

·基础研究·

Caveolin-1 在胃癌组织中的表达及临床生物学意义

高雪, 孙媛, 黄磊, 陈晓燕, 张开立, 孔庆友, 刘佳, 李宏

Down-regulation of Caveolin-1 in Gastric Carcinoma and Its Clinical Biological Significance

GAO Xue, SUN Yuan, HUANG Lei, CHEN Xiao-Yan, ZHANG Kai-Li, KONG Qing-You, LIU Jia, LI Hong

大连医科大学肿瘤研究所
基础医学院辽宁省高校癌症
基因组重点实验室,
辽宁 大连 116027

*Cancer Institute/Liaoning Provincial
Key Lab of Cancer Genomics,
College of Basic Medical Sciences,
Dalian Medical University,
Dalian, Liaoning, 116027,
P.R.China*

通讯作者:李宏

Correspondence to:LI Hong

Tel:86-411-84720225

Fax:86-411-84721202

E-mail:lihongmen@yahoo.com.cn

基金项目:国家自然科学基金
(No.30370384); 辽宁省高校中青
年学科带头人基金

Grants: National Natural Science
Foundation of China
(No.30370348); Grant for Leading
Scholars from Liaoning Provincial
Department of Education

收稿日期:2004-06-07

修回日期:2004-12-14

[ABSTRACT] BACKGROUND & OBJECTIVE: Caveolin-1, a candidate tumor suppressor gene, aberrantly expressed in many kinds of carcinomas. This research was designed to check the expression of Caveolin-1 in non-cancerous gastric mucosa, intestinal metaplasia, atypical hyperplasia, gastric cancer tissues, and gastric cancer cell lines MGC803 and BGC823, and to analyze its clinical biological significance in stepwise gastric carcinogenesis. **METHODS:** Frozen gastric tissue array-based immunohistochemistry (IHC) was used to examine the expression of Caveolin-1 in 56 specimens of gastric cancer, 29 specimens of non-cancerous mucosa, 11 specimens of intestinal metaplasia, and 7 specimens of atypical hyperplasia. Correlations of Caveolin-1 expression to clinical stage, lymph node metastasis, Lauren's type, and histological type were analyzed. Reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) and Western blot were used to detect mRNA and protein levels of Caveolin-1 in 56 specimens of gastric cancer and relevant adjuvant non-cancerous tissue, and cell lines MGC803 and BGC823. **RESULTS:** Positive rate of Caveolin-1 was significantly lower in gastric cancer than in non-cancerous mucosa, intestinal metaplasia, and atypical hyperplasia (17.9% vs. 84.8%, 81.8%, and 57.1%, $P<0.05$). Positive rate of Caveolin-1 was lower in advanced gastric cancers than in gastric cancer of early stage (16.0% vs. 33.3%), but the difference was not significant ($P>0.05$). Positive rate of Caveolin-1 was significantly lower in diffuse gastric cancer than in gastric cancer of intestinal type (7.0% vs. 26.9%, $P<0.05$), significantly lower in the cases with lymph node metastases than in the cases without lymph node metastases (9.7% vs. 31.8%, $P<0.05$). Protein and mRNA levels of Caveolin-1 in gastric cancer and relevant adjuvant non-cancerous tissues have no significant difference, but its expression was low in MGC803 and BGC823 cells. **CONCLUSION:** Progressive down-regulation of Caveolin-1 in gastric epithelial cells is correlated to gastric carcinogenesis. **KEYWORDS:** Gastric neoplasms; Caveolin-1; Gene expression; Tumor progression

【摘要】 背景与目的:Caveolin-1 作为候选抑癌基因,在多种肿瘤均有异常表达。本研究探讨 Caveolin-1 在非癌胃粘膜、肠上皮化生、异型增生和胃癌组织以及胃癌细胞系 MGC803 和 BGC823 的表达特点。方法:采用冰冻组织微阵列的免疫组织化学(immunohistochemistry, IHC)染色,在完全相同的实验条件下检测 56 例胃癌及 29 例非癌粘膜、11 例肠上皮化生、7 例异型增生组织中 Caveolin-1 的表达状况,及其与胃癌的临床病理分期、淋巴结转移、Lauren 分型及组织学分型的关系。Western blot 和 RT-PCR 法检测胃癌及相应癌旁组织与 MGC-803 和 BGC-823

细胞中 Caveolin-1 蛋白和 RNA 的表达情况。结果:免疫组化结果显示,Caveolin-1 在非癌胃粘膜、肠上皮化生、异型增生和胃癌中的阳性率分别为 86.2% (25/29)、81.8% (9/11)、57.1% (4/7)、17.9% (10/56);胃癌与其它各组间的阳性率有显著性差异 ($P < 0.05$)。进展期胃癌的 Caveolin-1 阳性率 (16.0%) 低于早期胃癌 (33.3%), 但无统计学意义 ($P > 0.05$)。弥漫型胃癌的阳性率 (7.0%) 明显低于肠型胃癌 (26.9%, $P < 0.05$)。有淋巴结转移的胃癌 Caveolin-1 阳性率 (9.7%) 低于无淋巴结转移 (31.8%, $P < 0.05$)。Western blot 及 RT-PCR 结果显示,胃癌组织和相应非癌胃粘膜组织中 Caveolin-1 的表达无显著性差异,但 MGC-803 和 BGC-823 细胞中 Caveolin-1 表达水平较低。结论:Caveolin-1 在胃上皮细胞中的表达水平随着胃癌的发生和发展而呈进行性下调乃至缺失。

关键词:胃肿瘤; Caveolin-1; 基因表达; 肿瘤进展

中图分类号:R735.2

文献标识码:A

文章编号:1000-467X(2005)03-0311-06

胃癌的发生具有多阶段、多因素的特征。在此过程中,涉及癌基因的突变和活化、抑癌基因的丢失或表达失调以及凋亡调节机制紊乱等遗传学改变。Caveolin-1 是分子量为 22 ku、位于 Caveolae 上的膜标志蛋白。Caveolae 是一个直径为 50~100 nm、凹陷呈烧瓶状的膜结构,主要定位或存在于细胞质膜附近,是各种信号分子和信号通路的“整合器”^[1]。Caveolin-1 在功能上调控这些信号转导分子的活化状态,参与跨膜信号转导调节,从而使之更加迅速、准确、有效。因此 Caveolin-1 的研究是揭示胃癌信号转导途径的重要环节之一。

以往的研究发现,Caveolin-1 能抑制 NIH3T3 细胞的生长^[2]且与 erbB 2^[3] 的表达呈负相关,说明 Caveolin-1 可能是一个候选的抑癌基因。另外,信号转导调节基因 Caveolin-1 还被认为是某些肿瘤及其新血管形成的抑制基因^[1]。本文采用冰冻组织微阵列和组织特定区域/胃癌细胞系的蛋白和 RNA 提取与分析技术,检测胃癌及其相应的非癌胃粘膜和相关病变中 Caveolin-1 的表达情况,并对它在胃癌发生和发展中可能发挥的作用加以分析。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 标本来源 取大连医科大学附属第一医院 2000 年 12 月~2003 年 6 月期间胃癌术后切除的各种胃组织标本 103 份。在获得患者或其亲属认可的情况下,手术切除后 20 min 内将标本置于液氮中保存。所有患者术前未接受化疗或放疗。103 例胃

组织包括 56 例胃癌组织及 29 例非癌胃粘膜、11 例肠上皮化生、7 例异型增生组织。56 例胃癌中 Lauren 分型肠型 26 例,弥漫型 29 例,混合型 1 例;组织学类型按 WHO(1990 年)标准,乳头状腺癌 5 例,管状腺癌高分化型 5 例、中分化型 10 例,低分化癌 28 例,印戒细胞癌 8 例;临床病理分期早期 6 例,进展期 50 例;无淋巴结转移 22 例,有淋巴结转移 34 例。

1.1.2 细胞系来源 人胃低分化粘液癌细胞系 MGC-803 由山东师范大学生物系建系^[4]。人胃低分化腺癌细胞系 BGC-823 由北京医科大学附属人民医院建系^[5]。两个细胞系均从北京市肿瘤研究所引进。

1.2 方法

1.2.1 冰冻组织微阵列制作 用自制的微阵列制作仪(中国发明专利:02109826.3)在组织阵列载体上,以最小的孔间距 0.4 mm 和 2 秒/孔的速度,钻取直径为 0.7 mm、深度为 4 mm 的小孔,阵列密度可达每平方米 49 点。在 -25℃ 条件下对各冰冻标本做 7 μm 厚的切片,HE 染色后,镜下选择靶区域并用自制的定位装置标定。对照 HE 染色切片上所选部位,用特制取样器(内径 0.6 mm)获取组织块上相应位点并迅速填入孔中,编号登记。上述操作重复进行,直至阵列各孔全部填满。整个操作过程均需保持低温(≤ -40 ℃)。对冰冻组织微阵列做 7 μm 厚的连续切片,一片用于 HE 染色,以核实显微获取的准确性;其余切片按顺序编号,放在 -20℃ 冷丙酮中固定 15 min,用于免疫组织化学染色^[6]。

1.2.2 免疫组织化学染色 免疫组织化学染色采用 SP 免疫组化试剂盒(vectorlabs, CA, USA)。简要的实验过程如下:固定后的切片用含 3%过氧化氢的甲醇溶液处理 10 min,在 37℃ 下用普通羊血清预孵育 30 min,与 1:150 倍稀释的兔抗人 Caveolin-1 抗体(Transduction Lab, USA)孵育 60 min,再与 HRP 标记的羊抗兔 IgG(Zymed, USA)孵育 30 min。DAB(3,3'-二氨基联苯胺-4-盐酸盐)显色后,苏木精复染,镜下观察。结果判定标准:无着色的为阴性(-),较背景着色略深的为弱阳性(+),较深的为阳性(++),明显加深的则为强阳性(+++)。

1.2.3 组织特定区域的蛋白质提取及 Western 印迹分析 低温冰冻切片于 -25℃,将冰冻胃癌组织以 7 μm 连续切片并做 HE 染色,根据显微镜下切片组织病理学特点,选择并准确标记特定肿瘤区

及非癌粘膜区(一般面积约为 2 mm×2 mm 左右),做组织选择性蛋白提取,以避免蛋白样本的细胞间交叉污染,常规法提取蛋白。

Western 印迹分析参照文献[7]方法进行。用紫外分光光度仪(Cary 50, Varian Inc., Australia)测定各蛋白样品的浓度。煮沸变性后,以每孔 30 μg 的蛋白含量点样,经 10% SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离。通过电转移将凝胶上蛋白样品移至 PVDF 膜上,分别与 1:5 000 稀释度的兔抗人 Caveolin-1 多克隆抗体(Transduction Lab, USA)和 1:3 000 稀释度的辣根酶标记羊抗兔抗体(Zymed, USA)孵育。应用增强的化学放射发光法(ECL)标记结合信号,通过荧光自显影感光在 Kodak XAY 胶片上。同一蛋白样品按照相同蛋白上样量及上样顺序经 SDS-PAGE 电泳分离后用考马斯亮蓝染色作为内对照。

1.2.4 组织特定区域的 RNA 提取及 RT-PCR 将 Cryostat HM 500 冰冻切片机的操作箱分别用 100%乙醇和含 0.1%的焦碳酸二乙酯水揩洗数次以灭活 RNase;温度降至-25℃后,做 3~4 张厚度为 7 μm 的连续切片。常规 HE 染色,显微镜下观察切片组织病理学特点。选择并准确标记特定肿瘤细胞区、非癌病变细胞区(一般面积约为 2 mm×2 mm 左右),用焦碳酸二乙酯水处理过的无菌手术刀片,在冰冻组织块的相应部位做表浅划痕,然后以 10 μm 厚度连续切片共约 30 张,被选组织会自动与主体分离,用无菌加样器吸头定点采集靶区域组织置于 1.5 ml Eppendorf 管中用于 RNA 提取。常规 Trizol 法(Life Technology, USA)提取各标本的总 RNA,CRAY-50(Varian Inc., Australia)紫外分光光度仪对其浓度加以测定,1%琼脂糖凝胶电泳鉴定 RNA 完好性。

Caveolin-1 引物序列:上游引物 F,5'-GAC TTT GAA GAT GTG ATT GC-3',下游引物 R,5'-AGA TGG AAT AGA CAC GGC TG-3',扩增产物为 254 bp^[8]。内对照 β-actin 引物序列:上游引物 F,5'-GCA TGG AGT CCT GTG GCA T-3',下游引物 R,5'-CTA GAA GCA TTT GCG GTG G-3',扩增产物为 324 bp。反转录体系 20 μl,包含样品 RNA 2 μl,依照 TaKaRa RNA LA PCR™ Kit 试剂盒提供说明书进行操作,反应条件为:55℃ 30 min,99℃ 5 min,5℃ 5 min;PCR 反应体系 15 μl,包含反转录液 2.4 μl。Caveolin-1 的 PCR 反应条件为 94℃ 预变性 5 min;94℃ 30 s,58℃ 60 s,72℃ 45 s,循环

30 次;72℃ 延伸 5 min,4℃ 恒定。取出扩增产物直接加入 3 μl 6 倍溴酚蓝载样缓冲液混匀,行 1%琼脂糖凝胶电泳,在紫外透射仪下数码成像。

1.2.5 细胞培养 MGC-803 及 BGC-823 细胞用含 10%胎牛血清、0.2% NaHCO₃ 和 0.3% HEPES 的 DMEM 培养液(Gibco, USA),加青霉素 100 u/ml、链霉素 100 μg/ml,在 37℃、5% CO₂ 和 100%湿度的孵箱中培养至对数生长期。用 0.25%胰蛋白酶和 0.04% EDTA 的无 Ca²⁺、Mg²⁺的 PBS 混合液消化处理细胞,重悬细胞于培养液中,进行细胞计数。调整细胞密度,以 2×10⁵/ml 的密度分装到含有培养液(pH7.2)的细胞培养皿中,混匀,将细胞悬液均匀铺在培养皿中。对培养细胞的蛋白和 RNA 提取与分析按上述实验步骤进行。

1.3 统计学分析

采用 SPSS10.0 软件,计数资料采用 χ^2 检验、四格表的确切概率法和 χ^2 趋势检验。

2 结果

免疫组化结果显示,Caveolin-1 广泛分布于非癌胃粘膜的上皮细胞,在肠上皮化生组织中亦呈阳性,但在异型增生的粘膜组织中明显下降,大多数胃癌细胞,尤其是弥漫型胃癌和印戒细胞癌则呈阴性(图 1)。结果分析显示,非癌胃粘膜、肠上皮化生、异型增生和胃癌组织中 Caveolin-1 的检出率分别为 86.2%(25/29)、81.8%(9/11)、57.1%(4/7)和 17.9%(10/56)。胃癌组织的 Caveolin-1 阳性率明显低于非癌胃粘膜组织和肠上皮化生粘膜($P<0.01$),异型增生组织中 Caveolin-1 的阳性率低于非癌胃粘膜($P<0.01$)和肠上皮化生粘膜($P<0.05$)。Caveolin-1 的表达在非癌粘膜→肠化生→异型增生→胃癌的演变过程中呈下调趋势($\chi^2=40.46$, $P<0.01$)。

进一步的分析发现,弥漫型胃癌的 Caveolin-1 阳性率(7.0%,2/29)低于肠型胃癌(26.9%,7/26);两者间的差异具有统计学意义($P<0.05$,校正 $\chi^2=4.02$)(表 1)。34 例有淋巴结转移的胃癌组织中,Caveolin-1 的阳性率为 9.7%(3/34),明显低于无淋巴结转移组的 31.8%(7/22, $P<0.05$,校正 $\chi^2=4.82$,表 1)。与早期胃癌的 Caveolin-1 的检出率(33.3%,2/6)相比,进展期胃癌的阳性率(16%,8/50)有所下降,但两者间的差异无统计学意义($P>0.05$,校正 $\chi^2=0.57$)。Western blot 和 RT-PCR 检测结果表明,体外培养的 MGC-803 和 BGC-823 细胞中

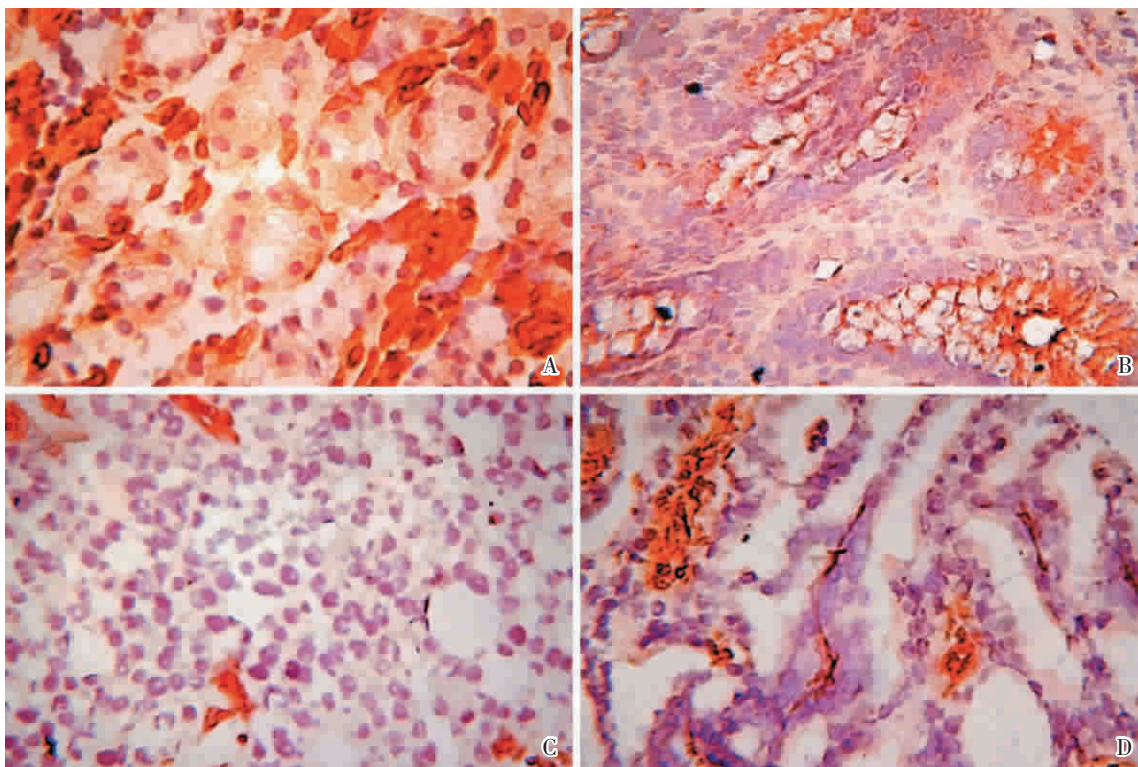


图1 冰冻胃组织微阵列的 Caveolin-1 免疫组织化学观察 (IHC×100)

Figure 1 Expression of Caveolin-1 in different types of gastric tissues examined by frozen gastric tissue array-based immunohistochemistry (IHC×100)

A: chronic gastritis; B: intestinal metaplasia; C: diffuse gastric cancer; D: gastric cancer of intestinal type.

表1 Caveolin-1 表达与胃癌生物学行为的关系

Table 1 Correlation of Caveolin-1 expression to biological behaviors of gastric cancer

Group	Sample number	Expression of Caveolin-1	
		Negative	Positive (%)
Lauren type			
Intestinal type	26	19	7 (26.9)
Diffuse	29	27	2 (7.0) ^a
Mixed	1	0	1 (100.0)
Clinical stage			
Early stage	6	4	2 (33.3)
Advanced stage	50	42	8 (16.0)
Lymph node metastasis			
Negative	22	15	7 (31.8)
Positive	34	31	3 (9.7) ^b
Total	56	46	10 (17.9)

^a $P < 0.05$, vs. gastric cancer of intestinal type.

^b $P < 0.05$, vs. the cases without lymph node metastases.

Caveolin-1 表达水平均较低,但在各类组织间却无明显差异(图2)。

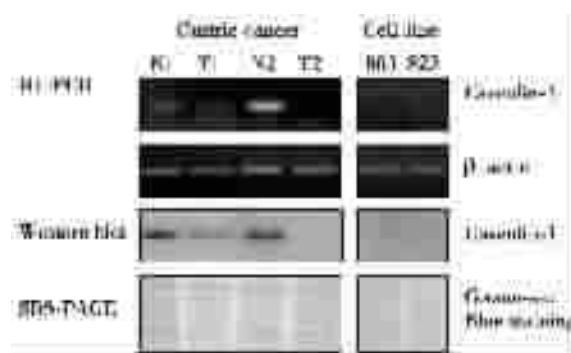


图2 Caveolin-1 在非癌胃粘膜(N1 和 N2)和胃癌组织(T1 和 T2)以及胃癌细胞系中表达情况的 RT-PCR 和 Western 印迹分析

Figure 2 Reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) and Western blot analyses of Caveolin-1 expression in non-cancerous gastric mucosa (N1, N2), gastric cancer tissues (T1, T2), and gastric cancer cell lines MGC-803 and BGC-823

Coomassie blue stained protein samples in the SDS-PAGE gel were used as qualitative and quantitative controls.

3 讨论

作为候选抑癌基因, Caveolin-1 通过磷酸化和/或去磷酸化等途径与多种信号分子相互作用, 控制肿瘤细胞的增殖、凋亡、粘附和运动^[1]。据报道, 因突变、杂合性缺失和过甲基化等原因, Caveolin-1 在神经元细胞^[8]以及乳腺癌^[3]、结肠癌^[9]、卵巢癌^[10]、肺癌^[11]和肉瘤^[12]等肿瘤中表达下调; 只有在前列腺癌^[13]中表达上调。本研究采用组织微阵列技术, 在完全相同的实验条件下, 对 Caveolin-1 在非癌胃粘膜、肠上皮化生、异型增生和胃癌组织的表达特点进行分析。结果表明, Caveolin-1 在非癌粘膜→肠上皮化生→异型增生→胃癌的演变过程中呈下调趋势。由于 Caveolin-1 能使某些增殖信号通路如 EGFR、PDGFR、Neu、Src 酪氨酸激酶系统以及 Raf、Erk、MAP/ERK 激酶系统去抑制^[1], 故推测该基因的下调可能是胃粘膜上皮细胞过度增殖和凋亡失衡, 最终导致肿瘤发生的遗传学因素之一。有关这方面的工作正在进行中。

普遍认为, 弥漫型和肠型胃癌的组织发生不同且有各自的基因表达谱特征^[14]。本文结果显示, Caveolin-1 在 26 例肠型和 29 例弥漫型胃癌表达形式存在差异。近来发现 Caveolin-1 有助于细胞粘附分子 E-cadherin/catenin 复合物的形成, 从而加强细胞间的连接与通讯^[15]。诸多研究表明, 大多数的胃癌尤其是弥漫型胃癌通常出现 E-cadherin 跨膜蛋白减少和 β -catenin 胞浆聚集和胞核移位^[16,17]; 后者与 T-细胞因子(TCF)结合后, 激活下游的效应基因如 CD44 和基质金属蛋白酶(MMPs)表达^[18]。此外, Fiucci 等^[19]发现, Caveolin-1 的存在与基质金属蛋白酶(MMPs)和血管内皮细胞生长因子(VEGF)的表达呈负相关, 故对肿瘤细胞的侵袭和转移起抑制作用。本研究发现, 有淋巴结转移的胃癌组织中 Caveolin-1 表达低于无淋巴结转移者。提示, Caveolin-1 的表达下调可能通过影响胃癌细胞内 β -catenin 的分布和/或 MMPs 和 VEGF 等基因的表达间接或直接提高肿瘤细胞的侵袭和转移能力。可见, 进一步探讨 Caveolin-1 与诸转移相关因子的关系能够加深我们对胃癌侵袭和转移成因的认识。

与体外培养体系不同, 胃癌组织中还含有诸如成纤维细胞、肿瘤侵袭性淋巴细胞、血管内皮细胞等间质成分, 这很容易造成提取到的核酸和蛋白样本出现细胞间交叉污染, 导致实验结果的偏(误)

差。而 Caveolin-1 主要在成纤维细胞、上皮细胞、内皮细胞及脂肪细胞中表达。因此, 在利用 Western blot 和 RT-PCR 法检测不同胃组织中 Caveolin-1 表达情况时, 由于间质成分的存在, 很容易得到假阳性的实验结果。而对体外培养的 MGC-803(胃低分化粘液癌)和 BGC-823(胃低分化腺癌)细胞系的检测则可排除间质细胞的干扰, 更准确地反映 Caveolin-1 在胃癌细胞中的表达情况。本研究的 Western blot 和 RT-PCR 结果显示, Caveolin-1 在 MGC-803 和 BGC-823 细胞中的表达均有明显下调。这进一步证明了我们的上述推论, 并且从 mRNA 水平和蛋白水平再次证明, Caveolin-1 在胃癌的恶性转化过程中呈下调趋势。

值得注意的是, Caveolin-1 对新生血管形成的作用具有“双刃剑”的特点, 即它能够通过抑制肿瘤细胞本身 MMPs 和 VEGF 的表达, 抑制肿瘤新生血管的生成^[20], 同时由肿瘤间质细胞产生的可溶性 Caveolin-1 又能促进肿瘤组织内毛细血管的形成^[21]。在绝大多数的胃癌病例中, Caveolin-1 在胃癌细胞中表达下调或缺失, 但在诸如成纤维细胞、血管内皮细胞等间质细胞中却呈阳性。因此, 在探讨胃癌细胞内 Caveolin-1 表达下调的肿瘤生物学意义的同时, 应深入分析源自胃癌间质细胞的 Caveolin-1 对胃癌细胞生长与进展的影响。

[参 考 文 献]

- [1] Razani B, Schlegel A, Liu J, et al. Caveolin-1, a putative tumour suppressor gene [J]. *Biochem Soc Trans*, 2001, 29(4):494-499.
- [2] Liu J, Lee P, Galbiati F, et al. Caveolin-1 expression sensitizes fibroblastic and epithelial cells to apoptotic stimulation [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2001, 80(4): C823-835.
- [3] Engelman JA, Lee RJ, Karnezis A, et al. Reciprocal regulation of neu tyrosine kinase activity and caveolin-1 protein expression *in vitro* and *in vivo*. Implications for human breast cancer [J]. *J Biol Chem*, 1998, 273(32):20448-20455.
- [4] 王凯华. 人体低分化粘液腺癌细胞系 M-GC-803 的建立及其生物学特性的初步观察 [J]. *实验生物学报*, 1983, 16(3):257.
- [5] 蔡玉晖, 谷钰之, 张嘉庆, 等. 人体胃癌细胞系 BGC823 的建立 [J]. *北京医科大学学报*, 1986, 18(2):136-139.
- [6] Li H, Sun Y, Kong QY, et al. Combination of nucleic acid and protein isolation with tissue array construction: using defined histologic regions in single frozen tissue blocks for multiple research purposes [J]. *Int J Mol Med*, 2003, 12(3):

- 299-304.
- [7] Li H, Chen XY, Kong QY, et al. Cytopathological evaluations combined RNA and protein analyses on defined cell regions using single frozen tissue block [J]. *Cell Res*, 2002,12(2):117-121.
- [8] Zschocke J, Manthey D, Bayatti N, et al. Estrogen receptor alpha-mediated silencing of caveolin gene expression in neuronal cells [J]. *J Biol Chem*, 2002,277 (41):38772-38780.
- [9] Bender FC, Reymond MA, Bron C, et al. Caveolin-1 levels are down-regulated in human colon tumors, and ectopic expression of caveolin-1 in colon carcinoma cell lines reduces cell tumorigenicity [J]. *Cancer Res*, 2000,60 (20):5870-5878.
- [10] Davidson B, Nesland JM, Goldberg I, et al. Caveolin-1 expression in advanced-stage ovarian carcinoma — a clinicopathologic study [J]. *Gynecol Oncol*, 2001,81(2):166-171.
- [11] Yoo SH, Park YS, Kim HR, et al. Expression of caveolin-1 is associated with poor prognosis of patients with squamous cell carcinoma of the lung [J]. *Lung Cancer*, 2003,42(2):195-202.
- [12] Wiechen K, Sers C, Agoulnik A, et al. Down-regulation of caveolin-1, a candidate tumor suppressor gene, in sarcomas [J]. *Am J Pathol*, 2001,158(3):833-839.
- [13] Li L, Yang G, Ebara S, et al. Caveolin-1 mediates testosterone-stimulated survival/clonal growth and promotes metastatic activities in prostate cancer cells [J]. *Cancer Res*, 2001,61(11):4386-4392.
- [14] Boussioutas A, Li H, Liu J, et al. Distinctive patterns of gene expression in premalignant gastric mucosa and gastric cancer [J]. *Cancer Res*, 2003,63(10):2569-2577.
- [15] Lu Z, Ghosh S, Wang Z, et al. Downregulation of caveolin-1 function by EGF leads to the loss of E-cadherin, increased transcriptional activity of beta-catenin, and enhanced tumor cell invasion [J]. *Cancer Cell*, 2003,4(6):499-515.
- [16] Cheng XX, Sun Y, Chen XY, et al. Frequent translocalization of beta-catenin in gastric cancers and its relevance to tumor progression [J]. *Oncol Rep*, 2004,11(6):1201-1207.
- [17] Cheng HP, Kristjansdottir S, Jonasson JG, et al. Alteration of E-cadherin and β -catenin in gastric cancer [J]. *BMC Cancer*, 2001,1(1):16-22.
- [18] Kolligs FT, Bommer G, Goke B. Wnt/beta-catenin/tcf signaling: a critical pathway in gastrointestinal tumorigenesis [J]. *Digestion*, 2002,66(3):131-144.
- [19] Fiucci G, Ravid D, Reich R, et al. Caveolin-1 inhibits anchorage-independent growth, anoikis and invasiveness in MCF-7 human breast cancer cells [J]. *Oncogene*, 2002,21(15):2365-2375.
- [20] Liu J, Wang XB, Park DS, et al. Caveolin-1 expression enhances endothelial capillary tubule formation [J]. *J Biol Chem*, 2002,277(12):10661-10668.
- [21] Joo HJ, Oh DK, Kim YS, et al. Increased expression of caveolin-1 and microvessel density correlates with metastasis and poor prognosis in clear cell renal cell carcinoma [J]. *BJU Int*, 2004,93(3):291-296.

[编辑及校对:张菊]