

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.02.004

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2020.02.004>

Caveolin-1 基因的甲基化状态与食管胃结合部腺癌中 Caveolin-1 mRNA, Caveolin-1 蛋白及 Her-2 蛋白表达的相关性

石晓鹏, 尹颖, 张金平, 孔易

(武安市第一人民医院病理科, 河北 武安 056300)

[摘要] 目的: 检测食管胃结合部腺癌(adenocarcinomas of the esophagogastric junction, AEG)及远端正常组织(距癌灶>10 cm)中Caveolin-1的甲基化水平, 研究该基因甲基化对其mRNA、蛋白质及人类表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor-2, Her-2)蛋白在AEG中表达的相关性。方法: 采用甲基化特异性PCR(methylation-specific PCR, MSP)法检测67例食管胃结合部腺癌及远端正常组织中Caveolin-1的甲基化状态; 采用RT-PCR法检测食管胃结合部腺癌及远端正常组织中Caveolin-1 mRNA表达情况; 应用免疫组织化学法检测Caveolin-1蛋白及Her-2蛋白的表达情况; 进一步分析Caveolin-1的甲基化状态与其mRNA、蛋白及Her-2蛋白的表达的相关性。结果: 在食管胃结合部腺癌中, Caveolin-1的甲基化表达率为28.4%(19/67), 远端正常组织中未发现该基因的甲基化现象, 差异有统计学意义($P<0.01$); 癌组织中Caveolin-1的甲基化水平与患者的肿瘤大小、分化程度及淋巴结转移方面有关, 差异有统计学意义($P<0.05$); 而与性别、年龄、有无脉管癌栓及临床分期无关, 差异无统计学意义($P>0.05$); 癌组织中Caveolin-1 mRNA及蛋白的阳性表达率分别为46.3%和41.8%, 均明显低于远端正常组织, 差异有统计学意义($P<0.01$)。癌组织中Caveolin-1蛋白及Her-2蛋白的阳性表达率分别为41.8%和56.7%, 均与Caveolin-1的甲基化状态相关, 差异有统计学意义($P<0.05$)。结论: Caveolin-1甲基化可能参与了肿瘤的表达, 并且Caveolin-1甲基化可能与食管胃结合部腺癌中Caveolin-1 mRNA, Caveolin-1蛋白及Her-2蛋白的表达相关, 在食管胃结合部腺癌的发生及发展中发挥着重要的作用。

[关键词] 食管胃结合部腺癌; Caveolin-1甲基化; Caveolin-1蛋白; Her-2蛋白

Correlation between methylation of Caveolin-1 and expression of Caveolin-1 mRNA, Caveolin-1 protein and Her-2 protein in human adenocarcinomas of the esophagogastric junction

SHI Xiaopeng, YIN Ying, ZHANG Jinping, KONG Yi

(Department of Pathology, Wu'an No. 1 People's Hospital, Wu'an Hebei 056300, China)

Abstract Objective: To investigate the methylation level of Caveolin-1 in human adenocarcinomas of the esophagogastric

收稿日期 (Date of reception): 2019-04-15

通信作者 (Corresponding author): 孔易, Email: kongyi1111@163.com

基金项目 (Foundation item): 河北省卫生健康委员会研究与发展项目 (20171168)。This work was supported by Research and Development Project, Health Commission of Hebei Province, China (20171168).

junction (AEG) and the distal normal tissue from carcinoma (>10 cm), and to study the expression of *Caveolin-1* mRNA, Caveolin-1 protein and Her-2 protein in AEG and their relationships with the methylation of *Caveolin-1*. **Methods:** Methylation-specific PCR (MSP) method was used to detect the methylation status of *Caveolin-1* in 67 patients with AEG and distal normal tissue from carcinoma; the expression of *Caveolin-1* mRNA was detected in AEG and the distal normal tissue from carcinoma by RT-PCR; the expression of Caveolin-1 protein and Her-2 protein was detected by immunohistochemical method; the correlation between the methylation of *Caveolin-1* and the expression of *Caveolin-1* mRNA, Caveolin-1 protein and Her-2 protein was further analyzed. **Results:** Methylation of *Caveolin-1* was expressed as 28.4% (19/67) in AEG, and no methylation of this gene was found in the distal normal tissue from carcinoma, and the difference was statistically significant ($P<0.01$). Methylation level of *Caveolin-1* in carcinoma tissues was related to tumor size, differentiated degree and lymph node metastasis of patients, and the difference was statistically significant ($P<0.05$), but there was not related to gender, age, presence of vascular carcinoma thrombus and clinical stages, and the difference was not statistically significant ($P>0.05$). The positive expression rate of *Caveolin-1* mRNA and the protein in carcinoma tissues were 46.3% and 41.8%, which were both lower than the expression rate of that in the distal normal tissue from carcinoma, and the difference was statistically significant ($P<0.01$). The positive expression rate of Caveolin-1 protein and Her-2 protein in carcinoma tissues were 41.8% and 56.7%, which both related to the methylation state of *Caveolin-1*, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion:** Methylation of *Caveolin-1* may be involved in the expression of carcinoma, and may be associated with the expression of *Caveolin-1* mRNA, Caveolin-1 protein and Her-2 protein in AEG, which may play an important role in the occurrence and development of AEG.

Keywords adenocarcinomas of the esophagogastric junction; methylation of *Caveolin-1*; Caveolin-1 protein; Her-2 protein

目前世界范围内的胃癌发病率有下降趋势, 而食管胃结合部腺癌(adenocarcinomas of the esophagogastric junction, AEG)发病率却呈明显上升趋势^[1-2]。在我国, AEG中、晚期的患者比例较高, 与胃癌的治疗效果相比较, AEG的预后较差, 其5年生存率仅约20%。近期有研究^[3-4]表明: *Caveolin-1*是细胞膜上的一种支架蛋白, 作为一种候选的肿瘤抑制因子, 有可能参与了肿瘤生长繁殖、转移等生物学行为。Her-2在多种肿瘤细胞中高表达, 参与肿瘤细胞的增殖、黏附、分化、迁移、细胞转化和抗凋亡等^[5]。本课题通过研究在AEG及相应癌旁非肿瘤组织中*Caveolin-1*的甲基化水平, 并检测该基因mRNA、Caveolin-1蛋白及Her-2蛋白的表达情况, 分析其与*Caveolin-1*甲基化状态的相关性及其临床意义, 以期对AEG的基因治疗寻求新的治疗靶点。

1 材料与方法

1.1 标本来源

随机选取2012年1月至2017年6月武汉市第一

人民医院经外科手术切除, 并经病理确诊为AEG的组织标本67例。所有患者为首次发现AEG, 且术前均未进行放射治疗(以下简称放疗)和化学药物治疗(以下简称化疗)。所有患者留取肿瘤组织以及距肿瘤边缘>10 cm的远端正常组织。所有组织标本进行常规石蜡包埋、HE染色。本研究经所有患者知情同意, 并获得武汉市第一人民医院医学伦理委员会评审通过。患者的一般临床资料详见表1。

1.2 主要试剂

石蜡包埋组织切片DNA提取试剂盒及石蜡包埋组织切片总RNA提取试剂盒均购自天根生化科技(北京)有限公司; CpG甲基转移酶购自美科美(北京)生物医学科技有限公司; 反转录试剂盒(Reverse Transcription System A3500)购自普洛麦格(北京)生物技术有限公司; 兔抗人*Caveolin-1*多克隆抗体及鼠抗人HER-2单克隆抗体均购自中杉金桥(北京)生物技术有限公司; 本研究所用室温引物由北京赛百盛基因技术有限公司合成。

表1 Caveolin-1基因甲基化与临床病理特征间的关系

Table1 Relation between methylation of Caveolin-1 gene and the clinicopathological features

相关因素	n	Caveolin-1基因		χ^2	P
		未甲基化	甲基化		
性别		48	19	0.043	0.836
男	41	29	12		
女	26	19	7		
年龄/岁				2.526	0.112
<60	38	28	10		
≥60	29	10	9		
肿瘤大小/cm				7.551	0.006
>5	22	11	11		
≤5	45	37	8		
分化程度				4.977	0.026
高-中	39	32	7		
低	28	16	12		
有无侵犯血管或神经				0.583	0.445
无	41	28	13		
有	26	20	6		
TNM分期				0.456	0.501
I-II	43	32	11		
III-IV	24	16	8		
有无淋巴结转移				5.996	0.014
无	37	31	6		
有	30	17	13		

1.3 Caveolin-1基因的甲基化检测

利用University of California Santa Cruz(UCSC)数据库进行Caveolin-1的序列检索,联合Methprimer CpG岛预测软件分析发现,Caveolin-1基因在横跨部分启动子及第一外显子的近300bp范围内有且密度高达20%以上的富含CG二核苷酸序列。本实验即在此CpG岛范围内设计MSP检测用引物,正向引物在启动子区,反向引物在第一外显子区。根据亚硫酸盐处理后的单链DNA的未甲基化胞嘧啶可被亚硫酸氢盐脱去氨基而转变成尿嘧啶,而甲基化胞嘧啶不能被修饰这一原理,并结合Methprimer软件分别设计该基因的甲基化及非甲基化引物。甲基化引物序列:正向5'-GGTATTTTGTAGGCGCGTC-3',反向5'-AACGAAAAACGCCCGCAACG-3'。

非甲基化引物序列:正向5'-ATTGGGTATTTTGTAGGTGTGTT-3',反向5'-AAAGAAAAAAGCCAGCAAAG-3'。首先使用石蜡包埋组织切片DNA提取试剂盒提取AEG组织中的DNA,用紫外分光光度仪进行DNA定量后,取适量DNA以2 mol/L的氢氧化钠变性处理,与10 mmol/L氢醌和3 mmol/L亚硫酸氢钠于50℃反应16 h,再用DNA纯化试剂盒纯化变性的DNA标本,分别进行MSP检测。MSP反应条件:95℃预变性10 min;94℃变性30 s,55℃退火30 s,72℃延伸45 s,38个循环;72℃继续延伸10 min。

MSP的结果的判定:1)Caveolin-1基因未发生甲基化,即非甲基化的特异性引物扩增出了目的条带,而甲基化特异性引物没有扩增出目的条带;2)Caveolin-1基因发生甲基化,即甲基化引物

扩增出了目的条带,而非甲基化特异性引物则没有扩增出目的条带;3) *Caveolin-1* 基因发生不完全甲基化,即两对特异性引物均扩增出了目的条带,列入基因的甲基化。甲基化的阳性对照用甲基转移酶 *M.Sss I* 处理后的基因组DNA,非甲基化的阳性对照用无消化系统疾病及其他系统肿瘤的正常人外周血DNA,阴性对照则用灭菌双蒸水取代DNA模板进行扩增。同时,随机选取10%标本进行重复实验,以验证结果的可靠性。

1.4 *Caveolin-1* mRNA 表达的检测

参照石蜡包埋组织切片总RNA提取试剂盒提供的RT-PCR试剂说明书进行步骤操作,提取AEG组织及远端正常组织中的总RNA,并参照反转录试剂盒说明书的操作步骤将总RNA反转录成cDNA。*Caveolin-1* mRNA的正向引物序列为5'-AGACGAGCTGAGCGA-GAA-3',反向引物序列为5'-GCAGACAGCA-AGCGGTAA-3',目的产物为110 bp的片段;PCR反应条件为95 °C预变性5 min;94 °C变性6 045 s,56 °C退火45 s,72 °C延伸45 s,共38个循环;最后72 °C继续延伸5 min。将PCR产物进行2%琼脂糖凝胶电泳,使用甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)作为内参。因该结果多数基因为绝对阴性表达,故该目的基因mRNA阳性表达率用定性分析。

1.5 *Caveolin-1* 蛋白及Her-2蛋白表达的检测

所有组织标本经10%甲醛溶液固定,石蜡包埋,4 μm常规切片,60 °C烤片1 h,用pH为8.5的乙二胺四乙酸(ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA)在PT link全自动免疫组织化学预处理系统中进行修复处理,结束后取出切片架放入冷却槽中冷却至室温,再准备所需试剂摆放于试剂架中,使用Dako的Autostainer Link 48全自动免疫组织化学染色系统进行染色,DAB显色,苏木素复染,所有操作过程均按照染色说明进行。阴性对照用PBS缓冲液替代一抗。

Caveolin-1 蛋白的阳性表达部位为细胞质,Her-2蛋白的阳性表达部位为细胞膜,阳性结果为在表达部位出现粗细均匀一致的棕黄色或棕褐色颗粒。每张切片采用双盲法在显微镜下(×200)随机10个视野进行观察,计数各视野中癌细胞的染色情况。*Caveolin-1* 蛋白的判定结果:0分表现为无着色;1+表现为微弱、散在的细胞质着色;2+表现为中等强度、不均匀的细胞质棕黄着色;

3+表现为强且均匀的细胞质棕褐着色;0分和1+为阴性,2~3+为阳性。Her-2蛋白的判定结果:0分表现为无着色;1+表现为在癌细胞中呈现微弱的或不完整细胞膜的着色;2+表现为弱至中等强度、完整但不均匀的棕黄色的细胞膜着色的癌细胞>10%或强且完整的棕褐色细胞膜着色的癌细胞<30%;3+表现为>30%的癌细胞出现强且完整的棕褐色的细胞膜着色^[6];0分和1+为阴性,2~3+为阳性。

1.6 统计学处理

采用SPSS 13.0统计软件进行数据分析。计数资料的组间比较采用 χ^2 检验,相关性采用Spearman等级相关分析。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 *Caveolin-1* 基因甲基化与临床病理特征间的关系

所有组织标本均进行了MSP检测,其中*Caveolin-1*基因的甲基化在AEG中表达为28.4%(19/67),而在远端正常组织中未发现*Caveolin-1*有甲基化的现象,AEG组织中*Caveolin-1*基因甲基化的阳性表达率明显高于远端正常组织,差异有统计学意义($P<0.01$)。此外还发现:*Caveolin-1*基因甲基化与肿瘤大小、分化程度及淋巴结转移有关,差异有统计学意义($P<0.05$,图1,表1)。

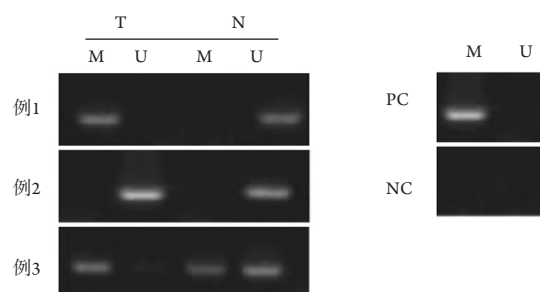


图1 AEG组织中*Caveolin-1*基因的甲基化状态分析

Figure 1 Methylation status analysis of *Caveolin-1* gene in AEG tissues

T: AEG组织; N: 远端正常组织; M: *Caveolin-1*基因甲基化; U: *Caveolin-1*基因未甲基化; NC: 阴性对照; PC: 阳性对照。

T: AEG tissues; N: the distal normal tissue from carcinoma; M: methylation of *Caveolin-1* gene; U: no methylation of *Caveolin-1* gene; NC: negative control; PC: positive control.

2.2 Caveolin-1 基因 mRNA, Caveolin-1 蛋白和 Her-2 蛋白在各组织中的表达

RT-PCR 法检测结果显示: *Caveolin-1* 基因 mRNA 在 AEG 组织中阳性表达率为 46.3% (31/67), 显著低于在远端正常组织中阳性表达率 80.6% (54/67), 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。相应的免疫组织化学检测结果显

示: Caveolin-1 蛋白在 AEG 组织中表阳性达率为 41.8% (28/67), 显著低于在远端正常组织中的阳性表达率 74.6% (50/67), 差异有统计学意义 ($P < 0.01$); Her-2 蛋白在 AEG 组织中的阳性表达率为 56.7% (38/67), 显著高于在远端正常组织的阳性表达率 26.9% (18/67), 差异有统计学意义 ($P < 0.01$, 图 2~4, 表 2)。

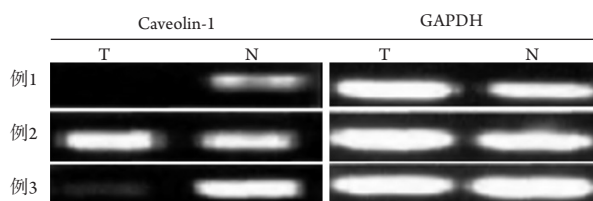


图2 AEG组织中*Caveolin-1*基因的RT-PCR分析

Figure 2 RT-PCR analysis of *Caveolin-1* gene in AEG tissues

T: AEG组织; N: 远端正常组织。

T: AEG tissues; N: the distal normal tissue from carcinoma.

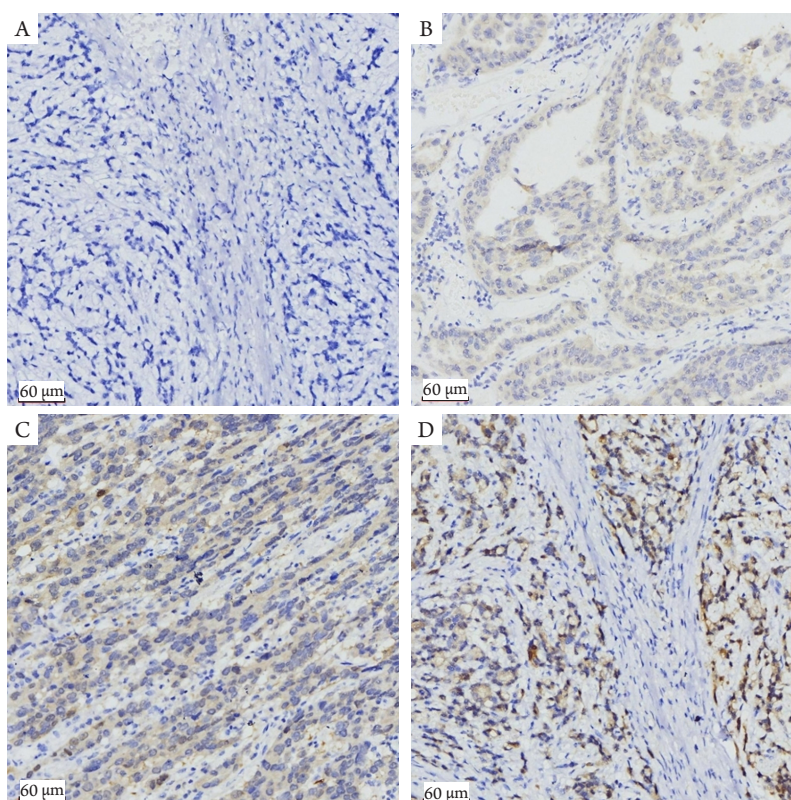


图3 免疫组织化学检测AEG组织中Caveolin-1蛋白表达(SP, $\times 200$)

Figure 3 Expression of *Caveolin-1* protein in AEG tissues was detected by immunohistochemistry (SP, $\times 200$)

(A) Caveolin-1 在 AEG 组织中的阴性表达; (B) Caveolin-1 在 AEG 组织中的弱阳性表达; (C) Caveolin-1 在 AEG 组织中的阳性表达; (D) Caveolin-1 在 AEG 组织中的强阳性表达。

(A) Negative expression of *Caveolin-1* in AEG tissues; (B) Weakly positive expression of *Caveolin-1* in AEG tissues; (C) Positive expression of *Caveolin-1* in AEG tissues; (D) Strongly positive expression of *Caveolin-1* in AEG tissues.

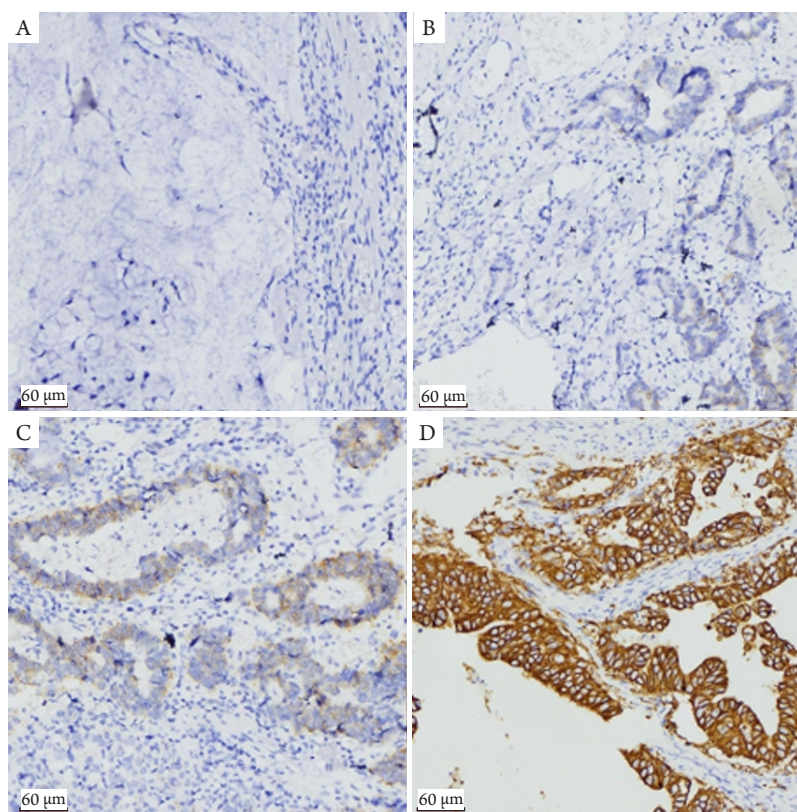


图4 免疫组织化学检测AEG组织中Her-2蛋白表达(SP, ×200)

Figure 4 Expression of Her-2 protein in AEG tissues was detected by immunohistochemistry (SP, ×200)

(A) Her-2在AEG组织中的阴性表达; (B) Her-2在AEG组织中的弱阳性表达; (C) Her-2在AEG组织中的阳性表达; (D) Her-2在AEG组织中的强阳性表达。

(A) Negative expression of Her-2 in AEG tissues; (B) Weakly positive expression of Her-2 in AEG tissues; (C) Positive expression of Her-2 in AEG tissues; (D) Strongly positive expression of Her-2 in AEG tissues.

表2 *Caveolin-1* mRNA, *Caveolin-1*蛋白和Her-2蛋白在各组织中的表达($n=67$)

Table 2 Expression of *Caveolin-1* mRNA, *Caveolin-1* protein and Her-2 protein in tissues ($n=67$)

相关因素	AEG组织	远端正常组织	χ^2	<i>P</i>
<i>Caveolin-1</i> mRNA	67	67	17.019	0.0001
阴性	36	13		
阳性	31	54		
<i>Caveolin-1</i> 蛋白			14.848	0.0001
阴性	39	17		
阳性	28	50		
Her-2蛋白			12.271	0.0001
阴性	29	49		
阳性	38	18		

2.3 AEG组织中*Caveolin-1*基因甲基化状态与*Caveolin-1*蛋白及Her-2蛋白表达的关系

在19例*Caveolin-1*基因甲基化的AEG组织中, *Caveolin-1*蛋白为阴性表达的有15例, Her-2蛋白

为阴性表达的有17例。相关分析显示: *Caveolin-1*基因甲基化状态与*Caveolin-1*蛋白($r=-0.265$, $P=0.031$)和Her-2蛋白($r=-0.348$, $P=0.004$)表达缺失均有相关性(表3)。

表3 AEG组织中Caveolin-1基因甲基化状态与Caveolin-1蛋白及Her-2蛋白表达的关系

Table 3 Relation between the methylation of Caveolin-1 gene and the expression of Caveolin-1 protein and Her-2 protein in AEG tissues

相关因素	n	Caveolin-1基因		r	P
		未甲基化	甲基化		
Caveolin-1蛋白	67	48	19	-0.265	0.031
阴性	39	24	15		
阳性	28	24	4		
Her-2蛋白	67	48	19	-0.348	0.004
阴性	42	25	17		
阳性	25	23	2		

3 讨论

由于AEG大多隐匿发病, AEG患者确诊时多已为中晚期, 造成临床治疗不及时, 预后较差, 严重影响着患者的生命健康及生存质量。手术合并化疗在目前仍然是治疗AEG的重要措施。随着人们对AEG认识的逐步加深, 发现早期AEG患者术后5年生存率显著高于中晚期AEG患者, 预后相对较好, 因此对AEG早发现、早诊断及早治疗尤为重要。Caveolin-1基因的表达异常, 包括基因甲基化、mRNA及蛋白的异常表达, 可能在AEG的发生发展过程中起重要作用^[7]; 同时Her-2蛋白在AEG中也存在异常表达, 可能与AEG发生及预后有关^[8]。

Caveolin-1基因定位于人类染色体7q31.1, 其分子量为21.24KD。作为小凹蛋白克隆的三个家族成员之一, Caveolin-1基因上可见多种信号分子相同的氨基酸序列, 该序列能够进一步形成信号通路枢纽中心, 通过磷酸化和/或去磷酸化的途径与信号分子之间产生相互作用, 调控并浓缩特异脂质及修饰信号转导分子, 参与肿瘤细胞的增生、分化、衰老及死亡^[9]。Schlegel等^[10]研究发现, Caveolin-1在N端存在两个对功能和结构起作用的区域, 一个是寡聚化功能(caveolin oligomerization domain, COD), 含有第61~101氨基酸残基邻近的穿膜区; 另一个是绞手架区(caveolin scaffolding domain, CSD), 含有第82-101氨基酸残基区域, 可与细胞内的其他分子信号相互作用。由于Caveolin-1的不同生物学行为, 使得其在不同组织、不同来源的肿瘤细胞中的表达并不一致。Fiucci等^[11]在乳腺癌和Sunaga等^[12]在肺癌的研究

发现: Caveolin-1在肿瘤细胞中的表达为低表达, 表现为抑癌基因。许杰^[13]的研究发现: Caveolin-1在胃腺癌中的低表达提示肿瘤为进展期。然而, Karam等^[14]在前列腺癌和Ando等^[15]在食道癌的研究中发现: Caveolin-1在肿瘤细胞中的表达为高表达, 表现为促癌基因。范玉宏等^[16]发现Caveolin-1的高表达与食管鳞癌分化程度、TMN分期、淋巴结转移及肝转移有关。张杰东等^[17]研究发现: Caveolin-1在甲状腺乳头状癌中高表达, 可能促进甲状腺乳头状癌的淋巴结转移。但郭艳丽等^[18]的研究发现: Caveolin-1过表达可明显抑制抑制了胃癌细胞株NCI-N87的增殖及迁移能力。而在Kannan等^[19]和Hitkova等^[20]的研究中可见即使同一肿瘤, Caveolin-1表达的也不尽相同, 发挥不同的作用。

本研究应用MSP法检测Caveolin-1基因的甲基化在AEG及远端正常组织中表达, 结果显示在AEG中Caveolin-1基因的甲基化约占28.4%, 远端正常组织中未发现该基因的甲基化现象; 提示Caveolin-1基因在AEG中发生异常表达, 可能参与了AEG的发生发展。为进一步明确Caveolin-1基因在AEG中表达下调的具体机制, 通过检测67例AEG和远端正常组织中Caveolin-1 mRNA及蛋白的表达情况, 发现在AEG中Caveolin-1 mRNA及Caveolin-1蛋白的阳性表达率均低于远端正常组织的阳性表达率, 说明Caveolin-1基因可能与AEG的发生有一定关系, 并可能起到抑癌的作用, 这也与朱旭斌等^[21]的研究相一致。同时, AEG中Caveolin-1基因甲基化与Caveolin-1蛋白相关性研究中发现, 两者存在明显的负相关, 提示Caveolin-1表达下调的机制可能由于该基因的CpG岛的甲基化水平引起。此外, 本

研究还发现有4例Caveolin-1基因甲基化的AEG组织中, Caveolin-1 mRNA表达仍为阳性, 其原因可能是由于肿瘤组织中参杂一些非肿瘤组织, 或由于肿瘤组织发生的甲基化程度不够。再进一步采用免疫组织化学检测, 发现AEG组织中Caveolin-1蛋白表达阳性率低于其mRNA的阳性表达率, 提示除DNA甲基化外, 可能还存在其他的转录后调控机制调节该基因的表达。而Lino等^[22]研究发现: 在肺纤维化性疾病中microRNA-199a-5p过转录后调控可降解Caveolin-1蛋白的表达。此外还发现: Caveolin-1基因甲基化可能与AEG的肿瘤大小、分化程度及淋巴结转移等情况有关, 提示该基因的高甲基化可能与AEG的恶性表型相关, 并对预后评估有一定的参考价值。

Her-2基因是一种原癌基因, 属于表皮生长因子受体(EGFR)家族中成员之一, 定位于人类染色体17q12-21.32上, 其编码相对分子质量为185 000的跨膜受体样蛋白^[22]。研究^[23-24]发现EGFR家族成员在信号传递途径、耐药性和新的治疗策略的机制研究在癌症研究中越来越重要。Her-2蛋白具有酪氨酸激酶活性, 其过表达与多种恶性肿瘤的预后密切相关。Her-2蛋白的过表达可引起Ras/MAPK, PI3K/Akt等信号通路的一系列反应, 从而促进细胞的增殖、分化、迁移及抗凋亡, 诱导肿瘤血管的生成, 增强肿瘤细胞侵袭力, 在肿瘤发生发展中发挥重要作用^[25-26]。孙慧慧等^[27]的研究证实Her-2在胃癌中是重要的独立预后指标之一。研究^[28]表明: 在食管胃结合部腺癌中Her-2阳性的患者, 应用曲妥珠单抗联合化疗可提高生存期。

目前由于Caveolin-1作用的复杂性, AEG中该基因与EGFR信号通路的关系目前尚未完全阐明。本研究检测了Caveolin-1基因甲基化与Her-2蛋白表达的关系, 发现Her-2蛋白在AEG组织的阳性表达率为56.7%, 显著高于远端正常组织的阳性表达率26.9%, 提示Her-2蛋白在AEG的过表达, 可能参与AEG的发生、增殖等行为, 提示EGFR通路在AEG中可能处于激活状态; 进一步检测AEG中Caveolin-1基因甲基化与Her-2蛋白相关性发现, 两者间存在负相关, 提示Caveolin-1基因的CpG岛的甲基化水平可能是引起Her-2表达下调的机制之一, 并且两者有可能共同参与了AEG的发生。

综上所述, Caveolin-1基因可以作为候选抑癌基因影响AEG的发生、浸润及转移等情况。通过联合检测患者组织中Caveolin-1基因甲基化、Caveolin-1 mRNA、Caveolin-1蛋白及Her-2蛋白, 可

能有助于AEG的早期诊断, 并指导临床设计合理的个体化化疗方案, 为AEG的临床诊断及预后提供新的生物指标, 也为AEG的靶向治疗带来新的突破。

参考文献

1. Ajan JA, Barthel JS, Bentrem DJ, et al. Esophageal and esophagogastric junction cancers[J]. J Natl Compr Canc Netw, 2011, 9(8): 830-887.
2. Van HP, Hulshof M, Van LJ, et al. Preoperative chemoradiotherapy for esophageal or junctional cancer[J]. N Engl J Med, 2012, 366(22): 2074-2084.
3. Bastiani M, Parton RG. Caveolae at a glance[J]. J Cell Sci, 2010, 123(Pt 22): 3831-3836.
4. Thompson TC, Tahir SA, Li L, et al. The role of caveolin-1 in prostate cancer: clinical implications[J]. Prostate Cancer Prostatic Dis, 2010, 13(1): 6-11.
5. Shepard HM, Brdlik CM, Schreiber H. Signal integration: a framework for understanding the efficacy of therapeutics targeting the human EGFR family[J]. J Clin Invest, 2008, 118(11): 3574-3581.
6. 《胃癌HER2检测指南(2016版)》专家组. 胃癌HER2检测指南(2016版)[J]. 中华病理学杂志, 2016, 45(8): 528-532. Group of Guideline Recommendations For HER2 Detection (2016). Guidelines for HER2 detection in gastric cancer (2016)[J]. Chinese Journal of Pathology, 2016, 45(8): 528-532.
7. 郭艳丽, 周珍, 郭炜, 等. 贲门腺癌中Caveolin-1基因的甲基化状态及其与 β -catenin异位表达的关系[J]. 肿瘤, 2015, 34(9): 825-830. GUO Yanli, ZHOU Zhen, GUO Wei, et al. Methylation status of Caveolin-1 gene and its relationship with ectopic expression of β -catenin in gastric cardia adenocarcinoma[J]. Tumor, 2015, 34(9): 825-830.
8. 高正兴, 林海珊, 曹邦伟. 抗人类表皮生长因子受体2靶向药物在晚期胃或胃食管结合部腺癌的临床应用进展[J]. 中国医院用药评价与分析, 2018, 18(4): 443-445. GAO Zhengxing, LIN Haishan, CAO Bangwei. Advances in clinical application of human epidermal growth factor receptor 2 targeting drug in advanced gastric or gastroesophageal junction adenocarcinoma[J]. Evaluation and Analysis of Drug-Use in Hospitals of China, 2018, 18(4): 443-445.
9. 邵大川, 钱军. 食管胃结合部腺癌的诊治现状及研究进展[J]. 中华全科医学, 2014, 12(9): 1469-1471. SHAO Dachuan, QIAN Jun. Current status and research progress of diagnosis and treatment of adenocarcinoma of the esophageal and gastric junction[J]. Chinese Journal of General Practice, 2014, 12(9): 1469-1471.

10. Schlegel A, Lisanti MP. A molecular dissection of caveolin-1 membrane attachment and oligomerization. Two separate regions of the caveolin-1 C-terminal domain mediate membrane binding and oligomer/oligomer interactions in vivo[J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(28): 21605-21617.
11. Fiucci G, Ravid D, Reich R, et al. Caveolin-1 inhibits anchorage-independent growth, anoikis and invasiveness in MCF-7 human breast cancer cells[J]. *Oncogene*, 2002, 21(15): 2365-2375.
12. Sunaga N, Miyajima K, Suzuki M, et al. Different roles for caveolin-1 in the development of non-small cell lung cancer versus small cell lung cancer[J]. *Cancer Res*, 2004, 64(12): 4277-4285.
13. 许杰. 胃腺癌中小凹蛋白,基质金属蛋白酶-9和转移相关蛋白-2的表达关系[J]. *中国老年学杂志*, 2014, 2(34): 1102-1103.
XU Jie. Expression of small concave protein matrix metalloproteinase-9 and metastatic related protein-2 in gastric adenocarcinoma[J]. *Chinese Journal of Gerontology*, 2014, 2(34): 1102-1103.
14. Karam JA, Lotan Y, Roehrborn CG, et al. Caveolin-1 overexpression is associated with aggressive prostate cancer recurrence[J]. *Prostate*, 2007, 67(6): 614-622.
15. Ando T, Ishiguro H, Kimura M, et al. The overexpression of caveolin-1 and caveolin-2 correlates with a poor prognosis and tumor progression in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Oncol Rep*, 2007, 18(3): 601-609.
16. 范玉宏, 周海丰, 侯占富, 等. 小凹蛋白-1和基质金属蛋白酶-2在食管鳞癌中的表达及临床意义[J]. *中国临床药理学杂志*, 2018, 30(11): 1298-1301.
FAN Yuhong, ZHOU Haifeng, HOU Zhanfu, et al. Expressions of Caveolin-1 and matrix metalloprotein-2 in esophageal squamous cell carcinoma tissues and their clinical significance[J]. *The Chinese Journal of Clinical Pharmacology*, 2018, 30(11): 1298-1301.
17. 张杰东, 方媛, 刘兰侠, 等. 小凹蛋白-1、E-cad和P53在甲状腺乳头状癌中的表达及临床意义[J]. *现代医学*, 2018, 46(7): 741-744.
ZHANG Jiedong, FANG Yuan, LIU Lanxia, et al. Expression of Caveolin-1, E-cad and P53 in papillary thyroid carcinoma and the relationship with clinicopathological significance[J]. *Modern Medical Journal*, 2018, 46(7): 741-744.
18. 郭艳丽, 朱铁年. 胃癌细胞中Caveolin-1对表皮生长因子受体2活化的影响[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2018, 25(11): 1125-1130.
GUO Yanli, ZHU Tienian. Effect of Caveolin-1 on activation of epidermal growth factor receptor 2 in gastric cancer cells[J]. *Chinese Journal of Cancer Biotherapy*, 2018, 25(11): 1125-1130.
19. Kannan A, Krishnan A, Ali M, et al. Caveolin-1 promotes gastric cancer progression by up-regulating epithelial to mesenchymal transition by crosstalk of signalling mechanisms under hypoxic condition[J]. *Eur J Cancer*, 2014, 50(1): 204-215.
20. Hitkova I, Yuan G, Anderl F, et al. Caveolin-1 protects B6129 mice against *Helicobacter pylori* gastritis[J]. *PLoS Pathog*, 2013, 9(4): e1003251.
21. 朱旭斌, 吕翔, 董云生, 等. 胃腺癌组织CD151,Cav-1与MT1-MMP的表达及其临床意义[J]. *海南医学*, 2017, 18(3): 384-387.
ZHU Xubin, LÜ Xiang, DONG Yunsheng, et al. Expression of gastric cancer CD151, Cav-1 and MT1-MMP and its clinical significance[J]. *Hainan Medical Journal*, 2017, 18(3): 384-387.
22. Lino CL, Henaoui IS, Courcot E, et al. MiR-199a-5p is upregulated during fibrogenic response to tissue injury and mediates TGFbeta-1 induced lung fibroblast activation by targeting caveolin-1[J]. *PLoS Genet*, 2013, 9(2): e1003291.
23. Xu J, Du Y, Liu XJ, et al. Recombinant EGFR/MMP-2 bi-targeted fusion protein markedly binding to non-small-cell lung carcinoma and exerting potent therapeutic efficacy[J]. *Pharmacol Res*, 2017, 126: 66-76.
24. Sun YW, Xu J, Zhou J, et al. Targeted drugs for systemic therapy of lung cancer with brain metastases [J]. *Oncotarget*, 2018, 9(4): 5459-5472.
25. Wen J, Liu KL, Zhu JX, et al. Eneidiyne-activated, EGFR-targeted human β -defensin 1 has therapeutic efficacy against non-small cell lung carcinoma[J]. *Laboratory Investigation*, 2018, 98(12): 1538-1548.
26. 池苗苗, 戴飞飞, 王亚坤, 等. Her-2表达在食管胃结合部腺癌中的作用研究进展[J]. *中国肿瘤*, 2015, 24(1): 49-52.
CHI Miaomiao, DAI Feifei, WANG Yakun, et al. Progress of Her-2 expression in gastroesophageal junction adenocarcinomas[J]. *China Cancer*, 2015, 24(1): 49-52.
27. 孙慧慧, 姜雷, 杨亚飞, 等. HER-2基因表达水平与胃癌化疗敏感性的Meta分析[J]. *中国老年学杂志*, 2018, 2(38): 562-564.
SUN Huihui, JIANG Lei, YANG Yafei, et al. Meta-analysis of expression level of HER-2 gene and chemotherapy sensitivity of gastric carcinoma[J]. *Chinese Journal of Gerontology*, 2018, 2(38): 562-564.
28. Gravalos C, Gomez MC, River AF, et al. Phase II study of trastuzumab and cisplatin as first-line therapy in patients with Her-2-positive advanced gastric or gastroesophageal junction cancer[J]. *Clin Transl Oncol*, 2011, 13(3): 179-184.

本文引用: 石晓鹏, 尹颖, 张金平, 孔易. Caveolin-1基因的甲基化状态与食管胃结合部腺癌中Caveolin-1 mRNA, Caveolin-1蛋白及Her-2蛋白表达的相关性[J]. *临床与病理杂志*, 2020, 40(2): 281-289. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.02.004

Cite this article as: SHI Xiaopeng, YIN Ying, ZHANG Jinping, KONG Yi. Correlation between methylation of *Caveolin-1* and expression of *Caveolin-1* mRNA, *Caveolin-1* protein and Her-2 protein in human adenocarcinomas of the esophagogastric junction[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2020, 40(2): 281-289. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.02.004