

. 实验研究 .

# TEM8在人脑胶质瘤中的表达及其意义

任 勇 何 威 齐曼丽 陈昕薇 梁励玮 冯俊明

**【摘要】目的** 探讨肿瘤内皮标记物8(TEM8)在人脑胶质瘤组织中的表达特点及其意义。**方法** 采用免疫组化法检测84例脑胶质瘤及15例颅脑损伤减压手术切除的正常脑组织标本TEM8的表达,并分析TEM8表达与胶质瘤临床病理特征及预后的关系。**结果** 胶质瘤TEM8高表达率(47.6%,40/84)明显高于正常脑组织(6.7%,1/15; $P<0.01$ )。高级别胶质瘤TEM8高表达率(64.4%,29/45)显著高于低级别胶质瘤(28.2%,11/39; $P<0.01$ )。TEM8表达与胶质瘤患者性别、年龄、肿瘤部位和大小无关( $P>0.05$ )。TEM8高表达胶质瘤患者中位生存期(24.5个月)明显长于TEM8低表达胶质瘤患者中位生存期(36.0个月; $P<0.05$ )。**结论** 胶质瘤组织TEM8呈高表达,并且与胶质瘤级别和预后显著相关。

**【关键词】** 胶质瘤;肿瘤内皮标记物8;预后;免疫组织化学染色

**【文章编号】** 1009-153X(2016)12-0768-03 **【文献标志码】** A **【中国图书资料分类号】** R 739.41; Q786

## Expression of TEM8 in human gliomas and its clinical meaning

REN Yong<sup>1</sup>, HE Wei<sup>2</sup>, QI Man-li<sup>1</sup>, CHEN Xin-wei<sup>1</sup>, LIANG Li-wei<sup>1</sup>, FENG Jun-ming<sup>1</sup>. 1. Department of Pathology, Wuhan General Hospital, PLA, Wuhan 430070, China; 2. Second Department of Geriatrics, Wuhan General Hospital, PLA, Wuhan 430070, China

**【Abstract】 Objective** To investigate the expression of tumor endothelial marker 8 (TEM8) protein in human glioma and its clinical meaning. **Methods** The expression of TEM8 was determined in 84 glioma samples and 15 normal brain tissues samples by immunohistochemical technique. The relationship of TEM8 expression in the gliomas with glioma clinicopathological parameters and the patients' survival rates were analyzed. **Results** The positive expression rate of TEM8 protein was significantly higher in glioma tissues (47.6%, 40/84) than that (6.7%, 1/15) in the normal brain tissues ( $P<0.01$ ). The positive expression rate (64.4%, 29/45) of TEM8 protein was significantly higher in the grades III-IV gliomas than that (28.2%, 11/39) in grades I-II gliomas ( $P<0.05$ ). Kaplan-Meier survival analysis suggested that the positive expression of TEM8 protein was negatively correlated with the overall survival rate in the patients with gliomas ( $P<0.05$ ). **Conclusions** It is suggested that high level of TEM8 protein expression is significantly correlated with glioma progression and the patient's poor prognosis, so it can be used as a novel glioma biomarker and a new target for treating glioma.

**【Key words】** Glioma; TEM8 protein; Expression; Prognosis; Immunohistochemistry

胶质瘤是最常见的中枢神经系统肿瘤之一<sup>[1]</sup>。由于胶质瘤呈侵袭性生长,手术不易彻底切除,术后易复发。肿瘤内皮标记物8(tumor endothelial marker 8,TEM8)最初发现在肿瘤内皮细胞中高表达<sup>[2]</sup>,TEM8在乳腺癌组织中高表达并与其预后相关<sup>[3]</sup>。本研究采用免疫组化法检测TEM8在胶质瘤组织中的表达,分析其与肿瘤临床病理特征及与患者预后的关系,为防治胶质瘤和预后判断提供参考。

## 1 材料和方法

1.1 标本来源 收集2007年1月至2009年12月术后胶质瘤组织标本84例,其中男50例,女34例;年龄

22~76岁,中位年龄49岁。根据WHO(2007版)分类,I~II级39例,III级17例,IV期28例。另选择同期颅脑损伤行减压手术的正常脑组织15例作为对照。所有组织均经10%中性福尔马林固定,常规石蜡包埋,4 μm厚连续切片,分别作HE及免疫组化染色。所有病例均经病理确诊且有完整的临床资料,术前均未接受放化疗,无其他肿瘤病史,所有实验和研究已获得医院医学伦理委员会批准。

### 1.2 检测方法

1.2.1 免疫组织化学染色 切片置于65℃烤箱烘片2 h,常规脱蜡水化后,PBS冲洗3次,每次5 min,0.01 mol/L柠檬酸钠(pH=6.0)抗原修复液微波抗原修复,PBS冲洗3次,3%过氧化氢阻断内源性过氧化物酶10 min。PBS冲洗3次,滴加鼠抗人TEM8抗体(1:100稀释;美国Abnova公司),4℃孵育过夜,PBS冲洗3次,滴加二抗,室温孵育60 min,PBS冲洗3次后DAB显色(福州迈新生物技术公司),苏木精复染,0.1%盐酸酒精分化,自来水冲洗,PBS冲洗3次,

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2016.12.012

基金项目:湖北省自然科学基金(2015CFB280);广州军区武汉总医院课题(YZ201503)

作者单位:430070 武汉,中国人民解放军武汉总医院病理科(任勇、齐曼丽、陈昕薇、梁励玮、冯俊明),老年二科(何威)

通讯作者:冯俊明,E-mail:rybest@126.com

梯度乙醇脱水干燥,中性树脂封片,显微镜下观察。用PBS缓冲液代替一抗作为阴性对照,用已知阳性胶质瘤切片作为阳性对照。

1.2.2 免疫组化染色结果的判定 由两位病理医师独立观察,以细胞膜及细胞浆内有棕黄色颗粒为阳性表达。每张切片在×400倍镜下随机取10个不同视野,结合阳性细胞比例和染色强度进行半定量分析<sup>[4]</sup>。①按阳性细胞占同类细胞百分比评分:无阳性细胞为0分,<33%为1分,33%~66%为2分,>66%为3分;②按切片中细胞着色深浅评分:无色为0分,淡黄色为1分,棕黄色为2分,棕褐色为3分。总分=阳性细胞比率评分×着色深度评分,0~4分定义为低表达,5~9分为高表达。

1.3 统计学分析 使用SPSS 20.0软件进行分析,计数资料采用 $\chi^2$ 检验;生存分析利用Kaplan–Meier生存曲线,并行Log rank 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 TEM8在胶质瘤组织中表达 TEM8主要表达于胶质瘤细胞膜和细胞浆,呈棕褐色,其阳性表达程度随胶质瘤级别增加而增加(图1)。胶质瘤TEM8高表达率(47.6%,40/84)明显高于正常脑组织(6.7%,1/15; $P<0.01$ )。

2.2 TEM8表达水平与胶质瘤病理特征的关系 高级别胶质瘤TEM8高表达率显著高于低级别胶质瘤( $P<0.01$ )。TEM8表达与胶质瘤患者性别、年龄、肿

瘤部位和大小无关( $P>0.05$ ),详见表1。  
2.3 TEM8表达水平与胶质瘤预后的关系 TEM8高表达胶质瘤患者中位生存期为24.5个月,而TEM8

表1 TEM8表达水平与人脑胶质瘤临床特征的关系(例)

临床特征	TEM8 表达	
	低表达	高表达
性别		
男	23(40.6%)	27(54.0%)
女	21(61.8%)	13(38.2%)
年龄(岁)		
<50	25(53.2%)	22(46.8%)
≥50	19(51.4%)	18(48.6%)
肿瘤部位		
额叶	13(29.5%)	8(20.0%)
颞叶	8(18.2%)	6(15.0%)
枕叶	4(9.1%)	6(15.0%)
顶叶	7(15.9%)	7(17.5%)
其他	12(27.3%)	13(32.5%)
肿瘤大小(cm)		
≤5	25(53.2%)	24(46.8%)
>5	19(51.4%)	16(48.6%)
WHO 分级		
I ~ II	28(71.8%)	11(28.2%)
III ~ IV	16(35.6%)	29(64.4%)*

注:与WHO I ~ II级胶质瘤相应值比,\*  $P<0.05$ ;  
TEM8:肿瘤内皮标记物8

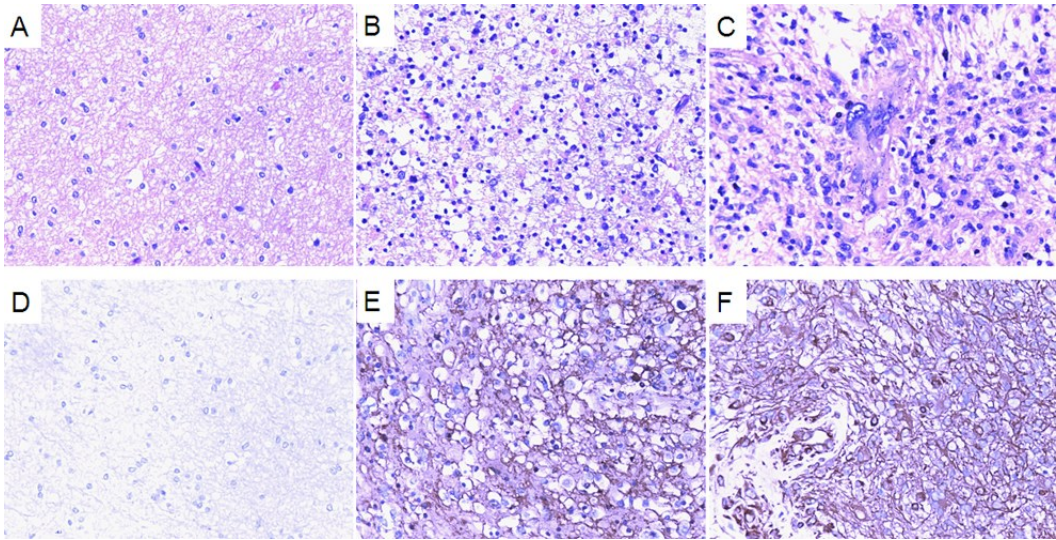


图1 TEM8在正常脑组织和胶质瘤组织中表达

A. 正常脑组织,HE染色,×200;B. 星形细胞瘤(Ⅱ级),HE染色,×200;C. 星形细胞瘤(Ⅵ级),HE染色,×200;D. 正常脑组织,SP免疫组化染色,×200;E. 星形细胞瘤(Ⅱ级),SP免疫组化染色,×200;F. 星形细胞瘤(Ⅵ级),SP免疫组化染色,×200

低表达胶质瘤患者中位生存期为 36.0 个月,两者有统计学差异( $P<0.05$ ),见图 2。

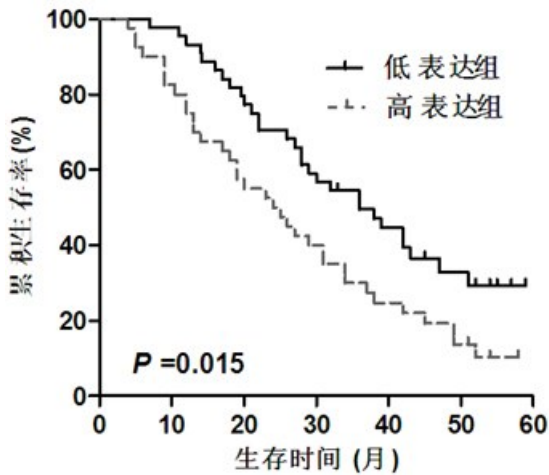


图 2 肿瘤内皮标记物 8 表达水平与胶质瘤患者生存期的关系

3 讨论

TEM8 是一个 85 kDa 的 I 型跨膜受体蛋白。人体正常组织 TEM8 呈散在的弱表达,而肿瘤血管内皮细胞呈强阳性表达。研究表明 TEM8 的细胞外结构域能够和细胞外基质蛋白相结合,促进内皮细胞迁移及毛细血管网的形成等<sup>[5]</sup>。靶向 TEM8 的特异性抗体能够破坏肿瘤血管的生成<sup>[6]</sup>。TEM8 在生理状态下的功能尚不十分清楚,TEM8 基因敲除小鼠的子宫和卵巢等组织聚集大量细胞外基质,提示 TEM8 是与细胞外基质稳态相关的细胞粘附分子<sup>[7]</sup>。有文献报道 TEM8 高表达于乳腺癌,其表达与乳腺癌患者预后呈显著负相关,并且 TEM8 还可作为乳腺癌肿瘤干细胞的标记物。敲除乳腺癌 TEM8 基因表达后,进行基因表达谱比较分析发现,JNK/AP1、Wnt 和 E2F 信号通路的下游基因表达降低<sup>[3]</sup>。这提示 TEM8 在乳腺癌的发生、发展演进中起着重要作用,然而 TEM8 在其他肿瘤中的表达情况尚不清楚。

本研究运用免疫组化染色方法观察胶质瘤组织 TEM8 异常表达,胶质瘤组织 TEM8 高表达率明显高于正常脑组织。这提示 TEM8 可能与胶质瘤的发生相关。另外,高级别(WHO III~IV 级)胶质瘤 TEM8

高表达率显著高于低级别(WHO I~II 级)胶质瘤。这提示 TEM8 在胶质瘤的演进过程中同样起着重要作用。为探索 TEM8 蛋白表达与胶质瘤患者预后的关系,我们应用 Kaplan-Meier 法对 TEM8 表达和胶质瘤患者总生存期进行相关性分析,发现 TEM8 低表达胶质瘤患者总生存期明显长于 TEM8 高表达胶质瘤患者。TEM8 表达水平与胶质瘤患者预后呈显著负相关,可被用作胶质瘤患者预后判断的指标。

总之,胶质瘤组织 TEM8 呈高表达,并与肿瘤分级和患者预后密切相关。

【参考文献】

[1] Wen PY, Kesari S. Malignant gliomas in adults [J]. N Engl J Med, 2008, 359(5): 492-507.

[2] St Croix B, Rago C, Velculescu V, et al. Genes expressed in human tumor endothelium [J]. Science, 2000, 289(5482): 1197-1202.

[3] Chen D, Bhat-Nakshatri P, Goswami C, et al. ANTXR1, a stem cell-enriched functional biomarker, connects collagen signaling to cancer stem-like cells and metastasis in breast cancer [J]. Cancer Res, 2013, 73(18): 5821-5833.

[4] Nguyen DD, Muthupalani S, Goettel JA, et al. Colitis and colon cancer in WASP-deficient mice require helicobacter species [J]. Inflamm Bowel Dis, 2013, 19(10): 2041-2050.

[5] Werner E, Kowalczyk AP, Faundez V. Anthrax toxin receptor 1/tumor endothelium marker 8 mediates cell spreading by coupling extracellular ligands to the actin cytoskeleton [J]. J Biol Chem, 2006, 281(32): 23227-23236.

[6] Gutwein LG, Al-Quran SZ, Fernando S, et al. Tumor endothelial marker 8 expression in triple-negative breast cancer [J]. Anticancer Res, 2011, 31(10): 3417-3422.

[7] Cullen M, Seaman S, Chaudhary AY, et al. Host-derived tumor endothelial marker 8 promotes the growth of melanoma [J]. Cancer Res, 2009, 69(15): 6021-6026.

(2016-09-08 收稿, 2016-09-27 修回)