

· 肿瘤学研究 ·

高表达 ZNF692 是胃癌患者不良预后的预测因子

高其忠¹, 刘 芬², 高 翔³, 葛晓松^{3*}

¹江南大学附属医院胃肠外科, ²肿瘤研究所, ³肿瘤内科, 江苏 无锡 214062

[摘要] 目的:探讨锌指蛋白692(Zinc finger protein 692, ZNF692)是否可以作为胃癌患者不良预后的独立预测因子。方法:采用免疫组化染色法检测191例胃癌组织及其癌旁组织中ZNF692的表达水平。结果:ZNF692在胃癌组织中的表达显著高于癌旁组织。ZNF692高表达患者与ZNF692低表达患者的临床病理学特征差异无统计学意义($P > 0.05$)。ZNF692高表达患者总生存期(overall survival, OS)低于ZNF692低表达患者,差异有统计学意义($P = 0.000 1$)。ZNF692高表达患者平均生存期(30.1个月)短于ZNF692低表达患者(42.6个月),差异有统计学意义($P < 0.01$)。Cox多因素风险回归模型分析显示,ZNF692可以作为胃癌患者不良预后的独立预测因子。结论:高表达ZNF692是胃癌患者不良预后的预测因子之一。

[关键词] ZNF692; 胃癌; 预后

[中图分类号] R735.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2019)12-1747-04

doi: 10.7655/NYDXBNS20191208

High expression of ZNF692 is a predictor of poor prognosis in patients with gastric cancer

Gao Qizhong¹, Liu Fen², Gao Xiang³, Ge Xiaosong^{3*}

¹Department of Gastrointestinal Surgery, ²Oncology Institute, ³Department of Oncology, Affiliated Hospital of Jiangnan University, Wuxi 214062, China

[Abstract] **Objective:** This study aims to investigate whether Zinc finger protein 692 (ZNF692) can be used as an independent predictor of poor prognosis in patients with gastric cancer. **Methods:** Immunohistochemical (IHC) staining was used to detect the expression of ZNF692 in gastric cancer tissues and adjacent tissues of 191 cases. **Results:** The expression of ZNF692 in gastric cancer tissues was significantly higher than that in adjacent tissues. There was no significant difference in the clinicopathological features between patients with high ZNF692 expression and those with low ZNF692 expression ($P > 0.05$). However, overall survival (OS) of patients with ZNF692 high expression was significantly shorter than that of patients with ZNF692 low expression ($P = 0.000 1$). The mean survival time of patients with ZNF692 high expression (30.1 months) was significantly shorter than that of patients with ZNF692 low expression (42.6 months) ($P < 0.01$). Cox multivariate risk regression model analysis showed that ZNF692 could be used as an independent predictor of poor prognosis in patients with gastric cancer. **Conclusion:** High expression of ZNF692 is one of poor prognosis predictors in patients with gastric cancer.

[Key words] ZNF692; gastric cancer; prognosis

[J Nanjing Med Univ, 2019, 39(12):1747-1750]

胃癌是全世界高发肿瘤之一,其高发病率和死亡率已分别跃居癌症相关第4位和第2位^[1-2]。我国每年新增近68万胃癌患者,而且,全世界近一半的

[基金项目] 国家自然科学基金青年项目(81502042);无锡市“科教强卫工程”-无锡市医学重点人才(ZDRC008);无锡市卫计委卫生科研项目(Q201731)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: 85410328@qq.com

胃癌病例发生在我国^[3]。据最新统计,我国年龄标准化的胃癌死亡率农村地区由2003年的31.5人/10万人降至2015年的20.9人/10万人,城市地区由2003年的18.9人/10万人降至2015年14.5人/10万人^[4]。尽管年龄标准化的死亡率有了显著下降,但年龄标准化的胃癌5年生存率仅为27.4%^[4-5],究其原因,超过80%的病例在诊断时就已经是胃癌晚期^[6]。因此,

寻找可以诊断胃癌恶性肿瘤的标志分子和预测患者存活的预后预测因子十分重要。ZNF692(zinc finger protein 692, ZNF692)是新近发现的一种肿瘤相关基因^[7-9],但是ZNF692蛋白表达与胃癌预后和生存的相关性未见报道。本文借助免疫组织化学染色法,探讨了ZNF692是否可以作为胃癌患者预后的独立预测因子。

1 材料和方法

1.1 材料

纳入2013年12月31日—2014年12月30日在江南大学附属医院(无锡市第四人民医院)进行根治性手术的191例胃癌手术标本。其中,男156例,女35例;年龄34~84岁,中位年龄65岁;高/中分化腺癌143例,中低/低分化腺癌143例;TNM I期~II期25例,III期~IV期166例;N0 61例,N1-2-3 130例。病例纳入标准:①原发灶标本为胃癌,所有标本术后均经2名病理医师复核证实;②术前未接受放、化疗;③有完整的临床、病理和随访资料;④死亡原因仅为肿瘤复发或转移。本研究经本院医学伦理委员会批准,所有患者知情同意。

ZNF692多克隆抗体(Cat:bs-4360R,北京博奥森生物技术有限公司),GTVesionTM III抗鼠/兔通用型免疫组化检测试剂盒(GK500705,上海基因科技股份有限公司),组织芯片空白蜡块(UNITMA Quick-Ray UB06-1,韩国)。

1.2 方法

1.2.1 免疫组化法检测结肠癌组织中ZNF692蛋白表达

采用组织芯片制作机细针打孔的方法,从191例胃癌组织及癌旁组织蜡块中分别采集癌组织或者癌旁组织,制成组织芯片蜡块。对组织芯片蜡块进行切片,再将切片转移到载玻片上制成组织芯片。组织芯片切片行免疫组化染色。具体步骤如下:常规脱蜡水化;0.01 mol/L柠檬酸钠缓冲液(pH6.0)进行热修复10 min;3%双氧水室温孵育15 min,以阻断内源性过氧化物酶的活性;滴加ZNF692单克隆抗体,工作浓度1:600,4℃过夜,PBS冲洗3次,每次3 min;滴加A液,室温孵育30 min,PBS冲洗;滴加新鲜配制的DAB工作液,室温孵育5~10 min;苏木素复染;无水乙醇脱水封片。以PBS液替代一抗或二抗作为阴性对照。

1.2.2 染色结果判断

ZNF692阳性定位于细胞核。按染色强度评分:

无(0分)、弱(1分)、中(2分)和强(3分);按阳性细胞比例评分:<1%(1分)、1%~10%(1分)、10%~33%(3分)、33%~67%(4分)、>67%(5分)。总体评分值=染色强度+阳性细胞比例评分,评分≤2分判为低表达>2分判为高表达。结果由病理科2位医师独立双盲法读片评定。

1.2.3 随访

对全部患者进行术后定期随访,记录其完整的临床相关资料,随访截止日期为2018年10月31日,以此计算截尾数据。

1.3 统计学方法

计数资料采用 χ^2 检验,生存分析应用SPSS16.0统计软件包进行统计学处理,采用Kaplan-Meier方法分析并绘制生存曲线,并采用Log-rank检验方法,影响生存的多因素分析采用Cox回归方法。 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ZNF692在胃癌组织中的表达

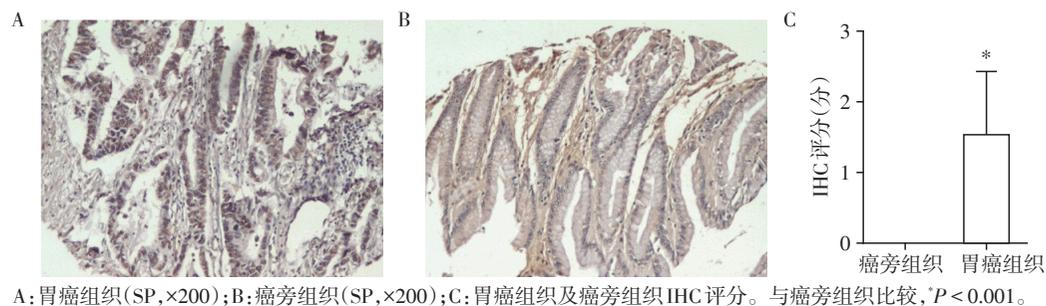
采用IHC方法检测ZNF692蛋白在胃癌组织及癌旁组织中的表达情况。结果显示,191例胃癌组织中,ZNF692蛋白阳性153例,阳性率为80.1%;癌旁组织均不表达ZNF692蛋白;胃癌组织ZNF692阳性评分 $[(1.524 \pm 0.178)$ 分]显著高于癌旁组织评分(图1)。

2.2 胃癌组织ZNF692表达与病理特征的关系

进一步分析了ZNF692表达与胃癌患者临床病理特征的关系。结果发现,ZNF692低表达患者与ZNF692高表达患者在性别、年龄、TNM分期、神经和/或脉管侵犯、分化程度、HER2表达高低、肿瘤细胞增殖状态(Ki67)等各方面均无显著性差异($P > 0.05$,表1)。

2.3 ZNF692表达与患者的生存分析

Kaplan-Meier生存曲线显示,ZNF692高表达患者($n=91$)总生存期(overall survival, OS)低于ZNF692低表达患者($n=100$),差异有统计学意义($P=0.0001$,图2)。ZNF692高表达患者平均生存期30.1个月,ZNF692低表达患者平均生存期42.6个月,差异有统计学意义($P < 0.01$)。进一步利用Cox风险回归模型分析了ZNF692蛋白表达是否可以作为胃癌患者预后的独立预测因子。单变量分析显示,ZNF692表达、年龄、淋巴结转移、M分期与胃癌患者预后显著相关;多变量分析显示,ZNF692表达、年龄、淋巴结转移、M分期和分化程度是胃癌患者预后的独立预测因子(表2)。



A: 胃癌组织(SP,×200);B: 癌旁组织(SP,×200);C: 胃癌组织及癌旁组织IHC评分。与癌旁组织比较,* $P < 0.001$ 。

图1 胃癌组织及癌旁组织中ZNF692的表达

Figure 1 Expression of ZNF692 in gastric cancer tissues and adjacent tissues

表1 ZNF692表达与患者临床病理特征的相关性

Table 1 Correlation between ZNF692 expression and clinicopathological features of patients [n(%)]

临床特征	例数	ZNF692表达		χ^2 值	P值
		低	高		
性别				0.01	0.90
男	156	82(52.6)	74(47.4)		
女	35	18(51.4)	17(48.6)		
年龄				0.23	0.36
< 65岁	80	45(56.3)	35(43.7)		
≥65岁	111	55(49.5)	56(50.5)		
神经和/或脉管侵犯				0.32	0.99
无	44	23(52.3)	21(47.7)		
有	147	77(52.4)	70(47.6)		
T分期				0.31	0.97
T1~T2	25	13(52.0)	12(48.0)		
T3~T4	166	87(52.4)	79(47.6)		
N分期				1.00	0.77
N0	61	31(50.8)	30(49.2)		
N1-2-3	130	69(53.1)	61(46.9)		
M分期				0.13	0.88
M0	180	94(52.2)	86(47.8)		
M1	11	6(54.5)	5(45.5)		
分化程度				1.32	0.77
中低/低	143	74(51.7)	69(48.3)		
中/高	48	26(54.2)	22(45.8)		
HER2高低				3.66	0.06
0~1	148	83(56.1)	65(43.9)		
2~3	43	17(39.5)	26(60.5)		
Ki67				2.19	0.44
< 50%	18	11(61.1)	7(38.9)		
≥50%	171	88(51.5)	83(48.5)		

3 讨论

ZNF692也称为AREBP和Zfp692,其编码基因位于1号染色体长臂44基因座,可转录产生长2

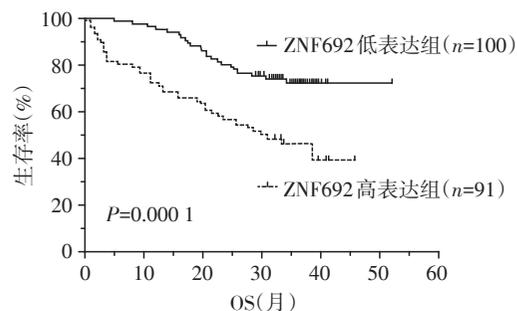


图2 Kaplan-Meier生存曲线

Figure 2 Kaplan-Meier survival curve

208 bp的成熟mRNA,并最终翻译成包含524个氨基酸的ZNF692蛋白。早期研究显示,在体内,被AMPK磷酸化后的AREBP(ZNF692)是调节肝葡萄糖生成的关键调节因子^[10];过表达AREBP可抑制动物中的糖异生基因表达,表明AREBP在糖异生中起重要作用^[11]。

近年来,越来越多的证据表明,ZNF692具有癌基因特性。ZNF692在肠腺癌组织中高表达,并且肠腺癌组织中高表达ZNF692与患者肿瘤分期、淋巴结转移和远处转移显著相关^[7]。宫颈癌组织芯片IHC结果发现,ZNF692在宫颈癌组织中高表达,其高表达与患者不良临床病理特征相关^[8]。肺腺癌组织芯片IHC结果也发现,ZNF692在肺腺癌组织中表达水平显著高于癌旁组织,并可以作为肺腺癌患者预后差的独立预测因子^[9]。一项利用UALCAN数据库公开数据的分析显示^[12],ZNF692在14种恶性肿瘤中过表达。但是,ZNF692在胃癌中的作用及其与胃癌患者预后的关系,还有待深入研究。

本研究首次发现,胃癌组织中ZNF692蛋白过表达虽然ZNF692蛋白表达水平与胃癌患者临床病理特征之间无显著性关系,但是,ZNF692高表达患者(n=91)OS低于ZNF692低表达患者(n=100),差异有统计学意义(P=0.0001);ZNF692高表达患者平均生存期30.1个月,ZNF692低表达患者平均生存期

表2 单变量和多变量Cox回归胃癌预后预测因子分析

Table 2 Univariate and multivariate Cox regression analysis of predictor for prognosis in patients with gastric cancer

危险因素	单因素分析			多因素分析		
	HR	P值	95% CI	HR	P值	95% CI
ZNF692 表达(低/高)	2.67	<0.001	1.60~4.45	2.80	<0.001	1.63~4.81
年龄(<65岁/≥65岁)	1.94	0.017	1.12~3.35	1.78	0.048	1.00~3.14
性别(男/女)	0.71	0.339	0.35~1.44	0.86	0.685	0.42~1.78
局部浸润(T1~2/T3~4)	1.83	0.193	0.74~4.57	1.00	0.990	0.36~2.81
淋巴结转移(N0/N1-2-3)	2.34	0.008	1.25~4.39	1.96	0.046	1.01~3.79
神经和/或脉管侵犯(无/有)	1.81	0.085	0.92~3.56	1.42	0.360	0.68~2.96
分化程度(低~中低/中~中高)	0.54	0.056	0.29~1.02	0.48	0.039	0.24~0.96
HER2 表达(0~1/2~3)	0.87	0.663	0.48~1.61	0.76	0.399	0.40~1.44
Ki67(<50%/≥50%)	1.15	0.687	0.59~2.26	0.94	0.896	0.40~2.25
M分期(M0/M1)	3.87	0.001	1.75~8.56	6.20	<0.001	2.59~14.81

42.6个月,差异有统计学意义($P < 0.01$)。Cox 风险回归模型分析显示,ZNF692 表达、年龄、淋巴结转移、M分期和分化程度是胃癌患者预后的独立预测因子。

总之,本文通过 ICH 方法检测胃癌组织及癌旁组织中 ZNF692 蛋白的表达,并结合患者临床病理特征及随访患者预后情况,提示高表达 ZNF692 是胃癌不良预后的独立预测因子。

[参考文献]

- [1] 崔鹤,居晓斌,叶琴,等.长链非编码RNA BANC1在胃癌中表达及其对胃癌细胞迁移、侵袭的影响[J].南京医科大学学报(自然科学版),2018,38(12):1674-1678
- [2] 王东平,许淑华,潘志鹏,等.手辅助腹腔镜胃癌根治性全胃切除术的价值评估[J].南京医科大学学报(自然科学版),2018,38(12):1760-1761
- [3] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. CA: Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132
- [4] Gao K, Wu J. National trend of gastric cancer mortality in China(2003-2015): a population-based study [J]. Cancer commun, 2019, 39(1): 24
- [5] Zeng H, Zheng R, Guo Y, et al. Cancer survival in China, 2003-2005: a population-based study [J]. INT J Cancer, 2015, 136(8): 1921-1930
- [6] Zong L, Abe M, Seto Y, et al. The challenge of screening for early gastric cancer in China [J]. Lancet, 2016, 388(10060): 2606
- [7] Xing Y, Ren S, Ai L, et al. ZNF692 promotes colon adenocarcinoma cell growth and metastasis by activating the PI3K/AKT pathway [J]. INT J Oncol, 2019, 54(5): 1691-1703
- [8] Zhu B, Pan Y, Zheng X, et al. A clinical, biologic and mechanistic analysis of the role of ZNF692 in cervical cancer [J]. Gynecol Oncol, 2019, 152(2): 396-407
- [9] Zhang Q, Zheng X, Sun Q, et al. ZNF692 promotes proliferation and cell mobility in lung adenocarcinoma [J]. Biochem Bioph Res Co, 2017, 490(4): 1189-1196
- [10] Shirai T, Inoue E, Ishimi Y, et al. AICAR response element binding protein (AREBP), a key modulator of hepatic glucose production regulated by AMPK *in vivo* [J]. Biochem Bioph Res Co, 2011, 414(2): 287-291
- [11] Shirai T, Tanioka Y, Furusho T, et al. A Nuclear factor involved in transcriptional regulation of the AREBP Gene [J]. J Nutr Sci Vitaminol, 2017, 63(6): 430-432
- [12] Chandrashekar DS, Bashel B, Balasubramanya SAH, et al. UALCAN: A portal for facilitating tumor subgroup gene expression and survival analyses [J]. Neoplasia, 2017, 19(8): 649-658

[收稿日期] 2019-06-07