Modern Practical Medicine, January 2025, Vol. 37, No. 1

·诊治分析·

肠型胃癌组织中 Trop2 的表达及与上皮间质转化的关系

陆会飞，于静，毛立祺，丁文，姚林华

【关键词】 肠型胃癌；Trop2；上皮间质转化；预后
doi:10.3969/j.issn.1671-0800.2025.01.013
【中图分类号】 R735.2 【文献标志码】 A 【文章编号】 1671-0800(2025)01-0048-04

胃癌（gastric cancer，GC）是全球范围内高度流行的消化系统恶性肿瘤，其发病率极高，死亡率位居恶性肿瘤第五位[1]。由于 GC 发病较为隐匿，大多数患者确诊时已为中晚期，尽管通过治疗能延长患者生存时间，但由于其高复发率和转移率，大多患者预后不良[2]。肠型胃癌（intestinal gastric cancer，IGC）为分化型腺癌，在 GC 中占比较高[3]，上皮-间质转化（epithelial-mesenchymal transition，EMT）与 IGC 的发生、发展和转移密切相关[4]。人滋养细胞表面糖蛋白抗原 2（tumor-associated calcium signal transducers 2，Trop2）是一种致癌基因，与各种类型恶性肿瘤的发生、发展和转移密切相关[5]。基于此，本研究以 IGC 组织与正常胃黏膜上皮组织中 Trop2 的表达差异为切入点，探讨 Trop2 与 EMT 的相关性，现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2021 年 1 月至 2024 年 1 月于湖州市第一人民医院行内镜检查的 81 例 IGC 患者。纳入标准：（1）经内镜检查及病理活检诊断为 IGC；（2）内镜检查前未接受过手术治疗、放化疗或其他抗肿瘤治疗；（3）临床及病理信息完整。排除标准：（1）既往有恶性肿瘤史，（2）内镜活检后未跟进随访。其中男 46 例，女 35 例；年龄 45～91 岁，平均（68.9±9.2）岁。包括高分化 6 例，中高分化 2 例，中分化 22 例，中低分化 49 例，低分化 2 例。本研究获得湖州市第一人民医院医学科研与临床试验伦理委员会批准，所有研究者均同意参加本研究并签署书面知情同意书。

1.2 试剂及仪器 柱式法快速提取动物组织、细胞总 RNA 试剂盒（FastPure® Cell/Tissue Total RNA Isolation Kit V2）、逆转录预混试剂盒（HiScript® II Q RT SuperMix for qPCR）及染料法荧光定量专用预混液[AceQ qPCR SYBR Green Master Mix（Without ROX）]均购自南京诺唯赞公司。EMT 相关基因 Vimentin 抗体购自北京中杉金桥公司（ZM-0260），SNAI2 抗体购自武汉三鹰技术有限公司（12129-1-AP），Trop2 抗体购自 Cell Signaling Technology 公司（47866S），RIPA 裂解液和蛋白酶抑制剂（PMSM）均购于碧云天，Western blot 二抗购自 Abmart 公司，显影液购自上海 Tanon 公司。

1.3 方法

1.3.1 逆转录实时荧光定量 PCR 提取组织总 RNA，操作步骤严格按照说明书进行。采用逆转录预混试剂盒将 RNA 逆转录成 cDNA，反应体系：5× HiScript Ⅱ qRT SuperMix 4 μl，RNA 1 μg（体积根据浓度计算），RNase-free ddH_2O 补齐至 20 μl。实时荧光定量 PCR 反应体系：2× AceQ qPCR SYBR Green Master Mix（Without ROX）5 μl，上游引物（10 μmol）0.5 μl，下游引物（10 μmol）0.5 μl，模版 cDNA 4 μl，加入适量 ddH_2O 稀释。按下列条件进行 qPCR 反应：95 ℃预变性 5 min，95 ℃ 10 s，60 ℃ 30 s 循环 40 次，设置融解曲线（95 ℃ 15 s，60 ℃ 60 s，95 ℃ 15 s），得到实验结果。以 GAPDH 为内参基因，以 Trop2、Vimentin、E-Cadherin 以及 SNAIL 为目的基因，按照公式算出目的基因的相对表达量。

1.3.2 蛋白质印迹实验 组织样本经 PBS 清洗后

基金项目：湖州市科技计划项目（2022GYB05）
作者单位：313000 浙江省湖州，湖州市第一人民医院
通信作者：姚林华，Email：yaolinhua110@163.com

加入适量 RIPA 裂解液和 PMSF 的混合溶液置于已加入磁珠的匀浆管中匀浆，6 500 r/min 30 s，多次匀浆后于冰上降温 5 ～ 10 s，裂解 30 min，液体转移至新 EP 管，13 000 r/min 10 min，取上清液体转移至新 EP 管，蛋白浓度测定后煮样变性，95 ℃ 10 min。然后经上样、电泳、转膜、封闭、一抗二抗孵育后行化学发光检测，并进行半定量分析。

1.3.3　免疫组织化学　IGC 及癌旁组织样本经石蜡包埋后进行病理切片，厚度 3 μm。根据 SP 法进行免疫组化染色，由 2 名病理科主任医师独立阅片观察染色强度，评估阳性细胞比例最后进行评分。染色强度评分采取积分制：无着色为 0 分，浅黄色（弱阳性）为 1 分，黄色及棕黄色（阳性）为 2 分，棕褐色（强阳性）为 3 分；记录染色阳性细胞占总细胞比例：无阳性细胞为 0 分，1%～ 25%为 1 分，26%～ 50%为 2 分，51%～ 75%为 3 分，76%～ 100%为 4 分。两项得分的乘积为免疫组化最终染色得分，数据越大说明综合阳性强度越强。

1.4　预后随访　以电话随访、门诊、内镜检查复诊的方式随访患者的生存及预后以评估患者的总生存期（overall survival，OS），随访时间 6 ～ 36 个月，截止日期为 2024 年 7 月。OS 定义为内镜检查确诊日至随访截止或死亡的日期。

1.5　统计方法　采用 SPSS（27.0.1.0）、Graphpad（10.2.0）、Image J（2.3.0）软件进行统计学数据分析及绘图。计量资料以均数±标准差表示，采用单因素方差 ANOVA 检验和 t 检验。Trop2 的表达与 EMT 的相关性分析采用 Pearson 检验。采用 Kaplan-Meier 绘制生存曲线，组间比较采用 Log-rank 检验。P ＜ 0.05 表示差异有统计学意义。

2　结果

2.1　IGC 组织及癌旁组织中 Trop2 基因的 mRNA、蛋白和组织表达水平　与癌旁组织相比，肠型胃癌组织中 Trop2、SNAIL 和 Vimentin 的 mRNA 表达水平显著增加，而 E-cadherin 的 mRNA 表达水平显著降低（均 P ＜ 0.05），见表 1。与癌旁组织相比，肠型胃癌组织中 Trop2 蛋白表达显著增加（均 P ＜ 0.05），见图 1。与癌旁组织相比，肠型胃癌 Trop2 的组织表达水平显著增加（P ＜ 0.05），见图 2、表 2。

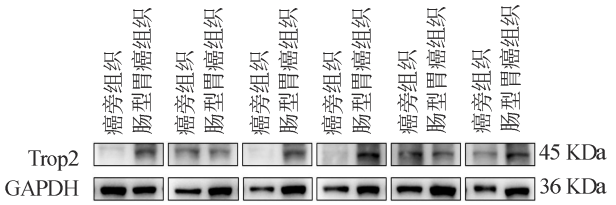
2.2　肠型胃癌组织中 Trop2 与 EMT 标志基因表达水平的相关性　Pearson 相关性分析结果显示，Trop2 与 E-cadherin 表达水平呈负相关（r = –0.88，P ＜ 0.05），与 Vimentin、SNAIL 均呈正相关（r=0.53、0.70，均 P ＜ 0.05），见图 3。

2.3　不同临床特征 IGC 患者 Trop2 表达水平比较　不同性别、年龄、肿瘤位置以及分化程度 IGC 患者的 Trop2 表达水平差异均无统计学意义（均 P ＞ 0.05），见表 3。

2.4　Trop2 表达水平和预后的相关性　以 Trop2 的 mRNA 表达水平的中位数 41.24 将肠型胃癌患者分为高表达 Trop2 组（≥41.24）和低表达 Trop2 组（＜ 41.24）。Kaplan-Meier 曲线显示，高表达 Trop2 的肠型胃癌患者的总生存时间低于低表达或无表达的肠型胃癌患者（P ＜ 0.05），见图 4。

表 1　肠型胃癌和癌旁组织的 Trop2、EMT 标志基因 mRNA 表达水平比较

组别	例数	Trop2	E-cadherin	Vimentin	SNAIL
肠型胃癌组织	81	37.85±10.56	0.39±0.34	1.88±1.26	1.50±0.51
癌旁组织	81	1.05±0.44	1.10±0.23	0.10±0.17	0.52±0.50
t 值		36.18	18.00	14.52	14.28
P 值		＜ 0.05	＜ 0.05	＜ 0.05	＜ 0.05



注：图中为 6 例患者 Trop2 蛋白电泳表达情况

图 1　肠型胃癌和癌旁组织的 Trop2 蛋白水平表达情况

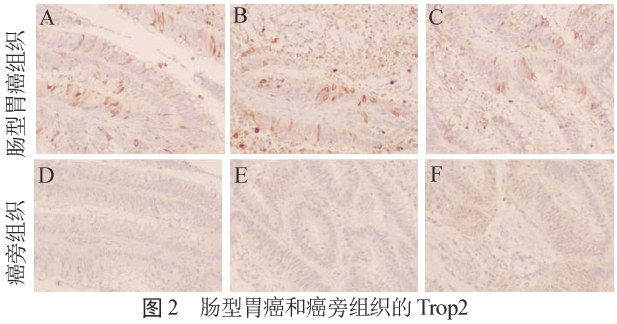


图 2　肠型胃癌和癌旁组织的 Trop2 蛋白水平表达情况（免疫组化染色，×200）

表 2　肠型胃癌和癌旁组织的 Trop2 蛋白水平表达情况比较

组别	例数	组织水平	蛋白水平
癌旁组织	81	0.78±0.90	0.76±0.39
肠型胃癌组织	81	8.42±2.67	0.87±0.25
t 值		16.29	2.10
P 值		＜ 0.05	＜ 0.05

表 3　不同临床特征 IGC 患者 Trop2 表达水平比较

组别		例数	Trop2	$t(F)$值	P值
性别	男	46	37.20±11.47	0.48	＞0.05
	女	35	35.93±12.43		
年龄（岁）	≤70	42	37.07±11.91	0.33	＞0.05
	＞70	39	36.20±11.89		
肿瘤位置	贲门	10	30.27±16.38	（1.62）	＞0.05
	胃底	4	37.92±4.37		
	胃体	19	40.06±6.48		
	胃窦	35	34.79±13.49		
	胃角	9	39.73±9.18		
	幽门	4	44.53±2.35		
分化程度	高	6	43.44±3.65	（0.99）	＞0.05
	高/中	2	44.36±3.00		
	中	22	35.91±12.11		
	中/低	49	35.57±12.48		
	低	2	43.25±3.03		

3　讨论

IGC 是最常见的 GC 病理类型，约占 54%[6]。由于 IGC 早期症状缺乏典型特征，临床诊断难度大，存在漏诊的风险，大多数患者确诊时已发展为进展期，肿瘤已侵犯浸润固有肌层，淋巴结转移风险高[7]。在我国，即使 IGC 患者通过手术治疗联合放化疗能清除病灶，但因肿瘤反复复发、癌细胞转移，五年生存率仅为 25%～ 30%[8]。

EMT 在恶性肿瘤细胞迁移侵袭过程中发挥着至关重要的作用，E-cadherin 表达降低、获得间质表型、Vimentin 及 SNAIL 的表达水平增加，增强了肿瘤细胞的可移动性、侵袭能力[9]。本研究结果显示，

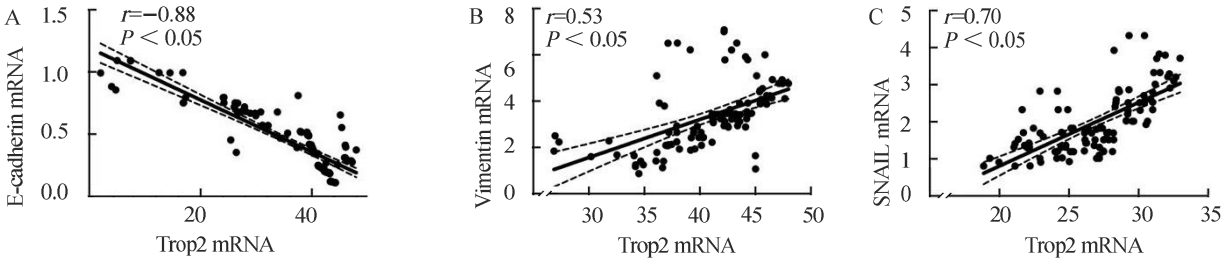
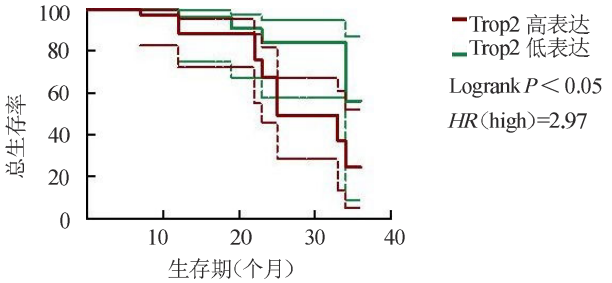


图 3　肠型胃癌中 Trop2 和 EMT 相关基因的 mRNA 表达水平的 Pearson 相关分析



注：虚线为置信区间的 error bars

图 4　Trop2 表达水平的总生存曲线

与癌旁正常胃黏膜组织相比，IGC 组织中 E-cadherin 的 mRNA 表达水平显著降低，说明 E-cadherin 低表达或表达缺失极大程度地促进了 IGC 细胞的迁移侵袭。既往研究表明，SNAIL 的高表达直接抑制靶基因 E-cadherin 从而促进肿瘤细胞的侵袭和淋巴结的转移。本研究中，IGC 组织中的 SNAIL 表达显著高于正常胃黏膜组织，则说明 SNAIL 的高表达不仅能促进肿瘤细胞迁移和侵袭能力，还可以直接抑制 E-cadherin 的表达。与此同时，IGC 组织中 Vimentin 的 mRNA 表达水平也显著增高，说明 Vimentin 的高表达能促进 IGC 细胞的转移。既往研究报道，E-cadherin 的表达降低及 Vimentin、SNAIL 的表达增加是 GC 患者预后不良、生存期减短的危险因素[10]，本研究结论与之相符，推断 IGC 患者的总生存率会受到这些基因表达水平的影响。

Trop2 是一种致癌基因，与各种恶性肿瘤的发生和发展密切相关，已经被证实在乳腺癌、胰腺癌、口腔鳞状细胞癌等恶性肿瘤病灶内表达增加[10-12]。研究证实，过表达和敲除 Trop2 分别有促进 GC 细胞迁移、侵袭和抑制 GC 细胞迁移、侵袭的作用，且过表达 Trop2 通过影响 EMT 途径促进 GC 细胞的迁移和侵袭[10]。本研究 IGC 组织 Trop2 的表达水平高于对应的癌旁组织，初步推断 Trop2 为促进 IGC 发生发展、侵袭迁移的促癌基因。对于临床上经内镜检测肠上皮化生的患者，Trop2 作为 IGC 早期诊断和靶向治疗的关键基因有极大的潜力。同时本研究结果显示 Trop2 高表达的组织中与 E-cadherin 表达水平下调，而 Vimentin 和 SNAIL 表达水平显著上调，则说明 Trop2 的表达水平与 EMT 密切相关，高表达的 Trop2 能促进 Vimentin、SNAIL 的表达，从而抑制 E-cadherin 的表达，进一步通过 EMT 途径促进 IGC 的发生和发展。这一结论同样在细胞水平结果

中得到证实，实时定量 RT-PCR 检测结果显示，胃癌肿瘤组织中高表达 Trop2，同时也共同高表达 Vimentin 及 SNAIL，而 E-cadherin 的表达显著低于癌旁组织，证实了 Trop2 可以上调间质表型 Vimentin 从而促进胃癌细胞发生间质转化，促进肠型胃癌细胞的迁移和侵袭。同时，Trop2 也可以直接下调上皮表型 E-cadherin，发挥诱导肠型胃癌细胞增生、诱导肿瘤干细胞自我更新。

研究表明，Wnt 信号通路的激活会导致癌症的发生，且 SNAIL 会促进 Wnt 通路靶基因的表达[13]。本研究结果显示 SNAIL 受 Trop2 上调而高表达于肠型胃癌组织中，从而推测 Trop2 上调 SNAIL 的表达从而通过 Wnt 通路促进肠型胃癌的发生发展，并且经 Trop2 上调的 SNAIL 还可抑制 E-cadherin 的表达，证明 Trop2 也可以通过间接抑制 E-cadherin 而影响 EMT 途径促进肠型胃癌的浸润和转移。根据上述的研究结果，可以推断 Trop2 可直接上调 EMT 相关基因 Vimentin 和 SNAIL 的表达，同时直接下调 E-cadherin 的表达而促进肠型胃癌细胞的迁移和侵袭，此外 Trop2 也可通过上调 SNAIL 而间接抑制 E-cadherin 的表达，影响 EMT 途径。生存曲线显示 Trop2 表达较高的患者总生存期显著缩短，表明 Trop2 高表达会影响 IGC 患者预后。

综上所述，IGC 中 Trop2 表达的增加与肿瘤发生发展、预后不良密切相关。而 Trop2 影响 IGC 细胞迁移侵袭能力可能是通过促进 EMT 途径。这为后续针对 IGC 开发生物标志物检测、揭示发病机制、精准靶向治疗及免疫检测点等提供了基础，后续可通过更多体外细胞学实验和体内动物学实验验证 Trop2 对 IGC 肿瘤微环境的调控作用和机制。

利益冲突　所有作者声明无利益冲突

参　考　文　献

[1] SIEGEL R, MILLER K D, WAGLE N S, et al. Cancer statistics, 2023[J]. CA Cancer J Clin, 2023,73(1):17-48.

[2] 王加斌,徐正元.胃癌患者根治术后复发转移时间及早期复发转移的影响因素[J].中国卫生工程学,2023,32(6):854-856.

[3] 谢川,刘文忠,吕农华.肠型胃癌是可预防的疾病[J].中华消化杂志,2021,41(4):286-288.

[4] 宗殿亮,孙清森,赵俊卿,等. DKK1 调节 PI3K/AKT 通路影响胃癌细胞的 EMT 进程[J]. 生物技术,2024,34(2):232-236.

[5] LIU X L, DENG J W, YUAN Y, et al. Advances in Trop2-targeted therapy: Novel agents and opportunities beyond breast cancer[J]. Pharmacol Ther, 2022, 239: 108296.

[6] 黄裕涵.基于 Lauren 分型的胃腺癌研究进展[J].安徽医科大学学报,2023,58(6):1060-1063.

[7] XIA X, ZHANG Z Z, ZHU C C, et al. Neutrophil extracellular traps promote metastasis in gastric cancer patients with postoperative abdominal infectious complications[J]. Nat Commun, 2022, 13(1): 1017.

[8] 龙钰,张育.胃癌患者 miR-34a、同源盒蛋白 D9 的表达及对预后的影响[J].现代实用医学,2024,36(6):794-797.

[9] ZHU Y X, HUANG C M, ZHANG C, et al. LncRNA MIR200CHG inhibits EMT in gastric cancer by stabilizing miR-200c from target-directed miRNA degradation[J]. Nat Commun, 2023, 14(1): 8141.

[10] ZHAO W, DING G P, WEN J B, et al. Correlation between Trop2 and amphiregulin coexpression and overall survival in gastric cancer[J]. Cancer Med, 2017, 6(5): 994-1001.

[11] ZHAO W, JIA L Z, ZHANG M J, et al. The killing effect of novel bi-specific Trop2/PD-L1 CAR-T cell targeted gastric cancer[J]. Am J Cancer Res, 2019, 9(8): 1846-1856.

[12] CARNEIRO P, FIGUEIREDO J, BORDEIRA-CARRIÇO R, et al. Therapeutic targets associated to E-cadherin dysfunction in gastric cancer[J]. Expert Opin Ther Targets, 2013, 17(10): 1187-1201.

[13] GAMAGE C D B, KIM J H, ZHOU R, et al. Plectalibertellenone A suppresses colorectal cancer cell motility and glucose metabolism by targeting TGF-β/Smad and Wnt pathways[J]. Biofactors, 2024. [2024-08-20].https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39291722/

收稿日期：2024-08-28

（本文编辑：吴迪汉）