

BUB1、DPPA2、P311 在胃癌组织中的表达及与临床特征相关性研究

王玲玲 高敏丽

胃癌在消化系统中发病率较高,是恶性肿瘤死亡原因之一^[1]。胃癌细胞多种分子的表达异常在治疗及诊断中有重要意义^[2,3]。BUB1是纺锤体检测点的蛋白,在胃癌中染色体的不稳定是由BUB1表达异常出现细胞恶性情况引起的^[4]。多能发育相关基因2(developmental pluripotency associated gene 2, DPPA2)在多能性细胞中发现,在机体发育过程中DPPA2与细胞的多能性有密切关系^[5]。胃癌组织中增生性瘢痕相关蛋白(抗原)(P311 protein, P311)蛋白表达量异常增高,且其具体表达量与肿瘤细胞增殖、侵袭、自噬等恶性生物学行为直接相关^[6]。本次研究旨在研究BUB1、DPPA2、P311在胃癌组织中的表达及与临床特征相关性,为临床提供数据参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2018年1月至2020年1月在台州市肿瘤医院病理科保存的胃癌组织标本78份,对应78例患者,全部纳入胃癌组。纳入标准为:符合中国专家共识意见中关于早期胃癌的筛查标准^[7];确诊原发性胃癌;临床资料齐全。其中男性35例、女性43例;年龄33~71岁,平均年龄(49.40±15.45)岁;分期Ⅰ~Ⅱ期28例、Ⅲ~Ⅳ期50例;最大直径≤5 cm 26例,最大直径>5 cm 52例;淋巴结转移50例、无转移28例;低分化39例、中分化21例、高分化18例。另外选取同期我院病理科保存的正常胃黏膜组织(距离癌组织>5 cm)标本78份,对应78例患者,全部纳入对照组,其中男性32例、女性46例;年龄31~72岁,平均年龄(48.93±16.90)岁。排除:伴有其他组织脏器恶性

肿瘤性疾病的患者;伴有心肝肾功能严重损害的患者;合并全身感染性疾病的患者;妊娠期、哺乳期的患者;恶液质无法忍受手术创伤的患者;精神异常的患者。两组研究对象性别、年龄比较,差异均无统计学意义(P 均>0.05)。本次研究经过本院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 免疫组化 通过聚合物技术(EnVision)对胃癌组织、正常胃黏膜组织中的BUB1、DPPA2、P311进行检测。取胃癌组织、正常胃黏膜组织蜡块切片,经过烤片后,采用乙醇进行脱蜡、水化,洗涤液清洗4次,每次4 min。将稀释的柠檬酸盐缓冲液加入到微波盒中,然后微波加热到沸腾,将脱蜡水化后的胃癌组织切片放置到耐热塑料切片架上,随后将其放入上面的缓冲液中,10 min后,微波盒自行冷却后,从缓冲液中将切片取出,采用蒸馏水进行冲洗,洗涤液清洗3次,每次3 min。随后分别将3% H_2O_2 加入到各切片中,在37℃的温度下处理10 min,洗涤液清洗4次,每次4 min。在各切片中分别加入1滴相应的第一抗体,在37℃的温度下处理2 h,在缓冲液中将各切片取出,采用蒸馏水进行冲洗,洗涤液清洗3次,每次3 min。将BUB1、DPPA2、P311分别加入到各切片中,在37℃的温度下处理20 min,洗涤液清洗4次,每次4 min。在各切片中分别加入1滴新配制DAB液,采用显微镜对其进行观察分析。采用苏木精对其进行第二次染色,然后对其进行分化、冲洗、蓝化,采用酒精对其切片进行脱水,然后进行晒干观察,采用对应的免疫组化试剂盒对三种不同的基因进行免疫组化检测。

1.2.2 阳性结果判定 在显微镜下随机选取5个高倍视野的切片,选取的每张切片细胞数量不低于100个,由我院病理科两位资深的医师对阳性细胞

DOI: 10.13558/j.cnki.issn1672-3686.2023.010.020

基金项目:温岭市科技项目(2021S00086)

作者单位:317502 浙江台州,台州市肿瘤医院病理科(王玲玲);浙江省台州医院综合外科(高敏丽)

的染色情况进行统计,有分歧时,一起讨论并达成一致意见。细胞染色强度评分标准:0分:细胞几乎没有颜色,1分:浅黄色,2分:棕黄色,3分:棕褐色。切片阳性细胞所占百分比评分标准;0分:200倍阳性细胞率<15%,1分:15%~29%,2分:30%~54%,3分:55%~76%,4分:>76%。将阳性细胞所占百分比与切片BUB1、DPPA2、P311细胞染色强度进行相乘,0分为阴性(-);1~2分为弱阳性(+);3~4分为中度阳性(++);>4分为强阳性(+++)。

1.3 随访 所有患者随访至2021年9月,统计患者生存情况。

1.4 统计学方法 采用SPSS 20.0软件进行数据处理。BUB1、DPPA2、P311蛋白阳性表达组和阴性组患者术后总体生存时间分析采用Kaplan-Meier法,相关性分析采用Spearman相关法。计数资料采用百分率描述,组间比较采用 χ^2 检验。设 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胃癌组织中BUB1、DPPA2、P311阳性表达比较见表1

表1 两组BUB1、DPPA2、P311阳性表达比较(%)

组别	n	BUB1	DPPA2	P311
胃癌组	78	58(74.36)*	62(79.49)*	56(71.79)*
对照组	78	23(29.49)	11(14.10)	18(23.08)

注:*,与对照组比较, $P<0.05$ 。

由表1可见,与对照组相比,胃癌组BUB1、DPPA2、P311阳性表达率较高,差异有统计学意义(χ^2 分别=31.45、66.96、37.12, P 均<0.05)。

2.2 不同临床特征患者BUB1、DPPA2、P311阳性表达比较见表2

由表2可见,不同性别、年龄患者的BUB1、DPPA2、P311阳性表达比较,差异无统计学意义(χ^2 分别=0.55、0.51、0.57;1.24、0.51、2.28, P 均>0.05)。与肿瘤分期I~II期患者相比,III~IV期患者BUB1、DPPA2、P311阳性表达率较高,差异有统计学意义(χ^2 分别=11.17、10.45、11.57, P 均<0.05)。与肿瘤最大直径 ≤ 5 cm患者相比,肿瘤最大直径>5 cm患者BUB1、DPPA2、P311阳性表达率较高,差异有统计学意义(χ^2 分别=13.79、12.90、17.28, P 均<0.05)。与无淋巴结转移患者相比,有淋巴结转移患者BUB1、DPPA2、P311阳性表达率较高,差异有统计学意义(χ^2 分别=19.86、15.61、24.14, P 均<0.05)。

不同分化程度的患者BUB1、DPPA2、P311阳性表达率比较,差异有统计学意义(χ^2 分别=12.78、11.81、11.63, P 均<0.05)。

表2 不同临床特征患者BUB1、DPPA2、P311阳性表达比较/例(%)

临床特征	n	BUB1	DPPA2	P311
性别				
男	35	27(46.55)	29(46.77)	26(46.43)
女	43	31(53.45)	33(53.23)	30(53.57)
年龄				
≤ 50 岁	32	26(44.83)	29(46.77)	24(42.86)
>50岁	46	32(55.17)	33(53.23)	32(57.14)
肿瘤分期				
I~II期	28	20(34.48)	22(35.48)	19(33.93)
III~IV期	50	38(65.52)	40(64.52)	37(66.07)
最大直径				
≤ 5 cm	26	19(32.76)	21(33.87)	17(30.36)
>5 cm	52	39(67.24)	41(66.13)	39(69.64)
淋巴结转移				
无	28	17(29.31)	20(32.26)	15(26.79)
有	50	41(70.69)	42(67.74)	41(73.21)
分化程度				
低	39	29(50.00)	30(48.39)	27(48.21)
中	21	18(31.03)	20(32.26)	19(33.93)
高	18	11(18.97)	12(19.35)	10(17.86)

2.3 BUB1、DPPA2、P311表达生存曲线见图2

由图2可见,BUB1、DPPA2、P311阳性表达的胃癌患者中位生存时间明显低于其阴性表达患者。

2.4 胃癌组织BUB1、DPPA2、P311蛋白表达量的相关性 胃癌组织BUB1与DPPA2蛋白表达量呈正相关($r=0.71$, $P<0.05$);胃癌组织BUB1与P311蛋白表达量呈正相关($r=0.70$, $P<0.05$);胃癌组织DPPA2与P311蛋白表达量呈正相关($r=0.36$, $P<0.05$)。

3 讨论

胃癌在我国临床中是较为常见的一种恶性肿瘤,其发病率以及死亡率呈现不断上升的趋势,不断探索胃癌的发展机制以及发病原因具有重要的意义^[8]。胃癌的发生发展与多种因素、阶段有一定的关系,环境危险因素导致基因表达的异常,进而形成生物学功能的改变,环境与基因相互影响会使胃癌进一步恶化^[9]。最新研究表明,某些特定分子

阳性表达的改变与胃癌的发生发展具有密切的关系,其分子阳性表达的改变是导致胃癌细胞恶化程度发展的重要原因,进而导致肿瘤侵袭的转移^[10,11]。本次研究旨在研究BUB1、DPPA2、P311在胃癌组织中的表达及与临床特征相关性,为研究胃癌发病机制提供参考。

BUB1在细胞有丝分裂中是纺锤体检查点系统的一个主要组成部分,它在纺锤体形成微管过程中与染色体动粒结合时具有参与的作用^[12]。在有丝分裂中当微管正确结合到动粒上时,丝粒相关蛋白E的构象可能发生一些改变,使BUB1的活性受到一些影响,进而使细胞周期正常运行^[13,14]。本次研究发现,不同年龄、性别患者BUB1阳性表达没有差异,说明BUB1表达与胃癌患者性别、年龄无关。在本次研究中,在Ⅲ~Ⅳ期、肿瘤最大直径>5 cm的患者BUB1阳性表达较高,表明在胃癌组织中BUB1阳性表达随肿瘤分期、最大直径增加而增加。有研究证实,BUB1在肾癌组织中阳性表达是高表达,胃癌的发生发展与BUB1异常表达有密切的关系^[14],本次研究与其保持一致。本次研究结果显示,肿瘤淋巴结转移、分化与胃癌组织中BUB1的表达有一定的关系,提示BUB1表达异常可能参与胃癌患者发病的过程。

DPPA2主要是由298个氨基酸残基组成的多肽进行编码,进化保守序列SAP结构域存在于DPPA2的氨基端上,它是由疏水氨基酸和极性氨基酸两部分组成,有研究发现,SAP结构域剔除后会对ZARIL表达进行抑制,会使受精卵的分裂过程停止,同时导致染色体结构和组蛋白去甲基化重新构建组织,进而影响生殖细胞的发育^[15,16]。本次研究中,DPPA2阳性表达与患者性别、年龄无关。在Ⅲ~Ⅳ期、肿瘤最大直径>5 cm、淋巴结有转移、高分化程度的胃癌组织中DPPA2阳性表达是高表达,提示DPPA2表达异常与胃癌患者严重程度有关。

P311主要存在于胶质母细胞瘤组织且浓度较高,其在黏着斑蛋白等迁移相关蛋白过程中具有参与的作用^[17]。非小细胞肺癌组织中的P311与癌细胞浸润程度中有一定的关系,对成纤维母细胞在创伤肌肉组织中的迁移具有促进的作用^[18]。有研究认为,在胃癌细胞内的增殖侵袭过程中P311蛋白可能发挥出重要作用^[19],但是目前P311蛋白在胃癌细胞中的作用机制研究较少。本次研究中,P311在胃癌组织中呈高表达,说明P311基因表达异常是胃癌发

生发展的重要因素。P311表达与患者的性别和年龄无关。在Ⅲ~Ⅳ期、肿瘤最大直径>5 cm的患者P311阳性表达较高,提示P311表达异常可能与胃癌患者发病的过程有一定的关系。研究表明,肿瘤细胞恶性程度增加以及发生远处转移的主要原因是侵袭迁移,侵袭基因的表达异常会导致分子基础的改变^[20]。本次研究结果表明,在胃癌患者中肿瘤淋巴结转移以及分化程度越严重,P311表达越高,进一步说明了P311蛋白阳性表达与胃癌发生发展有密切的关系。本次研究BUB1、DPPA2、P311阳性表达的胃癌患者其中位生存时间明显低于其阴性表达患者,表明BUB1、DPPA2、P311对胃癌的预后具有一定的价值。进一步相关性分析,BUB1、DPPA2、P311的蛋白表达量都呈正相关,证明胃癌的胃癌恶性程度、淋巴结转移趋势及预后密切相关。

综上所述,胃癌患者胃癌组织在Ⅲ~Ⅳ期、最大直径>5 cm、有淋巴结转移、分化程度较高时BUB1、DPPA2、P311阳性表达较高,说明BUB1、DPPA2、P311阳性表达与胃癌病情的严重程度有密切的关系,可能参与胃癌患者病情发展过程,为研究胃癌发病机制及患者预后提供参考。

参考文献

- 1 Strong VE. Progress in gastric cancer[J]. Updates Surg, 2018, 70(2): 157-159.
- 2 吕燕萍,吴传城,杨双凤,等.胃癌差异表达miRNA及其相关基因的单核苷酸多态性与胃癌预后的相关性研究[J]. 癌变·畸变·突变, 2020, 32(5): 380-386.
- 3 马瑞,杨盛力,魏柏,等.胃癌合并静脉血栓栓塞症的临床分析[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2020, 29(10): 1119-1122.
- 4 李小燕,何杰,余觅,等.BUB1基因在胃癌组织中高表达:基于Oncomine数据库及生物信息学方法[J]. 南方医科大学学报, 2020, 40(5): 683-692.
- 5 徐纪伟,孙丹华.DPPA2和Cyclin H在胃癌组织中的表达及临床意义[J]. 医学研究杂志, 2020, 49(1): 94-99.
- 6 伍桂荣,崔彬.P311蛋白在胃癌组织中的表达及其临床意义研究[J]. 黑龙江医学, 2020, 44(3): 333-337.
- 7 谢文瑞,吴礼浩,张敏,等.中国早期胃癌筛查流程专家共识意见在广东地区的应用[J]. 中华消化内镜杂志, 2020, 37(7): 491-494.
- 8 陈晓宇,王正彩,朱明翰,等.ANRIL对胃癌细胞增殖的影响[J]. 现代肿瘤医学, 2020, 28(20): 3470-3473.
- 9 周阳.血小板相关生物活性物质在胃癌转移中的研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(19): 2418-2422.
- 10 李明,张洪涛.进展期胃癌分子靶向治疗及免疫治疗的研究

- 究进展[J]. 癌症进展, 2020, 18(17): 1733-1735, 1809.
- 11 钱建新, 谢峰, 顾小强, 等. 胃癌中 FOXM1 调控相关分子的表达及其临床意义[J]. 海军医学杂志, 2020, 41(5): 542-547.
 - 12 庾麒, 李琴, 蒋凯, 等. 原发性肝癌的发病机制和 BUB1 表达的临床意义[J]. 临床肿瘤学杂志, 2020, 25(4): 322-327.
 - 13 王梦妮, 吕卫国. Bub1 及其在肿瘤中的研究进展[J]. 国际肿瘤学杂志, 2020, 47(5): 289-292.
 - 14 Yu H, Zhang S, Ibrahim AN, et al. Serine/threonine kinase BUB1 promotes proliferation and radio-resistance in glioblastoma[J]. Pathol Res Pract, 2019, 215(8): 152508.
 - 15 Yan YL, Zhang C, Hao J, et al. DPPA2/4 and SUMO E3 ligase PIAS4 oppositely regulate zygotic transcriptional program[J]. PLoS Biol, 2019, 17(6): e3000324.
 - 16 Hernandez C, Wang Z, Ramazanov B, et al. Dppa2/4 facilitate epigenetic remodeling during reprogramming to pluripotency[J]. Cell Stem Cell, 2018, 23(3): 396-411.
 - 17 Duan FF, Barron G, Meliton A, et al. P311 promotes lung fibrosis via stimulation of transforming growth factor- β 1, - β 2, and - β 3 translation[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2019, 60(2): 221-231.
 - 18 Smyth EC, Nilsson M, Grabsch HI, et al. Gastric cancer[J]. Lancet, 2020, 396(10251): 635-648.
 - 19 Nunez S, Young C, Adebayo O, et al. P311, a novel intrinsically disordered protein, regulates adipocyte development[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2019, 515(1): 234-240.
 - 20 Katta K, Sembajwe LF, Kusche-Gullberg M. Potential role for Ext1-dependent heparan sulfate in regulating P311 gene expression in A549 carcinoma cells[J]. Biochim Biophys Acta Gen Sub, 2018, 1862(6): 1472-1481.
- (收稿日期 2023-05-23)
(本文编辑 葛芳君)

(上接第911页)

以让学员更好地理解手术及肺叶解剖, 从而取得满意的教学效果。另外, 术中肺叶标本解剖学习几乎不增加教学成本, 操作环境安全可控, 可以形成有效的教学机制。因此术中肺叶标本解剖学习培训可以明显提高胸外科医师培训效率和质量, 是一个值得尝试和推广的教学方法。

参考文献

- 1 Xia C, Dong XS, Li H, et al. Cancer statistics in China and United States, 2022: Profiles, trends, and determinants[J]. Chin Med J (Engl), 2022, 135(5): 584-590.
 - 2 陶显东, 单正翔, 金益峰, 等. 胸外科专科医师规范化培训探索[J]. 教育教学论坛, 2017, 9(34): 109-110.
 - 3 范军强, 赵鲁峰, 姚杰, 等. 早期肺癌数字化诊疗技术体系的教学推广实践[J]. 全科医学临床与教育, 2022, 20(1): 53-56.
 - 4 罗新锦. 心胸外科住院医师专科培训的改革与思考[J]. 中国胸心血管外科临床杂志, 2015, 22(4): 281-283.
 - 5 胡歆, 郭涛, 沈康杰, 等. 泌尿外科专科解剖培训对低年资医师外科技能提升的研究[J]. 继续医学教育, 2021, 35(3): 1-2.
 - 6 Porpiglia F, Amparore D, Checcucci E, et al. Current use of three-dimensional model technology in Urology: A road map for personalised surgical planning[J]. Eur Urol Focus, 2018, 4(5): 652-656.
 - 7 王平, 汪朔. 现场机器人手术视频在泌尿外科专科医师培训中的应用价值探讨[J]. 全科医学临床与教育, 2022, 20(5): 439-441.
- (收稿日期 2023-05-18)
(本文编辑 葛芳君)