEPTIN 9 表达与甲基化关系的研究。

本研究结果显示,低分化的胃癌组织中 SEPTIN 9 表达高于高中分化胃癌组织,提示 SEPTIN 9 表达水平的高低可以从某种程度上反映胃癌的恶性程度,为临床的治疗及评估预后有一定的指导意义。

本研究表明 SEPTIN 9 在胃癌组织中的表达较癌旁组织显著升高,且 SEPTIN 9 在低分化胃癌中的

表达较高中分化胃癌高,提示 SEPTIN 9 可能为胃癌及其分化程度的潜在分子标志物,其相关致病机制需要从细胞及分子水平进一步研究证实。

## 参考文献

- Kim MS, Froese CD, Estey MP, et al. SEPT9 occupies the terminal positions in septin octamers and mediates polymerization-dependent functions in abscission. *J Cell Biol*, 2011, 195(5):815–826.
- Cerveira N, Lisboa S, Correia C, et al. Genetinc and clinical characterization of 45 acute leukemia patients with MLL gene rearrangements from a single institution. *Mol Oncol*, 2012, 6(5):553–564.
- Montagna C, Lyn MS, Hunter K, et al. The Septin 9 (MSF) gene 23 amplified and overexpression in mouse mammary gland adenocarcinomas and human breast cancer cell lines. *Cancer Res* 2003, 63(9):2179–2187.
- Gonzalez ME, Peterson EA, Privette LM, et al. High SEPT9-v1 expression in human breast cancer cells is associated with oncogenic phenotypes. *Cancer Res*, 2007, 67(18):8554–8564.
- 曾永秋,曹洋,梅志强,等.沉默 SEPT9 基因对肝癌 HepG2 细胞增殖及凋亡的影响. *肿瘤防治研究*, 2013, 40(3):236–239.
- 赵慧霞,李秋云,董伟伟,等.粪便 SEPT9 基因甲基化检测在结直肠癌早期诊断中的应用研究. *中华临床医师杂志(电子版)*, 2012, 6(10):2599–2602.
- 郭瑞芳,臧师竹,张亮,等.转化生长因子  $\beta 1$  及其受体基因过表达与进展期胃癌分化及临床预后的关系. *中华医学杂志*, 2006, 86:3249–3254.
- Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin*, 2011, 61(2):69–90.
- 吴继军,韩卫星.人类 septin 蛋白家族及其疾病关系的研究进展. *安徽医科大学学报*, 2013, 48(10):1281–1283.
- Scott M, McCluggage WG, Hillan KJ, et al. Altered patterns of transcription of the septin gene, SEPT9, in ovarian tumorigenesis. *Int J Cancer*, 2006, 118(5):1325–1329.
- Amir S, Wang R, Matzkin H, et al. MSF-A interacts with hypoxia-inducible factor-1  $\alpha$  and augments hypoxia-inducible factor transcriptional activation to affect tumorigenicity and angiogenesis. *Cancer Res*, 2006, 66(2):856–866.
- Scott M, Hyland PL, Mcgegor G, et al. Multimodality expression profiling shows SEPT9 to be overexpressed in a wide range of human tumors. *Oncogene*, 2005, 24(29):4688–4700.
- Loftonday C, Model F, Devos T, et al. DNA methylation biomarkers for blood-based colorectal cancer screening. *Clin Chem*, 2008, 54(2):414–423.
- Ahlquist DA, Taylor WR, Mahoney DW, et al. The stool DNA test is more accurate than the plasma septin9 test in detecting colorectal neoplasia. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2012, 10(3):272–277.
- 胡笑蓉.胃癌、结直肠癌 SEPTIN 5,8,9 甲基化的研究及其意义. 宁波大学, 2012.

(收稿日期:2014–03–28)

(修回日期:2014–08–22)

(责任编辑:李贺琼)