

TARDBP 在胃腺癌组织中的表达及其临床意义

李尚或¹, 曹石², 陈琳³

(1. 山西师范大学生命科学学院, 山西临汾 041000; 2. 兰州大学第一医院病理科, 兰州 730000;

3. 陕西省人民医院病理科, 西安 710068)

摘要:目的 检测 TAR DNA 结合蛋白 (transactive response DNA-binding protein, TARDBP) 在胃腺癌组织中的表达, 分析其表达与胃腺癌患者临床病理特征之间的关系。方法 选取 2017 年 1 月~2018 年 1 月陕西省人民医院确诊的 49 例胃腺癌、19 例癌旁组织及 19 例正常胃组织作为研究对象, 采用免疫组织化学 (SP) 法检测 TARDBP 的表达, 并探讨 TARDBP 表达与胃腺癌患者临床病理特征之间的关系。结果 TARDBP 的着色部位在细胞核, 其在胃腺癌组织中的表达率为 89.80% (44/49), 在胃腺癌癌旁组织中的表达率为 68.42% (13/19), 在胃正常黏膜组织中的表达率为 26.32% (5/19)。TARDBP 蛋白在胃腺癌及癌旁组织中的表达均显著高于胃正常黏膜组织, 其差异均具有统计学意义 ($\chi^2=6.756 \sim 27.400$, 均 $P < 0.05$); TARDBP 在胃腺癌中的表达高于癌旁组织, 但其差异无统计学意义 ($\chi^2=3.171$, $P > 0.05$); TARDBP 在胃腺癌组织中的表达与患者性别、年龄、肿瘤的分化程度、肿瘤大小、淋巴结转移和临床分期均无相关性 ($\chi^2=0.000 \sim 0.762$, 均 $P > 0.05$)。结论 TARDBP 在胃腺癌组织和癌旁组织中可高表达, TARDBP 表达失调可能与胃腺癌的发生、进展存在一定的相关性。

关键词: 胃腺癌; TAR DNA 结合蛋白; 免疫组织化学

中图分类号: R735.2; R730.43 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2022) 03-124-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2022.03.026

Expression of TARDBP in Gastric Adenocarcinoma and Its Clinical Significance

LI Shang-yu¹, CAO Shi², CHEN Lin³

(1. School of Life Sciences, Shanxi Normal University, Shanxi Linfen 041000, China; 2. Department of Pathology, the First Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730000, China; 3. Department of Pathology, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an 710068, China)

Abstract: Objective To detect the expression of TARDBP in gastric adenocarcinoma tissues and analyse the relationship between TARDBP expression and clinicopathological features of gastric adenocarcinoma patients. **Methods** A total of 49 cases of gastric adenocarcinoma, 19 cases of paracancer tissues and 19 cases of normal gastric mucosal tissues diagnosed in Shaanxi Provincial People's Hospital from January 2017 to January 2018 were selected as research subjects. The expression of TARDBP was detected by immunohistochemistry (SP) method using method, and the relationship between TARDBP expression and clinicopathological characteristics of gastric adenocarcinoma patients was investigated. **Results** The expression of TARDBP protein in gastric adenocarcinoma (89.80%, 44/49) and adjacent tissues (68.42%, 13/19) was significantly higher than that in normal gastric mucosal tissues (26.32%, 5/19), and the differences were statistically significant ($\chi^2=6.756 \sim 27.400$, all $P < 0.05$). The expression of TARDBP in gastric adenocarcinoma was higher than that in adjacent tissues, but the difference was not statistically significant ($\chi^2=3.171$, $P > 0.05$). There was no correlation between TARDBP expression in gastric adenocarcinoma and gender, age, tumor differentiation, tumor size, lymph node metastasis and clinical stage ($\chi^2=0.000 \sim 0.762$, all $P > 0.05$). **Conclusion** TARDBP was highly expressed in gastric adenocarcinoma tissues, and the dysregulation of TARDBP expression may be related to the occurrence and progression of gastric adenocarcinoma.

Keywords: gastric adenocarcinoma; transactive response DNA-binding protein; immunohistochemistry

胃癌是消化道常见的恶性肿瘤, 位居肿瘤死亡率第 2 位^[1]。胃癌的发生与多种因素有关, 包括环境因素、幽门螺杆菌感染、遗传因素、饮食习惯等。近年来, 胃癌发生的分子机制及靶向治疗已取得了

一定的进展^[2]。然而, 部分胃癌的病因及发病机制还不清楚, 探索和研究新的分子靶点对胃癌精准诊疗可能有所帮助。

TAR DNA 结合蛋白 (transactive response DNA-

作者简介: 李尚或 (1998-), 女, 硕士在读, 主要从事肿瘤生物学研究, E-mail: 374425797@qq.com。

通讯作者: 陈琳, 主治医师, 主要从事肿瘤病理学研究, E-mail: chenlin_sxph@qq.com。

binding protein, TARDBP), 又称 TDP-43, 是由 TARDBP 基因编码的一种高度保守的核蛋白, 其基因位于人类染色体 1p36.2^[3]。TARDBP 作为一种核蛋白在人体多种正常组织中可表达。研究发现, TARDBP 在多种神经退行性疾病(例如阿尔兹海默病、额颞叶变性、肌萎缩侧索硬化症)中可能起重要的作用^[4]。研究还显示, TARDBP 在人类肿瘤发生中可能起重要作用, 其在肝癌、白血病等少数肿瘤中表达, 可能会成为肿瘤诊疗的分子标志物。目前关于 TARDBP 在胃腺癌中的表达尚未见报道, 因此, 我们通过免疫组织化学(SP)法研究了 TARDBP 在胃腺癌组织、癌旁组织和正常胃黏膜组织中的表达, 以期对胃癌的诊疗提供帮助。

1 材料与方法

1.1 研究对象 收集 2017 年 1 月~2018 年 1 月陕西省人民医院病理科确诊的 49 例胃腺癌组织作为实验组, 19 例胃癌旁组织(距离肿瘤边缘 2cm 的组织被定义为癌旁组织)和 19 例正常胃黏膜组织作为对照组。患者均接受胃癌根治性手术切除, 病理诊断为胃腺癌且所有病理切片均由有经验的病理医师复核, 术前均未接受放疗、化疗等。收集病人的临床病理资料, 包括患者年龄、性别、肿瘤大小、肿瘤分化程度、淋巴结转移和临床分期; 49 例胃腺癌中男性 42 例, 女性 7 例; 年龄 42~76(62)岁; 肿瘤 > 3cm 者 33 例, ≤ 3cm 者 16 例; 分化程度中高中分化者 19 例, 低分化者 30 例; 有淋巴结转移者 28 例, 无淋巴结转移者 21 例; 临床分期 I~II 者 21 例, III~IV 者 28 例。

1.2 仪器与试剂 兔抗人单克隆抗体 TARDBP(克隆号: EPR5810) 购自美国 Abcam 公司, 按 1:150 比例稀释抗体, 二抗试剂盒、DAB 等试剂均购自中国福州迈新生物技术开发有限公司。

1.3 方法

1.3.1 免疫组织化学检测: 所有胃癌组织、癌旁组织及正常胃黏膜组织标本均以 10g/dl 的福尔马林固定, 石蜡包埋。本研究采用免疫组织化学(SP)染色法, 免疫组织化学(SP)染色法具体操作步骤参照说明书, 用 PBS 代替一抗作为阴性对照。

1.3.2 免疫组织化学(SP)法结果判读: TARDBP 蛋白着色部位在细胞核, 免疫组织化学判读采用半定量计分法。依据染色强度和染色细胞的百分比评分, 其具体为: ①按阳性细胞所占百分比记分为: 阴性为 0 分, 阳性细胞数 ≤ 10% 为 1 分, 10%~30% 为 2 分, ≥ 30% 为 3 分。②按染色强度计分为: 无阳性染色为 0 分, 弱染色为 1 分, 中等染色为 2 分, 强染色为 3 分。两项得分结果相乘: 总分 < 3 分为阴性, 总分 ≥ 3 分为阳性。

1.4 统计学分析 采用 SPSS 20 软件进行统计学分析, 计数资料通过 χ^2 检验或 Fisher 精确概率法检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 TARDBP 在胃腺癌组织、癌旁组织及正常胃黏膜组织中的表达 见图 1。本研究应用免疫组织化学(SP)染色法研究了 TARDBP 在胃腺癌组织、癌旁组织和正常胃黏膜组织中的表达。研究结果显示, TARDBP 的着色部位在细胞核(图 1B, C, D), 其在胃腺癌组织中可高表达(89.80%, 44/49, 图 1B), 在胃腺癌癌旁组织中可高表达(68.42%, 13/19, 图 1D), 在胃正常黏膜组织中低表达(26.32%, 5/19, 图 1E)。TARDBP 在胃腺癌组织中的表达高于癌旁组织中的表达, 但其差异无统计学意义($\chi^2=3.171$, $P > 0.05$); TARDBP 在胃腺癌组织及癌旁组织中的表达均显著高于正常胃黏膜组织中的表达, 差异具有统计学意义($\chi^2=27.400$, 6.756, 均 $P < 0.05$)。

2.2 TARDBP 在胃腺癌中的表达与临床病理特征的关系 见表 1。TARDBP 在胃腺癌中的表达与患者性别、年龄、肿瘤分化程度、肿瘤大小、淋巴结转移和临床分期均无相关性, 其差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$,)。

表 1 TARDBP 在胃癌中的表达与临床病理特征之间的关系

类别	TARDBP 表达		χ^2	P
	阳性	阴性		
年龄(岁)	≤ 60	18	2	0.000 1.000
	> 60	26	3	
性别	男	38	4	a 0.055
	女	6	1	
分化程度	高中分化	17	2	0.000 1.000
	低分化	27	3	
淋巴结转移	有	26	2	0.116 0.733
	无	18	3	
肿瘤大小(cm)	≤ 3	13	3	0.762 0.383
	> 3	31	2	
临床分期	I~II	18	3	0.453 0.501
	III~IV	26	2	

注: a 为 Fisher 的精确检验, 无卡方值。

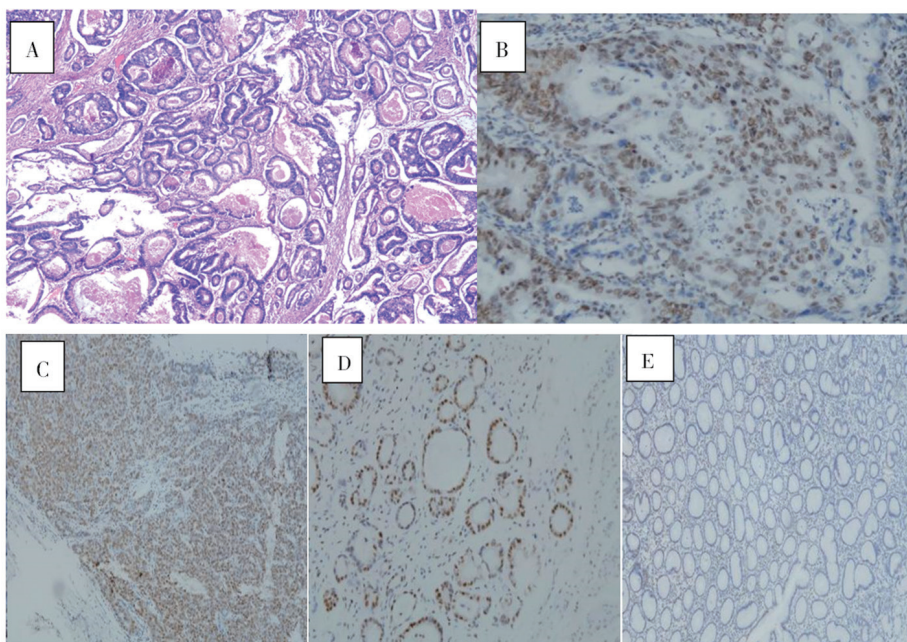
3 讨论

TAR DNA 结合蛋白(TARDBP)是由 TARDBP 基因编码的一种高度保守的核蛋白, 其基因位于人类染色体 1p36.2^[3]。TARDBP 分子量为 43kDa, 含 414 个氨基酸残基^[3]。TARDBP 含有两个 RNA 识别基序、一个核定位序列、一个核输出信号和一个富含甘氨酸的 C-末端, 而在其 C 端发现了许多引起人类疾病的肌萎缩侧索硬化症突变^[5]。TARDBP

的表达谱较广泛,在多种人体正常组织中可表达,包括胰腺组织、脾脏组织、胎盘组织、卵巢组织、睾丸组织、肺组织、前列腺组织、小肠组织、肾脏组织、结肠组织、胸腺组织和脑组织等^[6-7]。

TARDBP在RNA的代谢中起多种作用,包括转录、剪接、mRNA的转运以及microRNA的生物合成^[8]。TARDBP不同于其他调节保守外显子剪接的RNA结合蛋白,而是抑制了非保守外显子的剪接,并且在肌萎缩侧索硬化症-额颞叶变性病例中这个过程受到了损害。研究发现,TARDBP还参与了miRNA的生物合成,下调的TARDBP表

达水平或存在突变的TARDBP损害了细胞模型中miRNA的生物合成。NEUMANN等^[9]研究发现,TARDBP是额颞叶痴呆患者大脑中泛素不溶性聚集物的组成部分。后来研究发现,TARDBP在多种神经退行性疾病,例如阿尔兹海默病、额颞叶变性、肌萎缩侧索硬化症中都起重要的作用^[4]。有研究报道,TARDBP存在于睾丸的生殖细胞、支持细胞和间质干细胞的细胞核,参与睾丸组织中基因表达的调控,其异常表达可影响男性生育能力,导致男性不育^[10]。因此,TARDBP在RNA的代谢和男性生育中可能具有重要的作用。



注: A. 胃腺癌 HE 染色(中倍放大); B. TARDBP 在胃腺癌(中分化)中表达(免疫组织化学 SP 法,中倍放大); C. TARDBP 在胃腺癌(低分化)中表达(免疫组织化学 SP 法,中倍放大); D. TARDBP 在胃癌旁组织中表达(SP 法免疫组织化学,中倍放大); E. TARDBP 在正常胃黏膜组织中不表达(免疫组织化学 SP 法,中倍放大)。

图1 TARDBP在胃腺癌组织、癌旁组织及正常胃黏膜组织中的表达

研究发现,TARDBP的表达在白血病中有明显的改变,而TARDBP与尤因肉瘤的易感性有显著的相关性^[11-12]。PARK等^[13]研究发现,TARDBP是肝细胞癌细胞糖酵解的调节因子,其抑制了microRNA 520的表达,进而抑制了磷酸果糖激酶血小亚型的表达,从而调节肝细胞癌细胞糖酵解,并且其在肝细胞癌中的表达与肝细胞癌患者的总生存率显著相关(高表达患者的生存率明显较低)。CHEN等^[14]研究发现TARDBP调节肿瘤相关的microRNA,结果显示TARDBP可能通过调节miR-423-3p促进肺癌细胞的迁移,miR-500a-3p的表达降低与肺癌患者的不良生存相关,表明TARDBP可能通过调节miR-500a-3p对癌症具有抑制作用,TARDBP调节的miRNA可能在癌症的发病机制中发挥多方面的作用。因此,TARDBP可能在肿瘤的发生、发展中具有一定的关联。

关于TARDBP在其他恶性肿瘤(包括胃腺癌)中的表达鲜有报道。我们通过免疫组织化学(SP)染色法研究了TARDBP在胃腺癌组织、癌旁组织和正常胃黏膜组织中的表达。研究发现TARDBP在胃腺癌及癌旁组织中的表达均显著高于正常胃黏膜组织中的表达;TARDBP在胃腺癌中的表达高于癌旁组织中的表达。TARDBP在胃癌及癌旁组织均高表达,并且显著高于正常胃黏膜组织,提示TARDBP蛋白可能在胃腺癌的发生中起到了一定作用。有研究报道,代谢综合征和胃癌的发生有关^[15-16],而TARDBP在细胞代谢中发挥重要作用,包括葡萄糖代谢和脂质代谢^[17-18]。因此,TARDBP可能通过细胞代谢途径对胃癌发生、进展起一定作用,当然还需进一步研究。我们分析了TARDBP在胃癌中的表达与患者性别、年龄、分化程度、肿瘤大小、淋巴结转移、临床分期的相关性,但(下转第148页)