

# LAPTM4B-35、CTGF蛋白在食管胃交界部腺癌中的表达及其意义

陈会, 周升飞, 辛瑞, 刘钰, 王凯旋, 刘鲁英

## ■背景资料

溶酶体相关4次跨膜蛋白β(lysosome associated protein transmembrane-4β, *LAPTM4B*)基因-35蛋白在多种恶性肿瘤组织中的表达显著高于正常组织, 其过表达与肿瘤的增殖、侵袭和转移密切相关。结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)在多种肿瘤组织中表达, 但在不同的肿瘤中对侵袭转移及预后判断的作用存在争议。

陈会, 周升飞, 辛瑞, 刘钰, 王凯旋, 刘鲁英, 滨州医学院病理学教研室 山东省烟台市 264003

陈会, 在读硕士, 主要从事消化系统疾病的分子病理研究。

基金项目: 山东省自然科学基金资助项目, No. ZR2011HM073; 滨州医学院大学生科技创新活动基金资助项目, Nos. BY2015DKCX020, BY2016DKCX008。

作者贡献分布: 此课题由刘鲁英设计; 研究过程由陈会、周升飞、辛瑞、刘钰及王凯旋操作完成; 数据分析与论文写作由陈会与刘鲁英完成。

通讯作者: 刘鲁英, 副教授, 264003, 山东省烟台市莱山区观海路346号, 滨州医学院病理学教研室。lilixq@126.com  
电话: 0535-6913215

收稿日期: 2017-03-11  
修回日期: 2017-03-30  
接受日期: 2017-04-17  
在线出版日期: 2017-05-18

## Significance of expression of LAPTM4B-35 and CTGF in adenocarcinoma of the esophagogastric junction

Hui Chen, Sheng-Fei Zhou, Rui Xin, Yu Liu, Kai-Xuan Wang, Lu-Ying Liu

Hui Chen, Sheng-Fei Zhou, Rui Xin, Yu Liu, Kai-Xuan Wang, Lu-Ying Liu, Department of Pathology, Binzhou Medical University, Yantai 264003, Shandong Province, China

Supported by: Natural Science Foundation of Shandong Province, No. ZR2011HM073; Innovation Foundation for Students of Binzhou Medical University, No. BY2015DKCX020 and No. BY2016DKCX008.

Correspondence to: Lu-Ying Liu, Associate Professor, Department of Pathology, Binzhou Medical University, 346 Guanhai Road, Laishan District, Yantai 264003, Shandong Province, China. lilixq@126.com

Received: 2017-03-11

Revised: 2017-03-30

Accepted: 2017-04-17

Published online: 2017-05-18

## Abstract

### AIM

To detect the expression of lysosome-associated protein transmembrane-4β (*LAPTM4B*) and connective tissue growth factor (CTGF) in adenocarcinoma of the esophagogastric junction (AEG), and to analyze their clinical significance.

### METHODS

Immunohistochemistry and Western blot methods were used to detect the expression of *LAPTM4B*-35 and CTGF in 137 cases of AEG tissue samples. The correlation between the expression of *LAPTM4B*-35, CTGF and clinicopathologic parameters was analyzed. We also analyzed the value of *LAPTM4B*-35 and CTGF protein expression in predicting the prognosis of AEG patients.

### RESULTS

High expression of *LAPTM4B*-35 was detected in 89.1% of AEG tissues. High expression of *LAPTM4B*-35 was more frequently detected in cases with distant metastasis ( $P = 0.011$ ) and in stage III or IV cases ( $P = 0.026$ ). High expression of CTGF was detected in 51.1% of cases. Patients with high CTGF expression showed a higher incidence of distant metastasis ( $P = 0.033$ ), and the tumor diameter in this group was much bigger than that in cases with low CTGF expression ( $P = 0.021$ ).

## ■同行评议者

陈钟, 教授, 南通大学肝胆外科研究所; 崔彦, 主任医师, 解放军第306医院普通外科; 牛伟新, 教授, 主任医师, 复旦大学附属中山医院普外科

The expression of LAPTM4B-35 was correlated with that of CTGF in AEG tissues ( $r = 0.218$ ;  $P = 0.010$ ). Patients with high LAPTM4B-35 or CTGF expression had the worst outcome in terms of overall survival compared with the low expression group ( $P < 0.001$ ). Cox regression analysis of 137 patients showed that high LAPTM4B-35 expression ( $P < 0.001$ ), distant metastasis ( $P < 0.001$ ), lymph nodes metastasis ( $P = 0.007$ ), intravascular cancer emboli ( $P = 0.022$ ), and sex ( $P < 0.001$ ) were independent prognostic factors.

## CONCLUSION

The expression of LAPTM4B-35 and CTGF in AEG is closely correlated with tumor progression and metastasis. LAPTM4B-35 has significant value in predicting the prognosis of AEG patients.

© The Author(s) 2017. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Adenocarcinoma of the esophagogastric junction; Lysosome-associated protein transmembrane-4 $\beta$ ; Connective tissue growth factor; Metastasis

Chen H, Zhou SF, Xin R, Liu Y, Wang KX, Liu LY. Significance of expression of LAPTM4B-35 and CTGF in adenocarcinoma of the esophagogastric junction. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2017; 25(14): 1240-1247 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v25/i14/1240.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v25.i14.1240>

## 摘要

### 目的

探讨溶酶体相关4次跨膜蛋白 $\beta$ (lysosome-associated protein transmembrane-4 $\beta$ , LAPTM4B)基因-35及结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)蛋白在食管胃交界部腺癌组织中的表达及其意义。

### 方法

采用免疫组织化学染色及蛋白印迹分析检测137例食管胃交界部腺癌组织中LAPTM4B-35及CTGF蛋白的表达情况, 分析蛋白表达与患者临床病理参数的关系及对患者预后的影响。

### 结果

LAPTM4B-35蛋白在89.1%的食管胃交界部腺癌组织中呈高表达状态, LAPTM4B-35高表达组癌细胞发生远处转移( $P = 0.011$ )、

肿瘤进展至TNM III/IV期( $P = 0.026$ )显著多于低表达组。CTGF蛋白在51.1%的癌组织中呈高表达状态, CTGF高表达组发生远处转移( $P = 0.033$ )、肿瘤直径 $>5$  cm( $P = 0.021$ )均多于低表达组。癌组织中LAPTM4B-35蛋白与CTGF蛋白表达之间呈正相关关系( $r = 0.218$ ,  $P = 0.010$ )。单因素生存分析显示LAPTM4B-35、CTGF蛋白高表达的患者其术后生存时间分别显著低于LAPTM4B-35、CTGF蛋白低表达的患者(双侧log-rank检验,  $P < 0.001$ )。LAPTM4B-35蛋白表达( $P < 0.001$ )、发生远处转移( $P < 0.001$ )、淋巴结转移( $P = 0.007$ )、查见脉管癌栓( $P = 0.022$ )及患者性别( $P < 0.001$ )是影响食管胃交界部腺癌患者的独立预后因子。

## 结论

LAPTM4B-35及CTGF蛋白的高表达与肿瘤的侵袭转移及不良预后密切相关。

© The Author(s) 2017. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**关键词:** 食管胃交界部腺癌; 溶酶体相关4次跨膜蛋白 $\beta$ 基因-35; 结缔组织生长因子; 肿瘤转移

**核心提要:** 食管胃交界部腺癌(adenocarcinoma of the esophagogastric junction, AEG)对人类健康的危害越来越受到重视。本研究发现溶酶体相关四次跨膜蛋白 $\beta$ (lysosome-associated protein transmembrane-4 $\beta$ , LAPTM4B)-35及结缔组织生长因子蛋白在AEG组织中的高表达与肿瘤的侵袭转移密切相关, 同时LAPTM4B基因-35蛋白表达是影响AEG患者预后的独立因素, 这有助于揭示AEG的发生发展机制, 为探讨AEG治疗新途径提供依据。

陈会, 周升飞, 辛瑞, 刘钰, 王凯旋, 刘鲁英. LAPTM4B-35、CTGF蛋白在食管胃交界部腺癌中的表达及其意义. *世界华人消化杂志* 2017; 25(14): 1240-1247 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v25/i14/1240.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v25.i14.1240>

## 0 引言

近年来胃癌(gastric carcinoma, GC)的发病率和死亡率在世界范围内明显下降<sup>[1,2]</sup>, 但是食管胃交界部腺癌(adenocarcinoma of the esophagogastric junction, AEG)作为一种独立的临床病理类型, 其发病率和死亡率反而有明显上升的趋势<sup>[3,4]</sup>。大多数AEG确诊时已进

## ■ 研究前沿

LAPTM4B基因参与多种恶性肿瘤的发生与发展过程, 但是在食管胃交界部腺癌(adenocarcinoma of the esophagogastric junction, AEG)中, LAPTM4B是否参与其侵袭转移过程尚不清楚。

## ■ 相关报道

LAPTM4B基因可能通过激活*c-myc*、*c-fos*、*c-jun*等原癌基因表达, 上调cyclin D1和cyclin E等细胞周期, 调节蛋白表达, 抑制肿瘤细胞凋亡, 促进PI3K/AKT、表皮生长因子受体信号通路活化等机制增强肿瘤细胞的增殖与侵袭能力。

展至晚期, 因此其五年生存率常低于30%。肿瘤细胞的浸润和转移是导致患者预后不良的重要原因<sup>[5]</sup>, 因此研究与肿瘤侵袭、转移相关的分子机制并寻找相应的靶向治疗途径, 是目前研究的重要内容。溶酶体相关四次跨膜蛋白 $\beta$ (lysosome-associated protein transmembrane-4 $\beta$ , LAPTM4B)基因是近年来发现的癌基因, LAPTM4B-35蛋白在多种实体肿瘤组织中表达上调, 促进肿瘤细胞增殖、侵袭和转移, 抑制肿瘤细胞凋亡, 诱导肿瘤细胞自噬等, 与多种肿瘤的预后不良相关<sup>[6]</sup>。结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)是CCN家族的成员之一, 研究<sup>[7,8]</sup>发现CTGF高表达与结肠癌、胃癌等多种恶性肿瘤的浸润和转移相关。因此, 本研究通过免疫组织化学染色、蛋白印迹分析研究AEG组织中LAPTM4B-35及CTGF蛋白的表达及其与肿瘤侵袭、转移的关系, 为揭示AEG侵袭、转移的机制, 寻找新的治疗靶点等提供参考。

## 1 材料和方法

1.1 材料 收集滨州医学院附属医院存档的AEG病例137例, 其中男性105例, 女性32例, 平均年龄58.1岁(31-78岁), 肿瘤的直径、分化程度、淋巴结转移、远处转移、TNM分期及食管内癌栓等临床病理参数如表1。患者术前均未接受放疗、化疗及生物治疗。本研究经过医院伦理委员会批准, 所有患者均签署知情同意书。手术切除的AEG标本均经4%中性福尔马林固定, 石蜡包埋, 4  $\mu$ m切片备用。10例-80  $^{\circ}$ C冻存的肿瘤标本进行蛋白印迹分析, 验证免疫组织化学染色结果。

## 1.2 方法

1.2.1 二步法免疫组织化学染色: 4  $\mu$ m的石蜡切片经二甲苯脱蜡, 梯度酒精水化, 3%的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>封闭内源性过氧化物酶后进行抗原修复(高压锅热修复, EDTA, pH 8.0, 3 min)。滴加一抗(兔抗人LAPTM4B-35多克隆抗体购自北京博奥森生物技术有限公司, 工作浓度为1:100; 鼠抗人CTGF单克隆抗体购自R&D公司, 工作浓度为1:100)。辣根过氧化物酶标记的通用型二抗(PV-9000, 购自北京中杉金桥有限公司)检测一抗, DAB显色。用已证实的LAPTM4B-35及CTGF染色阳性、阴性的组织为对照, 用PBS代替一抗为空白对照。

1.2.2 免疫组织化学染色结果判定: LAPTM4B-35

蛋白染色定位于胞浆和胞膜, CTGF蛋白染色定位于胞浆, 最终染色结果分为低表达与高表达。首先判断染色强度并评分如下: 0 = 阴性表达, 1 = 弱表达(浅棕色), 2 = 强表达(棕色至深棕色); 判断染色范围并评分如下: 0 = 无阳性染色细胞或阳性染色细胞比例 $\leq$ 10%, 1 = 11%-50%的细胞染色为阳性, 2 $\geq$ 50%的细胞染色为阳性。染色强度与染色范围评分相加, 根据评分之和将染色结果分为低表达与高表达: 低表达 = 评分之和为0、1, 高表达 = 评分之和为2、3、4。

1.2.3 蛋白免疫印迹实验: -80  $^{\circ}$ C冰箱中保存的AEG组织及癌旁组织各50 mg, 加入预冷的裂解液, 提取蛋白质, 测定蛋白质浓度后, 每孔加入50  $\mu$ g蛋白样品进行电泳, PVDF转膜, 脱脂奶粉封闭后加入一抗(兔抗人LAPTM4B-35多克隆抗体, 工作浓度为1:300; 鼠抗人CTGF单克隆抗体, 工作浓度为1:1000), 4  $^{\circ}$ C过夜, 加二抗, 室温孵育1 h, ECL显影,  $\beta$ -actin为内参对照。

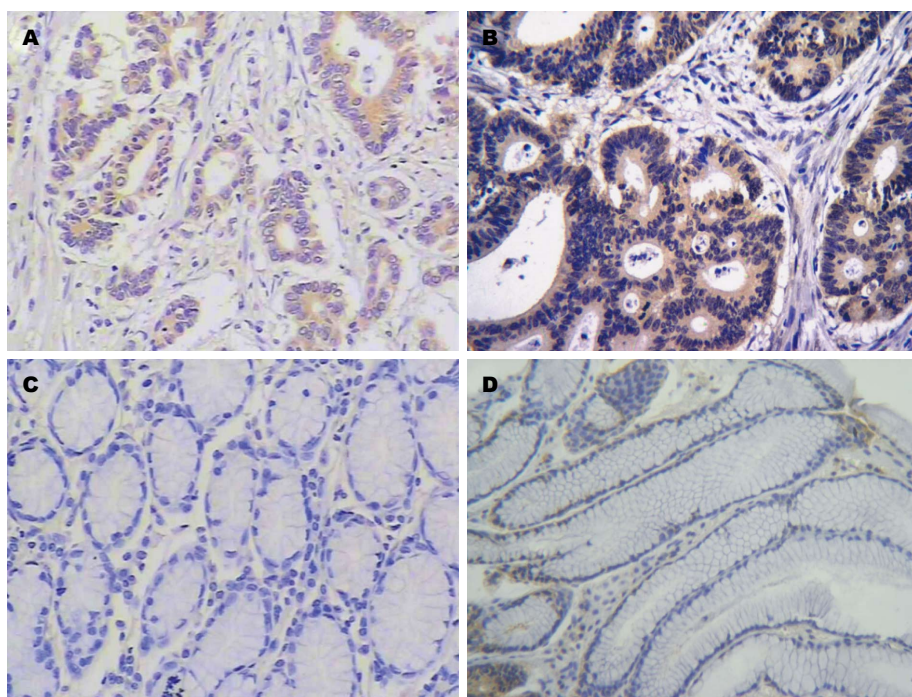
统计学处理 采用SPSS19.0统计软件进行数据分析。卡方检验 $\chi^2$ 分析LAPTM4B-35、CTGF蛋白表达与临床病理参数之间的关系, 蛋白表达对生存率的影响采用Log-rank检验并做Kaplan-Meier生存曲线进行单因素生存分析。建立多因素Cox回归模型分析影响生存的独立预后因素。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

2.1 AEG组织中LAPTM4B-35、CTGF蛋白的表达情况 免疫组织化学染色结果显示LAPTM4B-35蛋白染色定位于癌细胞胞浆(图1A), 137例AEG中, 癌细胞LAPTM4B-35蛋白高表达122例(122/137, 89.1%), 低表达15例(15/137, 10.9%)。CTGF蛋白染色定位于癌细胞胞浆(图1B), 137例AEG中, 癌细胞中CTGF蛋白高表达70例(70/137, 51.1%), 低表达67例(67/137, 48.9%)。癌旁组织中LAPTM4B-35及CTGF在胃黏膜腺体中均呈不表达或低表达(图1C, 1D)。蛋白免疫印迹实验证实了LAPTM4B-35蛋白及CTGF蛋白在AEG组织内表达, AEG组织与癌旁组织相比LAPTM4B-35蛋白及CTGF蛋白的表达差异有统计学意义( $P<0.001$ , 图2)。

2.2 LAPTM4B-35蛋白在AEG组织中的表达与患者临床病理参数的关系 LAPTM4B-35蛋白呈高表达的患者中有38例发生远处转移(38/122, 31.1%), LAPTM4B-35蛋白呈低表达





### 创新点

本研究提示LAPTM4B-35蛋白的异常高表达参与了AEG的发生发展过程, LAPTM4B-35蛋白高表达的患者术后生存时间显著少于该蛋白低表达的患者, LAPTM4B-35蛋白表达是影响AEG患者预后的独立因子。

图1 免疫组织化学染色结果(×200)。A: LAPTM4B-35蛋白在AEG组织中的表达; B: CTGF蛋白在AEG组织中的表达; C: LAPTM4B-35蛋白表达在癌旁组织中呈阴性; D: CTGF蛋白表达在癌旁组织中呈阴性。AEG: 食管胃交界部腺癌; LAPTM4B: 溶酶体相关4次跨膜蛋白β基因; CTGF: 结缔组织生长因子。

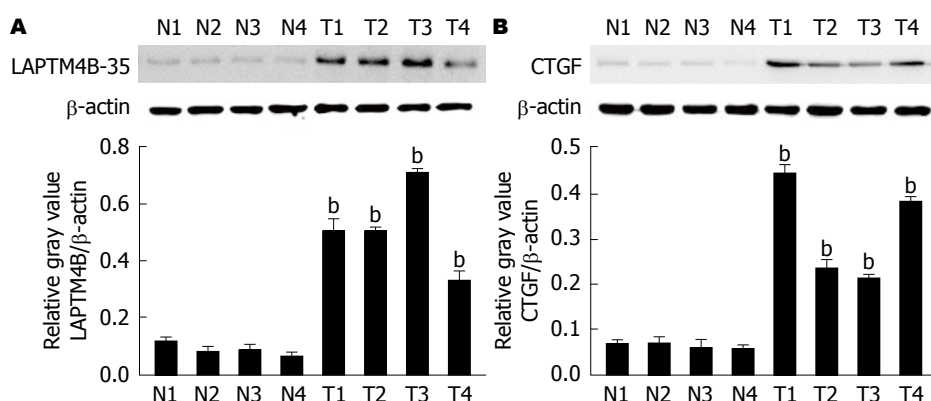


图2 蛋白免疫印迹实验结果。A: LAPTM4B-35蛋白在AEG组织及癌旁组织中表达, 分子量约35-kD; B: CTGF蛋白在AEG组织及癌旁组织中表达, 分子量约38-kD。<sup>b</sup> $P < 0.0001$ , AEG组织vs癌旁组织。β-actin为内参对照。AEG: 食管胃交界部腺癌; LAPTM4B: 溶酶体相关4次跨膜蛋白β基因; CTGF: 结缔组织生长因子。

的患者中0例发生远处转移, 二者之间存在显著差异( $P = 0.011$ ); LAPTM4B-35蛋白呈高表达的患者中有104例TNM分期为III/IV期(104/122, 85.2%), LAPTM4B-35蛋白呈低表达的患者中有9例TNM分期为III/IV期(9/15, 60%), 二者之间存在显著差异( $P = 0.026$ )。但是患者的年龄、性别、肿瘤直径、分化程度、是否查见脉管癌栓及是否发生淋巴结转移在LAPTM4B-35蛋白高表达与低表达患者之间的差异无统计学意义(表1)。

### 2.3 CTGF蛋白在AEG组织中的表达与患者临

床病理参数的关系 CTGF蛋白高表达的患者与低表达的患者相比较, 发生远处转移更常见(35.7% vs 19.4%), 二者之间存在显著差异( $P = 0.033$ ); CTGF蛋白呈高表达的患者中有48例肿瘤直径超过5 cm(48/70, 68.6%), CTGF蛋白呈低表达的患者中有33例肿瘤直径超过5 cm(33/67, 49.3%), 二者之间差异具有显著性( $P = 0.021$ ); 在中高分化的肿瘤组织中CTGF蛋白表达水平更高(60.3% vs 43.2%), 其差异具有统计学意义( $P = 0.046$ )。但是患者的年龄、性别、TNM分期、是否查见脉管癌栓及是否发

应用要点

本研究有助于揭示AEG这一特殊肿瘤类型的发生发展机制,为探讨AEG新的有效的治疗途径提供理论依据。

表 1 LAPTM4B-35、CTGF蛋白表达与患者临床病理特征之间的关系

	<i>n</i>	LAPTM4B-35		<i>P</i> 值	CTGF		<i>P</i> 值
		低	高		低	高	
年龄(岁)				0.371 <sup>1</sup>			0.359
≤55	40	6	34		22	18	
>55	97	9	88		45	52	
性别				1.000 <sup>1</sup>			0.887
男	105	12	93		51	54	
女	32	3	29		16	16	
肿瘤直径(cm)				0.110			0.021
<5	56	9	47		34	22	
≥5	81	6	75		33	48	
分化				0.622			0.046
中高分化	63	6	57		25	38	
低分化	74	9	65		42	32	
淋巴结转移				0.418 <sup>1</sup>			0.106
阴性	18	3	15		12	6	
阳性	119	12	107		55	64	
远处转移				0.011 <sup>1</sup>			0.033
阴性	99	15	84		54	45	
阳性	38	0	38		13	25	
脉管癌栓				0.759 <sup>1</sup>			0.463
阴性	37	3	34		20	17	
阳性	100	12	88		47	53	
TNM分期				0.026 <sup>1</sup>			0.142
I + II	24	6	18		15	9	
IV+III	113	9	104		52	61	

<sup>1</sup>Fisher's精确概率法. LAPTM4B: 溶酶体相关4次跨膜蛋白β基因; CTGF: 结缔组织生长因子.

表 2 AEG组织中LAPTM4B-35、CTGF蛋白表达的相关关系

	<i>n</i>	LAPTM4B-35		<i>P</i> 值	<i>r</i> 值
		低	高		
CTGF				0.010	0.218
低	67	12	55		
高	70	3	67		

AEG: 食管胃交界部腺癌; LAPTM4B: 溶酶体相关4次跨膜蛋白β基因; CTGF: 结缔组织生长因子.

生淋巴结转移在CTGF蛋白高表达与低表达患者之间的差异无统计学意义(表1).

2.4 AEG组织中LAPTM4B-35与CTGF蛋白表达的相关性分析 免疫组织化学染色结果显示, LAPTM4B-35蛋白呈低表达的15例AEG组织中, 其中12例CTGF蛋白表达也呈低表达(12/15, 80%), LAPTM4B-35蛋白高表达的122例胃癌组织中, 其中67例CTGF蛋白呈高表达(67/122,

54.9%), LAPTM4B-35蛋白与CTGF蛋白表达之间呈正相关关系( $r = 0.218, P = 0.010$ , 表2).

2.5 AEG组织中LAPTM4B-35、CTGF蛋白表达的单因素生存分析 单因素生存分析结果显示: AEG组织中LAPTM4B-35蛋白高表达、CTGF蛋白高表达的患者其术后生存时间分别显著低于LAPTM4B-35蛋白低表达、CTGF蛋白低表达的患者(双侧Log-rank检验,  $P < 0.001$ , 图3).

表 3 AEG患者COX比例风险模型预后多因素分析

变量	B	SE	RR(95%CI)	P值
LAPTM4B-35表达				
高vs低	2.344	0.604	10.427(3.191-34.072)	<0.001
远处转移				
阳性vs阴性	0.935	0.239	2.547(1.594-4.071)	<0.001
淋巴结转移				
阳性vs阴性	1.358	0.506	3.890(1.444-10.477)	0.007
脉管癌栓				
阳性vs阴性	0.668	0.291	1.950(1.103-3.449)	0.022
性别				
男vs女	1.165	0.261	3.207(1.922-5.350)	<0.001

AEG: 食管胃交界部腺癌; LAPTM4B: 溶酶体相关4次跨膜蛋白 $\beta$ 基因。

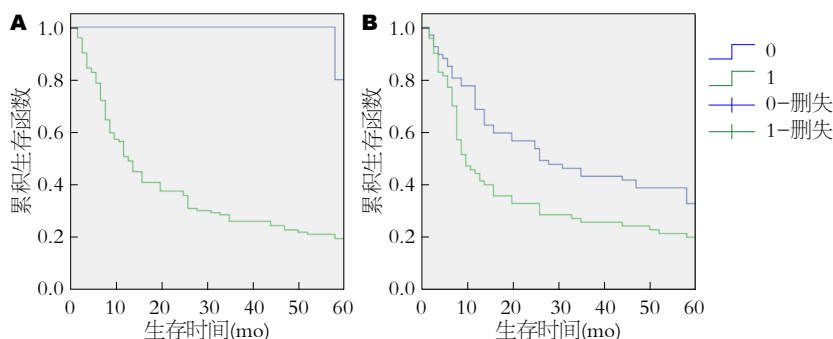


图 3 单因素生存分析生存曲线。A: AEG组织中LAPTM4B-35蛋白低表达的患者其术后生存时间显著长于高表达的患者, Log-rank值为18.739,  $P < 0.001$ ; B: AEG组织中CTGF蛋白低表达的患者其术后生存时间显著长于高表达的患者, Log-rank值为6.315,  $P = 0.012$ 。AEG: 食管胃交界部腺癌; LAPTM4B: 溶酶体相关4次跨膜蛋白 $\beta$ 基因; CTGF: 结缔组织生长因子。

2.6 AEG患者预后影响因子的多因素分析 建立Cox比例风险模型进行预后多因素分析, 结果发现LAPTM4B-35蛋白表达( $P < 0.001$ )、发生远处转移( $P < 0.001$ )、淋巴结转移( $P = 0.007$ )、查见脉管癌栓( $P = 0.022$ )及患者性别( $P < 0.001$ )是影响AEG患者的独立预后因子(表3)。而CTGF蛋白表达、患者年龄、肿瘤直径、分化程度、TNM分期等因素未进入方程。

### 3 讨论

2000年世界卫生组织出版的《Pathology and Genetics of Tumors of the Digestive System》中将食管胃交界部腺癌作为一种独立的肿瘤类型将其与食管癌和胃癌区分开。研究<sup>[3]</sup>发现虽然在世界范围内食管癌和胃癌的发病率呈下降趋势, 但是食管胃交界部腺癌的发病率上升较快, 其发病机制和生物学特征均表现出与远端胃癌及食管癌之间存在明显差异, 因此将其作为一

种独立的肿瘤类型进行研究是非常必要的。

LAPTM4B基因是由北京大学医学部刘军建、邵根泽等通过荧光差异显示技术筛选出来的一条在成人正常肝组织中表达很低而在大多数肝癌组织中表达高度上调的cDNA片段<sup>[9]</sup>。该基因定位于8q22.1, 包含7个外显子, 6个内含子, 编码分子量为35-kD(317aa)和24-kD(226aa)的2个溶酶体4次跨膜蛋白。目前大量的研究结果发现LAPTM4B-35蛋白在多种恶性肿瘤组织中, 如肝癌<sup>[10,11]</sup>、肺癌<sup>[12]</sup>、乳腺癌<sup>[13]</sup>、胰腺癌<sup>[14]</sup>、结肠癌<sup>[15]</sup>、卵巢癌<sup>[16]</sup>、宫颈癌<sup>[17]</sup>等表达显著高于正常组织, 其过表达与肿瘤的增殖、侵袭和转移密切相关。我们前期研究也发现LAPTM4B-35蛋白在胃癌组织中表达显著升高, 并与患者预后不良密切相关<sup>[18]</sup>, 这与Cheng等<sup>[19]</sup>研究结果是一致的。在本研究中, LAPTM4B-35蛋白在89.1%的AEG组织中呈高表达状态, 肿瘤细胞LAPTM4B-35

### ■ 名词解释

食管胃交界部腺癌是指累及食管-胃交界处的腺癌。



### 同行评价

食管胃交界部腺癌作为一种独立的临床病理类型, 对其进行研究, 具有重要的临床意义. LAPTM4B在食道-胃交界处恶性肿瘤的细胞中有异常表达, 与肿瘤的转移、分期及预后存在密切相关, 并与CTGF的表达存在一定相关性. 本研究结合临床热点, 对临床具有一定指导价值.

蛋白高表达与低表达相比更多患者肿瘤发生远处转移, 进展至TNM III/IV期的病例更多. *LAPTM4B*基因可能通过激活*c-myc*、*c-fos*、*c-jun*等原癌基因表达, 上调cyclin D1和cyclin E等细胞周期调节蛋白表达<sup>[20,21]</sup>, 抑制肿瘤细胞凋亡, 促进PI3K/AKT<sup>[22]</sup>、表皮生长因子受体信号通路活化<sup>[23,24]</sup>等机制增强肿瘤细胞的增殖与侵袭能力. 因此本研究结果提示LAPTM4B-35蛋白的异常高表达参与了AEG的发生发展过程, 同时还发现LAPTM4B-35蛋白高表达的患者术后生存时间显著少于该蛋白低表达的患者, LAPTM4B-35蛋白表达是影响AEG患者预后的独立因子.

CTGF是CCN家族的成员之一, 广泛表达于人类多种组织中, 参与创伤愈合、血管生成等生命活动, 还可调节细胞与细胞外基质的相互作用. 近年来发现CTGF在多种肿瘤组织中表达, 但在不同的肿瘤中对侵袭转移及预后判断的作用存在争议. 我们前期的研究报道CTGF的高表达与胃癌的侵袭转移密切相关<sup>[25]</sup>, 这与乳腺癌<sup>[26]</sup>、结肠癌<sup>[7]</sup>中CTGF的研究结果一致, 但也有部分研究<sup>[27]</sup>认为CTGF低表达促进肿瘤的侵袭转移. 本研究中发现CTGF高表达的患者与低表达的患者相比, 更多发生远处转移, 肿瘤的体积更大. CTGF是转化生长因子 $\beta$ (transforming growth factor beta, TGF- $\beta$ )的重要靶基因<sup>[28]</sup>. TGF- $\beta$ 在肿瘤中起双向调节作用, 在肿瘤发生的早期TGF- $\beta$ 是肿瘤抑制基因, 但是随着肿瘤进展, 其肿瘤抑制作用消失, 转而促进肿瘤转移<sup>[29,30]</sup>. AEG患者由于其症状不典型, 患者确诊时往往已经是进展至晚期, 因此可能通过TGF- $\beta$ 上调CTGF的表达, 从而促进肿瘤的侵袭转移. 研究还发现CTGF蛋白过表达能活化Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路, 上调cyclin D1等. CTGF在AEG中发挥促进作用的确切机制尚需更深入的实验证实.

本研究还发现LAPTM4B-35蛋白与CTGF蛋白表达呈正相关关系. 在我们前期的研究中发现LAPTM4B-35蛋白过表达可能降低细胞与细胞之间的黏附, 促进上皮细胞向间质细胞转化(结果尚未发表). 而CTGF是TGF- $\beta$ 的重要靶基因, TGF- $\beta$ 能诱导细胞发生上皮-间质转化(epithelial-to-mesenchymal transition, EMT), 与肿瘤的侵袭密切相关. 因此LAPTM4B-35与CTGF在AEG的侵袭转移中, 二者之间作用的

关系及其机制尚需进一步研究.

总之, 本研究首次在AEG这一独立的肿瘤类型中研究LAPTM4B-35及CTGF蛋白的表达, 发现LAPTM4B-35及CTGF蛋白的高表达与肿瘤的侵袭转移密切相关, 高表达的患者术后生存时间明显比低表达患者短, 同时LAPTM4B-35蛋白表达还是影响AEG患者的独立预后因素. 在接下来的研究中, 尚需对LAPTM4B-35及CTGF促进肿瘤侵袭转移的机制进行探讨, LAPTM4B-35及CTGF之间的关系及其内在机制也需要进行深入研究, 这将有助于揭示AEG的发生发展机制, 为探讨AEG新的、有效的治疗途径提供理论依据.

## 参考文献

- Bertuccio P, Chatenoud L, Levi F, Praud D, Ferlay J, Negri E, Malvezzi M, La Vecchia C. Recent patterns in gastric cancer: a global overview. *Int J Cancer* 2009; 125: 666-673 [PMID: 19382179 DOI: 10.1002/ijc.24290]
- Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2013. *CA Cancer J Clin* 2013; 63: 11-30 [PMID: 23335087 DOI: 10.3322/caac.21166]
- He YT, Hou J, Chen ZF, Qiao CY, Song GH, Meng FS, Jin HX, Chen C. Trends in incidence of esophageal and gastric cardia cancer in high-risk areas in China. *Eur J Cancer Prev* 2008; 17: 71-76 [PMID: 18287862 DOI: 10.1097/CEJ.0b013e3282b6fd97]
- 施贵冬, 罗志林, 付茂勇, 田东, 张霖, 张科平. 国际抗癌联盟-美国癌症联合委员会第7版食管癌和胃癌TNM分期系统在预测食管胃交界腺癌Siewert II型患者预后中的价值. *中华肿瘤杂志* 2014; 36: 916-921
- 马海波, 王爽, 魏克飞, 孙小梁. 胃癌根治术后生存状态的5年随访. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 2920-2924
- Meng Y, Wang L, Chen D, Chang Y, Zhang M, Xu JJ, Zhou R, Zhang QY. LAPTM4B: an oncogene in various solid tumors and its functions. *Oncogene* 2016; 35: 6359-6365 [PMID: 27212036 DOI: 10.1038/onc.2016.189]
- Ubink I, Verhaar ER, Kranenburg O, Goldschmeding R. A potential role for CCN2/CTGF in aggressive colorectal cancer. *J Cell Commun Signal* 2016; 10: 223-227 [PMID: 27613407 DOI: 10.1007/s12079-016-0347-5]
- Cheng TY, Wu MS, Hua KT, Kuo ML, Lin MT. Cyr61/CTGF/Nov family proteins in gastric carcinogenesis. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 1694-1700 [PMID: 24587648 DOI: 10.3748/wjg.v20.i7.1694]
- Shao GZ, Zhou RL, Zhang QY, Zhang Y, Liu JJ, Rui JA, Wei X, Ye DX. Molecular cloning and characterization of LAPTM4B, a novel gene upregulated in hepatocellular carcinoma. *Oncogene* 2003; 22: 5060-5069 [PMID: 12902989 DOI: 10.1038/sj.onc.1206832]
- Peng C, Zhou RL, Shao GZ, Rui JA, Wang SB, Lin

- M, Zhang S, Gao ZF. Expression of lysosome-associated protein transmembrane 4B-35 in cancer and its correlation with the differentiation status of hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 2704-2708 [PMID: 15884107 DOI: 10.3748/wjg.v11.i18.2704]
- 11 Liu XR, Zhou RL, Zhang QY, Zhang Y, Jin YY, Lin M, Rui JA, Ye DX. Structure analysis and expressions of a novel tetratransmembrane protein, lysosoma-associated protein transmembrane 4 beta associated with hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 1555-1559 [PMID: 15162524 DOI: 10.3748/wjg.v10.i11.1555]
- 12 Kong F, Gao F, Chen J, Sun Y, Zhang Y, Liu H, Li X, Yang P, Zheng R, Liu G, Jia Y. Overexpressed LAPTM4B-35 is a risk factor for cancer recurrence and poor prognosis in non-small-cell lung cancer. *Oncotarget* 2016; 7: 56193-56199 [PMID: 27486880 DOI: 10.18632/oncotarget.10907]
- 13 Xiao M, Jia S, Wang H, Wang J, Huang Y, Li Z. Overexpression of LAPTM4B: an independent prognostic marker in breast cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2013; 139: 661-667 [PMID: 23292099 DOI: 10.1007/s00432-012-1368-y]
- 14 Zhang G, Liang Y, Huang Y, Chen Y, Zhou R. Elevated lysosome-associated protein transmembrane-4 $\beta$ -35 is an independent prognostic marker in pancreatic carcinoma. *J Int Med Res* 2012; 40: 1275-1283 [PMID: 22971479 DOI: 10.1177/147323001204000406]
- 15 Kang Y, Yin M, Jiang W, Zhang H, Xia B, Xue Y, Huang Y. Overexpression of LAPTM4B-35 is associated with poor prognosis in colorectal carcinoma. *Am J Surg* 2012; 204: 677-683 [PMID: 22578410 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2012.02.003]
- 16 Yin M, Li C, Li X, Lou G, Miao B, Liu X, Meng F, Zhang H, Chen X, Sun M, Ling Q, Zhou R. Overexpression of LAPTM4B is associated with poor prognosis and chemotherapy resistance in stages III and IV epithelial ovarian cancer. *J Surg Oncol* 2011; 104: 29-36 [PMID: 21416470 DOI: 10.1002/jso.21912]
- 17 Meng F, Tan S, Liu T, Song H, Lou G. Predictive significance of combined LAPTM4B and VEGF expression in patients with cervical cancer. *Tumour Biol* 2016; 37: 4849-4855 [PMID: 26526574 DOI: 10.1007/s13277-015-4319-9]
- 18 Liu L, Xu X, Jing L, Zhou G, Cao Z, Han Y, Zhou R. Lysosomal-associated protein transmembrane 4 Beta-35 overexpression is a novel independent prognostic marker for gastric carcinoma. *PLoS One* 2015; 10: e0118026 [PMID: 25689860 DOI: 10.1371/journal.pone.0118026]
- 19 Cheng X, Zheng Z, Bu Z, Wu X, Zhang L, Xing X, Wang X, Hu Y, Du H, Li L, Li S, Zhou R, Wen XZ, Ji JF. LAPTM4B-35, a cancer-related gene, is associated with poor prognosis in TNM stages I-III gastric cancer patients. *PLoS One* 2015; 10: e0121559 [PMID: 25849595 DOI: 10.1371/journal.pone.0121559]
- 20 Liu X, Xiong F, Wei X, Yang H, Zhou R. LAPTM4B-35, a novel tetratransmembrane protein and its PPRP motif play critical roles in proliferation and metastatic potential of hepatocellular carcinoma cells. *Cancer Sci* 2009; 100: 2335-2340 [PMID: 19843073 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2009.01346.x]
- 21 Zhou L, He XD, Yu JC, Zhou RL, Yang H, Qu Q, Rui JA. Overexpression of LAPTM4B promotes growth of gallbladder carcinoma cells in vitro. *Am J Surg* 2010; 199: 515-521 [PMID: 19954766 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2009.03.031]
- 22 Yang H, Xiong F, Wei X, Yang Y, McNutt MA, Zhou R. Overexpression of LAPTM4B-35 promotes growth and metastasis of hepatocellular carcinoma in vitro and in vivo. *Cancer Lett* 2010; 294: 236-244 [PMID: 20202745 DOI: 10.1016/j.canlet.2010.02.006]
- 23 Tan X, Sun Y, Thapa N, Liao Y, Hedman AC, Anderson RA. LAPTM4B is a PtdIns(4,5)P<sub>2</sub> effector that regulates EGFR signaling, lysosomal sorting, and degradation. *EMBO J* 2015; 34: 475-490 [PMID: 25588945 DOI: 10.15252/embj.201489425]
- 24 Tan X, Thapa N, Sun Y, Anderson RA. A kinase-independent role for EGF receptor in autophagy initiation. *Cell* 2015; 160: 145-160 [PMID: 25594178 DOI: 10.1016/j.cell.2014.12.006]
- 25 Liu L, Li Z, Feng G, You W, Li J. Expression of connective tissue growth factor is in agreement with the expression of VEGF, VEGF-C, -D and associated with shorter survival in gastric cancer. *Pathol Int* 2007; 57: 712-718 [PMID: 17922682 DOI: 10.1111/j.1440-1827.2007.02162.x]
- 26 Chien W, O'Kelly J, Lu D, Leiter A, Sohn J, Yin D, Karlan B, Vadgama J, Lyons KM, Koeffler HP. Expression of connective tissue growth factor (CTGF/CCN2) in breast cancer cells is associated with increased migration and angiogenesis. *Int J Oncol* 2011; 38: 1741-1747 [PMID: 21455569 DOI: 10.3892/ijo.2011.985]
- 27 Jiang WG, Watkins G, Fodstad O, Douglas-Jones A, Mokbel K, Mansel RE. Differential expression of the CCN family members Cyr61, CTGF and Nov in human breast cancer. *Endocr Relat Cancer* 2004; 11: 781-791 [PMID: 15613452 DOI: 10.1677/erc.1.00825]
- 28 Mason RM. Connective tissue growth factor(CCN2), a pathogenic factor in diabetic nephropathy. What does it do? How does it do it? *J Cell Commun Signal* 2009; 3: 95-104 [PMID: 19214781 DOI: 10.1007/s12079-009-0038-6]
- 29 Weeks BH, He W, Olson KL, Wang XJ. Inducible expression of transforming growth factor beta1 in papillomas causes rapid metastasis. *Cancer Res* 2001; 61: 7435-7443 [PMID: 11606377]
- 30 Muraoka RS, Dumont N, Ritter CA, Dugger TC, Brantley DM, Chen J, Easterly E, Roebuck LR, Ryan S, Gotwals PJ, Koteliansky V, Arteaga CL. Blockade of TGF-beta inhibits mammary tumor cell viability, migration, and metastases. *J Clin Invest* 2002; 109: 1551-1559 [PMID: 12070302 DOI: 10.1172/JCI15234]

编辑: 马亚娟 电编: 李瑞芳







Published by **Baishideng Publishing Group Inc**  
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,  
CA 94588, USA  
Fax: +1-925-223-8242  
Telephone: +1-925-223-8243  
E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

