

# 转录抑制因子ZHX2在胃癌组织中的表达及临床意义

陈其军, 吕自力, 党裔武, 魏晶晶, 孙忠亮

陈其军, 吕自力, 党裔武, 魏晶晶, 孙忠亮, 广西医科大学第一附属医院病理科 广西壮族自治区南宁市 530021  
广西青年科学基金资助项目, No. 0728057

作者贡献分布: 此课题由陈其军与吕自力设计; 研究过程由陈其军、党裔武、魏晶晶及孙忠亮操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由党裔武提供; 数据分析由陈其军完成; 论文书写由陈其军与吕自力完成。

通讯作者: 吕自力, 副教授, 530021, 广西壮族自治区南宁市, 广西医科大学第一附属医院病理科. lvzili@yahoo.com.cn  
电话: 0771-5356534

收稿日期: 2011-08-24 修回日期: 2011-10-14

接受日期: 2011-10-20 在线出版日期: 2011-10-28

## Clinical significance of ZHX2 protein expression in gastric carcinoma

Qi-Jun Chen, Zi-Li Lv, Yi-Wu Dang, Jing-Jing Wei, Zhong-Liang Sun

Qi-Jun Chen, Zi-Li Lv, Yi-Wu Dang, Jing-Jing Wei, Zhong-Liang Sun, Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China  
Supported by: the Youth Science Foundation of Guangxi, No.0728057

Correspondence to: Associate Professor Zi-Li Lv, Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. lvzili@yahoo.com.cn  
Received: 2011-08-24 Revised: 2011-10-14

Accepted: 2011-10-20 Published online: 2011-10-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the expression of zinc-fingers and homeoboxes 2 (ZHX2) in gastric carcinoma and to analyze its clinical significance.

**METHODS:** Immunohistochemistry was used to examine the expression of ZHX2 protein in 62 cases of gastric carcinoma and tumor-adjacent tissue specimens. The relationship between ZHX2 protein expression and clinicopathological characteristics of gastric carcinoma was then analyzed.

**RESULTS:** The positive rate of ZHX2 expression was significantly higher in gastric carcinoma than in tumor-adjacent tissue (72.58% vs 14.52%,  $P < 0.001$ ). The expression of ZHX2 was not associated with age, gender, tumor size, classifica-

tion, tumor differentiation, lymph node metastasis, distant metastasis or TNM stage. However, ZHX2 expression was significantly associated with tumor location and depth of invasion (both  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** The expression of ZHX2 protein in gastric carcinoma was significantly higher than that in tumor-adjacent tissue. ZHX2 may be used to evaluate the origin and prognosis of gastric carcinoma.

**Key Words:** Zinc-fingers and homeoboxes 2; Gastric carcinoma; Clinicopathological features; Immunohistochemistry; Prognosis

Chen QJ, Lv ZL, Dang YW, Wei JJ, Sun ZL. Clinical significance of ZHX2 protein expression in gastric carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(30): 3163-3167

## 摘要

**目的:** 研究ZHX2基因在胃癌组织与癌旁正常胃组织中的表达差异及其与患者临床病理特征的相关性。

**方法:** 应用免疫组织化学Envision二步法检测62例胃癌组织与62例癌旁正常胃组织中ZHX2蛋白的表达, 用SPSS13.0统计软件对ZHX2蛋白表达差异与患者的临床病理特征之间的相关性进行统计学分析。

**结果:** ZHX2蛋白在62例胃癌组织中阳性表达( $n = 45$ ), 阴性表达( $n = 17$ ), 阳性表达率72.58%; 癌旁正常组织阳性表达( $n = 9$ ), 阴性表达( $n = 53$ ), 阳性表达率14.52%, 组间比较有明显统计学差异( $P < 0.001$ )。在62例胃癌组织中, ZHX2蛋白表达与患者的年龄、性别、肿瘤大小、大体类型、分化程度、淋巴结转移、远处转移、TNM分期均无关( $P > 0.05$ ), 而与肿瘤的发生部位、浸润深度有关( $P < 0.05$ )。

**结论:** ZHX2蛋白在胃癌组织中的表达明显高于癌旁正常组织中的表达, 且该蛋白在胃癌的起源及预后判断中起着重要作用。

## ■背景资料

转录抑制因子ZHX2是2003年克隆的新型转录抑制因子, 已有研究显示, 该基因与肝癌、骨髓瘤、肾小球疾病、神经系统发育等密切相关。

## ■同行评议者

郑鹏远, 教授, 郑州大学第二附属医院消化科

## ■研究前沿

目前有关胃癌的发生、发展和转移是胃癌研究领域的热点,有关ZHX2与胃癌关系的研究国内为尚无报道。

**关键词:** 转录抑制因子ZHX2; 胃癌组织; 临床病理特征; 预后

陈其军, 吕自力, 党裔武, 魏晶晶, 孙忠亮. 转录抑制因子ZHX2在胃癌组织中的表达及临床意义. 世界华人消化杂志 2011; 19(30): 3163-3167

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/3163.asp>

## 0 引言

胃癌(gastric carcinoma)是消化系最常见的恶性肿瘤之一<sup>[1]</sup>. 胃癌的浸润和转移是影响生存质量和预后的主要因素, 提高胃癌的诊断率、寻找新的有效治疗靶点和预后指标, 是当前胃癌研究的重要方向. 转录抑制因子ZHX2(zinc-fingers and homeoboxes 2)是2003年克隆的新型转录抑制因子, 与肝癌<sup>[2-6]</sup>、骨髓瘤<sup>[7,8]</sup>等肿瘤的发生有关. 目前国内外尚无关于ZHX2与胃癌的发生发展的相关性研究的报道. 本研究应用免疫组织化学法首次检测胃癌组织与癌旁组织中ZHX2的表达, 分析其与患者临床病理特征的关系, 为胃癌的诊断、治疗及预后判断提供参考依据.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集2010-04/2011-06在广西医科大学第一附属医院接受胃大部切除术的胃癌标本62例作为实验组, 其中男( $n = 42$ ), 女( $n = 20$ ), 年龄26-81(平均58.71)岁; 收集癌旁正常组织(均距肿瘤边缘5 cm以上)62例作为对照组. 所有病例术前均未行放化疗. 胃癌TNM分期采用美国癌症联合会(AJCC)标准(2002), 其中I期7例, II期33例, III期14例, IV期8例. 组织学分级; 其中高分化腺癌5例, 中分化腺癌14例, 低分化腺癌43例, 高-中分化组包括乳头状腺癌和管状腺癌, 低分化组中包括低分化腺癌、印戒细胞癌和黏液腺癌. 试剂采用兔抗人ZHX2多克隆抗体购自美国Proteintech公司, 免疫组织化学二步法Envision system、DAB显色液、即用型二抗购自上海长岛生物技术有限公司. 所有抗体试剂均按说明书要求保存和使用.

## 1.2 方法

**1.2.1 免疫组织化学Envision二步法:** 标本离体后立即用40 g/L甲醛固定, 常规石蜡包埋制作切片, 切片烤片后二甲苯脱蜡, 乙醇水化, EDTA抗原修复液高压修复, 3%过氧化氢灭活内源性过氧化物酶, ZHX2抗体(1:800稀释)室温2 h, 二抗室温20 min, DAB显色, 流水冲洗, 苏木素复染, 常规脱水/透明后中性树胶封片. 以PBS代替一抗

表 1 ZHX2蛋白在实验组与对照组中的表达 ( $n = 62$ )

分组	+	-	阳性率(%)	P值
实验组	45	17	72.58	<0.001
对照组	9	53	14.52	

表 2 ZHX2蛋白表达与患者临床病理特征的关系

临床病理特征	n	+	-	阳性率(%)	P值
男	42	31	11	73.81	0.753
女	20	14	6	70.00	
年龄(岁)					0.184
<60	28	18	10	64.29	
≥60	34	27	7	79.41	
肿瘤大小(cm)					0.282
<5	37	25	12	67.57	
≥5	25	20	5	80.00	
发生部位					0.032
胃底/贲门	12	8	4	66.67	
胃体	13	6	7	46.15	
胃窦/幽门	37	31	6	83.78	
大体类型					0.338
隆起型	8	6	2	75.00	
溃疡型	46	36	10	78.26	
浸润型	8	4	4	50.00	
分化程度					0.896
低分化	43	30	13	69.77	
中分化	14	11	3	78.57	
高分化	5	4	1	80.00	
浸润深度					0.022
T1	3	0	3	0.00	
T2	10	9	1	90.00	
T3	41	31	10	75.61	
T4	8	5	3	62.50	
淋巴结转移					0.710
N0	21	16	5	76.19	
N1	23	17	6	73.91	
N2	7	4	3	57.14	
N3	11	9	2	81.82	
远处转移					1.000
M0	54	39	15	72.22	
M1	8	6	2	75.00	
TNM分期					0.771
I期	7	4	3	57.14	
II期	33	24	9	72.73	
III期	14	11	3	78.57	
IV期	8	6	2	75.00	

作阴性对照.

**1.2.2 结果判定:** ZHX2阳性染色呈棕黄色颗粒, 该颗粒定位于癌细胞核或胃粘膜上皮细胞核, 具体可参照Zheng等<sup>[9]</sup>对免疫组化胞核阳性结果

## ■相关报道

本课题组既往的研究发现, 在肝细胞癌的研究中存在ZHX2基因启动子甲基化, 进而导致该基因在肝癌中呈低表达, 而这一基因在胃癌中却呈高表达, 由此推测出ZHX2基因发挥作用时呈现的多功能性.

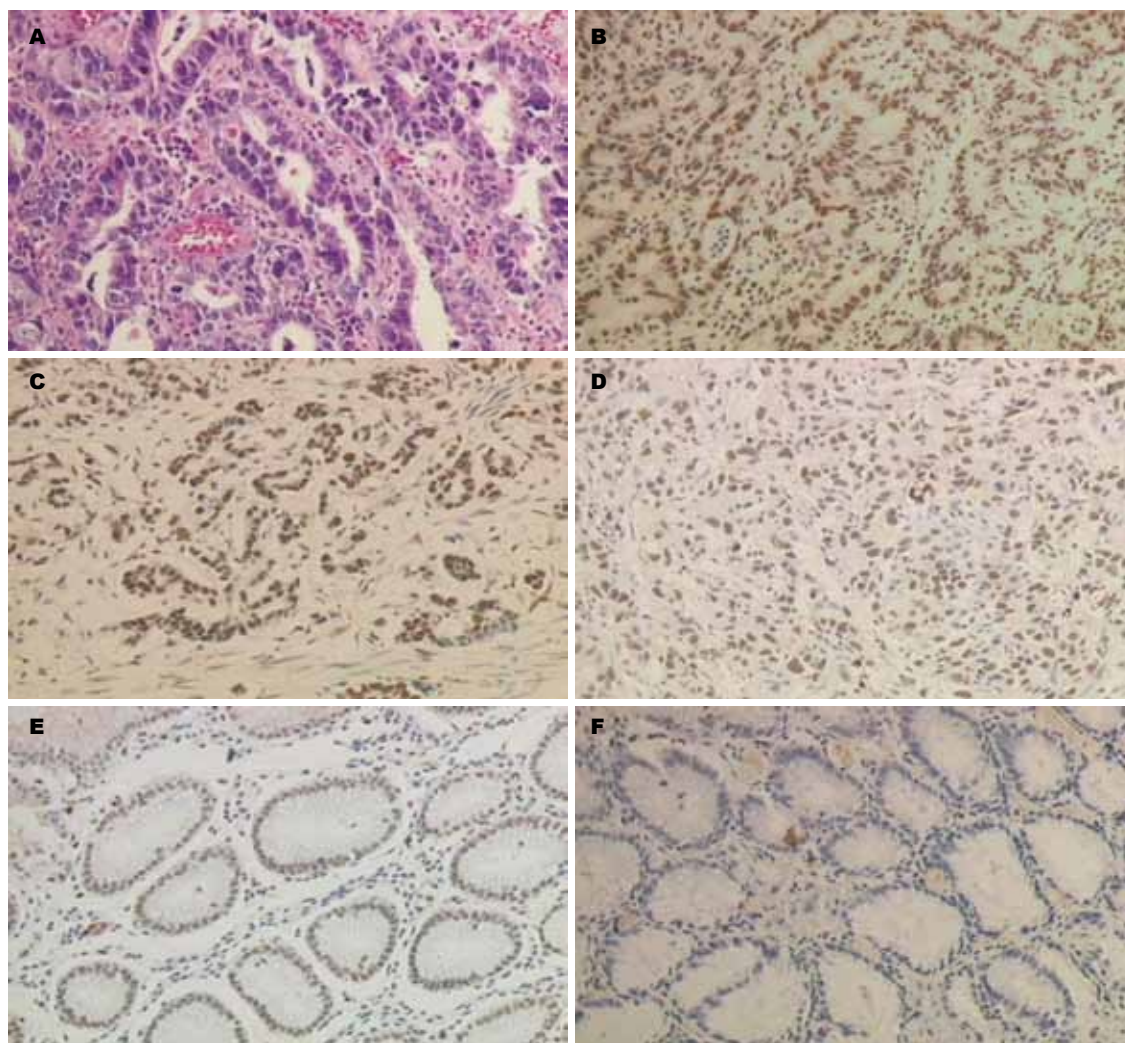


图1 ZHX2蛋白在胃癌及癌旁组织的表达( $\times 200$ )。A: 胃癌组织(HE); B: 高分化腺癌(IHC); C: 中分化腺癌(IHC); D: 低分化腺癌(IHC); E: 癌旁正常组织(IHC); F: 癌旁正常组织(阴性对照)。

#### ■应用要点

本研究旨在初步探讨ZHX2蛋白在胃癌组织和癌旁正常组织的表达情况,为进一步深入研究ZHX2在胃癌中的作用机制提供依据,从而为胃癌的生物学诊断指标、基因治疗靶点及预后判断提供新的思路和方法。

的评判:以肿瘤细胞不着色 $<10\%$ 的肿瘤细胞着色为阴性(-), $\geq 10\%$ 的肿瘤细胞着色为阳性,并根据肿瘤细胞阳性所占比例分为:10%-25%(+), 26%-50%(++), 51%-75%(+++),  $>75\%$ (++++).

**统计学处理** 应用SPSS13.0软件进行统计处理,组间比较采用 $\chi^2$ 检验或Fisher确切概率法。

## 2 结果

**2.1 ZHX2蛋白在胃癌组织和癌旁正常组织中的表达** ZHX2蛋白在胃癌组织中高表达,定位于癌细胞核,其表达呈明显的异质性,不同分化程度的癌组织均有表达(图1)。该蛋白在癌旁正常组织也有少数表达,但胃癌组织中ZHX2表达阳性率显著高于癌旁组织(72.58% vs 14.52%,  $P<0.001$ , 表1)。ZHX2在胃癌间质细胞也有少量表达(比率为16.13%)。

**2.2 ZHX2蛋白表达与胃癌患者临床病理特征的**

**关系** 胃癌组织中ZHX2蛋白表达与患者性别、年龄、肿瘤大小、大体类型、分化程度、淋巴结转移、远处转移、TNM分期均无明显统计学差异( $P>0.05$ ),与肿瘤的发生部位及浸润深度相关( $P<0.05$ , 表2)。

## 3 讨论

胃癌是我国常见的恶性肿瘤之一,他的发生、浸润和转移与p53、E-cadherin、MSI、PTEN、c-myc、K-sam、HER-2、Cyclin E等众多因子有关<sup>[10,11]</sup>。近年来研究发现,核转录因子(NF- $\kappa$ B)通过调控各种靶基因转录,可抑制胃癌细胞凋亡,进而在胃癌的发生、发展、转移中具有重要作用<sup>[12]</sup>。

转录抑制因子ZHX2是人类同源框(zinc-fingers and homeoboxes, ZHX)蛋白家族成员之一,主要定位在细胞核内,在组织中广泛存在,通过



### ■同行评价

ZHX2蛋白的表达与胃癌的发生部位、浸润深度有关,有一定的理论意义和潜在的临床价值。

与核因子-YA(NF-YA)结合起到转录抑制作用,从而参与多种疾病的发生与发展。目前对ZHX2的功能探索多集中在非肿瘤疾病中的研究如肾小球疾病<sup>[13,14]</sup>、心血管疾病<sup>[15]</sup>和神经系统发育<sup>[16]</sup>等。

关于ZHX2与胃癌的研究国内外尚未见报道,本实验通过免疫组织化学法首次研究了ZHX2蛋白在人胃癌组织与癌旁正常组织的表达差异。结果显示,ZHX2在胃癌组织中的表达率为72.58%,而在癌旁正常组织表达率为14.52%,组间比较存在明显统计学差异( $P<0.001$ )。表明ZHX2蛋白在人胃癌组织表达明显高于癌旁正常组织的表达。由此推测,ZHX2蛋白的过表达与胃癌的发生存在着一定的相关性,但其调控机制有待进一步研究。我们先前的研究发现,在肝癌细胞中存在着ZHX2基因启动子的甲基化,即该基因在肝癌中呈低表达状态<sup>[17]</sup>,而在胃癌中却是高表达,由此可推测ZHX2基因呈多功能性。

对62例胃癌组织实验结果统计分析发现,ZHX2蛋白的表达与患者性别、年龄、肿瘤大小、大体类型、分化程度、淋巴结转移、远处转移、TNM分期均无明显统计学差异( $P>0.05$ );与肿瘤的发生部位及浸润深度相关( $P<0.05$ )。表明ZHX2的表达与胃癌的生物学行为密切相关,可以作为评价胃癌患者预后的参考指标。有研究表明p53、TIMP和MMP的表达失衡促进了胃癌的浸润、转移<sup>[18-21]</sup>。而这些基因的表达均受NF-Y的调控。因此可以推测,ZHX2通过与NF-Y结合,影响其下游基因的表达而参与胃癌的浸润。

同时我们还发现ZHX2蛋白在胃癌间质细胞也有表达,并且在部分肌层和淋巴细胞中也有阳性分布,而在正常情况下ZHX2是一种在多种组织中均有表达的基因,这就说明该基因在多种组织的正常发育过程中都发挥着重要的生物学功能。

对胃癌发生分子机制的研究,我们目前已进行了大量的工作,发现胃癌的发生是一个多步骤的过程,多基因改变的积累最终导致胃癌的发生。然而,在不同条件下ZHX2是否与某些基因一起共同参与胃癌的发生、发展?ZHX2是否在胃癌发生发展的某一阶段发挥抑癌功能?此外,Sugimoto等<sup>[22]</sup>研究发现,幽门螺杆菌(*H.pylori*)感染在胃癌发生发展过程中起重要作用。那么,ZHX2基因参与胃癌的发生与*H.pylori*的关系如何?伴随研究的进一步展开,会发现更多的、更深入的问题有待我们去解决。本研究

已初步探讨ZHX2蛋白在胃癌组织和癌旁正常组织的表达情况,这将为进一步深入研究ZHX2在胃癌中的作用机制提供依据,从而为胃癌的生物学诊断指标、基因治疗靶点及预后判断提供新的思路和方法。

### 4 参考文献

- 1 陈杰,李甘地.病理学.第1版.北京:人民卫生出版社,2005:270-273
- 2 Hu S, Zhang M, Lv Z, Bi J, Dong Y, Wen J. Expression of zinc-fingers and homeoboxes 2 in hepatocellular carcinogenesis: a tissue microarray and clinicopathological analysis. *Neoplasma* 2007; 54: 207-211
- 3 Morford LA, Davis C, Jin L, Dobierzewska A, Peterson ML, Spear BT. The oncofetal gene glypican 3 is regulated in the postnatal liver by zinc fingers and homeoboxes 2 and in the regenerating liver by alpha-fetoprotein regulator 2. *Hepatology* 2007; 46: 1541-1547
- 4 Shen H, Luan F, Liu H, Gao L, Liang X, Zhang L, Sun W, Ma C. ZHX2 is a repressor of alpha-fetoprotein expression in human hepatoma cell lines. *J Cell Mol Med* 2008; 12: 2772-2780
- 5 Yamada K, Ogata-Kawata H, Matsuura K, Kagawa N, Takagi K, Asano K, Haneishi A, Miyamoto K. ZHX2 and ZHX3 repress cancer markers in normal hepatocytes. *Front Biosci* 2009; 14: 3724-3732
- 6 Peterson ML, Ma C, Spear BT. Zhx2 and Zbtb20: novel regulators of postnatal alpha-fetoprotein repression and their potential role in gene reactivation during liver cancer. *Semin Cancer Biol* 2011; 21: 21-27
- 7 Armellini A, Sarasquete ME, García-Sanz R, Chillón MC, Balanzategui A, Alcoceba M, Fuertes M, López R, Hernández JM, Fernández-Calvo J, Sierra M, Megido M, Orfão A, Gutiérrez NC, González M, San Miguel JF. Low expression of ZHX2, but not RCBTB2 or RAN, is associated with poor outcome in multiple myeloma. *Br J Haematol* 2008; 141: 212-215
- 8 Legartova S, Harnicarova-Horakova A, Bartova E, Hajek R, Pour L, Kozubek S. Expression of RAN, ZHX-2, and CHC1L genes in multiple myeloma patients and in myeloma cell lines treated with HDAC and Dnmts inhibitors. *Neoplasma* 2010; 57: 482-487
- 9 Zheng Y, Wang L, Zhang JP, Yang JY, Zhao ZM, Zhang XY. Expression of p53, c-erbB-2 and Ki67 in intestinal metaplasia and gastric carcinoma. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 339-344
- 10 Tamura G. Alterations of tumor suppressor and tumor-related genes in the development and progression of gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 192-198
- 11 Yasui W, Oue N, Aung PP, Matsumura S, Shutoh M, Nakayama H. Molecular-pathological prognostic factors of gastric cancer: a review. *Gastric Cancer* 2005; 8: 86-94
- 12 杨晓艳,陈春华,苏秀兰. p53和NF- $\kappa$ B与胃癌的研究进展. *中华肿瘤防治杂志* 2010; 17: 391-394
- 13 Liu G, Clement LC, Kanwar YS, Avila-Casado C, Chugh SS. ZHX proteins regulate podocyte gene expression during the development of nephrotic syndrome. *J Biol Chem* 2006; 281: 39681-39692
- 14 Clement LC, Liu G, Perez-Torres I, Kanwar YS,

- Avila-Casado C, Chugh SS. Early changes in gene expression that influence the course of primary glomerular disease. *Kidney Int* 2007; 72: 337-347
- 15 Gargalovic PS, Erbilgin A, Kohannim O, Pagnon J, Wang X, Castellani L, LeBoeuf R, Peterson ML, Spear BT, Lusis AJ. Quantitative trait locus mapping and identification of *Zhx2* as a novel regulator of plasma lipid metabolism. *Circ Cardiovasc Genet* 2010; 3: 60-67
- 16 Wu C, Qiu R, Wang J, Zhang H, Murai K, Lu Q. ZHX2 Interacts with Ephrin-B and regulates neural progenitor maintenance in the developing cerebral cortex. *J Neurosci* 2009; 29: 7404-7412
- 17 Lv Z, Zhang M, Bi J, Xu F, Hu S, Wen J. Promoter hypermethylation of a novel gene, ZHX2, in hepatocellular carcinoma. *Am J Clin Pathol* 2006; 125: 740-746
- 18 刘伟, 余英豪, 欧阳学农, 王烈, 武一曼, 陈娟, 熊喜生. P53和Ki67在胃癌中的表达及其临床意义. 世界华人消化杂志 2011; 19: 367-373
- 19 刘荣, 贺降福, 朱尤庆, 吕永红, 肖绍树. 胃腺癌组织 p53, p63和p73蛋白表达的意义. 世界华人消化杂志 2006; 14: 2416-2420
- 20 Zheng H, Takahashi H, Murai Y, Cui Z, Nomoto K, Niwa H, Tsuneyama K, Takano Y. Expressions of MMP-2, MMP-9 and VEGF are closely linked to growth, invasion, metastasis and angiogenesis of gastric carcinoma. *Anticancer Res* 2006; 26: 3579-3583
- 21 Zhang JF, Zhang YP, Hao FY, Zhang CX, Li YJ, Ji XR. DNA ploidy analysis and expression of MMP-9, TIMP-2, and E-cadherin in gastric carcinoma. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 5592-5600
- 22 Sugimoto M, Yamaoka Y, Furuta T. Influence of interleukin polymorphisms on development of gastric cancer and peptic ulcer. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 1188-1200

编辑 曹丽鸥 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011年版权归世界华人消化杂志

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》修回稿须知

**本刊讯** 为了保证作者来稿及时发表, 同时保护作者与世界华人消化杂志的合法权益, 本刊对修回稿要求如下.

#### 1 修回稿信件

来稿包括所有作者签名的作者投稿函. 内容包括: (1)保证无重复发表或一稿多投; (2)是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突; (3)所有作者均审读过该文并同意发表, 所有作者均符合作者条件, 所有作者均同意该文代表其真实研究成果, 保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系, 修改并最终审核复核稿; (5)列出作者贡献分布; (6)来稿应附有作者工作单位的推荐信, 保证无泄密, 如果是几个单位合作的论文, 则需要提供所有参与单位的推荐信; (7)愿将印刷版和电子版版权转让给本刊编辑部.

#### 2 稿件修改

来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删节时, 本刊编辑部将把原稿连同审稿意见、编辑意见寄回给作者修改, 而作者必须于15 d内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料寄回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回的, 作重新投稿处理.

#### 3 版权

本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期); 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有. 编辑部可将文章在《中国学术期刊光盘版》等媒体上长期发布; 作者允许该文章被美国《化学文摘》、《荷兰医学文摘库/医学文摘》、俄罗斯《文摘杂志》、《中国生物学文摘》等国内外相关文摘与检索系统收录.