

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.31.010

HOXA13 基因在胃癌中的表达及其临床意义

方美玲¹,寇继光²,万远太^{1△}
(1. 武汉科技大学附属天佑医院消化内科,武汉 430000;2. 武汉科技大学附属
孝感市中心医院消化内科,湖北孝感 432000)

[摘要] **目的** 探讨同源盒基因(HOX)A13 在胃腺癌中的表达及其与临床病理及预后的关系。**方法** 选择武汉科技大学附属孝感市中心医院 2011 年 12 月至 2017 年 6 月经手术治疗的胃癌患者 66 例(胃癌组);胃镜活检为正常胃黏膜组织 20 份(对照组)及胃癌癌前病变(上皮内瘤变)组织 20 份(癌前组)。运用免疫组织化学染色检测各组胃黏膜组织中 HOXA13 及 Ki-67 蛋白的表达。**结果** HOXA13 基因在对照组、癌前组和胃癌组的阳性表达率分别为 5.00%、30.00%和 74.24%,3 组比较差异有统计学意义($P<0.01$)。HOXA13 表达与患者性别、年龄、肿瘤大小及分化程度无明显相关性($P>0.05$);与胃腺癌的 T、N 分期及国际抗癌联盟(UICC)分期具有相关性($P<0.05$);HOXA13 基因表达与 Ki-67 表达具有相关性($r=0.472, P<0.01$)。**结论** HOXA13 表达增高可能是胃腺癌早期诊断及预后不良的重要指标。

[关键词] 基因,同源盒;Ki-67 抗原;胃腺癌;免疫组织化学
[中图法分类号] R573.9 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2018)31-4003-03

Expression of HOXA13 gene in gastric cancer and its clinical significance
FANG Meiling¹, KOU Jiguang², WAN Yuantai^{1△}
(1. Department of Gastroenterology, the Affiliated Tian You Hospital of Wuhan University of Science and Technology, Wuhan, Hubei 430000, China; 2. Department of Gastroenterology, the Central Hospital of Xiaogan Affiliated to Wuhan University of Science and Technology, Xiaogan, Hubei 432000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the expression of homeoboxgene (HOX)A13 in gastric adenocarcinoma and its relationship with clinical pathology and prognosis. **Methods** Collected 66 patients with gastric cancer (the gastric cancer group) who underwent surgery from December 2011 to June 2017 in the Central Hospital of Xiaogan, 20 cases of normal gastric mucosa tissues (the control group) and 20 cases of precancerous lesions of gastric cancer (intraepithelial neoplasia, the precancerous group). Immunohistochemical staining was used to detect the expression of HOXA13 protein and Ki-67 protein. **Results** The positive expression rates of HOXA13 gene in the control group, the precancerous group and the gastric cancer group were respectively 5.00%, 30.00% and 74.24%, the difference was statistically significant ($P<0.01$). There was no significant correlation between HOXA13 and gender, age, tumor size and differentiation ($P>0.05$); there was significant correlation between HOXA13 and T, N staging and UICC staging ($P<0.05$); the expression of HOXA13 gene and Ki-67 had correlation ($r=0.472, P<0.01$). **Conclusion** Increased expression of HOXA13 may be an important indicator for early diagnosis and poor prognosis of gastric adenocarcinoma.
[Key words] genes, homeobox; Ki-67 antigen; gastric adenocarcinoma; immunohistochemistry

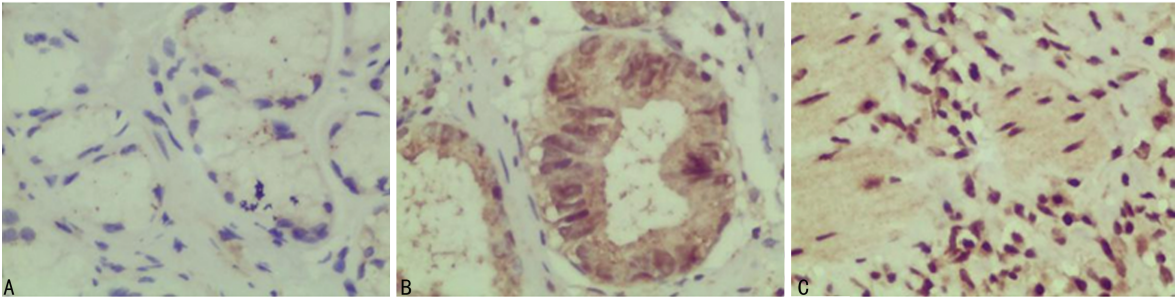
胃癌发病率居消化道恶性肿瘤首位,但胃癌早期病变多呈隐匿性经过,缺乏特异性,当临床症状明显时,多已进展到中晚期^[1]。一直以来,人们对肿瘤标志物进行不断的研究,寻找一种新的简单、快捷、灵敏、便于动态监测的肿瘤标志物,对协助早期诊断及预后判断具有临床指导意义。同源盒基因(homeobox-gene, HOX)A13 异常表达及表达产物在多种肿瘤性疾病中可能具有诊断和判断疾病预后的重要意义^[2]。文献报道,HOXA13 与肝癌、胰腺癌、食管鳞癌、卵巢癌等恶性肿瘤均具有较好的相关性^[3-7],但与胃癌之

间的关系甚少涉及。本研究采用免疫组织化学(IHC)染色法检测 HOXA13 在胃腺癌中的表达情况,旨在通过分析 HOXA13 蛋白与胃腺癌各临床病理因素及预后之间的关系。为判断 HOXA13 基因能否作为一种具有价值的肿瘤分子标记物提供证据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集武汉科技大学附属孝感市中心医院普外科 2011 年 12 月至 2017 年 6 月经手术治疗的胃癌患者的临床病例资料,选择病检结果为胃腺癌的 66 份石蜡包埋组织标本(胃癌组),所有患者术前均



A:对照组;B:癌前组;C:胃癌组

图 1 各组标本组织中 HOXA13 蛋白表达(IHC,×400)

行胃镜检查且未接受放化疗及其他辅助治疗,术后病检结果符合美国癌症联合会(AJCC)与国际抗癌联盟(UICC)临床分期标准。另选择胃内窥镜黏膜下剥离术(ESD)术后病检为胃癌癌前病变组织(上皮内瘤变)20份(癌前组)、胃镜下活检为正常胃黏膜组织20份(对照组)的石蜡包埋组织标本。临床病例资料及随访资料完整。

1.2 方法

1.2.1 IHC 染色 石蜡切片脱蜡至水;3% H₂O₂ 孵化 10 min,磷酸缓冲盐溶液(PBS)缓冲液冲洗 5 min,共 3 次;乙二酸四乙酸(EDTA)抗原修复液(pH8.0)经高压锅加热至沸腾并将标本修复,用 5%牛血清清蛋白(BSA)封闭液常温下孵育 2 h;一抗[兔抗人 HOXA13 多克隆抗体(稀释浓度为 1:200),购自美国 Abcam 公司;Ki-67 购自北京中杉金桥公司]4℃孵育过夜,PBS 缓冲液冲洗 10 min,共 3 次,二抗[生物素标记山羊兔 IgG(购自博士德生物工程有限公司)]室温下孵化 30 min,PBS 缓冲液冲洗 10 min,共 3 次。二氨基联苯胺(DAB)染色 8 min,自来水充分冲洗,苏木素复染、水洗,稀盐酸分色、反蓝、脱水、透明、封片,显微镜观察。

1.2.2 结果判定 IHC 染色后切片由两位不了解研究内容及标本信息的病理科诊断医生进行结果判断。IHC 染色等级评分:0 分为阴性,1 分为弱阳性,2 分为中等阳性,3 分为强阳性;染色范围等级评分:0~<1%为 0 分,1%~25%为 1 分,>25%~50%为 2 分,>50%~75%为 3 分,>75%~100%为 4 分;根据以上两个评分总和再分为 3 组:0~1 分判定为阴性表达,>1~4 分判定为弱阳性表达,>4~7 分判定为强阳性表达。其中阳性包括弱阳性及强阳性。

1.3 统计学处理 采用 SPSS13.0 软件进行统计分析,计数资料以率表示,组间比较采取 χ^2 检验,检验水准 $\alpha=0.05$,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组标本组织中 HOXA13 蛋白表达比较 HOXA13 蛋白在胃腺癌中的表达部位主要在癌细胞的细胞核,亦有少部分细胞质表达。HOXA13 蛋白在对照组、癌前组、胃癌组的阳性表达率分别为 5.00%(1/20)、30.00%(6/20)、74.24%(49/66),3 组比较差

异均有统计学意义($P<0.01$)。各组标本组织中 HOXA13 蛋白表达,见图 1。

2.2 HOXA13 蛋白表达与胃腺癌患者不同临床病理特征的关系 HOXA13 蛋白表达与患者性别、年龄、肿瘤大小及分化程度无明显相关性($P>0.05$);与胃腺癌的 T、N 分期及 UICC 分期明显相关($P<0.05$),见表 1。

表 1 HOXA13 表达与患者临床特征间的关系[n(%)]

临床特征	阴性(n=17)	阳性(n=49)	P
年龄			
≤64 岁	10(58.82)	29(59.18)	0.375
>64 岁	7(41.18)	20(40.82)	
性别			
男	14(82.35)	35(71.43)	0.979
女	3(17.65)	14(28.57)	
肿瘤大小			
<5 cm	14(82.35)	41(83.67)	0.900
≥5 cm	3(17.65)	8(16.33)	
T 分期			
T _{1~2}	15(88.24)	23(46.94)	0.003
T _{3~4}	2(11.76)	26(53.06)	
N 分期			
N _{1~2}	14(82.35)	16(32.65)	0.000
N _{3~4}	3(17.65)	33(67.35)	
分化程度			
中、高分化	10(58.82)	19(38.78)	0.151
低分化	7(41.18)	30(61.22)	
AJCC 分期			
I+II	16(94.12)	26(53.06)	0.002
III+IV	1(5.88)	23(46.94)	

2.3 胃腺癌患者 HOXA13 与 Ki-67 蛋白表达的相关性分析 胃腺癌患者中 HOXA13 与 Ki-67 蛋白表达,具有明显相关性($r=0.472$, $P<0.05$),见表 2。

表 2 患者 HOXA13 与 Ki-67 表达的相关性分析[n(%),n=66]

指标	阳性	阴性	r	P
HOXA13	49(74.24)	17(25.76)	0.472	0.000
Ki-67	52(78.79)	14(21.21)		

3 讨 论

HOX 首先在果蝇体内发现,在包括人在内的动物的胚胎发育和细胞分化中发挥重要作用的一类基因,该基因序列中含 180~183 个碱基组成的保守序列,该序列编码的 60~61 个氨基酸所构成的保守序列,成为同源结构域或同源盒。HOX 属于 I 类同源异型盒基因,具有高度保护性,根据序列的相似性及在染色体上的位置,可以将 COX 分为 A、B、C、D 四族。分别位于 7(HOXA)、17(HOXB)、12(HOXC)、2(HOXD)号染色体上,根据族间序列的相似性及基因在染色体上的位置又可分为 13 组,目前已鉴定的哺乳类动物的 HOX 共有 39 个基因^[8-12]。

HOXA13 基因属于 HOXA 家族中的一员,位于 7 号染色体的 5'末端,正常情况下,其对胚胎时期四肢的发育、生殖系统的形成和组织血管的形成具有重要作用。HOXA 末端的转录物(HOTTIP)是一段非编码的 RNA,也是多种肿瘤疾病的癌基因,HOTTIP 沉默在体内外通过降低 Bcl-2 和加强 Bax 表达抑制细胞存活通路,HOTTIP 抑制 cycling D1 的表达和促使细胞周期阻滞在 G₀/G₁ 期。向下调节 HOTTIP 可导致 HOXA13 的表达降低^[4-5,13-14]。目前对于 HOXA13 引起胃癌发生、发展的机制也有其他相关的研究,HOXA13 通过转化因子 β 信号通路(TGF- β)增加胃癌细胞入侵和上皮-间叶细胞之间的转化(EMT)^[15];HOXA13 通过 HOXA 联合靶点反式激活胰岛素样生长因子结合蛋白 3(IGFBP-3),从而提高胃癌细胞的致癌性和侵袭性;HOXA13 通过调节钙黏蛋白-17(CDH17)激活 Wnt- β catenin 信号通路上调 DKK1、cmey、cyclinD1 的表达促进胃癌细胞的增殖等^[16-17]。HOXA13 可能成为新的胃腺癌早期诊断血清学分子标记物^[18]。

本研究结果显示,HOXA13 蛋白在胃腺癌中的表达明显高于胃癌癌前病变组织,差异有统计学意义($P<0.05$),而在正常胃黏膜组织中,HOXA13 蛋白几乎不表达;HOXA13 蛋白过表达与胃腺癌 T、N 分期及 UICC 分期具有相关性,病理分期越高,HOXA13 表达逐步增强,表明 HOXA13 在肿瘤扩散过程中可能有重要影响。

Ki-67 基因位于第 10 号染色体上,与细胞增殖有明显相关性,其表达产物为细胞核内的对蛋白酶极其敏感的大分子蛋白质分子,该基因在除 G₀ 期以外的细胞各增殖周期中都有表达,包括 G₁、S、G₂、M 期。有研究发现随着细胞增殖周期的逐渐发展,Ki-67 的表达不断增加,于 M 期达高峰,有丝分裂后期 Ki-67 表达量则快速下降,该研究认为 Ki-67 通过与染色体相连参与细胞有丝分裂,Ki-67 抗原在 M 期后的细胞中迅速消失。由此可见,Ki-67 可以作为评价细胞增殖的一个敏感指标^[19]。本研究显示,HOXA13 蛋白表达与 Ki-67 蛋白表达存在相关性($r=0.472$, $P<$

0.01),HOXA13 蛋白增加可能在评价胃腺癌细胞增殖分化有临床意义的说服力。

在人体其他系统肿瘤中,HOXA13 基因的研究也不少,如前列腺癌^[20]、卵巢癌^[7]、T 细胞急性淋巴细胞白血病^[21]等,HOX 基因家族与肿瘤发病机制的研究日益受到重视,特别是 HOXA13/HOTTIP,但其与肿瘤发病机制和信号调节通路仍不清楚,需要进一步研究,HOXA13/HOTTIP 可能为以后肿瘤性疾病的早期诊断提供分子生物学标志物及预测肿瘤预后的标志物之一。同时,HOXA13 作为促进肿瘤增殖、侵袭转移的一个独立影响因子,提示其可能作为肿瘤基因靶向治疗的一个有效靶点。

目前对 HOXA13 在消化道及其他系统肿瘤的研究缺乏具体的机制研究,阐明 HOXA13 与肿瘤的发生、发展及预后仍需进一步的研究和探讨,随着研究的不断深入,HOXA13 有待成为肿瘤诊断和治疗提供新的基因靶点。

参考文献

- [1] 韩杨,周崇治.同源框基因在消化道肿瘤中的异常表达及相关机制研究[J].国际外科学杂志,2012,39(6):396-399.
- [2] 肖法嫒,李余发,陈珍珠,等.人 HOXA13'-非翻译区荧光素酶报告基因载体的构建及鉴定[J].数理医药学杂志,2012,25(4):407-409.
- [3] 任辉,任圣男,金洪勇,等.同源异性基因盒 HOXD10 的表达与胃癌转移相关性分析[J].中华普通外科杂志,2013,28(1):63-64.
- [4] QUAGLIATA L, MATTER M S, PISCUOGLIO S A, et al. Long noncoding RNA HOTTIP/HOXA13 expression is associated with disease progression and predicts outcome in hepatocellular carcinoma patients[J]. Hepatology, 2014, 59(3):911-923.
- [5] LI Z H, ZHAO X H, ZHOU Y, et al. The long non-coding RNA HOTTIP promotes progression and gemcitabine resistance by regulating HOXA13 in pancreatic cancer[J]. J Transl Med, 2015, 13(1):84-88.
- [6] MA R L, SHEN L Y, CHEN K N. Coexpression of ANXA2, SOD2 and HOXA13 predicts poor prognosis of esophageal squamous cell carcinoma[J]. Oncol Rep, 2014, 31(5):2157-2164.
- [7] KELLY Z, MOLLER-LEVET C, MCGRATH S, et al. The prognostic significance of specific HOX gene expression patterns in ovarian cancer[J]. Int J Cancer, 2016, 139(7):1608-1617.
- [8] 夏辉,李龙江. Hox 基因与肿瘤发生发展的研究进展[J]. 国际口腔医学杂志, 2007, 34(6):412-414.
- [9] YAN J, DANG Y, LIU S, et al. LncRNA HOTAIR promotes cisplatin resistance in gastric cancer by targeting miR-126 to activate the PI3K/AKT/MRP1 genes [J]. Tumour Biol, 2016, 37(12):1-11.
- [10] JOO M K, PAPK J J, CHUN H J. Impact(下转第 4009 页)

参考文献

[1] REVIEW I T. Acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease; cardiovascular links[J]. *La Revue Du Praticien*, 2011, 61(6): 799-808.

[2] 中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组. 慢性阻塞性肺疾病诊治指南(2013年修订版)[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2013, 36(4): 255-264.

[3] RUDSKI L G, LAI W W, AFILALO J, et al. Guidelines for the echocardiographic assessment of the right heart in adults: a report from the american society of echocardiography endorsed by the european association of echocardiography, a registered branch of the european society of cardiology, and the canadian society of echocardiography [J]. *J Am Soc Echocardiogr*, 2010, 23(7): 685-713.

[4] HILLAS G, PERLIKOS F, TSILIGIANNI I, et al. Managing comorbidities in COPD[J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2015(10): 95-109.

[5] World Health Organization. Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) 2011 [EB/OL]. (2014-09-25) [2017-10-25]. <http://www.who.int/respiratory/copd/en>.

[6] 张慧. 超声心动图对慢性阻塞性肺疾病患者右心功能的评估价值分析[J]. *中国实验诊断学*, 2015, 19(4): 625-627.

[7] 牛占丛, 平芬, 李贤, 等. 内皮素-1、一氧化氮与慢性阻塞性肺疾病合并阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征患者肺动脉高压的关系[J]. *中国全科医学*, 2010, 13(24): 2691-2693.

[8] 王蕾. 超声心动图评价慢性阻塞性肺疾病患者右心室功能的研究进展[J]. *中国中西医结合影像学杂志*, 2013, 11(4): 440-443.

[9] 张春辉, 刘少滨. 慢性阻塞性肺疾病合并左心功能不全的新认识[J]. *心血管康复医学杂志*, 2011, 20(2): 188-190.

[10] 韩若凌, 边晓艳, 叶卫华, 等. 实时三维超声心动图评价慢性阻塞性肺疾病急性发作患者右心室功能[J]. *中华超声影像学杂志*, 2012, 21(9): 818-819.

[11] HO S Y, NIHOYANNOPOULOS P. Anatomy, echocardiography, and normal right ventricular dimensions[J]. *Heart*. 2006, 92(Suppl 1): S2-13.

[12] OKADA D R, RAHMOUNI H W, HERRMANN H C, et al. Assessment of right ventricular function by transthoracic echocardiography following aortic valve replacement [J]. *Echocardiography*, 2014, 31(5): 552-557.

[13] BADANO L P, BOCCALINI F, MURARU D, et al. Current Clinical Applications of Transthoracic Three-Dimensional Echocardiography [J]. *J Cardiovasc Ultrasound*, 2012, 20(1): 1-22.

[14] 刘洪, 郑东, 彭洪, 等. 实时三维超声心动图与MRI对慢性阻塞性肺病患者右室功能评估的对比研究[J]. *临床超声医学杂志*, 2015, 17(7): 469-472.

[15] 梁蕾, 闻志超, 郭君, 等. 实时三维超声心动图评价慢性阻塞性肺疾病患者右心室功能的研究[J]. *重庆医学*, 2013, 42(2): 398-400.

(收稿日期: 2018-03-10 修回日期: 2018-06-22)

(上接第 4005 页)

of homeobox genes in gastrointestinal cancer[J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(37): 8247-8256.

[11] BHATLEKAR S, FIELDS J Z. Boman bruce MHOX genes and their role in the development of human cancers [J]. *J Mol Med (Berl)*, 2014, 92(8): 811-823.

[12] SHAH N, SUKUMAR S. The Hox genes and their roles in oncogenesis[J]. *Nat Rev Cancer*, 2010, 10(5): 361-71.

[13] WANG S S, WUPUTRA K, LIU C J, et al. Oncogenic function of the homeobox A13-long noncoding RNA HOTTIP-insulin growth factor-binding protein 3 axis in human gastric cancer[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(24): 36049-36064.

[14] CHANG S, LIU J S, GUO S C, et al. HOTTIP and HOXA13 are oncogenes associated with gastric cancer progression[J]. *Oncol Rep*, 2016, 35(6): 3577-3585.

[15] DUAN R, HAN L, WANG Q X, et al. HOXA13 is a potential GBM diagnostic marker and promotes glioma invasion by activating the Wnt and TGF-beta pathways[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(29): 27778-27793.

[16] QU L P, ZHONG Y M, ZHENG Z, et al. CDH17 is a downstream effector of HOXA13 in modulating the Wnt/ β -catenin signaling pathway in gastric cancer[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21(6): 1234-1241.

[17] LI R, YANG H Q, XI H L, et al. Inhibition of CDH17 gene expression via RNA interference reduces proliferation and apoptosis of human MKN28 gastric cancer cells [J]. *Int J Oncol*, 2017, 50(1): 15-22.

[18] HAN Y, TU W W, WEN Y G, et al. Identification and validation that up-expression of HOXA13 is a novel independent prognostic marker of a worse outcome in gastric cancer based on immunohistochemistry[J]. *Med Oncol*, 2013, 30(2): 1-9.

[19] 刘伟, 余英豪, 欧阳学农, 等. P53 和 Ki-67 在胃癌中的表达及其临床意义[J]. *世界华人消化杂志*, 2011, 19(4): 367-373.

[20] ZHANG S R, YANG J K, XIE J K, et al. Long noncoding RNA HOTTIP contributes to the progression of prostate cancer by regulating HOXA13[J]. *Cell Mol Biol*, 2016, 62(3): 84-88.

[21] SU X, DRABKIN H, CLAPPIER E, et al. Transforming potential of the T-cell acute lymphoblastic leukemia-associated homeobox genes HOXA13, TLX1, and TLX3[J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2010, 45(9): 846-855.

(收稿日期: 2018-01-04 修回日期: 2018-03-16)