

# TRPC1 在食管胃结合部腺癌中的表达及临床病理意义

黄少敏<sup>1</sup>, 祝建玲<sup>1</sup>, 赖旭佳<sup>2</sup>, 陈树钦<sup>1</sup>, 曾芸珠<sup>1</sup>

(1. 汕头大学医学院附属肿瘤医院病理科, 广东 汕头 515031;

2. 普宁华侨医院病理科, 广东 普宁 515300)

**摘要:**目的 探讨 TRPC1 在食管胃结合部腺癌(AEG)中的表达情况及其与患者临床病理特征、肿瘤免疫微环境的关系。方法 选取 2017 年 8 月-2022 年 7 月汕头大学医学院附属肿瘤医院病理科接收的 AEG 标本 83 例, 以及 27 例正常胃黏膜组织。采用免疫组化检测 AEG 患者肿瘤组织和正常胃黏膜组织 TRPC1 的表达; 分析 TRPC1 在肿瘤组织和正常胃黏膜组织表达的差异及其与临床病理特征及肿瘤免疫微环境的关系。结果 AEG 患者正常胃黏膜组织有不同程度 TRPC1 表达, 肿瘤组织 TRPC1 存在异常表达; 83 例患者 TRPC1 表达的 H 评分均值为 84, 其中低表达 TRPC1 有 50 例 (60.24%), 高表达 TRPC1 有 33 例 (39.76%)。TRPC1 表达与患者性别、年龄、病理 T 分期、淋巴结转移、神经侵犯、脉管侵犯、组织学分化程度、免疫指标均无相关性 ( $P>0.05$ ); Spearman 等级相关检验分析显示, TRPC1 表达与 CD8、CD163、LAG-3 均无相关性 ( $P>0.05$ ), 但 CD8 与 LAG-3 呈负相关 ( $r=-0.226, P=0.040$ )。结论 AEG 中 TRPC1 的异常表达与患者临床病理特征、肿瘤浸润淋巴细胞均无相关性。

**关键词:** 食管胃结合部腺癌; TRPC1; 肿瘤免疫微环境

中图分类号: R735.1

文献标识码: A

DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2024.18.011

文章编号: 1006-1959(2024)18-0065-05

## Expression and Clinicopathological Significance of TRPC1 in Adenocarcinoma of Esophagogastric Junction

HUANG Shao-min<sup>1</sup>, ZHU Jian-ling<sup>1</sup>, LAI Xu-jia<sup>2</sup>, CHEN Shu-qin<sup>1</sup>, ZENG Yun-zhu<sup>1</sup>

(1. Department of Pathology, Cancer Hospital of Shantou University Medical College, Shantou 515031, Guangdong, China;

2. Department of Pathology, Puning Overseas Chinese Hospital, Puning 515300, Guangdong, China)

**Abstract:** Objective To investigate the expression of TRPC1 in adenocarcinoma of esophagogastric junction (AEG) and its relationship with clinicopathological features and tumor immune microenvironment. Methods A total of 83 AEG specimens and 27 normal gastric mucosa tissues were selected from the Department of Pathology, Cancer Hospital of Shantou University Medical College from August 2017 to July 2022. The expression of TRPC1 in tumor tissues and normal gastric mucosa tissues of AEG patients was detected by immunohistochemistry. The difference of TRPC1 expression between tumor tissues and normal gastric mucosa tissues and its relationship with clinicopathological features and tumor immune microenvironment were analyzed. Results TRPC1 was expressed in different degrees in normal gastric mucosa tissues of AEG patients, and abnormal expression of TRPC1 was found in tumor tissues. The mean H score of TRPC1 expression in 83 patients was 84, including 50 cases (60.24%) with low expression of TRPC1 and 33 cases (39.76%) with high expression of TRPC1. The expression of TRPC1 was not correlated with gender, age, pathological T stage, lymph node metastasis, nerve invasion, vascular invasion, histological differentiation and immune index ( $P>0.05$ ). Spearman rank correlation test showed that TRPC1 expression was not correlated with CD8, CD163 and LAG-3 ( $P>0.05$ ), but CD8 was negatively correlated with LAG-3 ( $r=-0.226, P=0.040$ ). Conclusion The abnormal expression of TRPC1 in adenocarcinoma of esophagogastric junction is not related to clinicopathological features and tumor infiltrating lymphocytes.

**Key words:** Adenocarcinoma of esophagogastric junction; TRPC1; Tumor immune microenvironment

作为 TRP 蛋白超家族成员之一的瞬时受体电位阳离子通道亚家族 C 成员 1 (TRPC1), 在大多数组织中普遍表达<sup>[1]</sup>。TRPC1 的异常表达与各种癌症的发展相关, 包括乳腺癌<sup>[2, 3]</sup>、胰腺癌<sup>[4]</sup>、肝癌<sup>[5]</sup>、结肠癌<sup>[6]</sup>、胶质母细胞瘤<sup>[7]</sup>、肺癌<sup>[8]</sup>和甲状腺癌<sup>[9]</sup>等。本团队前期研究显示<sup>[10, 11]</sup>, TRPC1 在乳腺癌、食管鳞状细胞癌中异常表达。然而, 关于 TRPC1 在食管胃结合部

癌 (adenocarcinoma of esophagogastric junction, AEG) 的表达情况研究较少。基于此, 本研究旨在探讨 TRPC1 在 AEG 中的表达情况及其与患者临床病理特征、肿瘤免疫微环境的关系, 现报道如下。

### 1 资料与方法

**1.1 资料来源** 选取 2017 年 8 月-2022 年 7 月汕头大学医学院附属肿瘤医院病理科接收的 AEG 标本

基金项目: 1. 市医学科技人才培养及临床技术提升计划项目 (编号: 汕府科[2019]106 号); 2. 汕头大学医学院附属肿瘤医院院内青年科研基金项目 (编号: 2020A009)

作者简介: 黄少敏 (1984.4-), 女, 广东饶平县人, 专科, 主管技师, 主要从事免疫组化检测技术的研究

通讯作者: 曾芸珠 (1983.2-), 女, 广东汕头人, 硕士, 主管技师, 主要从事肿瘤分子病理的研究

83例,以及27例正常胃黏膜组织。正常胃黏膜组织取材方法<sup>[4]</sup>:距离癌症病变边缘5 cm以上的切缘。

**1.2 方法** 试剂:浓缩型 Anti-TRPC1 山羊多克隆抗体(ab110837)购于英国 Abcam 公司;即用型快捷免疫组化 MaxVision TM 试剂盒(兔抗羊 IgG)(Kit-5107)、DAB 显色试剂盒(DAB-0031)购于福州迈新生物技术开发有限公司。所有标本均采用10%中性缓冲福尔马林固定,石蜡包埋,3  $\mu$ m 连续切片,65  $^{\circ}$ C 烤片1 h,二甲苯 I、II、III 各10 min,无水乙醇、95%酒精、75%酒精、蒸馏水各2 min,PBS 洗3 $\times$ 3 min,抗原修复(EDTA 热修复),室温冷却,PBS 洗3 $\times$ 3 min,一抗4  $^{\circ}$ C 孵育过夜,PBS 洗3 $\times$ 3 min,二抗室温孵育15 min,PBS 洗3 $\times$ 3 min,DAB 显色5 min,流水终止显色,苏木素复染。用 PBS 代替一抗作为阴性对照,用已知的阳性组织作为阳性对照。

**1.3 结果判读** TRPC1 蛋白主要在细胞浆/膜中表达。采用半定量 H 评分法<sup>[13,14]</sup>进行评分,该方法同时考虑了染色强度和该强度下细胞的百分比。在高倍镜( $\times 400$ )下随机选择10个视野,将特异性染色强度评分为0分无色、1分为淡黄色、2分为棕黄色、3分为棕褐色;计数染色细胞所占百分比(每个

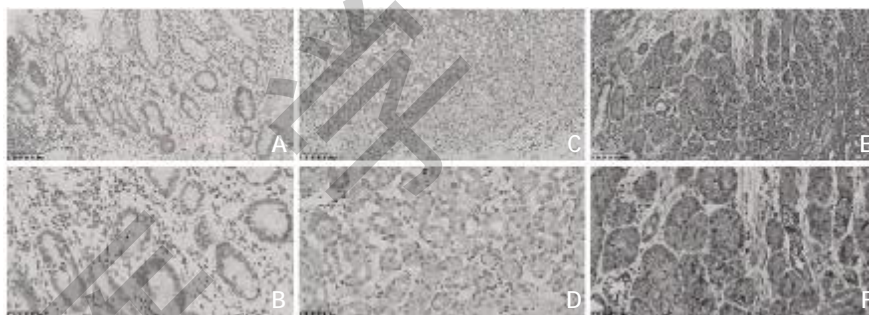
强度染色的细胞数/每个区域的细胞总数)。应用公式:H 评分=(强度类别1 $\times$ 1染色细胞的百分比)+(强度类别2 $\times$ 2染色细胞的百分比)+(强度类别3 $\times$ 3染色细胞的百分比)。H 评分在0~300,当100%的肿瘤细胞染色强度为3分时,即获得300的H评分。

**1.4 统计学方法** 应用 SPSS 24.0 统计学软件进行数据处理,计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用  $t$  检验;计数资料以[n(%)]表示,采用  $\chi^2$  检验;Spearman 等级相关检验分析 TRPC1 表达与 CD8、CD163、LAG-3 的关系。 $P$  值均采用双侧检验, $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

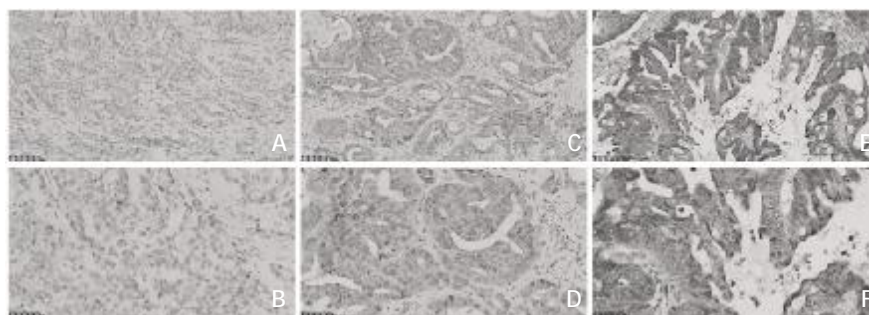
**2.1 TRPC1 在 AEG 患者正常胃黏膜组织中的表达** 27例 AEG 患者正常胃黏膜组织均存在不同程度的 TRPC1 表达,见图1。

**2.2 TRPC1 在 AEG 患者肿瘤组织中的表达** TRPC1 蛋白主要表达于细胞浆/膜,采用半定量 H 评分法评估 AEG 患者肿瘤组织的 TRPC1 表达,83例患者 TRPC1 表达的 H 评分均值为84,将 TRPC1 H 评分 $< 84$  定义为低表达,将 TRPC1 H 评分 $\geq 84$  定义为高表达,其中低表达 TRPC1 有50例(60.24%),高表达 TRPC1 有33例(39.76%),见图2。



注:A、B:正常胃黏膜 TRPC1 无/弱表达;C、D:正常胃黏膜 TRPC1 中等强度表达;E、F:正常胃黏膜 TRPC1 强表达。A、C、E 放大倍数为 $\times 200$ ;B、D、F 放大倍数为 $\times 400$ 。

图1 AEG 患者正常胃黏膜组织 TRPC1 表达情况



注:A、B:肿瘤细胞 TRPC1 无/弱表达;C、D:肿瘤细胞 TRPC1 中等强度表达;E、F:肿瘤细胞 TRPC1 强表达。A、C、E 放大倍数为 $\times 200$ ;B、D、F 放大倍数为 $\times 400$ 。

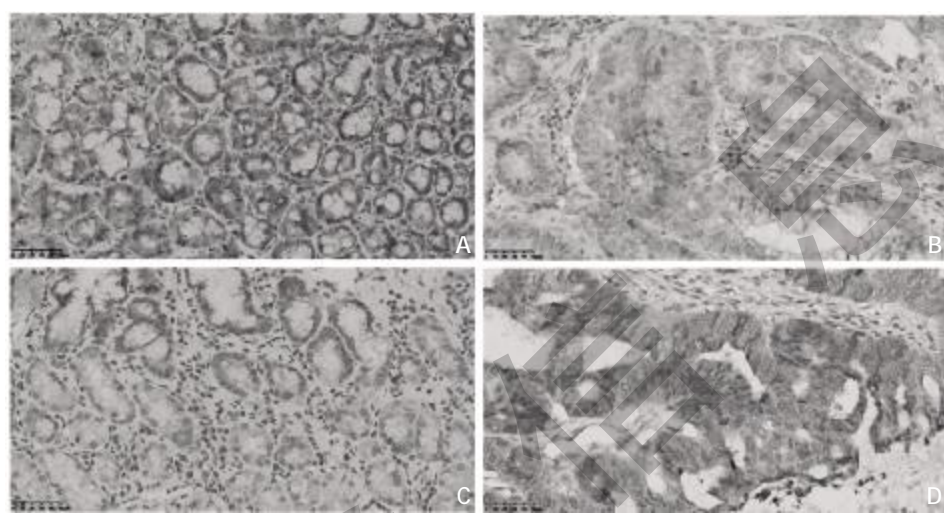
图2 AEG 患者肿瘤组织 TRPC1 表达情况

**2.3 TRPC1 在 AEG 患者正常胃黏膜组织和肿瘤组织中表达的差异** 通过对 27 例 AEG 患者的正常胃黏膜组织和其肿瘤组织的 TRPC1 表达进行比较,其中 12 例患者的肿瘤组织 TRPC1 表达比其正常胃黏膜组织的表达强,而有 15 例患者的肿瘤组织 TRPC1 表达比其正常胃黏膜组织的表达弱,见图 3。

**2.4 TRPC1 表达与 AEG 患者肿瘤免疫微环境的关系** 采用 Spearman 等级相关检验分析 TRPC1 表达

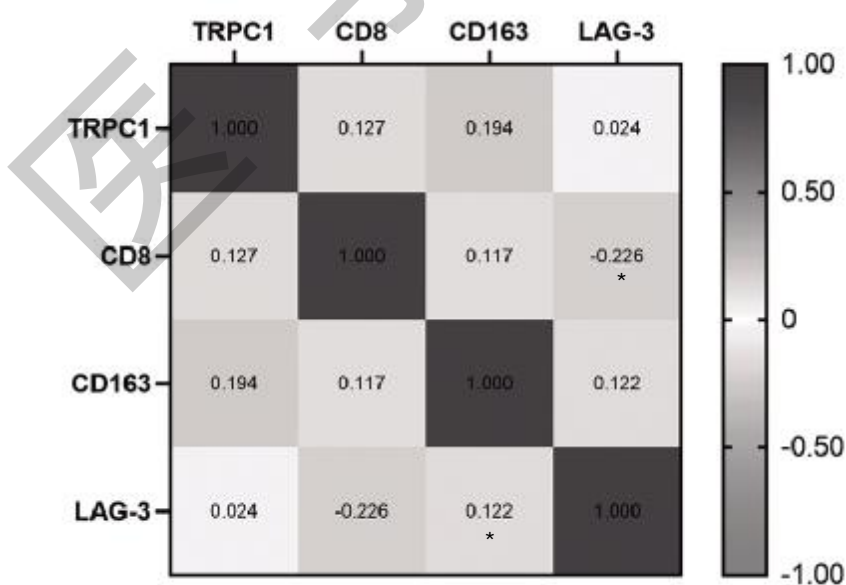
与 CD8、CD163、LAG-3 的相关性,结果显示 TRPC1 表达与 CD8、CD163、LAG-3 均无相关性( $P>0.05$ ),但 CD8 与 LAG-3 呈负相关( $r=-0.226, P=0.040$ ),见图 4。

**2.5 TRPC1 表达与 AEG 患者临床病理特征的关系** TRPC1 表达与患者性别、年龄、病理 T 分期、淋巴结转移、神经侵犯、脉管侵犯、组织学分化程度、免疫指标均无相关性( $P>0.05$ ),见表 1。



注:A、B:TRPC1 在正常胃黏膜表达比肿瘤组织表达强的病例;C、D:TRPC1 在正常胃黏膜表达比肿瘤组织表达弱的病例。

图 3 AEG 患者正常胃黏膜组织和肿瘤组织中 TRPC1 表达的差异( $\times 400$ )



注: \* $P<0.05$ 。

图 4 TRPC1 与肿瘤浸润淋巴细胞之间的相关性

表 1 TRPC1 表达与 AEG 患者临床病理特征的关系[n(%),  $\bar{x} \pm s$ ]

临床病理特征	n	TRPC1		统计值	P
		低表达	高表达		
性别				$\chi^2=3.244$	0.097
男	66	43(62.15)	23(34.85)		
女	17	7(41.18)	10(58.82)		
年龄(岁)				$\chi^2=0.018$	1.000
<67	42	25(59.52)	17(40.48)		
$\geq 67$	41	25(60.98)	16(39.02)		
病理 T 分期				$\chi^2=0.011$	1.000
1~2	13	8(61.54)	5(38.46)		
3~4	70	42(60.00)	28(40.00)		
淋巴结转移				$\chi^2=0.162$	0.819
无	33	19(57.58)	14(42.42)		
有	50	31(62.00)	19(38.00)		
神经侵犯				$\chi^2=0.049$	1.000
无	54	33(61.11)	21(38.89)		
有	29	17(58.62)	12(41.38)		
脉管侵犯				$\chi^2=1.853$	0.302
无	73	42(57.53)	31(42.47)		
有	10	8(80.00)	2(20.00)		
组织学分化程度				$\chi^2=0.097$	0.953
低	24	14(58.33)	10(41.67)		
中	47	29(61.70)	18(38.30)		
高	12	7(58.33)	5(41.67)		
免疫指标					
CD8( cell/HP)	83	112.61 $\pm$ 81.10	134.26 $\pm$ 109.50	$t=-0.973$	0.335
CD163( cell/HP)	83	41.31 $\pm$ 23.13	44.85 $\pm$ 24.28	$t=-0.662$	0.510
LAG-3( cell/HP)	83	5.52 $\pm$ 4.61	6.31 $\pm$ 5.52	$t=-0.678$	0.500

### 3 讨论

虽然我国胃癌的发病率逐年缓慢下降,但食管胃结合部(esophagogastric junction, EGJ)肿瘤的发病率却有逐年上升趋势<sup>[15]</sup>。EGJ 肿瘤主要有腺癌和鳞状细胞癌。AEG 是指肿瘤中心位于 EGJ 上、下 5 cm 内且累及 EGJ 的腺癌,其位置特殊,预后差且发病率在世界范围内呈逐年上升趋势<sup>[16]</sup>。不少文献报道 TRPC1 在多种肿瘤细胞或组织中普遍表达,并且提出 TRPC1 的异常表达与肿瘤的增殖和侵袭转移等密切相关。本团队前期也发现<sup>[11]</sup>,食管鳞状细胞癌中 TRPC1 表达下调,低表达患者的预后更差。且 TRPC1 的表达在雌激素受体阳性(ER+)和阴性(ER-)乳腺癌之间存在差异,在管腔 A 和管腔 B 亚型患者中,TRPC1 表达高的患者预后较好,而在基底样和三阴性乳腺癌(TNBC)亚型中其对预后的影响却相反<sup>[17]</sup>。

本研究检测了 27 例 AEG 患者正常胃黏膜组织及肿瘤组织的 TRPC1 表达,结果发现 27 例患者的正常胃黏膜组织均有不同程度的 TRPC1 表达,同时患者的肿瘤组织中 TRPC1 存在异常表达。但在研究的 83 例 AEG 患者中,TRPC1 的表达与患者性别、年龄、病理 T 分期、淋巴结转移、神经侵犯、脉管侵犯、组织学分化程度、免疫指标均无相关性( $P>0.05$ )。免疫细胞作为肿瘤免疫微环境(tumor immune microenvironment, TIME)的主要组成部分,在肿瘤的发生发展、治疗以及预后中起重要的作用。研究表明<sup>[17]</sup>,TIME 中不同免疫细胞的比例可用于癌症监测、预后及治疗反应的评估。肿瘤浸润 CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞(CD8<sup>+</sup>TILs)是参与抗肿瘤细胞免疫应答机制的主要效应细胞,在肿瘤免疫稳态中扮演着重要角色<sup>[18]</sup>。CD163 是 M2 型巨噬细胞特异性的分子标志物,M2

型巨噬细胞又被称为肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophages, TAM), 其通过分泌多种细胞因子、趋化因子和蛋白酶, 促进肿瘤生长、转移及血管和淋巴管生成。淋巴细胞激活基因 3(lymphocyte activation gene-3, LAG-3, CD223)是另一个较新的免疫检查点, 对淋巴细胞具有抑制作用<sup>[19]</sup>。本研究采用 Spearman 等级相关检验分析 TRPC1 表达与 CD8、CD163、LAG-3 的相关性, 结果发现 TRPC1 表达与 CD8、CD163、LAG-3 均无相关性 ( $P>0.05$ ), 而 CD8 与 LAG-3 呈负相关关系 ( $r=-0.226$ ,  $P=0.040$ ), 提示 LAG-3 通过与配体结合, 抑制 T 淋巴细胞的激活, 进而抑制 T 淋巴细胞的抗肿瘤作用<sup>[20,21]</sup>。

综上所述, AEG 中 TRPC1 的异常表达与患者临床病理特征、肿瘤浸润淋巴细胞均无相关性。但因本研究入组标本数量有限, 后期团队将扩大入组人群数量, 并从细胞学层面进一步研究。

#### 参考文献:

- [1]Elzamzamy OM, Penner R, Hazlehurst LA. The Role of TRPC1 in Modulating Cancer Progression[J]. Cells, 2020, 9(2):388.
- [2]Tai YK, Chan KKW, Fong CHH, et al. Modulated TRPC1 Expression Predicts Sensitivity of Breast Cancer to Doxorubicin and Magnetic Field Therapy: Segue Towards a Precision Medicine Approach[J]. Front Oncol, 2022, 11:783803.
- [3]Azimi I, Milevskiy MJG, Kaemmerer E, et al. TRPC1 is a differential regulator of hypoxia-mediated events and Akt signalling in PTEN-deficient breast cancer cells [J]. J Cell Sci, 2017, 130(14):2292-2305.
- [4]张荣, 陈婧, 黄江涛, 等. TRPC3 在胰腺癌细胞系中的表达及功能[J]. 现代肿瘤医学, 2020, 28(15):2560-2565.
- [5]Selli C, Pearce DA, Sims AH, et al. Differential expression of store-operated calcium- and proliferation-related genes in hepatocellular carcinoma cells following TRPC1 ion channel silencing[J]. Mol Cell Biochem, 2016, 420(1-2):129-140.
- [6]Guéguinou M, Harnois T, Crottes D, et al. SK3/TRPC1/Orai1 complex regulates SOCE-dependent colon cancer cell migration: a novel opportunity to modulate anti-EGFR mAb action by the alkyl-lipid Ohmline [J]. Oncotarget, 2016, 7 (24):36168-36184.
- [7]Bomben VC, Sontheimer H. Disruption of transient receptor potential canonical channel 1 causes incomplete cytokinesis and slows the growth of human malignant gliomas [J]. Glia, 2010, 58 (10):1145-1156.
- [8]Jiang HN, Zeng B, Zhang Y, et al. Involvement of TRPC channels in lung cancer cell differentiation and the correlation analysis in human non-small cell lung cancer[J]. PLoS One, 2013, 8(6):e67637.
- [9]Asghar MY, Magnusson M, Kempainen K, et al. Transient Re-

- ceptor Potential Canonical 1 (TRPC1) Channels as Regulators of Sphingolipid and VEGF Receptor Expression: IMPLICATIONS FOR THYROID CANCER CELL MIGRATION AND PROLIFERATION[J]. J Biol Chem, 2015, 290(26):16116-16131.
- [10]Zhang LY, Zhang YQ, Zeng YZ, et al. TRPC1 inhibits the proliferation and migration of estrogen receptor-positive Breast cancer and gives a better prognosis by inhibiting the PI3K/AKT pathway[J]. Breast Cancer Res Treat, 2020, 182(1):21-33.
  - [11]Zeng YZ, Zhang YQ, Chen JY, et al. TRPC1 Inhibits Cell Proliferation/Invasion and Is Predictive of a Better Prognosis of Esophageal Squamous Cell Carcinoma[J]. Front Oncol, 2021, 11:627713.
  - [12]Yang Z, Wang YG, Su K. VEGF-C and VEGF-D expression and its correlation with lymph node metastasis in esophageal squamous cell cancer tissue [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2015, 16 (1):271-274.
  - [13]Detre S, Saclani Jotti G, Dowsett M. A "quickscore" method for immunohistochemical semiquantitation: validation for oestrogen receptor in breast carcinomas [J]. J Clin Pathol, 1995, 48 (9): 876-878.
  - [14]McClelland RA, Finlay P, Walker KJ, et al. Automated quantitation of immunocytochemically localized estrogen receptors in human breast cancer[J]. Cancer Res, 1990, 50(12):3545-3550.
  - [15]Treppiedi E, Giacomuzzi S, de Pascale S. Adenocarcinoma of the esophagogastric junction: going up or down?[J]. Gastric Cancer, 2020, 23(5):948-949.
  - [16]Pang T, Nie M, Yin K. The correlation between the margin of resection and prognosis in esophagogastric junction adenocarcinoma[J]. World J Surg Oncol, 2023, 21(1):316.
  - [17]Pottier C, Wheatherspoon A, Roncarati P, et al. The importance of the tumor microenvironment in the therapeutic management of cancer. Expert Rev Anticancer Ther. 2015; 15 (8): 943-954.
  - [18]杨敏, 蒋敬庭, 卢斌峰. 肿瘤浸润 CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞的功能缺失分子机制[J]. 临床检验杂志, 2016, 34(1):42-45.
  - [19]Li SM, Gong YX, Zhang ZZ, et al. Effect of Radical Surgery for Advanced Adenocarcinoma of Esophagogastric Junction on Perioperative Cellular Cell Immunity[J]. J Invest Surg, 2021, 34(2): 134-141.
  - [20]Wang J, Sanmamed MF, Datar I, et al. Fibrinogen-like Protein 1 Is a Major Immune Inhibitory Ligand of LAG-3 [J]. Cell, 2019, 176(1-2):334-347.e12.
  - [21]Chen Z, Zhao M, Liang J, et al. Dissecting the single-cell transcriptome network underlying esophagus non-malignant tissues and esophageal squamous cell carcinoma[J]. E Bio Medicine, 2021, 69:103459.

收稿日期: 2023-09-19; 修回日期: 2023-10-04

编辑/杜帆