



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2014.10.011
http://www.zpwz.net/CN/abstract/abstract4068.shtml

· 基础研究 ·

高尔基磷酸化蛋白3在结直肠癌中的表达与预后的关系

杨晓峰, 邱成志, 王春晓, 余外市

(福建医科大学附属第二医院 普通外科, 福建 泉州 362000)

摘要

目的: 探讨结直肠癌组织中高尔基磷酸化蛋白3 (GOLPH3) 的表达以及与结直肠癌预后的关系。

方法: 用免疫组化方法检测 123 例结直肠癌组织中 GOLPH3、c-Myc、P27 的表达, 分析 GOLPH3 表达与患者临床病理特征的关系、与 c-Myc 和 P27 的关系及与患者预后的关系。

结果: GOLPH3 在结直肠癌组织中的阳性表达率为 60.2% (74/123); GOLPH3 的阳性表达率与肿瘤浸润深度、TNM 分期、淋巴结转移和远处转移, 以及 c-Myc 表达有关 (均 $P < 0.05$), 但与性别、年龄、肿瘤大小、肿瘤分化、CEA 水平、P27 表达无关 ($P > 0.05$); 结直肠癌组织组中 GOLPH3 表达与 c-Myc 表达呈正相关 ($r = 0.263$, $P < 0.05$)。全组患者 5 年总生存率为 56.9%, GOLPH3 阳性表达者为 48.6%, GOLPH3 阴性表达者为 69.4%; 单因素生存分析表明, GOLPH3 阳性表达的结直肠癌患者生存时间明显低于 GOLPH3 阴性表达者 ($P < 0.05$)。

结论: 结直肠癌中 GOLPH3 的表达可能与 c-Myc 有协同作用, 其阳性表达患者预后较差。

[中国普通外科杂志, 2014, 23(10):1362-1366]

关键词

结直肠肿瘤; 原癌基因; 高尔基磷酸化蛋白3; 预后
中图分类号: R735.3

Relationship between golgi phosphorylation protein 3 expression and prognosis in colorectal cancer

YANG Xiaofeng, QIU Chengzhi, WANG Chunxiao, YU Waishi

(Department of General Surgery, the Second Affiliated Hospital, Fujian Medical University, Quanzhou, Fujian 362000, China)

Corresponding author: QIU Chengzhi, Email: qchengzhi@sohu.com

ABSTRACT

Objective: To investigate the golgi phosphoprotein 3 (GOLPH3) expression in colorectal cancer tissues and its relation with prognosis of colorectal cancer.

Methods: The GOLPH3 along with the c-Myc and P27 expressions in 123 specimens of colorectal cancer were determined by immunohistochemical staining, and the relations of GOLPH3 expression with the clinicopathologic features, the c-Myc and P27 expressions and the prognosis of the patients were analyzed.

Results: The positive expression rate of GOLPH3 in these colorectal cancer tissues was 60.2% (74/123).

基金项目: 福建省泉州市科技局资助项目 (2010J33)。

收稿日期: 2014-05-12; 修订日期: 2014-09-10。

作者简介: 杨晓峰, 福建医科大学附属第二医院硕士研究生, 主要从事胃肠肿瘤基础与临床方面的研究。

通信作者: 邱成志, Email: qchengzhi@sohu.com

The positive GOLPH3 expression was significantly related to tumor invasion depth, TMN stage, lymph metastasis and distant metastasis as well as c-Myc expression (all $P < 0.05$), but irrelevant to sex, age, tumor size, differentiation, CEA level and P27 expression (all $P > 0.05$). The GOLPH3 expression was positively correlated with c-Myc expression in colorectal tissue ($r = 0.263$, $P < 0.05$). The 5-year overall survival rate was 56.9% for the entire group of patients, was 48.6% for patients with positive GOLPH3 expression and 69.4% for those with negative GOLPH3 expression. Univariate survival analysis showed that the survival rate in patients with positive GOLPH3 expression was significantly lower than that in patients with negative GOLPH3 expression ($P < 0.05$).

Conclusion: GOLPH3 expression may have a synergistic action with c-Myc in colorectal cancer and those with positive GOLPH3 expression may face an unfavorable prognosis.

[Chinese Journal of General Surgery, 2014, 23(10):1362–1366]

KEYWORDS Colorectal Neoplasms; Proto-Oncogenes; golgi phosphoprotein 3; Prognosis

CLC number: R735.3

结直肠癌 (colorectal cancer) 是常见恶性肿瘤, 其发病率和病死率逐年上升, 严重威胁着人类健康。结直肠癌的发生、发展是涉及多基因、多步骤过程, 原癌基因的激活在结直肠癌及其癌前病变中发挥重要作用。相对于基因检测, 蛋白质水平标志物检测方法简单, 价格更低廉, 广泛应用于临床^[1]。研究^[2]显示高尔基磷酸化蛋白 3 (GOLPH3) 基因可能是一种原癌基因, 笔者的前期研究^[3-4]表明: GOLPH3 在结直肠癌组织中存在过表达, 与肿瘤的血管生成、组织分化、临床分期相关, 支持 GOLPH3 基因是原癌基因。c-Myc 是多功能核内原癌基因, 刺激细胞增殖, 在细胞凋亡过程亦发挥作用, 影响细胞生长、增殖、分化和凋亡等细胞周期进程, 在肿瘤发生、发展过程中发挥重要作用^[5]。Harnicarov á 等^[6]发现在结直肠癌组织中 c-Myc 过表达, 且与淋巴结转移、肿瘤分化及 TNM 分期相关, 提示 c-Myc 可能作为预测结直肠癌预后的一个生物学指标。GOLPH3 蛋白的表达与结直肠癌预后的关系报道极少, 因此, 本研究检测结直肠癌组织中 GOLPH3 蛋白表达情况, 分析其与预后、c-Myc 和 P27 表达的关系。

1 材料与方法

1.1 材料

收集福建医科大学附属第二医院 2005 年 1 月—2009 年 12 月接受手术治疗的结直肠癌患者 123 例, 男 72 例, 女 51 例; 所有患者均有完整

病历资料, 术前均未接受新辅助治疗; 患者年龄 28~87 岁, 平均 (64.04 ± 12.52) 岁。肿瘤组织学分化程度: 高分化 18 例, 中分化 89 例, 低分化 16 例; 根据 AJCC/UICC 第七版结直肠癌 TNM 分期: I 期 15 例、II 期 35 例、III 期 53 例、IV 期 20 例。所有患者通过电话或门诊随访, 随访时间 1~93 个月, 中位随访时间 61 个月。

1.2 试剂

兔抗人 GOLPH3 (ab98023) 多克隆抗体 (浓缩型, Abcam 公司); 兔抗人 c-Myc 单克隆抗体 (Y69)、鼠抗人 P27 单克隆抗体 (DCS-72.F6)、链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶 (SP) 免疫组织化学试剂盒、DAB 显色试剂盒均购自迈新生物科技有限公司。

1.3 研究方法

123 例患者手术切除标本存档的石蜡组织块, 重新制作 4 μm 厚连续切片。采用免疫组织化学 SP 法测定手术标本中癌组织中的 GOLPH3、c-Myc 及 P27 蛋白的表达, 具体操作按试剂盒说明书进行。每份标本常规 HE 染色, 进行组织形态学观察和细胞分化程度判断。免疫组化方法: 切片经脱蜡、水化、抗原修复; 滴加过氧化酶阻断液, 滴非免疫性动物血清室温 10 min, 滴加第一抗体即抗 GOLPH3 抗体 (稀释度 1:100)、c-Myc 抗体、P27 抗体, 冲洗后滴加生物素标记的第二抗体; 滴加链霉素亲和素-过氧化物酶溶液, DAB 显色, 冲洗, 复染, 封片, 显微镜观察。用已知阳性切片作阳性对照, 用 PBS 缓冲液代替一抗作为阴性对照。

1.4 结果判定

GOLPH3、P27、c-Myc 染色的判断标准：每例随机观察 5 个高倍镜 ($\times 400$) 视野。阳性表达细胞数 $< 5\%$ 为 0 分, $5\% \sim < 25\%$ 为 1 分, $25\% \sim < 50\%$ 为 2 分, $50\% \sim < 75\%$ 为 3 分, $\geq 75\%$ 为 4 分。阳性细胞表达的着色深度：基本不着色为 0 分, 淡黄色为 1 分, 黄色为 2 分, 棕黄色 3 分。两者得分相乘, ≤ 4 分的病例判定为表达阴性, 其余的病例判定为表达阳性。

1.5 统计学处理

应用 SPSS 19.0 统计软件分析, 用 χ^2 检验进行 GOLPH3 蛋白的表达和临床病理资料的统

计学分析, GOLPH3 蛋白表达与预后的关系采用 Kaplan-Meier 法分析生存率并经 Log-rank 检验, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 GOLPH3 在结直肠癌组织中的表达

GOLPH3 表达主要定位在结直肠癌组织的细胞浆 (图 1)。123 例结直肠癌组织中 GOLPH3 蛋白阳性表达 74 例 (60.2%), 阴性表达 49 例 (39.8%)。c-Myc、P27 主要定位于细胞膜或胞浆及细胞核内, 阳性表达率分别为 48.8%、37.4%。

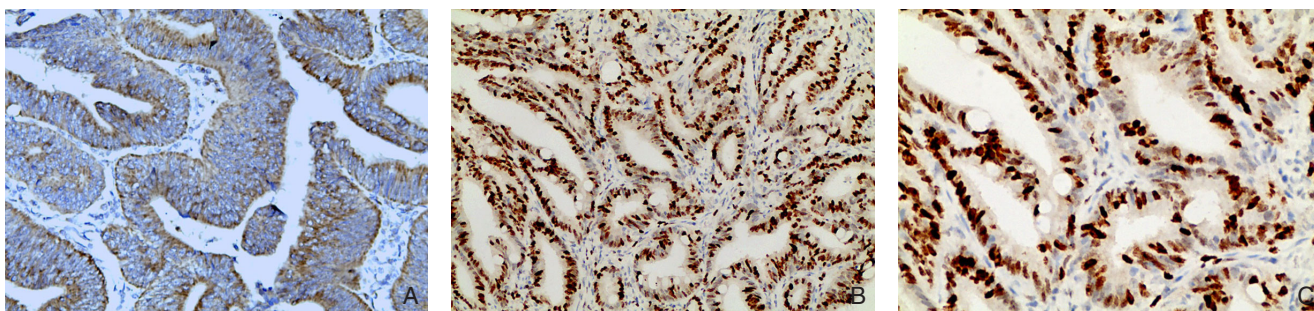


图 1 免疫组化检测 GOLPH3、c-Myc、P27 在结直肠癌组织中的表达 ($\times 400$) A: GOLPH3; B: c-Myc; C: P27
Figure 1 Immunohistochemical staining for expression of GOLPH3, c-Myc and P27 in colorectal cancer tissue ($\times 400$) A: GOLPH3; B: c-Myc; C: P27

2.2 GOLPH3 表达与临床病理特征的关系

随肿瘤浸润深度增加, 结直肠癌组织中 GOLPH3 表达率明显升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 在 TNM 分期中 I、II、III、IV 期结直肠癌组织中 GOLPH3 的阳性表达率分别为 26.7%、54.3%、64.2%、85.0%, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); GOLPH3 有淋巴结转移的结直肠癌阳性表达率 70.3%, 高于无淋巴结转移的结直肠癌阳性表达率 49.2% ($P < 0.05$); GOLPH3 在有远处转移的结直肠癌阳性表达率 92.3%, 明显高于无远处转移的结直肠癌阳性表达率 56.4% ($P < 0.05$); GOLPH3 表达与性别、年龄、肿瘤大小、分化及 CEA 水平等因素无关 ($P > 0.05$)。GOLPH3 阳性表达的结直肠癌组织 c-Myc 阳性表达率为 73.3%,

明显高于 GOLPH3 阴性表达组为 47.6% ($P < 0.05$), 相关分析显示, 结直肠癌组织中 GOLPH3 表达与 c-Myc 表达呈正相关 ($r = 0.263$, $P < 0.05$); GOLPH3 阳性表达的结直肠癌组织 P27 阳性表达率为 67.4%, 与 GOLPH3 阴性表达组 P27 表达率 (58.4%) 差异无统计学意义 ($P > 0.05$) (表 1)。

2.3 结直肠癌组织中 GOLPH3 表达与预后的关系

本组患者 5 年总生存率为 56.9%。根据 GOLPH3 的表达分为两组: GOLPH3 阳性表达的患者 5 年生存率为 48.6%, GOLPH3 阴性表达的为 69.4%, 两组患者 Kaplan-Meier 分析生存曲线如图 2; Log-rank 检验结果显示, GOLPH3 阳性表达的结直肠癌患者生存时间明显低于 GOLPH3 阴性表达者 ($P = 0.023$)。

表 1 GOLPH3 表达与临床病理特征、c-Myc 及 P27 表达的关系

Table 1 Relations of GOLPH3 expression with clinicopathologic features and expression of c-Myc and P27									
临床病理参数	n	GOLPH3 表达		P	临床病理参数	n	GOLPH3 表达		P
		阴性	阳性				阴性	阳性	
性别					TMN 分期				
男	72	31 (43.1)	41 (56.9)	0.386	I 期	15	11 (73.3)	4 (26.7)	0.005
女	51	18 (35.3)	33 (64.7)		II 期	35	16 (45.7)	19 (54.3)	
年龄 (岁)				III 期	53	19 (35.8)	34 (64.2)	0.017	
< 60	43	18 (41.9)	25 (58.1)	IV 期	20	3 (15.0)	17 (85.0)		
浸润深度				淋巴结转移					
T ₁	4	3 (75.0)	1 (25.0)	否	59	30 (50.8)	29 (49.2)	0.012	
T ₂	15	10 (66.7)	5 (33.3)	是	64	19 (29.7)	45 (70.3)		
T ₃	86	32 (37.2)	54 (62.8)	远处转移					
T ₄	18	4 (22.2)	14 (77.8)	否	110	48 (43.6)	62 (56.4)	0.698	
肿瘤直径 (cm)				是	13	1 (7.7)	12 (92.3)		
< 5	79	32 (40.5)	47 (59.5)	CEA (ng/mL)					
≥ 5	36	13 (36.1)	23 (63.9)	< 2.5	61	25 (41.0)	36 (59.0)	0.005	
分化				≥ 2.5	43	16 (37.2)	27 (62.8)		
高分化	18	9 (50.0)	9 (50.0)	c-Myc 表达					
中分化	89	35 (39.7)	54 (60.7)	阴性	63	33 (52.4)	30 (47.6)	0.705	
低分化	16	5 (31.2)	11 (68.8)	阳性	60	16 (26.7)	44 (73.3)		
				P27 表达					
				阴性	77	32 (41.6)	45 (58.4)	0.005	
				阳性	46	17 (39.5)	29 (67.4)		

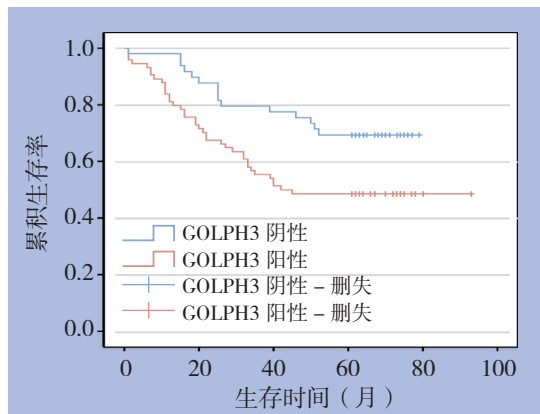


图 2 GOLPH3 阳性表达患者与 GOLPH3 阴性表达患者的生存曲线

Figure 2 Survival curves of patients with positive or negative GOLPH3 expression

3 讨 论

GOLPH3 基因亦称为 GPP34, 编码分子量约 34 000 大小的蛋白质, 即 GOLPH3 蛋白, 是高尔基体复合物一种相关蛋白, 主要发挥蛋白质的转运作用^[7], 通过丝氨酸 473 (Ser473) 磷酸化激活 AKT, 刺激哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mTOR) 信号通路, 加速细胞分裂, 封闭该基因表达可明显减少乳腺癌或横纹肌肉瘤细胞的增殖^[8-9]。亦可通过激活细胞内磷脂酰肌醇 3 激酶 (P13K) / 丝氨酸苏

氨酸蛋白激酶 (Akt) /mTOR 信号通路, 上调低氧诱导因子 1 α (HIF-1 α) 表达促进血管内皮生长因子 (VEGF) 表达, 使内皮细胞迁移形成新生血管增加肿瘤细胞血供^[10]。

国内外学者发现 GOLPH3 在正常组织中无表达或低表达, 而在乳腺癌^[8]、舌癌^[11]、食管癌^[12]、胃癌^[13]、神经胶质瘤^[14]、前列腺癌^[15]及妇科多种恶性肿瘤^[16-18] 等中存在表达明显上调。且 GOLPH3 过表达与舌癌^[11]、食管癌^[12]、神经胶质瘤^[14] 等肿瘤预后差呈正相关。

本研究结果显示, GOLPH3 在结直肠癌组织中高表达, 与笔者前期研究^[3] 及文献报道一致; GOLPH3 在结直肠癌组织中高表达与肿瘤浸润深度、TNM 分期、淋巴结转移和远处转移相关。GOLPH3 的高表达通过调节高尔基体蛋白质糖基化转移酶功能, 使肿瘤相关蛋白的分泌异常^[19-20]。蛋白糖基化结构与肿瘤细胞的生长、黏附、迁移及侵袭等相关, 变异使肿瘤细胞侵袭性增强^[21], 说明 GOLPH3 高表达与结直肠癌的浸润和转移密切相关。本研究还表明, GOLPH3 阳性表达的结直肠癌患者 5 年生存率明显低于阴性表达者。结合本研究结果, 提示 GOLPH3 高表达是结直肠癌患者预后差的一个因素, 意味着 GOLPH3 可能作为判断预后的指标。

c-Myc 是最早发现、与肿瘤细胞增殖活性相关

的原癌基因之一，在人类许多肿瘤高度表达^[22]。c-Myc 在细胞生物学中最主要功能是促进细胞增殖。在 G₀ 细胞中，c-Myc 不表达，经过有丝分裂或血清刺激后，c-Myc 的 mRNA 和蛋白水平上调，使细胞进入 G₁ 期。当 c-Myc 过表达可引起细胞过度增殖，并与其他原癌基因协同致细胞恶化^[6]。肝癌组织中 c-Myc 在转录水平调控人端粒酶逆转录酶（hTERT）表达，激活端粒酶，促进肿瘤发生发展^[23]。过表达的 c-Myc 蛋白单独或与 CIP2A 协同促进肝癌的侵袭转移^[24]。GOLPH3 与 c-Myc 之间关系尚无文献报道。本研究显示结直肠癌组织中两种基因表达呈正相关（ $r=0.263$ ， $P<0.05$ ），推测结直肠癌组织中两者作用可能协同，具体的分子机制有待进一步深入研究。

综上，GOLPH3 蛋白在结直肠癌患者中存在高表达，与肿瘤浸润深度、TNM 分期、淋巴结转移和远处转移相关，有助于判断患者预后，也可能为结直肠癌靶向治疗提供新思路。

参考文献

- [1] 崔琳, 李立奇. 结直肠癌蛋白质标志物研究进展 [J]. 中国普通外科杂志, 2014, 23(4):512-516.
- [2] Scott KL, Kabbarah O, Liang MC, et al. GOLPH3 modulates mTOR signalling and rapamycin sensitivity in cancer[J]. Nature, 2009, 459(7250):1085-1090.
- [3] 邱成志, 余外市, 王春晓, 等. 高尔基磷酸化蛋白 3 在结直肠癌组织中的表达及其临床意义 [J]. 中华实验外科杂志, 2013, 30(3):461-463.
- [4] 王春晓, 邱成志, 余外市, 等. 高尔基磷酸化蛋白 3 在结直肠癌组织中的表达及其与血管生成的关系 [J]. 中华实验外科杂志, 2013, 30(8):1746-1748.
- [5] Schmidt EV. The role of c-myc in regulation of translation initiation[J]. Oncogene, 2004, 23(18):3217-3221.
- [6] Harnicarová A, Kozubek S, Pacherník J, et al. Distinct nuclear arrangement of active and inactive c-myc genes in control and differentiated colon carcinoma cells[J]. Exp Cell Res, 2006, 312(20):4019-4035.
- [7] Snyder CM, Mardones GA, Ladinsky MS, et al. GMx33 associates with the trans-Golgi matrix in a dynamic manner and sorts within tubules exiting the Golgi[J]. Mol Biol Cell, 2006, 17(1):511-524.
- [8] Zeng Z, Lin H, Zhao X, et al. Overexpression of GOLPH3 promotes proliferation and tumorigenicity in breast cancer via suppression of the FOXO1 transcription factor[J]. Clin Cancer Res, 2012, 18(15):4059-4069.
- [9] Kunigou O, Nagao H, Kawabata N, et al. Role of GOLPH3 and GOLPH3L in the proliferation of human rhabdomyosarcoma[J]. Oncol Rep, 2011, 26(5):1337-1342.
- [10] Nakamura JL, Carcia E, Pieper RO. S6K1 plays a key role in glial transformation[J]. Cancer Res, 2008, 68(16):6516-6523.
- [11] Li H, Guo L, Chen SW, et al. Golp3 overexpression correlates with tumor progression and poor prognosis in patients with clinically N0 oral tongue cancer[J]. J Transl Med, 2012, 10:168. doi: 10.1186/1479-5876-10-168.
- [12] Wang JH, Chen XT, Wen ZS, et al. High expression of GOLPH3 in esophageal squamous cell carcinoma correlates with poor prognosis[J]. PLoS One, 2012, 7(10):e45622. doi: 10.1371/journal.pone.0045622.
- [13] Hu BS, Hu H, Zhu CY, et al. Overexpression of Golp3 is associated with poor clinical outcome in gastric cancer[J]. Tumour Biol J, 2013, 34(1):515-520.
- [14] Li XY, Liu W, Chen SF, et al. Expression of the Golgi phosphoprotein-3 gene in human gliomas: a pilot study[J]. J Neurooncol, 2011, 105(2):159-163.
- [15] Hua X, Yu L, Pan W, et al. Increased expression of Golgi phosphoprotein-3 is associated with tumor aggressiveness and poor prognosis of prostate cancer[J]. Diagn Pathol, 2012, 7:127. doi: 10.1186/1746-1596-7-127.
- [16] 李凤立, 马迎春, 陈海英, 等. 卵巢浆液性囊腺癌组织中高尔基磷酸化蛋白 3 的表达及其意义 [J]. 肿瘤研究与临床, 2013, 25(12):816-818.
- [17] 黄素真, 黄双英. 子宫内膜癌组织中 Golp3 的表达及其临床意义 [J]. 医学分子生物学杂志, 2013, 10(3):144-147.
- [18] 冯丽萍, 苏文媚. Golp3 与上皮性卵巢癌预后的关系 [J]. 实用医学杂志, 2013, 29(2):243-245.
- [19] Scott KL, Chin L. Signaling from the Golgi: mechanisms and models for Golgi phosphoprotein 3-mediated oncogenesis[J]. Clin Cancer Res, 2010, 16(8):2229-2234.
- [20] Wood CS, Schmitz KR, Bessman NJ, et al. PtdIns4P recognition by Vps74/GOLPH3 links PtdIns 4-kinase signaling to retrograde Golgi trafficking[J]. J Cell Biol, 2009, 187(7):967-975.
- [21] Zhao Y, Sato Y, Isaji T, et al. Branched N-glycans regulate the biological functions of integrins and cadherins[J]. FEBSJ, 2008, 275(9):1939-1948.
- [22] Beroukhim R, Mermel CH, Porter D, et al. The landscape of somatic copy-number alteration across human cancers[J]. Nature, 2010, 463(7283):899-905.
- [23] 王可新, 胡三元, 靳斌. hTERT 及 c-myc 在肝癌组织中的表达及其意义 [J]. 中国普通外科杂志, 2007, 16(3):279-281.
- [24] 涂康生, 杨雪, 宋涛. 原发性肝细胞癌组织中 CIP2A 和 c-myc 蛋白的表达及其意义 [J]. 中国普通外科杂志, 2011, 20(1):95-98.

(本文编辑 姜晖)

本文引用格式: 杨晓峰, 邱成志, 王春晓. 高尔基磷酸化蛋白 3 在结直肠癌中的表达与预后的关系 [J]. 中国普通外科杂志, 2014, 23(10):1362-1366. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2014.10.011
Cite this article as: YANG XF, QIU CZ, WANG CX, et al. Relationship between golgi phosphorylation protein 3 expression and prognosis in colorectal cancer [J]. Chin J Gen Surg, 2014, 23(10):1362-1366. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2014.10.011