

胃癌组织中 Aurora-A 及 TACC3 的表达及意义

曾亚, 王新平, 申月明, 朱德茂

长沙市中心医院消化内科, 湖南 长沙 410004

摘要: **目的** 研究胃癌组织、异型增生组织和正常胃粘膜组织中 Aurora-A 和 TACC3 的表达水平及其临床病理意义。

方法 采用免疫组化检测胃癌、异型增生组织和正常胃粘膜中 Aurora-A、TACC3 的表达,通过 Log-rank 检验、Cox 多因素分析,揭示 Aurora-A、TACC3 的表达与胃癌生物学行为的关系。 **结果** 正常胃粘膜组织中 Aurora-A 蛋白均为阴性;异型增生组织中阳性率 50.0%;而在胃癌组织中阳性率 74.0%,正常胃粘膜组织中 TACC3 阳性率为 4.16%;TACC3 在异型增生组织阳性率为 40.0%;癌组织中阳性率为 64.00%;Aurora-A 和 TACC3 在进展期胃癌中表达率分别为 78.57%、69.0%,在早期胃癌的表达率分别为 50%、37.5%;Aurora-A、TACC3 的阳性表达与肿瘤的分化程度、是否伴有淋巴结转移显著相关,差异均有统计学意义($P<0.05$),分化程度越低,Aurora-A、TACC3 表达越高;有淋巴结转移的胃癌组织中 Aurora-A、TACC3 表达越强;生存曲线分析显示 Aurora-A 及 TACC3 阳性的胃癌患者生存时间比表达阴性组短,差异有统计学意义($P<0.05$)。单因素 Log-rank 检验表示,Aurora-A、TACC3 阳性表达对患者生存率具有影响,相对危险度分别为 2.35、2.01。 **结论** Aurora-A 和 TACC3 蛋白参与胃癌细胞的发生、发展,可以作为胃癌恶性程度及预后的评价指标

关键词: Aurora-A; TACC3; 胃癌; 免疫组化

中图分类号: R735.2 **文献标识码:** B **文章编号:** 1006-3110(2016)10-1257-03 DOI:10.3969/j.issn.1006-3110.2016.10.035

胃癌是最常见的消化道肿瘤之一,发病机制仍有待研究。Aurora-A 是 Aurora 激酶家族中的成员,属于丝氨酸/苏氨酸激酶,除了参与细胞有丝分裂外,它们还参与多种生物学进程,目前研究表明 Aurora-A 参与肿瘤发生、发展,且被确认是新的癌基因^[1]。TACC3 蛋白是中心体主轴的组成蛋白,不仅可以影响细胞的有丝分裂,还可以调节染色体的稳定性^[2]。至今为止,Aurora-A 及 TACC3 是否与胃癌有关,是否影响胃癌的生物学行为,均未见相关报道。本文采用 SP 法检测不同胃黏膜组织中 Aurora-A 和 TACC3 的表达,并探讨与临床病理特征的关系。

1 材料与方法

1.1 组织标本与临床资料 标本取自长沙市中心医院 2010 年 7 月-2012 年 6 月间的手术切除标本或者胃镜活检标本。经 2 位高级职称的病理医师阅片,其中胃癌标本 50 例、异型增生标本 20 例,正常胃粘膜标本 24 例作为本研究的观察对象,胃癌均为手术标本,所有胃癌患者术前均未接受放疗、化疗或者生物治疗。收集临床资料,其中 34 例男性、16 例女性患者,年龄在 33~75 岁的区间,平均年龄 57.15 岁,按组织学分类,其中 13 例高分化腺癌、11 例中分化腺癌、23 例低分化腺癌(包括 5 例印戒细胞癌)、3 例未分化腺癌,确

定伴有淋巴结转移 36 例,术后随访时间 32~57 个月。

1.2 试剂与方法

1.2.1 主要试剂 一抗鼠抗人 Aurora-A 单克隆抗体(美国 Santa Cruz 公司),一抗 TACC3 多克隆抗体(EPitomics 公司),二抗、SP 免疫组化试剂盒、DAB 显色剂购自福州迈新公司。

1.2.2 免疫组化 免疫组织化学方法(SP 法)检测不同胃组织中 Aurora-A 及 TACC3 的表达。新鲜标本离体后 30 min 内在冰上分离,再固定,包埋,切片,脱蜡水化,灭活内源性过氧化物酶,抗原修复,滴加一抗(Aurora-A、TACC3),置于 4℃ 冰箱过夜;再滴加二抗,37℃ 恒温箱孵育 30 min,DAB 显色,苏木素复染,脱水,透明,封片,阴性对照组以 PBS 替代一抗。

1.2.3 免疫组化结果判定 Aurora-A 阳性呈棕黄色颗粒,分别细胞浆和细胞核表达。TACC3 阳性亦呈棕黄色颗粒,主要在细胞浆表达,在高倍镜下(400×)随机选 5 个视野,计算阳性细胞比率。阴性为 0 分,阳性率<25%计 1 分,阳性率 25%~50%计 2 分,51%~75%计 3 分,阳性率>75%计 4 分;染色强度评分标准:弱阳性计 1 分,中度阳性计 2 分,强阳性计 3 分,总分等于阳性率评分加染色强度评分,分别对 Aurora-A、TACC3 表达做半定量评判:总分在 0~3 分之间阴性,4~7 分之间为阳性。

1.2.4 统计学分析 采用 SPSS19.0 软件进行统计学分析。计数资料采用卡方检验,使用 Log-rank 检验、Cox 多因素分析,分析 Aurora-A、TACC3 的表达与胃癌

基金项目:湖南省医药卫生科研计划课题(C2011-015)

作者简介:曾亚(1963-),女,湖南泸溪人,主任医师,主要从事临床内科工作, E-mail: zengya2010@126.com。

生物学行为的关系, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 不同胃粘膜组织中 Aurora-A 及 TACC3 的表达

Aurora-A 阳性表达表现为细胞浆和细胞核内出现棕黄色或淡黄色颗粒改变(图 1 A、B、C),阴性对照未见棕黄色改变。正常胃粘膜组织中 Aurora-A 蛋白均为阴性;Aurora-A 蛋白在 20 例异型增生组织中阳性率 50.0%;而在胃癌组织中阳性率 74.00%,明显高于异型增生组织和正常胃粘膜组织($\chi^2=35.520,P=0.000$);而且从表 1 可见从正常胃粘膜组织→异型增

生→胃癌组织的过程中,Aurora-A 的阳性表达逐渐增加。TACC3 阳性表达为细胞浆和细胞核内出现棕黄色或淡黄色颗粒改变(图 1D、E、F),阴性对照未见棕黄色颗粒。正常胃粘膜组织中 TACC3 阳性率为 4.16%;TACC3 在异型增生组织阳性率为 40%;癌组织中阳性率为 64.00%,明显高于异型增生组织和正常组织($\chi^2=23.724,P=0.000$);而 TACC3 在异型增生组织的阳性率也明显高于正常粘膜,差异有统计学意义。从表 1 可见从正常胃粘膜组织→异型增生→胃癌组织的过程中,TACC3 的阳性表达逐渐增加。

表 1 不同胃粘膜组织中 Aurora-A、TACC3 的表达

组织	例数	Aurora-A		阳性表达率 (%)	TACC3		阳性表达率 (%)
		阳性	阴性		阳性	阴性	
正常胃粘膜	24	0	24	0.00	1	23	4.1
异型增生	20	10	10	50.00 [*]	8	12	40.0 [*]
胃癌	50	37	13	74.00 [#]	32	18	64.0 [#]

注:与正常胃粘膜组比较,* $P<0.01$;与非典型增生组比较,[#] $P<0.01$ 。

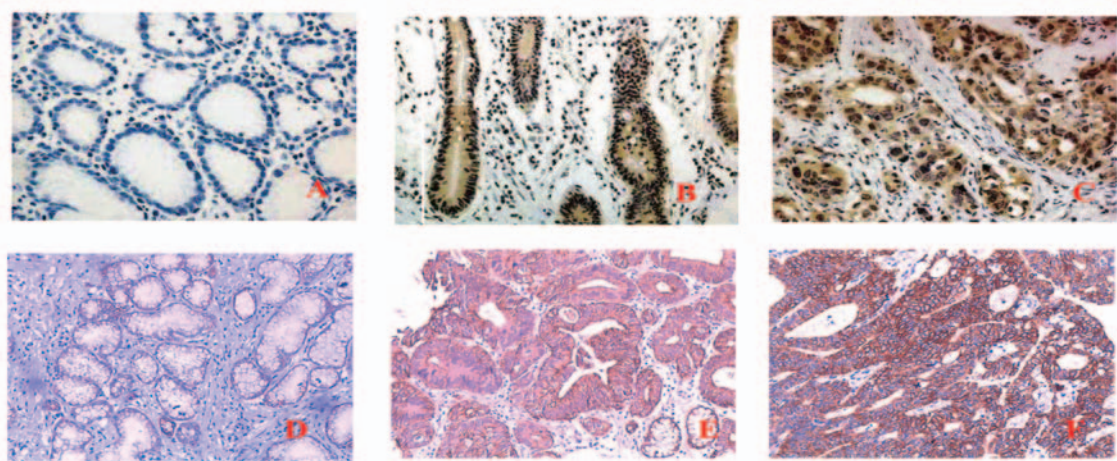


图 1 Aurora-A 及 TACC3 在各组胃粘膜的表达(SP 法,×200)

A. Aurora-A 在正常胃粘膜组织的表达;B. Aurora-A 在非典型增生组织的表达;C. Aurora-A 在胃癌组织的表达;D. TACC3 在正常胃粘膜组织的表达;E. TACC3 在非典型增生组织的表达;F. TACC3 在胃癌组织的表达

表 2 Aurora-A 及 TACC3 蛋白表达与胃癌临床病理特征的关系

临床特征	Aurora-A					TACC3				
	例数	阳性	阳性率(%)	χ^2 值	P 值	阳性	阳性率(%)	χ^2 值	P 值	
年龄(岁):<55	19	14	73.68	0.001	0.968	13	68.42	0.259	0.610	
≥55	31	23	74.19			19	61.29			
性别:男	34	25	73.52	0.012	0.919	22	64.70	0.023	0.879	
女	16	12	75.0			10	62.5			
期别:早期	8	4	50.0	2.851	0.091	3	37.5	2.902	0.088	
进展期	42	33	78.57			29	69.0			
分化程度:高分化	13	7	53.84	5.216	0.034	5	38.46	6.349	0.015	
中分化	11	8	72.72			7	63.6			
低分化	23	19	82.6			17	73.9			
未分化	3	3	100.0			3	100.0			
淋巴结转移:无转移	14	6	42.85	9.801	0.001	4	28.57	10.59	0.001	
有转移	36	31	86.11			28	77.78			

2.2 胃癌组织中 Aurora-A、TACC3 的表达与临床病理特征的关系 见表 2。Aurora-A 和 TACC3 在进展期胃癌中表达率分别为 78.57%、69%,在早期胃癌的

表达率分别为 50%、37.5%;分化程度越低,Aurora-A、TACC3 表达越高;有淋巴结转移的胃癌组织中 Aurora-A、TACC3 表达越强,因此 Aurora-A、TACC3 的阳性

表达与肿瘤的分化程度、是否伴有淋巴结转移显著相关,差异均有统计学意义($P<0.05$)。二种蛋白的表达在不同的年龄、不同性别的胃癌无差异性。

2.3 Aurora-A 与 TACC3 蛋白表达与预后的关系
分别对 50 例胃癌患者进行随访,持续时间为 32~57 月,中位时间为 28.81 月,其中 32 例死亡,Aurora-A 阴性患者中位生存时间为 40.98 月,Aurora-A 阳性中位生存时间为 25.96 月,阴性组中位生存期明显较阳性组高,TACC3 阴性中位生存时间为 41.45 月,TACC3 阳性中位生存时间为 26.85 月,提示 Aurora-A 及 TACC3 可以作为胃癌的负性预后因子。生存曲线分析显示 Aurora-A 及 TACC3 阳性的胃癌患者生存时间比表达阴性组短,差异有统计学意义($P<0.05$)。单因素 Log-rank 检验表示,Aurora-A、TACC3 阳性表达对患者生存率具有影响,差异有统计学意义($P<0.05$),Cox 回归多因素分析表明,多因素包括年龄、性别、胃癌浸润深度、分化程度、有无淋巴结转移、Aurora-A、TACC3 阳性表达,Aurora-A、TACC3 阳性,肿瘤浸润深度、淋巴结转移均可以作为影响胃癌预后的独立因素,见表 3。

表 3 临床病理参数与胃癌预后关系的
Cox 回归多因素分析结果

临床病理参数	Wald	P	相对危险度	95%可信区间
Aurora-A	5.12	0.021	2.35	1.06,6.06
TACC3	4.15	0.032	2.01	0.96,5.78
分化程度	0.49	0.821	0.92	0.40,2.01
浸润深度	4.92	0.027	2.27	1.01,5.94
淋巴转移	6.92	0.011	3.24	1.12,8.23

3 讨论

胃癌是消化道最常见的恶性肿瘤之一,也是导致死亡的主要原因之一。AuroraA 激酶家族属于丝/苏氨酸酶,目前研究表明它不仅参与中心体、纺锤体的调节、还在染色体的分离、有丝分裂过程中扮演重要的角色。同时也是维持基因组稳定性所必需的,研究发现,Aurora-A 在多种肿瘤中表达升高,如食管癌、结肠癌、宫颈癌、前列腺癌等^[3-5],因此它已被确认是一种的癌基因。TACC 主要功能,包括中心体处聚集,调控微管蛋白的组成,参与细胞的有丝分裂,维持染色体的稳定性,研究发现 TACC3 蛋白可能参与乳腺癌或妇科肿瘤的发生发展。TACC 是的 Aurora-A 下游底物分子之一,它可以被磷酸化酶磷酸化后,参与调节中心体、纺锤体、染色体或参与细胞骨架的构建^[6]。TACC3-ch-TOG 网格蛋白在癌细胞的发生发展中起着很重要的作用。这种蛋白主要活跃于有丝分裂纺锤体形成过程中,而纺锤体功能过于活跃则是细胞癌变的一个

主要原因。研究人员发现在癌症细胞中,这种网格蛋白与正常细胞有很大差别,一旦将这种蛋白阻断后,癌症细胞将无法正常分裂而走向死亡^[7]。研究通过研究胃癌组织中 Aurora-A 及 TACC3 的表达,揭示二种蛋白表达与临床病理关系。

本研究发现正常胃粘膜上皮细胞中 Aurora-A 为阴性,TACC3 表达很低,在异型增生组织中等表达,胃癌组织中阳性率最高,差异有统计学意义。目前研究 Aurora-A 及 TACC3 在胃癌中虽然阳性率高,但高表达的 Aurora-A 并不能引起所有肿瘤细胞系向恶性转化,提示 Aurora-A 和其他基因共同参与在恶性肿瘤的发生发展^[8]。本资料结果显示进展期胃癌、中低分化、伴有淋巴结转移的病例 Aurora-A、TACC3 表达阳性明显高于早期胃癌、高分化、无淋巴结转移的病例,差异有统计学意义,二种蛋白的表达在不同的年龄、不同性别的胃癌无差异性。说明 Aurora-A、TACC 蛋白不但参与胃癌的发生,而且还参与肿瘤的分化、侵袭及转移,具体机制有待于进一步研究。

单因素分析结果显示,Aurora-A 阳性组预后较 Aurora-A 阴性组预后差,TACC3 阳性组比 TACC3 阴性组预后差,多因素生存分析显示 Aurora-A、TACC3 为独立预后因素,这二种蛋白可以作为胃癌恶性程度及预后的评价指标,由于 Aurora-A 表达增加可以促进中心体扩增,染色体不稳定性增加,从而改变肿瘤细胞的生物学行为,获得更具有侵袭性的遗传表型,而肿瘤高侵袭性正是导致肿瘤预后不良的主要原因之一^[3,9-10],但是它们的具体作用机制还不是很明确,需要我们进一步研究。

参考文献

[1] Kelly KR, Ecsedy J, Mahalingam D, et al. Targeting aurora kinases in cancer treatment[J]. Curr Drug Targets, 2011,12(14):2067-2078.

[2] Hood FE, Royle SJ. Pulling it together: The mitotic function of TACC3[J]. Bioarchitecture, 2011,1(3):105-109.

[3] Do TV, Xiao F, Bickel L E, et al. Aurora kinase A mediates epithelial ovarian cancer cell migration and adhesion[J]. Oncogene, 2014,33(5):539-549.

[4] Mehra R, Serebriiskii IG, Burtneess B, et al. Aurora kinases in head and neck cancer[J]. Lancet Oncol, 2013,14(10):e425-e435.

[5] 张滩,王建,辛晓燕,等. Aurora-A 过表达与宫颈癌进展及预后的关系[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2012,28(4):280-283.

[6] Mahdipour M, Leitoguinho AR, Zacarias SR, et al. TACC3 is important for correct progression of meiosis in bovine oocytes[J]. PLoS One, 2015,10(7):e132591.

[7] Hood FE, Williams SJ, Burgess SG, et al. Coordination of adjacent domains mediates TACC3-ch-TOG-clathrin assembly and mitotic spindle binding[J]. J Cell Biol, 2013,202(3):463-478.

[8] Umene K, Yanokura M, Banno K, et al. Aurora kinase A has a significant role as a therapeutic target and clinical biomarker in endometrial cancer[J]. Int J Oncol, 2015,46(4):1498-1506.

[9] de Martino M, Shariat SF, Hofbauer SL, et al. Aurora A Kinase as a diagnostic urinary marker for urothelial bladder cancer[J]. World J Urol, 2015,33(1):105-110.

[10] 刘恩伊,钟美佐,刘巍,等. 青年胃癌的发病及临床病理特点[J]. 实用预防医学, 2010,17(3):544-546.