利用组织芯片技术研究 CDX2 和 MUC2 在萎缩性胃炎及胃癌组织中的表达①

陈淑敏[1]，邹宗楷[2]，唐忠辉[1]，沈洪武[2]，苏海燕[2]，陈雅静[1]，林彩环[1]
（1. 漳州卫生职业学院病理学教研室，福建 漳州 363000
E－mail：chensm1705@163.com；
2. 福建省漳州市医院病理科，福建 漳州 363000）

摘 要：目的 探讨尾侧型同源转录因子 2（caudal type homeobox transcription factor－2，CDX2）和黏蛋白 2（mucin 2，MUC2）的表达与萎缩性胃炎和胃癌的关系。**方法** 采用组织芯片技术构建含 30 例正常胃黏膜、30 例萎缩性胃炎和 41 例胃癌的组织芯片，用免疫组化方法（S－P 法）检测组织芯片中 CDX2 和 MUC2 的表达。**结果** 正常胃黏膜组织中 CDX2、MUC2 都无表达。萎缩性胃炎中 CDX2（100％）、MUC2（72.40％）高表达。胃癌黏膜 CDX2（66.67％）、MUC2（13.89％）阳性表达。CDX2、MUC2 在不同胃黏膜阳性表达率差异有统计学意义（$P<0.001$）。CDX2 和 MUC2 在胃癌组织中的表达与病人年龄、浸润深度、有无淋巴结转移、TNM 分期均无关（$P>0.05$）。CDX2 表达在男女性别差异有统计学意义（$P<0.05$）。CDX2 表达与组织学类型、分化程度都无关（$P>0.05$）。MUC2 表达在不同组织学类型、分化程度差异有统计学意义（$P<0.05$）。CDX2、MUC2 二者的表达无明显相关性。**结论** CDX2、MUC2 表达在胃黏膜肠化生进展及胃癌发生中有重要作用。

关键词： CDX2；MUC2；胃肿瘤；肠化生；组织芯片技术；免疫组织化学
中图分类号： R735.2 **文献标识码：** A **文章编号：** 1001－5817(2014)05－0686－04
doi：10.3969/j.issn.1001－5817.2014.05.003

Expression of CDX2 and MUC2 in human atrophic gastritis and gastric carcinoma by tissue microarray technology

Chen Shumin[1], Zou Zongkai[2], Tang Zhonghui[1], Shen Hongwu[2],
Su Haiyan[2], Chen Yajing[1], Lin Caihuan[1]

(1. *Pathology Teaching and Research Section, Zhangzhou Health Vocational College, Zhangzhou* 363000, *Fujian, China* E－mail: chensm1705@163.com;;
2. *Department of Pathology, Zhangzhou Municipal Hospital, Zhangzhou* 363000, *Fujian, China*)

Abstract: Objective To investigate the expression of caudal type homeobox transcription factor－2 (CDX2) and mucin 2 (MUC2) in atrophic gastritis and gastric carcinoma, and their correlation with atrophic gastritis and gastric carcinoma. **Methods** Tissue chips containing 30 atrophic gastritis specimens, 41 gastric carcinoma specimens, and 30 normal gastric mucosa specimens were constructed by tissue microarray technology, at the same time, the expressions of CDX2 and MUC2 in tissue microarrays were determined by using immunohistochemistry. **Results** Neither CDX2 expression nor MUC2 expression occurred in normal gastric mucosa tissue specimens. High expression of CDX2 (100％) and MUC2 (72.40％) occurred in atrophic gastritis specimens. Gastric carcinoma mucosa had CDX2－positive expression (66.67％) and MUC2－positive expression (13.89％). The comparison of CDX2－ and MUC2－ positive expression among different gastric mucosa specimens yielded statistical significant differences ($P<0.001$). The expression of CDX2 and MUC2 in gastric carcinoma tissues had no association with patients' age, depth of invasion, lymph nodes metastasis and TNM staging ($P>0.05$). Compared the males with CDX2－positive gastric cancer to that of females, there was statistically significant difference ($P<0.05$). The expression of CDX2 had no association with histological type, tumor differentiation grade ($P>0.05$). The expression of MUC2 in tumors with different histological type, different differentiation yielded statistically significant difference ($P<0.05$). The expression of CDX2

① **基金项目：**福建省教育厅 B 类课题立项(JB10241)

had no positively correlation with MUC2. **Conclusion** The expression of CDX2 and MUC2 plays an important role in the development of gastric mucosa intestinal metaplasia, also in the development of gastric carcinoma.

Key words: homeobox transcription factor－2; mucin 2; stomach neoplasm; intestinal metaplasia; tissue microarray technology; immunohistochemistry

胃癌是我国最常见的消化道肿瘤，其发病率居各类肿瘤的首位。胃癌的发生发展是多基因改变的结果。尾侧型同源转录因子 2（caudal type homeobox transcription factor－2，CDX2），属肠特异性转录因子，对肠上皮细胞的分化、凋亡和肠道特定基因的转录起调控作用。黏蛋白 2（mucin 2，MUC2）是 MUC2 基因编码的一种分泌性黏蛋白，主要功能是在肠腔的上皮表面形成保护屏障。科学研究发现 CDX2 和 MUC2 在胃黏膜肠化生及胃癌组织中表达异常[1]。本实验采用组织芯片技术构建 101 例组织芯片，用免疫组化方法（S－P 法）检测组织芯片中 CDX2 和 MUC2 的表达，旨在探讨他们的表达与萎缩性胃炎及胃癌的关系。

1　材料与方法

1.1　临床资料　选取漳州市医院病理科 2002 年 7 月～2003 年 1 月期间随访资料完整的 41 例原发性胃癌手术切除标本的蜡块及 30 例萎缩性胃炎标本蜡块。另胃镜活检选取 30 例正常胃黏膜作为对照。复习全部病例的临床资料，胃癌病例按新编常见恶性肿瘤诊治规范进行组织分型、区域淋巴结转移分站及 TNM 分期。其中乳头状腺癌 6 例、管状腺癌 17 例、低分化腺癌 6 例、黏液腺癌 7 例、印戒细胞癌 1 例。所有患者术前未经过任何抗癌治疗。

1.2　主要试剂　实验用兔抗人 CDX2 单克隆抗体（克隆号：EPR2764Y，即用型，产品编号：RMA－0631）、鼠抗人 MUC2 单克隆抗体（克隆号：M53，即用型，产品编号：MAB－0075）及 SP 免疫组化试盒及 DAB 显示试剂盒均购自福州迈新生物技术开发有限公司。

1.3　组织芯片制作　步骤一：HE 染色切片形态学观察，确定目标组织：萎缩性胃炎的胃黏膜、胃癌等。步骤二：选择目标组织并分别在组织切片和相应石蜡组织上标记。步骤三：依次制作取材针、组织芯片制孔器和 7×5 和 7×6 点列阵的组织芯片受体模块[2]；用取材针从已定位的石蜡上取目标组织到组织芯片受体蜡块的相应孔内，构建含有正常胃黏膜、萎缩性胃炎及胃癌的组织阵列蜡块。步骤四：将组织阵列蜡块行连续切片，切片厚度为 4 μm，与常规组织制片操作基本相似。

1.4　免疫组化　采用 S－P 方法对组织芯片切片进行免疫组化染色，DAB 显色，苏木精复染，封片，具体操作按照 SP 试剂盒说明书进行。以 PBS 缓冲液代替一抗作为阴性对照，用肠黏膜组织切片作阳性对照。

1.5　染色结果判断　染色结果采用半定量分析法：以染色强度结合阳性细胞数百分比综合计分。CDX2 蛋白表达阳性为胞核出现淡黄色至棕褐色颗粒。MUC2 蛋白表达阳性为胞质内出现淡黄色至棕褐色颗粒。染色强度以多数细胞呈现的染色特性（染色深浅需与背景着色相对比）计分：无着色为 0 分，淡黄色为 1 分，棕黄色为 2 分，棕褐色为 3 分。阳性细胞百分比即某类细胞 5 个视野（每 400×高倍视野计数 100 个此类细胞）的阳性细胞平均数：0～5％为 0 分，6％～25％为 1 分，26％～50％为 2 分，51％～75％为 3 分，＞75％为 4 分。每张切片随机取 5 个 400 倍视野，每个视野均进行染色强度计分与阳性细胞百分比计分。采用双盲法，分别由两位资深病理医师观察计分，取二者的平均评分作为每张切片的染色强度分值和阳性细胞百分比计分。最终评分为染色强度与阳性细胞百分比的乘积：0 分为阴性（－），1～4 分为弱阳性（＋），5～8 分为中度阳性（＋＋），9～12 分为强阳性（＋＋＋）。1～12 分在文中都描述为阳性。

1.6　统计学方法　应用 SPSS 11.0 统计学软件进行分析，阳性率以％表示。采用行×列表 χ^2 检验，Spearman 秩相关检验。$P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2　结果

2.1　组织芯片的质量　构建含 30 例正常胃黏膜、30 例萎缩性胃炎和 41 例胃癌患者的组织芯片，30 例萎缩性胃炎和 41 例胃癌患者的组织芯片。蜡块组织阵列排列整齐，常规切片组织形态良好。在 101 例组织芯片中有 7 例发生取材定位不准、掉片和皱折现象，其中胃癌 4 例、正常胃黏膜 2 例、萎缩性胃炎 1 例。41 例胃癌中只有 1 例印戒细胞癌，故剔除掉。总共 8 例芯片在结果分析时未纳入统计。

2.2　CDX2 和 MUC2 在正常胃黏膜、萎缩性胃炎和胃癌组织中的表达情况　在正常情况下，CDX2 表达于肠黏膜上皮细胞的胞核，染色呈棕黄色。MUC2 主要表达于肠道的杯状细胞的胞质中，染色呈棕黄色。本实验发现在正常胃黏膜中 CDX2、MUC2 无表达（见图 1A 和图 1B）。在 29 例萎缩性胃炎组织中 CDX2 全部表达阳性（100％），MUC2 表达阳性 21 例（72.41％）（见图 2A 和图 2B）。在胃癌组织中 CDX2 阳性染色主要定位于细胞核，其阳性表达率为 66.67％（见图 3A）。在胃癌组织中 MUC2 主要定位于胞质，其阳性表达率为 13.89％（见图 3B）。CDX2、MUC2 在不同胃黏膜阳性表达率差异有统计学意义（$P<0.001$），见表 1。

表 1　CDX2 和 MUC2 在不同胃黏膜病变中的表达

组别	n	CDX2 表达阳性例数（％）	MUC2 表达阳性例数（％）
正常胃黏膜	28	0(0)	0(0)
萎缩性胃炎	29	29(100)	21(72.4)
胃癌	36	24(66.67)	5(13.89)
P		0.000	0.000

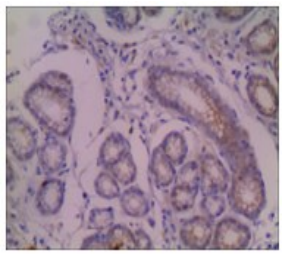

图 1　A 正常胃黏膜 CDX2 免疫组化结果（S－P 法×100）

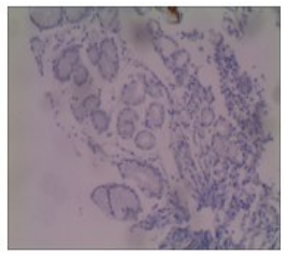

图 1　B 正常胃黏膜 MUC2 免疫组化结果（S－P 法×100）

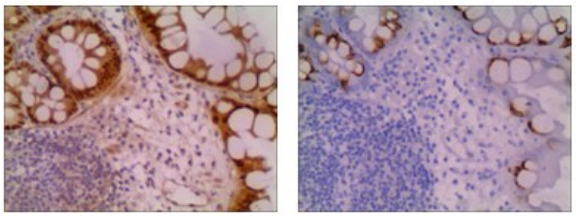

图 2　A 萎缩性胃炎伴肠化生 CDX2 免疫组化结果(S－P 法×200)
图 2　B 萎缩性胃炎伴肠化生 MUC2 免疫组化结果(S－P 法×200)

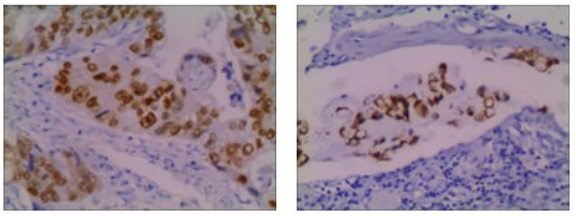

图 3　A 胃癌黏膜 CDX2 免疫组化结果(S－P 法×400)
图 3　B 胃癌黏膜 MUC2 免疫组化结果(S－P 法×200)

2.3　CDX2 和 MUC2 蛋白表达与胃癌临床病理特征的关系　通过统计学分析表明,CDX2 在男女性别表达差异有统计学意义($P<0.05$)。CDX2 表达在低分化腺癌阳性率最高(83.33%),在管状腺癌阳性率最低(58.82%),但差异无统计学意义。CDX2 在高中分化程度组的阳性表达率为 55%,低分化程度组阳性表达率为 81.25%,差异无统计学意义($P>0.05$)。MUC2 在低分化腺癌阳性表达率为 33.33%,黏液腺癌阳性表达率为 42.86%,差异有统计学意义($P<0.05$)。在高中分化程度组的阳性表达率为 0,低分化程度组阳性率 31.25%,差异有统计学意义($P<0.05$)。CDX2 和 MUC2 在胃癌组织中的表达与病人年龄、浸润深度、有无淋巴结转移、TNM 分期均无关($P>0.05$)。以上结果见表 2。

2.4　CDX2 和 MUC2 蛋白表达的相关性　在萎缩性胃炎黏膜中 CDX2 表达阳性率为 100%,MUC2 表达阳性率为 72.40%,二者无明显相关性。在胃癌组织中 MUC2 阳性表达的病例都发生在 CDX2 阳性表达的病例中,但二者无明显相关性($r=0.284$,$P=0.093$),以上结果见表 3。

2.5　CDX2 和 MUC2 蛋白共同表达与胃癌浸润转移的关系　CDX2 和 MUC2 表达阳性者共 5 例,全部累及肌层甚至达浆膜层,全部有淋巴结转移,3 例 TNM 分期为Ⅲ期或Ⅳ期。CDX2(＋)/MUC2(－)者共 19 例,累及肌层甚至达浆膜层 13 例,有淋巴结转移的有 18 例,10 例 TNM 分期为Ⅲ期或Ⅳ期。CDX2(－)/MUC2(－)者共 12 例,累及肌层甚至达浆膜层 9 例,有淋巴结转移的有 11 例,8 例 TNM 分期为Ⅲ期或Ⅳ期。以上结果见表 4。

3　讨论

本实验采用组织芯片技术,具有高通量的优点,提高实验效率;使实验对照平行化,减少实验误差。实验中使用自制的组织芯片制孔器制作受体蜡块,一次制孔完成,省时省力,减少了实验费用。

本实验发现 CDX2 在不同胃黏膜阳性表达率差异有统计学意义($P<0.001$)。CDX2 在正常胃黏膜上皮中不表达,在萎缩性胃炎中全部表达阳性(100%),与文献结果相似[3],可能与所选取病例都是萎缩性胃炎伴肠上皮化生有关。切片观察发现阳性表达都发生于肠化生的杯状细胞,提示 CDX2 的表达是发生胃黏膜肠化生的重要起始事件,而萎缩性胃炎伴肠上皮化生是胃癌的癌前病变。正常胃黏膜上皮没有 CDX2 表达,但胃癌中却有较高表达,并与分化程度无关,提示 CDX2 可能具有区分非肿瘤性和肿瘤性胃黏膜上皮的潜能。在胃癌黏膜组织中 CDX2 的表达低于萎缩性胃炎,考虑 CDX2 基因的突变可能导致 CDX2 表达缺失,最终导致胃癌的发生[4]。另外,本实验结果与朱惠君等[5]相似,发现 CDX2 异常表达与组织学分型、年龄、临床病理分期、分化程度、淋巴结转移等因素无关。本实验发现 CDX2 的阳性表达有男女差别,且差异有统计学意义,考虑:①本实验的病例数较少,应增加标本数减少偏差;②CDX2 表达确实与性别有关,是否与不同性别基因易感性不同有关,具体机制需要进一步探讨。

表 2　CDX2 和 MUC2 的表达及其与胃癌临床病理特征的关系

项目	n	CDX2 表达阳性例数(%)	MUC2 表达阳性例数(%)
性别			
男	27	21(77.78)	5(18.52)
女	9	3(33.33)	0(0)
P		0.041	0.404
年龄			
＜60 岁	16	11(68.75)	3(18.75)
≥60 岁	20	13(65)	2(10)
P		0.813	0.788
组织学类型			
乳头状腺癌	6	4(66.67)	0(0)
管状腺癌	17	10(58.82)	0(0)
低分化腺癌	6	5(83.33)	2(33.33)
黏液腺癌	7	5(71.42)	3(42.86)
P		0.731	0.015
分化程度			
高中分化	20	11(55)	0(0)
低分化	16	13(81.25)	5(31.25)
P		0.097	0.027
浸润深度			
T1＋T2	9	6(66.67)	0(0)
T3＋T4	27	18(66.67)	5(18.52)
P		1.000	0.302
淋巴结转移			
无	2	1(50)	0(0)
有	34	23(67.65)	5(14.71)
P		1.000	1.000
TNM 分期			
Ⅰ期＋Ⅱ期	15	11(73.33)	2(13.33)
Ⅲ期＋Ⅳ期	21	13(61.90)	3(14.29)
P		0.721	1.000

表 3　胃癌组织 CDX2 和 MUC2 表达的相关性

	MUC2	n	CDX2		r	P
			阴性	阳性		
胃癌	阴性(－)	31	12	19	0.284	0.093
	阳性(＋)	5	0	5		

(下转第 691 页)

胃癌发生发展过程中的启动和促动因子[20]。故防止、降低胃癌发生须积极查治慢性非萎缩性胃炎，清除 Hp 感染，并进行相关健康知识的普及教育。

参考文献：

[1] 房静远，刘文忠，李兆申，等. 中国慢性胃炎共识意见(2012 年，上海)[J]. 中华消化杂志，2013，33(1)：5－16.

[2] Hatakeyama M. SagA of CagA in Helicobacter pylori pathogenesis[J]. Curr Opin Microbiol，2008，11(1)：30－37.

[3] Talley NJ，Zinsmeister AR，Weave A，et al. Gastric adenocarcinoma and Helicobacter pylori infection[J]. J Natl Cancer Inst，1991，83(23)：1734－1739.

[4] 郭文伟. 安康地区幽门螺杆菌感染情况调查[J]. 内蒙古中医药，2012(15)：105－106.

[5] 麦力强，朱逸明，王梦玲. 502 例胃部疾病患者幽门螺杆菌检测报告[J]. 新医学，2004，35(7)：410－411.

[6] 丁保国，樊冬梅，刘红建，等. 胃粘膜幽门螺杆菌感染与慢性胃炎的关系[J]. 中国慢性疾病预防与控制，2005，13(1)：26－27.

[7] 盛方斌，范敬东，胡波，等. 4984 名职工幽门螺杆菌感染情况分析[J]. 公共卫生与预防医学，2010，21(5)：95－96.

[8] 尹梦欣，向英. 我院门诊慢性胃炎幽门螺杆菌感染状分析[J]. 医学理论与实践，2010，23(8)：1029.

[9] Moayyedi P，Hunt RH. Helicobacter pylori public health implications[J]. Helicobacter，2004，9(Suppl 1)：67－72.

[10] 全国幽门螺杆菌科研协作组. 幽门螺杆菌若干问题的共识意见[J]. 中华医学杂志，2000，80(2)：394－395.

[11] 陈灏珠. 实用内科学[M]. 12 版. 北京：人民卫生出版社，2005：1862.

[12] 柳艳博，武京学. 幽门螺杆菌感染与胃癌前病变的关系[J]. 中国医药指南，2013，11(11)：549－550.

[13] 张丹. 慢性胃炎的治疗近况研究进展[J]. 临床合理用药，2014，7(1)：175－176.

[14] 李志义，刘斌，吴启峰. 幽门螺杆菌感染与胃黏膜病变的相关性研究[J]. 中华消化杂志，2007，27(1)：52－54.

[15] 胡文海. 幽门螺杆菌感染与胃炎性病变、不典型增生及胃癌关系的研究[J]. 吉林医学，2013，34(24)：4883.

[16] 赵丽华，林竞，位嘉，等. 胃炎与幽门螺杆菌感染 326 例相关性分析[J]. 诊断病理学杂志，2014，21(2)：84－86.

[17] 林进乾. 幽门螺杆菌感染与慢性胃炎炎症活动的关系[J]. 中国疗养医学，2009，18(3)：257.

[18] 赵小娟，董火林，王萍. 幽门螺杆菌感染与慢性胃炎的关系研究[J]. 基层医学论坛，2003，7(8)：697－698.

[19] 高慎茹. 浅析幽门螺杆菌感染与胃癌前疾病及胃癌的相关性[J]. 吉林医学，2014，35(11)：2404.

[20] 时昭红，刘浩. 幽门螺杆菌感染与胃癌[J]. 世界华人消化杂志，2011，19(32)：3327.

收稿日期：2014－09－09；**修回日期：**2014－10－10

(上接第 688 页)

表 4　胃癌 CDX2、MUC2 共同表达与胃癌浸润转移的关系　(n，%)

CDX2	MUC2	n	T3＋T4	$TNM_{Ⅲ+Ⅳ}$	淋巴结转移
＋	＋	5	5(100)	3(60)	5(100)
＋	－	19	13(68.42)	10(52.63)	18(94.73)
－	－	12	9(75)	8(66.67)	11(91.67)
P			0.444	0.809	1.000

本实验发现 MUC2 在不同胃黏膜阳性表达率差异有统计学意义($P<0.001$)。MUC2 蛋白表达于萎缩性胃炎(72.41%)，可能与 MUC2 蛋白在上皮更新分化方面具有重要作用有关。胃癌中黏液腺癌和低分化腺癌 MUC2 阳性率高，与陈亚男等[6]、南则仲等[7]研究结果相似，认为 MUC2 可作为研究黏液腺癌的较好指标。MUC2 的表达与分化程度有关，主要表达于低分化程度组。本实验结果发现 MUC2 在胃癌组织中的表达与浸润深度、有无淋巴结转移、TNM 分期均无关，考虑肿瘤的迁移与扩散可能是多因素综合作用的结果，可能与 Survivin、CD147 和 CD34 等异常表达有关[8]。

本实验发现不论在萎缩性胃炎或胃癌组织中 CDX2 和 MUC2 的表达无明显相关性，与文献报道不一致[9－10]。Yamamoto 等[11]认为 CDX2 蛋白可能通过作用于 MUC2 基因的启动子，上调 MUC2 mRNA 的活性，共同参与胃黏膜肠化。本研究认为 CDX2 的表达可影响 MUC2 的表达，但还有其他因素共同调控和决定 MUC2 的表达，具体机制需进一步深入研究。

参考文献：

[1] 陈淑敏，唐忠辉. CDX2 和 MUC2 在胃癌癌变多阶段组织中的表达及意义的研究近况[J]. 医学综述，2011，17(14)：2111－2113.

[2] 沈洪武，叶莉，吴文乔，等. 组织芯片制孔器和受体蜡块的制作[J]. 中华病理学杂志，2007，36(9)：624.

[3] 苏帅，陈鑫，姜葵，等. CDX2、COX－2 和 NF－kB 在胃癌和癌前病变中的表达和意义[J]. 中国肿瘤临床，2013，40(22)：1387－1390.

[4] Song JH，Kim CJ，Cho YG，et al. Genetic alterations of the Cdx2 gene in gastric cancer[J]. APMIS，2008，116(1)：74－80.

[5] 朱惠君，许钟，毛振彪，等. 鸟甘酸环化酶 C 和尾型同源盒转录因子 2 蛋白在胃癌及癌前病变组织中的表达[J]. 中华医学杂志，2008，88(48)：3418－3421.

[6] 陈亚男，姜懿凌，罗阳，等. 胃癌组织 MUC 黏蛋白表达及其与胃癌分型关系的研究进展[J]. 中华肿瘤防治杂志，2008，15(13)：1032－1035.

[7] 南则仲，吉卫卫. MUC1 和 MUC2 与 MUC4 在胃癌组织中表达及临床意义[J]. 山西医学教育，2008(1)：60－62.

[8] 陈华生，唐忠辉，邹宗楷，等. 利用组织芯片技术研究 Survivin 和 CD147 在胃癌中的表达与血管生成的关系[J]. 中国临床实用医学，2009，3(1)：14－16.

[9] 刘杲，童仕伦. CDX2 和 MUC2 在胃癌组织中的表达及意义[J]. 武汉大学学报，2007，28(3)：365－368.

[10] 宋光耀，王金华，高志安，等. CDX2 和 MUC2 蛋白表达与胃癌及癌前病变的关系[J]. 中华肿瘤防治杂志，2007，14(15)：1129－1131.

[11] Yamamoto H，Bai YQ，Yuasa Y. Homeodomain protein CDX2 regulates goblet－specific MUC2 gene expression[J]. Biochem Biophs Res Commun，2003，300(4)：813－818.

收稿日期：2014－09－09