

The Expression and Significance of FAK/PI3K/Akt/mTOR Signaling Pathway Related Proteins in Human Gastric Carcinoma

Bo Yu, Xiyuan Sun*, Hong Chen, Tiefu Yu, Hongyu Liu, Weihai Cao, Weiye Fan, Xiaobin Liu

The First Hospital of Qiqihar City, Qiqihar Heilongjiang
Email: yubo1994@126.com, *sunxiyuan2004@126.com

Received: Jun. 20th, 2018; accepted: Jul. 8th, 2018; published: Jul. 16th, 2018

Abstract

Object: To explore the relationship between the expression of FAK, PI3K, Akt and mTOR protein in gastric carcinoma and analyze the relationship with clinicopathology and survival. **Methods:** Immunohistochemical method was used to detect the level of FAK, PI3K, p-Akt and p-mTOR protein in 50 cases of gastric carcinoma, 48 cases of tissue adjacent to carcinoma and 20 normal gastric tissues. **Result:** The level of FAK, p-Akt and p-mTOR in gastric cancer carcinoma was higher than that of tissue adjacent to carcinoma and normal gastric tissues ($p < 0.01$), its level was positively correlated with infiltration depth, clinical stage, lymph node metastasis ($P < 0.01$), and negatively correlated with the type of tissue differentiation ($P < 0.01$), was not correlated with the gender, age and gastric carcinoma area of patients ($P > 0.05$); the level of PI3K in gastric carcinoma was higher than that of tissue adjacent to carcinoma and normal gastric tissue ($P > 0.05$), and the level was not correlated with the patient's gender, gastric carcinoma area, infiltration depth, clinical stage and lymph node metastasis ($P > 0.05$). Survival analysis shows, the survival time of patients with p-Akt, p-mTOR positive expression and negative expression was statistically significant ($p < 0.01$), and with FAK, PI3K negative expression was not statistically significant. **Conclusion:** The abnormal expression of Akt and mTOR is involved in the evolution of gastric carcinoma, which may be one of the independent indexes of prognosis of gastric carcinoma patients.

Keywords

Gastric Carcinoma, FAK/PI3K/Akt/mTOR, Clinicopathology, Survival

FAK/PI3K/Akt/mTOR信号通路相关蛋白在胃癌中的表达及意义

于波, 孙玺媛*, 陈宏, 于铁夫, 刘洪羽, 曹维海, 樊伟业, 刘晓斌

*通讯作者。

文章引用: 于波, 孙玺媛, 陈宏, 于铁夫, 刘洪羽, 曹维海, 樊伟业, 刘晓斌. FAK/PI3K/Akt/mTOR 信号通路相关蛋白在胃癌中的表达及意义[J]. 世界肿瘤研究, 2018, 8(3): 113-120. DOI: 10.12677/wjcr.2018.83018

齐齐哈尔市第一医院, 黑龙江 齐齐哈尔
Email: yubo1994@126.com, sunxiyuan2004@126.com

收稿日期: 2018年6月20日; 录用日期: 2018年7月8日; 发布日期: 2018年7月16日

摘要

目的: 探讨FAK、PI3K、AKT、mTOR蛋白在胃癌组织中表达与临床病理及生存的关系。**方法:** 应用免疫组化的方法检测50例胃癌组织、48例癌旁组织、20例正常胃组织中FAK、PI3K、p-AKT、p-mTOR蛋白的表达。**结果:** FAK、p-AKT、p-mTOR在胃癌组织中的表达高于癌旁组织、正常胃组织($P < 0.01$), 其表达水平与浸润深度、临床分期、淋巴结转移呈正相关($P < 0.01, r = 0.81$), 与组织分化类型呈负相关($P < 0.01, r = -0.85$), 与患者的性别、年龄、胃癌的部位无相关($P > 0.05$); PI3K在胃癌组织中的表达高于癌旁组织、正常胃组织($P > 0.05$), 其表达水平与患者的性别、年龄、胃癌的部位、浸润深度、临床分期、淋巴结转移无相关($P > 0.05$); 生存分析显示, p-AKT、p-mTOR阳性表达与阴性表达患者的生存时间比较差异有统计意义($P < 0.01$); FAK、PI3K阳性表达与阴性表达患者的生存时间比较差异无统计意义($P > 0.05$)。 **结论:** AKT、mTOR的异常表达参与了胃癌的演进过程, 可能是胃癌患者预后的一个独立指标之一。

关键词

胃癌, FAK/PI3K/AKT/mTOR, 病理特征, 预后

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

胃癌是全球最常见的恶性肿瘤之一, 病死率居恶性肿瘤的第3位, 在我国, 胃癌病人占世界胃癌病人的比例超过43% [1], 5年生存率只有30%~40% [2] [3], 如何有效地控制胃癌的发生、发展已经成为我国重要的健康问题。胃癌的治疗以手术为主, 辅以化疗、放疗、分子靶向药物、生物抗体治疗等, 但多数胃癌患者就诊时已属进展期, 失去手术的机会, 且目前疗效已经进入瓶颈期。胃癌的发生与饮食[4]、幽门螺杆菌的感染[5]、遗传、抑癌基因的失活、促癌基因的活化、RhoA信号转导通路等的异常[6]相关。对于胃癌发病机制的信号通路的研究相对滞后, 缺乏治疗的靶点, 评价预后的生物标志物较少。本项目研究的目的在于分析FAK/PI3K/AKT/mTOR (粘附斑激酶/磷脂肌醇3-激酶/蛋白激酶B/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白, focal adhesion kinase/phosphoinositide 3 kinase/protein kinase B/the mammalian target of rapamycin, FAK/PI3K/AKT/mTOR)信号通路相关蛋白在胃癌组织、癌旁组织、正常胃组织中表达的差异, 与病理分型、病理分级、肿瘤浸润深度、淋巴结转移、总生存期的相关性, 进而探索研究FAK/PI3K/AKT/mTOR信号通路相关蛋白与胃癌临床病理学特征、预后的相关性, 探讨胃癌的发生、发展机制, 阐明胃癌靶向治疗的靶点, 为胃癌的靶向治疗提供实验依据, 寻找评价胃癌预后的分子标志物, 进一步指导临床治疗。

2. 资料与方法

2.1. 一般资料

随机收集 2010 年 1 月至 2010 年 12 月齐齐哈尔市第一医院行手术切除并经病理证实、临床资料完整的胃癌石蜡标本 50 例, 癌旁组织 48 例, 正常胃组织 20 例, 术前均未行放化疗。男性 36 例, 女性 14 例, 年龄 34~82 岁, 中位年龄 64 岁, ≤ 60 岁 23 例, >60 岁 27 例。术后所制切片由专职病理科医生进行复检, 标本组织学类型以世界卫生组织(WHO)分类 2000 标准。组织分化程度: 低分化腺癌 20 例, 中分化腺癌 24 例, 高分化腺癌 6 例; 病灶部位: 贲门部癌 1 例, 胃底部癌 1 例, 胃体部癌 19 例, 幽门部癌 29; 浸润深度: 未穿透浆膜层(T1 + T2) 13 例, 穿透浆膜层(T3 + T4): 37 例; 有淋巴结转移 19 例, 无淋巴结转移 31 例。根据美国癌症联合会(AJCC) 2010 年第 7 版为准进行肿瘤分期(TNM 分期), I 期 17 例, II 期 26 例, III 期 4, IV 期 3 例。通过医院伦理委员会批准。

2.2. 方法

兔抗人 FAK、p-AKT、PI3K、p-mTOR、FAK 单克隆抗体购自美国 Santa Cruz 公司; 生物素标记山羊抗兔(II 抗)、辣根酶标记的链霉卵白素工作液、山羊血清封闭液、DAB-显色试剂盒均购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

2.2.1. 免疫组织化学法

检测胃癌组织、癌旁组织(距离肿瘤组织 5.0 cm)、正常胃组织中 FAK、PI3K、p-AKT、p-mTOR 蛋白的表达。免疫组化采用 S-P 二步法进行, 按照免疫组化试剂盒说明书进行。

2.2.2. 免疫组织化学结果判读

通过显微镜对染色结果进行判断, 首先将低倍镜下的染色情况拍摄下来, 被染色为棕黄色或者是棕褐色的细胞为阳性, 进行判定时采用的评价方法是综合评分方法。标准如下:按照切片着色深浅进行评分, 棕褐色为 3 分, 棕黄色 2 分, 浅黄色 1 分, 无着色 0 分;按照阳性细胞比例进行评分, 比例在 76%~100% 之间为 4 分, 在 51%~75% 之间为 3 分, 26%~50% 之间为 2 分, 1%~25% 之间为 1 分, 总比例小于 1% 为 0 分。将两种评分标准所得分数相加即为调查分数, 总得分为在 5 分以上为强阳性, 总得分在 2~4 分之间为弱阳性, 总得分在 1 分以下为阴性[7]。

2.3. 统计学处理

采用 SPSS 统计软件进行处理。采用卡方检验进行相关性分析、Kaplan-Meier 方法进行生存期分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3. 结果

3.1. FAK、PI3K、p-AKT、p-mTOR 蛋白在胃癌组织、癌旁组织、正常胃组织中的表达

FAK 蛋白主要表达于细胞浆, 在胃癌组织、癌旁组织、正常胃组织的表达率分别为 68%、14.95%、25%, $P < 0.01$, 胃癌组织与癌旁组织、正常胃组织比较, $p < 0.01$, 差异有统计学意义, 癌旁组织与正常胃组织比较, $p > 0.05$, 差异无统计学意义; PI3K 蛋白主要表达于细胞膜, 在胃癌组织、癌旁组织、正常胃组织的表达率分别为 28%、18.75%、10%, 胃癌组织与癌旁组织、正常胃组织比较, $P > 0.05$, 差异无统计学意义; p-AKT 蛋白主要表达于细胞膜, 在胃癌组织、癌旁组织、正常胃组织的表达率分别为 70%、25%、5%, 胃癌组织与癌旁组织、正常胃组织比较 $P < 0.01$, 差异有统计学意义, 癌旁组织与正常胃组

织比较, $p > 0.05$, 差异无统计学意义; 义 p-mTOR 蛋白主要表达于细胞浆, 在胃癌组织、癌旁组织、正常胃组织的表达率分别为 54%、18.55%、0%, 胃癌组织与癌旁组织、正常胃组织, $P < 0.01$, 差异有统计学意义, 癌旁组织与正常组织比较, $p < 0.05$, 差异有统计学意义, 见表 1、图 1~图 4。

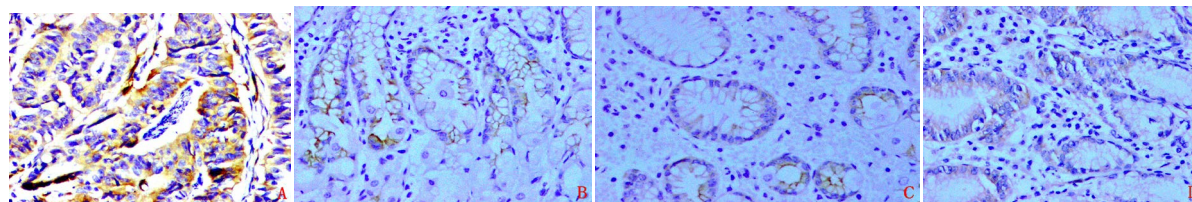


Figure 1. FAK expression in gastric cancer tissues, adjacent tissue and normal gastric tissues ($\times 200$). (A): Gastric cancer tissues; (B): Adjacent tissue; (C): Normal gastric tissues; (D) Negative control

图 1. FAK 蛋白在胃癌组织、癌旁组织、正常胃组织中表达($\times 200$)。(A) 胃癌组织; (B) 癌旁组织; (C) 正常胃组织; (D) 阴性对照

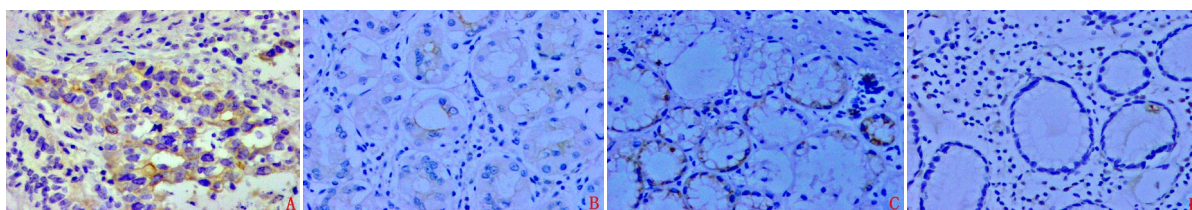


Figure 2. PI3K expression in gastric cancer tissues, adjacent tissue and normal gastric tissues ($\times 200$). (A): Gastric cancer tissues; (B): Adjacent tissue; (C): Normal gastric tissues; (D) Negative control

图 2. PI3K 蛋白在胃癌组织、癌旁组织、正常胃组织中表达($\times 200$)。(A) 胃癌组织; (B) 癌旁组织; (C) 正常胃组织; (D) 阴性对照

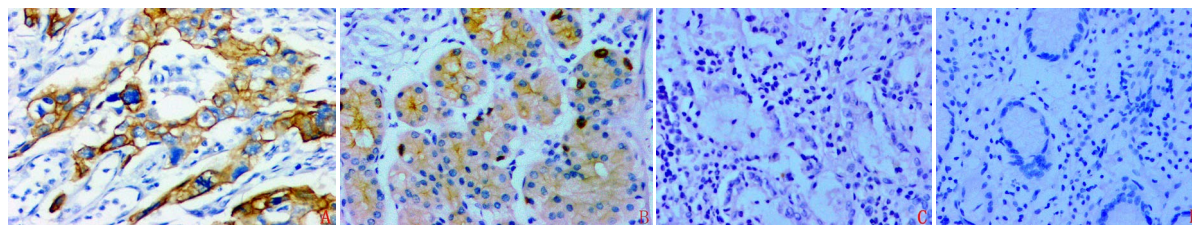


Figure 3. p-AKT expression in gastric cancer tissues, adjacent tissue and normal gastric tissues($\times 200$). (A): Gastric cancer tissues; (B): Adjacent tissue; (C): Normal gastric tissues; (D) Negative control

图 3. p-AKT 蛋白在胃癌组织、癌旁组织、正常胃组织中表达($\times 200$)。(A) 胃癌组织; (B) 癌旁组织; (C) 正常胃组织; (D) 阴性对照

Table 1. FAK, PI3K, p-AKT, p-mTOR expression in gastric cancer tissues, adjacent tissue and normal gastric tissues

表 1. FAK、PI3K、p-AKT、p-mTOR 蛋白在胃癌组织、癌旁组织、正常胃组织中的表达

组别	n	FAK			PI3K			P-AKt			P-mTOR		
		阳性	阴性	阳性率	阳性	阴性	阳性率	阳性	阴性	阳性率	阳性	阴性	阳性率
胃癌组织	50	34	16	68.00%*#	14	36	28.00%	35	15	70.00%*#	27	23	54.00%*#
癌旁组织	48	18	30	14.95%	9	29	18.75%	12	36	25.00%	9	39	18.75%&
正常胃组织	20	5	15	25.00%	2	18	10.00%	1	19	5.00%	0	20	0.00%

*与癌旁组织比较 $P < 0.01$; #与正常组织比较 $P < 0.01$; &与正常组织比较 $P < 0.01$ 。

3.2. FAK、PI3K、p-AKT、p-mTOR 表达与胃癌病理特征的关系

FAK、p-AKT、p-mTOR 蛋白的表达与浸润深度、临床分期、淋巴结转移呈正相关，与组织分化类型呈负相关，与胃癌患者的性别、年龄、胃癌的部位之间差异无统计学意义；PI3K 蛋白的表达与胃癌患者的性别、年龄、胃癌的部位、浸润深度、临床分期、淋巴结转移之间差异无统计学意义 $p > 0.05$ ，见表 2。

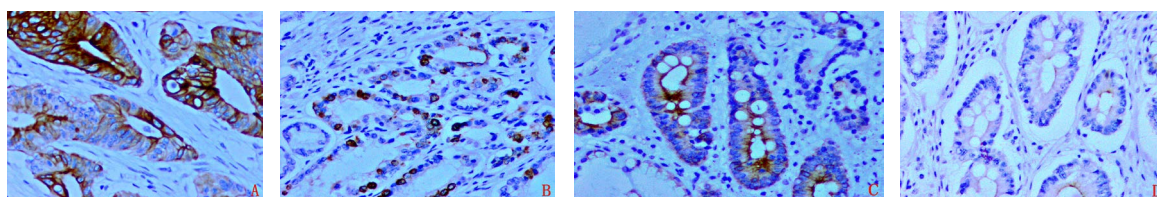


Figure 4. p-mTOR expression in gastric cancer tissues, adjacent tissue and normal gastric tissues($\times 200$). (A) GASTRIC cancer tissues; (B) adjacent tissue; (C) Normal gastric tissues; (D) Negative control

图 4. p-mTOR 蛋白在胃癌组织、癌旁组织、正常胃组织中表达($\times 200$)。(A) 胃癌组织；(B) 癌旁组织；(C) 正常胃组织；(D) 阴性对照

Table 2. Relationship between the expression of FAK, PI3K, p-Akt, p-mTOR and the pathological characteristics of gastric cancer (* $p < 0.05$, ** $P < 0.01$)

表 2. FAK、PI3K、p-Akt、p-mTOR 表达与胃癌病理特征的关系 (* $p < 0.05$, ** $P < 0.01$)

病理特征	n	FAK			PI3K			p-Akt			p-mTOR		
		阳性	阴性	阳性率	阳性	阴性	阳性率	阳性	阴性	阳性率	阳性	阴性	阳性率
性别													
男	36	30	6	83.33%	10	26	27.78%	25	11	69.44%	17	19	47.20%
女	14	10	4	71.43	4	10	28.57%	10	4	71.43%	7	7	50.00%
年龄													
≤60	23	16	7	69.56%	9	13	43.47%	15	8	65.22%	10	13	43.48%
>60	27	22	5	81.48%	6	21	22.22%	20	7	74.08%	12	15	44.44%
胃癌部位													
胃体	49	33	16	67.34%	14	35	28.57%	34	15	69.38%	34	15	69.39%
贲门	1	1	0	100%	0	1	0	1	0	100%	1	0	100%
组织分化类型													
高	6	1	5	16.67%**	0	6	0	2	3	33.33%**	2	4	33.33%**
中	24	13	8	54.17%	7	17	29.17%	12	12	50.00%	17	7	29.27%
低	20	11	9	55.00%	6	14	30%	13	7	65.00%	12	8	60.00%
未	4	3	1	75.00%	0	4	0	2	1	50.00%	3	1	75.00%
分期													
I	17	3	15	17.64%	5	12	29.41%	3	14	17.64%	2	15	11.76%
II	26	11	15	42.30%	7	19	26.92%	13	13	50.00%	12	14	46.15%
III	4	2	2	50.00%	0	4	0	4	0	100%	2	2	50.00%
IV	3	2	1	66.67%	0	3	0	3	0	100%	2	1	66.67%
浸润深度													
T1 + T2	13	4	9	30.76%*	5	8	35.71%	3	10	23.07%**	2	11	15.35%**
T2 + T3	37	24	13	64.86	10	27	27.02%	27	10	72.97%	25	12	67.57%
淋巴结转移													
无	19	5	14	26.31%**	5	14	26.31%	7	12	36.84%*	6	13	31.57%**
有	31	23	8	74.19%	9	22	29.03%	24	7	77.41	22	9	70.97

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

3.3. FAK、PI3K、p-Akt、p-mTOR 表达与胃癌生存时间的关系

FAK、PI3K、p-Akt、p-mTOR 阳性表达患者的平均生存时间分别是 39.8、58.6、26.3、29.8 个月，阴性表达患者的平均生存时间分别是 49.8、48.7、58.2、53.7 个月，经过 Log Rank 统计学检验，p-Akt、p-mTOR 阳性表达与阴性表达患者的生存时间比较差异有统计意义 $p < 0.05$ ，见图 5~图 8。

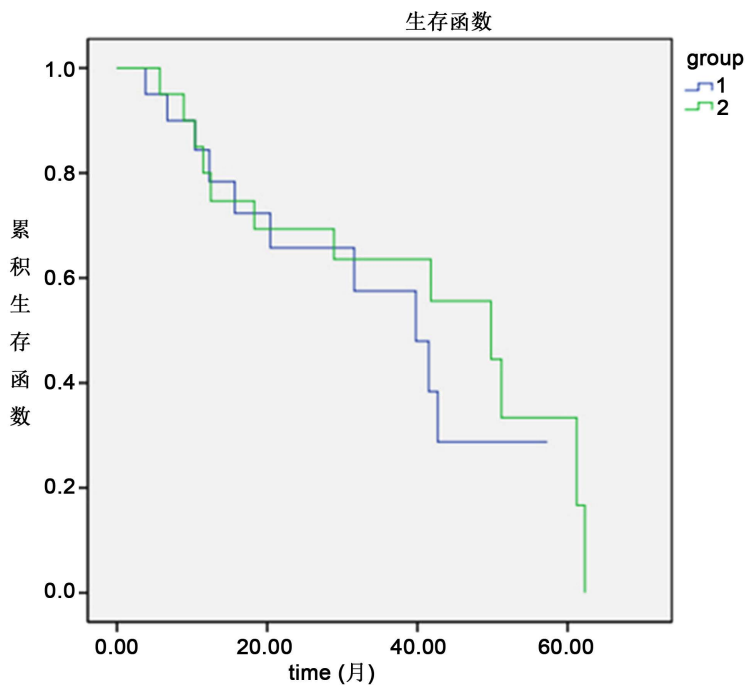


Figure 5. Relationship between FAK expression and survival time (1 positive, 2, negative)
图 5. FAK 表达与生存时间的关系(1 阳性, 2, 阴性)

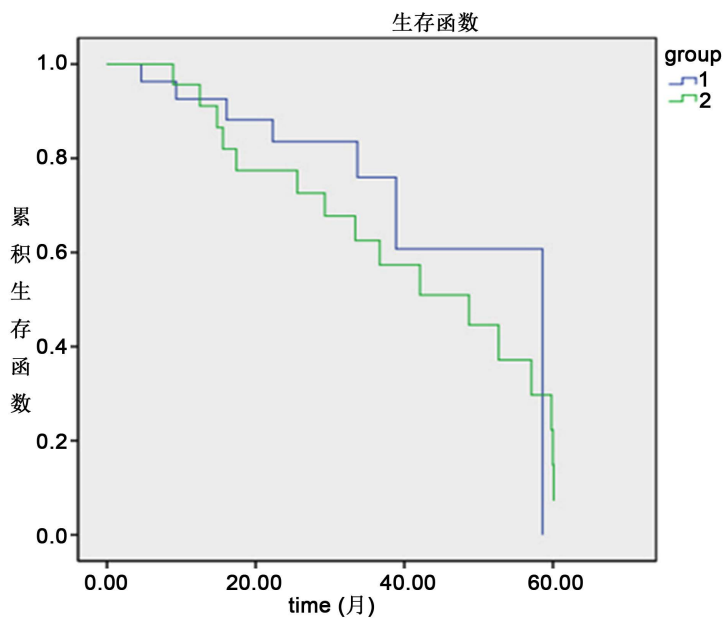


Figure 6. Relationship between PI3K expression and survival time (1 positive, 2 negative)
图 6. PI3K 表达与生存时间的关系(1 阳性, 2 阴性)

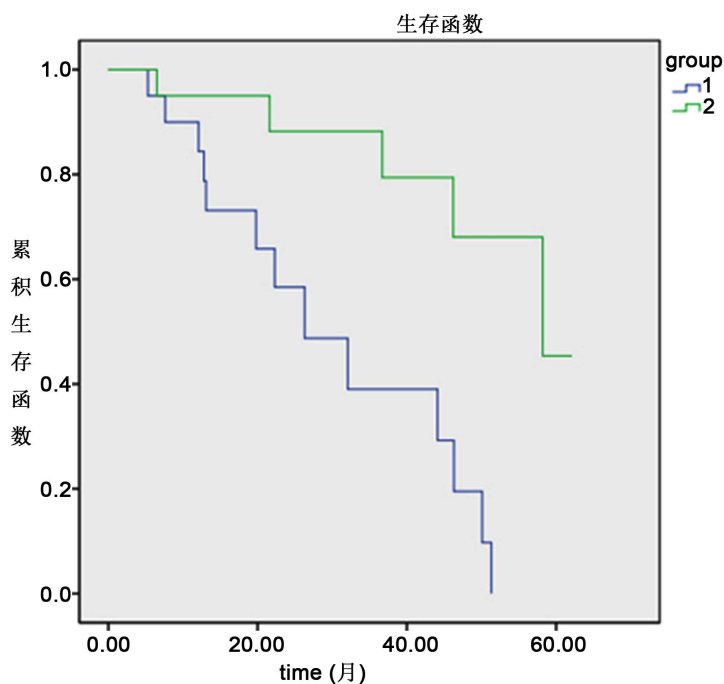


Figure 7. Relationship between p-Akt expression and survival time (1 positive, 2 negative)
图 7. p-Akt 表达与生存时间的关系(1 阳性, 2 阴性)

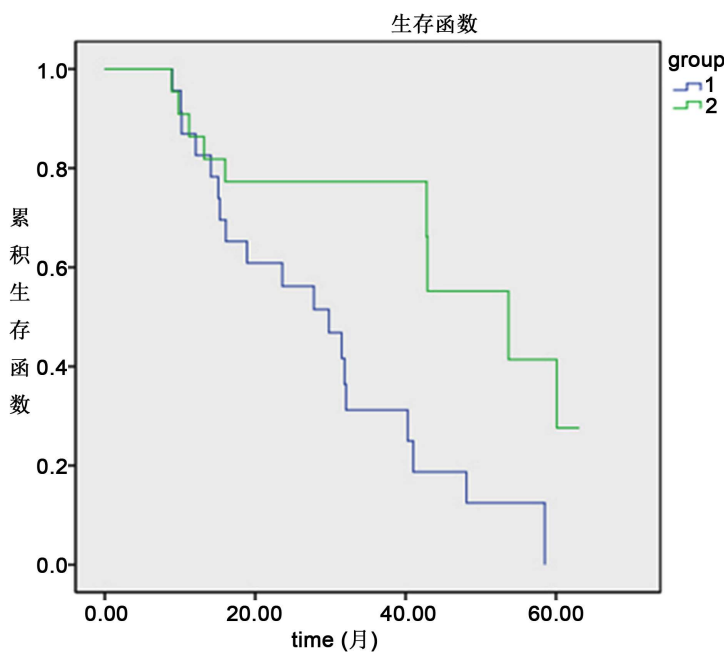


Figure 8. Relationship between m-TOR expression and survival time (1 positive, 2 negative)
图 8. m-TOR 表达与生存时间的关系(1 阳性, 2 阴性)

4. 讨论

FAK/PI3K/Akt/mTOR 信号通路是人类肿瘤发生、发展密切相关[8]。FAK 是一种胞质非受体酪氨酸激酶, 为整合素信号通路中的关键分子, 又与细胞粘附密切相关, 在细胞的迁移、粘附和浸润等方面起

起着至关重要的作用。FAK 参与了肿瘤细胞的多个信号途径的传导, 可以将细胞外的信号经整合素及生长因子受体传导至细胞内。研究成果表明, FAK 能通过 PI3K/Akt 途径与 mTOR 信号通路关联, 促进细胞骨架的重建、粘着斑的形成和更新以及细胞表面基质金属蛋白酶的表达等作用与肿瘤细胞的迁移和浸润密切相关, 促进肿瘤转移, 且 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的过度激活已经在脑胶质瘤、乳腺癌、卵巢癌中早已有报道, FAK/PI3K/Akt/mTOR 信号通路在胃癌发生、发展、治疗以及预后中作用未见报道。本课题回顾性分析了 FAK/PI3K/Akt/mTOR 信号通路相关蛋白在胃癌组织、癌旁组织、正常胃组织中的表达与胃癌病理特征、生存的关系。研究表明, FAK、p-Akt、p-mTOR 在胃癌组织中的表达高于癌旁组织、正常胃组织($P < 0.01$), 其表达水平与浸润深度、临床分期、淋巴结转移呈正相关($P < 0.01$), 与组织分化类型呈负相关($P < 0.01$), 与患者的性别、年龄、胃癌的部位无相关($P > 0.05$); PI3K 在胃癌组织中的表达高于癌旁组织、正常胃组织($P > 0.05$), 其表达水平与患者的性别、年龄、胃癌的部位、浸润深度、临床分期、淋巴结转移无相关($P > 0.05$); 生存分析显示, p-Akt、p-mTOR 阳性表达与阴性表达患者的生存时间比较差异有统计意义($P < 0.01$); FAK、PI3K 阳性表达与阴性表达患者的生存时间比较差异无统计意义($P > 0.05$)。据上述结果分析, p-Akt、p-mTOR 阳性表达的胃癌可能更具有侵袭及转移的潜能, 有望成为胃癌判断预后的指标之一, 指导临床诊疗。

基金项目

黑龙江省齐齐哈尔市社会发展攻关, 项目编号: SFGG-201571。

参考文献

- [1] Suh, Y.S., Yu, J., Kim, B.C., *et al.* (2015) Over Expression of Plasminogen Activator Inhibitor-1 in Advanced Gastric Cancer with Aggressive Lymph Node Metastasis. *Cancer Research and Treatment*, **47**, 718-726. <https://doi.org/10.4143/crt.2014.064>
- [2] Zhang, Q., Hu, H., Shi, X., Tang, W., *et al.* (2014) Knock down of S100P by Lentiviral Mediated RNAi Promotes Apoptosis and Suppresses the Colony Formation Ability of Gastric Cancer Cells. *Oncology Reports*, **32**, 2344-2350. <https://doi.org/10.3892/or.2014.3104>
- [3] Jemal, A., Bray, F., Center, M.M., Ferlay, J., *et al.* (2011) Global Cancer Statistics. *CA A Cancer Journal for Clinicians*, **61**, 69-90. <https://doi.org/10.3322/caac.20107>
- [4] 董雪梦, 沈兴蓉, 程静, 等. 胃癌、食管单独及合计发病与饮食行为关系研究[J]. 泰山医学院学报, 2018, 39(4): 361-364.
- [5] Bockstett, K.A. and DiPaolo, R.J. (2017) Regulation of Gastric Carcinogenesis by Inflammatory Cytokines. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*, **1**, 47-53. <https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2017.03.005>
- [6] Cho, S.T., Park, J.W., Liu, Y., *et al.* (2017) Sporadic Early-Onset Diffuse Gastric Cancer Have High Frequency of Somatic *CDH1* Alterations, But Low Frequency of Somatic *RHOA* Mutations Compared with Late-Onset Cancer. *Gasteroenterology*, **153**, 536-549. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2017.05.012>
- [7] 梅兴明, 文显平, 张嫵, 等. FAK 在食管癌组织中的表达及临床意义[J]. 中国组织化学与细胞杂志, 2016(12): 37.
- [8] Kwiatkowska, A., Kijewska, M., Lipko, M., *et al.* (2011) Down Regulation of Akt and FAK Phosphorylation Reduces Invasion of Glioblastoma Cells by Impairment of MT1-MMP Shuttling to Lamellipodia and Downregulates MMPs Expression. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1813**, 655-667. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2011.01.020>

知网检索的两种方式：

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择：[ISSN]，输入期刊 ISSN：2164-9049，即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入，输入文章标题，即可查询

投稿请点击：<http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱：wjcr@hanspub.org