DOI:10.16016/j.1000-5404.201603117

不同临床预后患者胃癌组织中 DAB2IP 表达的差异

王 瀚,牛跃平,董 峰,高 健,徐怀文 (450014 郑州,郑州大学第二附属医院普外科)

[摘要] **目的** 探讨胃癌中人 DOC-2/DAB-2 交互蛋白(DOC-2/DAB-2 interaction protein,DAB2IP)的表达与临床预后生存时间的关系。**方法** 收集 82 例正常胃黏膜及胃癌组织,采用免疫组化方法进行蛋白检测,对随访资料进行 Kaplan-Meier 生存分析和 COX 回归分析。**结果** DAB2IP 在正常胃黏膜组织中多以强阳性表达;在胃癌组织中阳性表达较少,多以弱阳性或阴性为主;DAB2IP 在胃癌组织中的阳性评分低于正常黏膜,差异有统计学意义($P<0.05$)。DAB2IP 阳性表达的胃癌患者中位生存时间为 40.8 个月,明显长于阴性表达患者的中位生存时间(33.7 个月),差异有统计学意义($P<0.05$)。COX 多因素回归分析显示,较低的 DAB2IP 表达水平和较高的 TNM 分期是胃癌预后生存时间的独立危险因素($P<0.05$)。**结论** DAB2IP 下调可能在胃癌的发生、发展中起一定的作用,对预测胃癌患者的预后生存时间具有一定的意义。

[关键词] 胃癌;卵巢癌差异表达基因 2 交互蛋白;DAB2IP;预后
[中图法分类号] R181.23; R730.23; R735.2 [文献标志码] A

Differential expression of DAB2IP in gastric carcinoma patients with different clinical prognoses

Wang Han, Niu Yueping, Dong Feng, Gao Jian, Xu Huaiwen (Department of General Surgery, Second Affiliated Hospital, Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan Province, 450014, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the correlation of the expression of DOC-2/DAB-2 interaction protein (DAB2IP) with prognosis of survival time in gastric carcinoma. **Methods** Immunohistochemistry was applied to detect the expression of DAB2IP in 82 tissue samples of gastric carcinoma and 82 normal stomach tissues. Kaplan-Meier survival analysis and COX regression analysis were used on the clinical and follow-up data. **Results** DAB2IP was highly expressed in the normal stomach tissues, but mildly or negatively in the gastric carcinoma ($P<0.05$). The median survival time of the patients with positive expression of DAB2IP was 40.8 months, significantly longer than those with negative DAB2IP expression (33.7 months, $P<0.05$). Furthermore, COX multivariate regression analysis demonstrated that the lower expression level of DAB2IP and higher TNM stage were independent prognostic factor for survival time of clinical prognosis ($P<0.05$). **Conclusion** The declination of DAB2IP might play a significant role in the occurrence and development of gastric carcinoma, and it might of a vital significance on predicting the survival time in the patients with gastric carcinoma.

[**Key words**] gastric carcinoma; differentially expressed in ovarian carcinoma-2 interaction protein; DAB2IP; prognosis

Supported by the Key Scientific Research Project of Colleges and Universities in Henan Province (16A320018). Corresponding author: Niu Yueping, E-mail: 149930381@qq.com

尽管近年来胃癌的发病率和死亡率已经显著下降,但其仍是最常见的消化系统恶性肿瘤,以及全球第四大常见肿瘤和第二位的肿瘤相关死亡原因[1]。胃癌的发生、发展极为复杂,包括抑癌基因的失活和癌基因的激活等一系列遗传学的改变。虽然新的胃癌相关基因不断被发现[2-3],但至今仍无法明确阐明胃癌的发生及转移的生物学机制。DAB2IP,又被称为人 DOC-2/DAB-2 交互蛋白(DOC-2/DAB-2 interaction

[基金项目] 河南省高等学校重点科研项目(16A320018)
[通信作者] 牛跃平,E-mail:149930381@qq.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20160516.1351.014.html(2016-05-16)

protein),是一种新的 Ras GTP 酶激活蛋白,可作为效应蛋白与卵巢癌差异表达基因 2(differentially expressed in ovarian carcinoma-2,DOC-2,又称 DAB-2)[4]的氨基末端相互作用从而激活 DAB-2 的表达。而 DAB-2 是一种重要的抑癌基因,可与多种肿瘤的发生及发展有关[5-7]。本研究利用免疫组化方法检测 82 例患者的胃癌组织及正常黏膜标本中 DAB2IP 的表达情况,并结合其临床资料,探讨 DAB2IP 在胃癌组织中的表达及临床意义。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取郑州大学第二附属医院病理科 2006 年 7 月至 2008 年 11 月存档的石蜡包埋的组织标本。病例术前均未行放化疗及生物治疗,临床资料完整,术后均经病理组织学检查证实为胃癌。包括男性 52 例,女性 30 例。年龄 24~81 岁,中位年龄 46 岁,其中≤60 岁 47 例,>60 岁 35 例。病理诊断为高分化腺癌者 39 例,中分化腺癌 30 例,低分化腺癌 13 例。按 TNM 临床分期,Ⅰ期 15 例,Ⅱ期 29 例,Ⅲ期 34 例,Ⅳ期 4 例。有淋巴结转移者 48 例,无淋巴结转移者 34 例。另取正常胃组织 82 例作对照,标本取自胃癌根治术中正常胃组织,距离胃癌组织 >5 cm。

1.2 试剂来源

免疫组化(S-P)试剂盒及 DAB 显色试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司,DAB2IP 兔抗人单克隆抗体购自 Abcam 公司。

1.3 方法

以 4 μm 的厚度为标准,对每例石蜡包埋的组织行连续切片,按 S-P 法,严格按试剂盒说明书中的操作步骤进行实验;一抗按 1∶100 倍稀释。用已知阳性片作对照,以 PBS 液代替一抗作空白对照。

1.4 结果判定

HE 染色切片的读取按照双盲原则,由我院两位经验丰富的病理科教授在不知晓病例特征及临床资料的情况下独立判定。每张切片在高倍镜下随机挑取 10 个视野进行评分。依据阳性细胞数和阳性程度出现的位置综合判定结果,即根据细胞的阳性率及着色强度分别记分。细胞染色强度评分:无色为 0 分,淡黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分。按阳性细胞数百分比评分:阴性为 0 分,阳性细胞数≤25% 为1 分,>25%~50% 为 2 分,>50%~75% 为 3 分,>75%~100% 为 4 分。染色强度与阳性细胞数两者评分之积范围为 0~12 分,若评分≥5 分则为阳性,反之则为阴性。

1.5 统计学方法

采用 SPSS 17.0 统计软件,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,Mann-Whitney U 检验应用于不同临床病理特征患者胃癌及正常黏膜组织中 DAB2IP 的表达评分比较,绘制 Kaplan-Meier 生存曲线,采用 Log-Rank test 方法对 DAB2IP 表达阳性和阴性的患者生存时间进行比较,采用多因素 Cox 回归分析筛选胃癌预后因素,双侧检验水准 $\alpha = 0.05$。

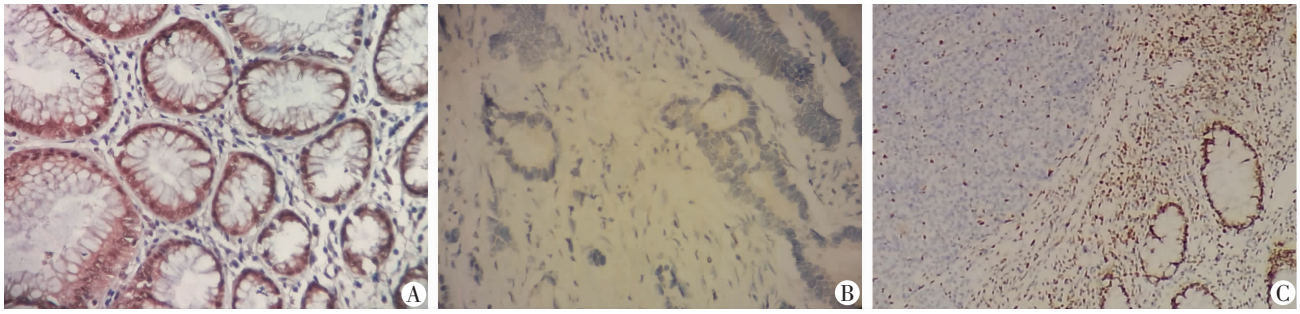
2 结果

2.1 DAB2IP 在正常胃黏膜及胃癌组织的表达

DAB2IP 在正常胃黏膜组织中多以强阳性表达(图 1A),在胃癌组织中阳性表达较少,多以弱阳性或阴性为主(图 1B)。胃癌组织和正常胃黏膜组织中 DAB2IP 表达评分分别为(4.03±0.16)和(5.04±0.47),两组间差异有统计学意义($P<0.05$,表 1)。

表 1 Mann-Whitney U 检验比较正常胃黏膜与胃癌组织中 DAB2IP 表达($n=82$, $\bar{x} \pm s$)

组织	细胞染色强度评分	阳性细胞数评分	DAB2IP 表达评分
正常胃黏膜	2.10±0.39	2.40±0.53	5.04±0.47
胃癌	1.90±0.21	2.10±0.11	4.03±0.16
P 值	0.034	0.037	0.027



A:DAB2IP 在正常胃黏膜中阳性表达;B:DAB2IP 在胃癌组织中阴性表达;C:同一张切片中,DAB2IP 在胃癌组织中阴性表达,在胃癌邻近的正常胃黏膜组织中阳性表达

图 1 DAB2IP 在正常胃黏膜和胃癌组织中的表达 (S-P ×400)

2.2 DAB2IP 的表达水平与患者术后生存时间的关系

Kaplan-Meier 生存分析表明,DAB2IP 阳性表达的胃癌患者中位生存时间(40.8 个月)明显长于阴性表达患者的中位生存时间(33.7 个月),差异有统计学意义($P=0.003$,图 2)。

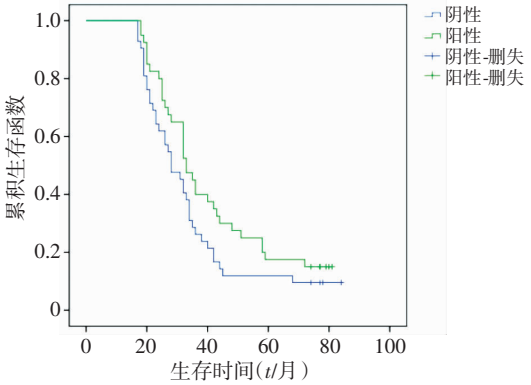


图 2 DAB2IP 阳性与阴性表达的胃癌患者生存曲线

2.3 Cox 模型分析影响胃癌患者预后的因素

单因素分析结果显示,性别、年龄与患者预后无关($P>0.05$),分化程度越低、TNM 分期越高、有淋巴结转移、DAB2IP 表达阴性均能缩短胃癌患者术后生存时间($P<0.05$),将这些因素进行 Cox 多因素回归分析,用逐步法进行筛选变量,最终较高的 TNM 分期和阴性的 DAB2IP 为术后生存时间的危险因素($P<0.05$,$P<0.01$,表 2)。

3 讨论

DAB2IP 定位于染色体 9q33.1-q33.3,是 Ras-GAP(Ras GTPase-activating protein)家族新发现的蛋白,它是 DAB-2 的效应蛋白,可以与 DOC-2/DAB-2 蛋白的末端氨基相结合,从而激活 DAB-2 表达,抑制多种肿瘤的发生、发展[8-9]。近年研究表明,在肿瘤发生、发展过程中,DAB2IP 基因启动子区域的 DNA 发生高度甲基化使 DAB2IP 基因表达受到抑制[10],从而导致抑癌基因 DAB-2 的表达抑制,而这种表达下调在乳腺癌、前列腺癌、肺癌等[11]恶性肿瘤及转移癌组织中得到证实。而在胃癌组织中,DAB2IP 的表达及其临床意义尚少见报道。

本研究发现,DAB2IP 在胃癌组织中的表达低于正常胃黏膜($P<0.05$),与 Jacobs 等[12]在前列腺癌中的发现相似,可能是因为 DAB2IP 是正常机体的保护机制,能限制肿瘤的发生、发展。当 DAB2IP 的表达受到抑制时,抑癌基因的表达亦受到抑制,导致肿瘤发生难以控制,因此造成正常胃黏膜 DAB2IP 高表达,胃癌组织 DAB2IP 低表达的现象。DAB2IP 的表达与患者术后生存时间的生存分析显示,胃癌患者中阳性表达 DAB2IP 的患者中位生存时间明显高于阴性表达的患者,且与患者的年龄、性别无关,这也提示 DAB2IP 对预测胃癌患者预后有重要意义,甚至可能为胃癌的诊断和治疗提供新的分子标记。在今后的临床诊断、

表 2 影响胃癌患者预后因素的 Cox 模型分析

临床特征	病死率	单因素分析			多因素分析		
		HR	95% *CI*	*P* 值	*HR*	95% *CI*	*P* 值
年龄							
≤60 岁	89.36%(42/47)	1.08	0.68~1.73	0.740			
>60 岁	85.71%(30/35)	1.00					
性别							
男	88.46%(46/52)	1.08	0.67~1.75	0.763			
女	86.67%(26/30)	1.00					
分化程度							
低分化和未分化	94.87%(37/39)	3.15	1.45~6.85	0.006			
中分化	90.00%(27/30)	2.43	1.10~5.37	0.032			
高分化	61.54%(8/13)	1.00					
淋巴结转移							
是	97.90%(47/48)	6.00	3.47~10.36	<0.01			
否	73.53%(25/34)	1.00					
TNM 分期							
T_1 期	53.33%(8/15)	0.23	0.10~0.50	<0.01	0.25	0.11~0.56	0.01
T_2 期	93.10%(27/29)	0.76	0.46~1.26	0.289	0.92	0.55~1.54	0.75
T_3~T_4 期	97.37%(37/38)	1.00	1.00				
DAB2IP 表达							
阴性	94.00%(47/50)	3.78	2.27~6.31	<0.01	3.75	2.22~6.33	<0.01
阳性	78.13%(25/32)	1.00	1.00				

治疗和预后评估中 DAB2IP 可作为一个具有临床意义的重要指标。由单因素回归分析结果可知,分化程度、TNM 分期、淋巴结转移、DAB2IP 表达水平与患者预后有关($P<0.05$)。淋巴结转移情况在一定程度上决定了 TNM 分期。新近研究发现分化程度与 TNM 分期也有一定相关性。研究显示,高、中分化的腺癌淋巴结转移率低,患者临床预后较好;而低分化腺癌及印戒细胞癌淋巴结转移率高,患者临床预后差[13-14]。所以在 Cox 多因素回归分析中,经过逐步法筛选变量,有统计学意义的为 TNM 及 DAB2IP,提示两者与患者预后可能有关联。

综上所述,检测胃癌组织中的 DAB2IP 蛋白的表达水平有重要的临床意义,不仅可以为揭示胃癌的发生、发展提供思路,作为一个指标进行胃癌的诊断、术后疗效评估、病情监测、预后判断,还有可能作为一个潜在的治疗靶点,为胃癌的靶向治疗及个体化治疗提供参考依据。

参考文献:

[1] Torre L A, Bray F, Siegel R L, *et al*. Global cancer statistics, 2012[J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2): 87-108. DOI: 10.3322/caac.21262

[2] Shi J, Wei P K. Interleukin-8: A potent promoter of angiogenesis in gastric cancer[J]. Oncol Lett, 2016, 11(2): 1043-1050. DOI: 10.3892/ol.2015.4035

[3] Jemal A, Siegel R, Ward E, *et al*. Cancer Statistics, 2009[J]. CA Cancer J Clin, 2009, 59(4): 225-249. DOI: 10.3322/caac.20006

[4] Liu L, Xu C, Hsieh J T, *et al*. DAB2IP in cancer[J]. Oncotarget, 2016, 7(4): 3766-3776. DOI: 10.18632/oncotarget.6501

[5] Min J, Zaslavsky A, Fedele G, *et al*. An oncogene-tumor suppressor cascade drives metastatic prostate cancer by coordinately activating Ras and nuclear factor-kappaB[J]. Nat Med, 2010, 16(3): 286-294. DOI: 10.1038/nm.2100

[6] Wu K, Wang B, Chen Y, *et al*. DAB2IP regulates the chemoresistance to pirarubicin and tumor recurrence of non-muscle invasive bladder cancer through STAT3/Twist1/P-glycoprotein signaling[J]. Cell Signal, 2015, 27(12): 2515-2523. DOI: 10.1016/j.cellsig.2015.09.014

[7] Wang J, Zhu X, Hu J, *et al*. The positive feedback between Snail and DAB2IP regulates EMT, invasion and metastasis in colorectal cancer[J]. Oncotarget, 2015, 6(29): 27427-27439. DOI: 10.18632/oncotarget.4861

[8] Zhang T, Shen Y, Chen Y, *et al*. The ATM inhibitor KU55933 sensitizes radioresistant bladder cancer cells with DAB2IP gene defect[J]. Int J Radiat Biol, 2015, 91(4): 368-378. DOI: 10.3109/09553002.2015.1001531

[9] Min J, Liu L, Li X, *et al*. Absence of DAB2IP promotes cancer stem cell like signatures and indicates poor survival outcome in colorectal cancer[J]. Sci Rep, 2015, 5: 16578. DOI: 10.1038/srep16578

[10] Zhang X, Li N, Li X, *et al*. Low expression of DAB2IP contributes to malignant development and poor prognosis in hepatocellular carcinoma[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2012, 27(6): 1117-1125. DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.07049.x

[11] Qiu G H, Xie H, Wheelhouse N, *et al*. Differential expression of hDAB2IPA and hDAB2IPB in normal tissues and promoter methylation of hDAB2IPA in hepatocellular carcinoma[J]. J Hepatol, 2007, 46(4): 655-663. DOI: 10.1016/j.jhep.2006.11.012

[12] Jacobs C, Tumati V, Kapur P, *et al*. DOC-2/DAB2 interacting protein status in high-risk prostate cancer correlates with outcome for patients treated with radiation therapy[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2014, 89(4): 729-735. DOI: 10.1016/j.ijrobp.2014.03.035

[13] 梁寒. 影响胃癌预后因素研究进展[J]. 中国实用外科杂志, 2011, 31(8): 726-729.

[14] 李华, 路平, 张静, 等. 分化型黏膜下胃癌淋巴结转移的危险因素探讨[J]. 中国普通外科杂志, 2008, 17(10): 961-964.

(**收稿**:2016-03-20;**修回**:2016-04-07)

(编辑 龙 亮)