

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2017.30.007

文章编号: 1005-8982(2017)30-0041-05

IQ 结构域 GTP 酶激活蛋白 1 在胰腺癌中 表达及与预后的相关性研究*

胡伟¹, 王磊¹, 孙磊¹, 高泰龙²

(1.江苏省连云港市第一人民医院,江苏 连云港 222002;2.湖南省人民医院 肝胆外科,湖南 长沙 410005)

摘要:目的 检测胰腺癌组织中 IQ 结构域 GTP 酶激活蛋白 1(IQGAP1)的表达与临床病理特征及与预后的关系。**方法** 采用免疫组织化学法检测 66 例胰腺癌组织和 49 例癌旁组织中 IQGAP1 的表达情况,分析 IQGAP1 与胰腺癌临床病理特征及其与预后的相关性。**结果** 胰腺癌组织和癌旁组织中 IQGAP1 的阳性表达率分别为 63.636%和 12.245%,胰腺癌组织高于癌旁组织($P < 0.05$);IQGAP1 的表达与肿瘤分化程度、淋巴结转移有关($P < 0.05$),与患者年龄、性别、肿瘤部位、大小、神经浸润及临床分期差异无统计学意义($P > 0.05$)。IQGAP1 阳性患者的总生存期短于 IQGAP1 阴性患者 ($P = 0.002$),Cox 多因素分析显示 IQGAP1 阳性表达是独立预后危险因素($\hat{H}R = 2.128, 95\%CI = 1.127, 4.019, P = 0.020$)。**结论** 胰腺癌组织中高表达的 IQGAP1 可能参与胰腺癌的发生、发展及转移过程,并可作为判断胰腺癌预后的重要指标。

关键词: IQ 结构域 GTP 酶激活蛋白 1;胰腺癌;免疫组织化学;生存分析

中图分类号: R735.9

文献标识码: A

Expression and prognostic role of IQGAP1 in patients with pancreatic adenocarcinoma*

Wei Hu¹, Lei Wang¹, Lei Sun¹, Tai-long Gao²

(1. The First People's Hospital of Lianyungang, Lianyungang, Jiangsu 222002, China;

2. Department of hepatobiliary Surgery, Hunan Provincial People's Hospital,
Changsha, Hunan 410005, China)

Abstract: Objective To investigate expression the level of IQ-domain GTPase-activating protein 1 (IQGAP1) and its prognostic significance in pancreatic adenocarcinoma. **Methods** A total of 66 cases of patients diagnosed with pancreatic adenocarcinoma were included in this study. A total of 66 cancer samples as well as 49 paracancerous normal tissues were harvested, and the expression level of IQGAP1 was measured by Immunohistochemistry. The correlation analysis of IQGAP1 expression and clinical manifestations were performed. **Results** IQGAP1 was upregulated significantly in cancer tissue when compared with normal tissue (63.636% vs 12.245%, $P < 0.05$). Expression of IQGAP1 was closely associated with clinical features including histological grading and lymph node metastasis ($P < 0.05$). No significant correlation was observed between IQGAP1 and age, gender, size or position of tumor, neural invasion or clinical stage of patients ($P > 0.05$). Patients with positive expression of IQGAP1 experienced shorter overall survival time as compared with those without IQGAP1 expression ($P = 0.002$). Multivariate Cox regression analysis demonstrated that IQGAP1 overexpression was an independent prognostic factor in pancreatic adenocarcinoma ($\hat{H}R = 2.128, 95\% CI = 1.127, 4.019, P = 0.020$). **Conclusions** Up-regulation of IQGAP1 may be involved in tumor progression, and is potentially a prognostic biomarker.

收稿日期:2017-04-10

*基金项目:连云港市第一人民医院青年英才豪森基金资助项目(No:QN150102);连云港市科技局项目(No:SH1218)

[通信作者] 高泰龙, E-mail: docgtl@163.com

Keywords: IQ-domain GTPase-activating protein 1; pancreatic ductal adenocarcinoma; Immunohistochemistry; prognosis

IQ 结构域 GTP 酶激活蛋白 1 (IQ-domain GTPase-activating protein 1, IQGAP1) 作为一种进化保守的蛋白家族成员, 具有多个介导蛋白质相互作用结构域, 调节多种细胞活动功能, 包括胞质分裂, 细胞迁移、增殖和信号转导, 囊泡转运及细胞骨架结构调节^[1]。研究已证实, IQGAP1 作为一种致癌基因, 在多种恶性肿瘤生长、侵袭和转移过程中发挥重要作用^[2-3]。目前 IQGAP1 在胰腺癌中的研究甚少, 尚未见报道其与胰腺癌生存预后的关系。本文通过免疫组织化学方法检测 IQGAP1 在胰腺癌组织中的表达情况, 分析其与胰腺癌临床病理特征及预后的关系, 以期判断其作为胰腺癌临床预后指标的可能性。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2010 年 3 月胰腺癌标本来源于连云港市第一人民医院行胰腺癌切除的患者, 66 例患者具有完整的临床病理及随访资料。其中, 男性 43 例, 女性 23 例; 年龄 34 ~ 85 岁, 中位年龄 60.5 岁。采用电话或门诊随访, 随访截止日期为 2016 年 12 月。随访时间为 0.6 ~ 81.0 个月, 死亡 42 例、存活 14 例。所有标本术后病理均证实为胰腺导管腺癌, 高中分化 47 例, 低分化 19 例。按照国际抗癌联盟 (UICC) TNM 分期标准: I、II 期 64 例, III、IV 期 2 例。同时取配对胰腺癌旁组织 49 例, 由病理学检查证实无癌细胞。所有人组患者术前均未接受任何针对肿瘤的治疗。

1.2 主要试剂

兔抗人 IQGAP1 多克隆抗体 (美国 Abcam 公司), SP 免疫组织化学试剂盒 (北京中衫金桥生物技术有限公司) 及 DAB 显色试剂盒 (武汉博士德生物技术有限公司)。

1.3 免疫组织化学法检测 IQGAP1 的表达

免疫组织化学染色法 (SP 法) 主要操作步骤如下: 手术所取标本经 10% 甲醛固定, 常规石蜡包埋, 4 μm 厚切片, 烤箱 60 $^{\circ}\text{C}$ 烤片 60 min, 二甲苯脱蜡, 梯度酒精水化, 灭活内源性过氧化物酶, 抗原修复, 血清封闭, 一抗 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜 (稀释 1 : 400), 二抗孵育, DAB 显色, 苏木素复染, 脱水、透明、干燥、封片, 镜检。PBS 代替一抗作阴性对照。

1.4 免疫组织化学法结果判定

IQGAP1 阳性反应主要为细胞浆或细胞膜呈黄

色或棕黄色。高倍镜下 ($\times 400$) 随机观察 5 个视野, 根据阳性细胞比率: 阳性细胞数 < 10% 为阴性, > 10% 为阳性表达, 其中, 10% ~ 25% 为 1 分, 25% ~ 50% 为 2 分, 50% ~ 75% 为 3 分, > 75% 为 4 分。根据染色强度分为 0 ~ 3 分。阳性细胞率与染色强度之积 0 ~ 4 分为 IQGAP1 阴性表达, 5 ~ 12 分为阳性表达; 阅片采用双盲法, 每张切片均由 2 位病理医师独立观察, 分别记录。

1.5 统计学方法

数据分析采用 SPSS 23.0 统计软件, 计数资料以率 (%) 表示, 采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法, Kaplan-Meier 法绘制生存率曲线, 采用 Log-rank 检验, 影响因素分析采用 Cox 比例风险回归模型, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 IQGAP1 在胰腺癌及癌旁组织中的表达

IQGAP1 主要表达于胰腺癌细胞的胞浆或胞膜。在 66 例胰腺癌标本中, IQGAP1 蛋白的阳性表达率为 63.636% (42/66); 而在癌旁组织中 IQGAP1 阳性表达率仅为 12.245% (6/49), 低于胰腺癌组织 ($\chi^2 = 30.542, P = 0.001$)。见图 1。

2.2 IQGAP1 表达与胰腺癌临床病理特征的关系

IQGAP1 表达与胰腺癌分化程度相关 ($P = 0.046$), 低分化胰腺癌组织中 IQGAP1 的阳性表达率最高, 同时 IQGAP1 阳性组中淋巴结转移的患者较 IQGAP1 阴性组增多 ($P = 0.019$), 而 IQGAP1 表达与胰腺癌患者的年龄、性别、肿瘤大小、部位、临床分期及神经浸润均差异无统计学意义, 癌旁组织 IQGAP1 的表达与患者年龄、性别、肿瘤大小、部位、分化程度、临床分期、神经浸润及淋巴结转移均无关。见表 1。

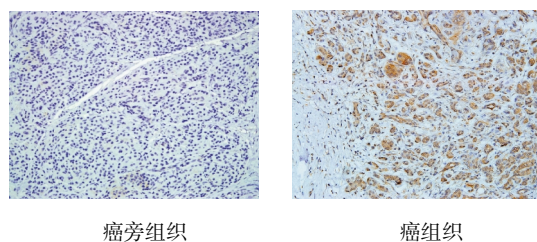


图 1 IQGAP1 在胰腺癌旁和癌组织中的表达
($\times 200$)

表 1 不同临床特征 IQGAP1 表达阳性率的比较

临床病理特征	癌组织				癌旁组织			
	例数	阳性 例(%)	χ^2 值	P 值	例数	阳性 例(%)	χ^2 值	P 值
年龄								
≤60 岁	33	20(60.606)	0.262	0.609	25	4(16.000)	-	0.667 [†]
>60 岁	33	22(66.667)			24	2(8.333)		
性别								
男	43	26(60.465)	0.536	0.464	30	3(10.000)	-	0.665 [†]
女	23	16(69.565)			19	3(15.789)		
肿瘤大小								
≤4 cm	20	16(80.000)	-	0.096 [†]	16	1(6.250)	-	0.649 [†]
>4 cm	46	26(56.522)			33	5(15.152)		
肿瘤部位								
胰头部	40	29(72.500)	3.447	0.063	29	4(13.793)	-	1.000 [†]
胰体尾部	26	13(50.000)			20	2(10.000)		
临床分期								
I、II	64	40(62.500)	-	0.530 [†]	47	6(12.766)	-	1.000 [†]
III、IV	2	2(100.000)			2	0(0.000)		
分化程度								
高中分化	47	26(55.319)	-	0.046 [†]	34	3(8.824)	-	0.353 [†]
低分化	19	16(84.211)			15	3(20.000)		
神经浸润								
有	28	19(67.857)	0.374	0.541	22	2(9.091)	-	0.678 [†]
无	38	23(60.526)			27	4(14.815)		
淋巴结转移								
无	37	19(51.351)	5.492	0.019	27	3(11.111)	-	1.000 [†]
有	29	23(79.310)			22	3(13.636)		

注:† 为采用 Fisher 确切概率法

2.3 IQGAP1 表达与胰腺癌患者预后的关系

Kaplan-Meier 法绘制生存率曲线并用 Log-rank 检验差异,结果显示,IQGAP1 阳性组患者的总生存

期较阴性组缩短,淋巴结转移组患者总生存期较无转移组缩短,差异有统计学意义($P_{IQGAP1}=0.002$, $P_{淋巴结转移}=0.001$)(见图 2)。Cox 单因素分析结果显示胰腺癌组

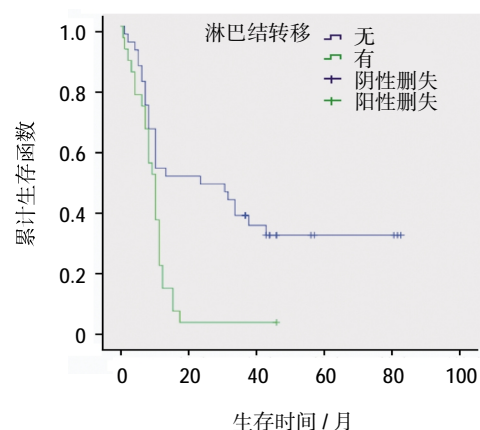
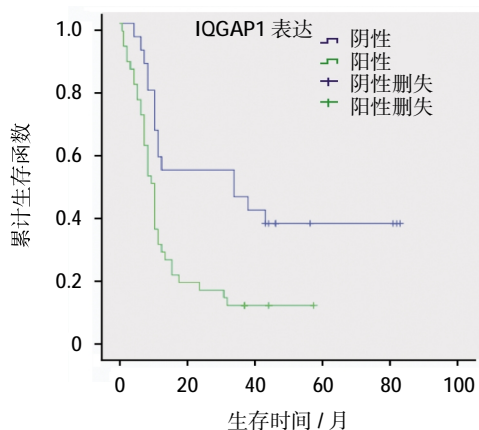


图 2 IQGAP1 表达、淋巴结转移与胰腺癌患者预后关系的Kaplan-Meier 生存率曲线

织 IQGAP1 表达、淋巴结有无转移均与胰腺癌预后相关,而肿瘤部位、大小、临床分期、分化程度及神经浸润等因素与预后无关。Cox 多因素回归分析 ($\alpha =$

0.05, $\alpha_{出} = 0.10$) 结果示 IQGAP1 在胰腺癌组织中的阳性表达为胰腺癌独立的预后指标。见表 2。

表 2 66 例胰腺癌患者预后的 Cox 回归模型分析

临床病理特征	单因素				多因素				b	S _e	Wald χ^2	df
	HR	95%CI		P 值	HR	95%CI		P 值				
		下限	上限			下限	上限					
IQGAP1 表达	2.477	1.336	4.595	0.004	2.128	1.127	4.019	0.020	0.755	0.324	5.417	1
肿瘤大小	1.408	0.787	2.521	0.249	1.069	0.572	1.998	0.835	0.067	0.319	0.043	1
肿瘤部位	1.329	0.758	2.332	0.321	1.219	0.652	2.278	0.535	0.198	0.319	0.386	1
分化程度	1.385	0.768	2.498	0.279	1.518	0.801	2.878	0.201	0.417	0.326	1.635	1
临床分期	0.922	0.223	3.816	0.911	0.602	0.143	2.529	0.488	-0.507	0.732	0.480	1
淋巴结转移	2.594	1.442	4.669	0.001	2.240	1.223	4.101	0.009	0.806	0.309	6.827	1
神经浸润	0.954	0.551	1.652	0.867	0.912	0.508	1.637	0.757	-0.092	0.299	0.096	1
性别	1.038	0.581	1.855	0.899	1.068	0.592	1.927	0.827	0.066	0.301	0.048	1
年龄	0.900	0.522	1.550	0.703	0.882	0.490	1.587	0.675	-0.126	0.300	0.176	1

3 讨论

细胞支架蛋白 IQGAP1 含有 4 个 IQ 基序和类似于 GAP 相关结构域,这些结构域可与多种蛋白结合,通过调节细胞间黏附、细胞极性及迁移而参与肿瘤的进程^[2]。IQGAP1 直接结合 E-cadherin 调节细胞间黏附^[1],直接结合 F-actin^[4]或经透明质酸介导^[5]增强细胞运动,通过 actin、Cdc42/Rac1、MAPK 信号通路促进细胞侵袭、增殖和分化^[6-7]。此外, IQGAP1 还通过 VEGFR-2 信号通路调节内皮细胞的增殖及血管生成^[8],并在小鼠乳腺癌肿瘤模型中促进肿瘤血管生成,同时证实 IQGAP1 能够促进乳腺 MCF-7 细胞增殖及肿瘤形成^[9]。反之,通过可渗透肽类破坏 IQGAP1 与 ERK1/2 的相互作用能够抑制 Ras 驱动的小鼠肿瘤形成及侵袭能力^[9]。已证实 IQGAP1 在肝癌^[2]、肺癌^[10]及食管癌等^[11]多种实体肿瘤组织中高表达,并与病理分化级别相关^[12]。本研究显示,胰腺癌组织 IQGAP1 蛋白表达高于癌旁组织,在低分化组表达高于高中分化组,表明 IQGAP1 与胰腺癌分化程度相关,提示 IQGAP1 的高表达与胰腺癌的侵袭、转移有关。与上述 IQGAP1 的调节功能一致。

IQGAP1 与 β -catenin 相互作用可提高肝癌细胞的转移能力从而促进肿瘤进展^[13]。过表达 IQGAP1 能促进胰腺癌细胞 SW1990 的增殖,而沉默 IQGAP1 通过下调活化性 Cdc42/Rac1 降低细胞增殖率,抑制肿瘤细胞迁移^[14]。子宫内膜癌细胞 IQGAP1 高表达可促进细胞上皮间质转化及增殖、侵袭^[15]。IQGAP1

在肿瘤组织中高表达及在肿瘤侵袭前缘表达^[16]、弥漫型表达^[17]均与预后不良密切相关。而且 IQGAP1 高表达可作为判断恶性胶质瘤的诊断指标^[18]。本研究显示, IQGAP1 表达与淋巴结转移有关,提示其可作为预测胰腺癌侵袭与转移的有效指标。表明 IQGAP1 可能作为胰腺癌治疗的潜在靶点。本研究中发现 IQGAP1 表达与临床分期无关,分析原因可能与胰腺癌晚期样本量少有关。

单因素分析 IQGAP1 与胰腺癌预后的关系发现,其阳性表达较阴性表达患者生存期缩短,预后相对差,这可能与 IQGAP1 参与胰腺癌细胞黏附、迁移、转移及血管生成有关。这种关联的科学依据是肿瘤侵袭、转移过程中需要细胞之间黏附的动态重排。通过多因素分析发现, IQGAP1 阳性表达可作为判断胰腺癌患者预后的独立危险因素。

综上所述, IQGAP1 上调在胰腺癌的发生发展、转移过程中发挥重要作用,且与胰腺癌的恶性程度、淋巴结转移及预后不良有关,可能作为胰腺癌预后评估的参考指标,但 IQGAP1 在胰腺癌的具体机制,比如是否参与胰腺癌组织的血管形成尚不清楚,有待于进一步研究。

参 考 文 献:

- [1] HEDMAN A C, SMITH J M, SACKS D B. The biology of IQGAP proteins: beyond the cytoskeleton[J]. EMBO Rep, 2015, 16 (4): 427-446.

- [2] XIA F D, WANG Z L, CHEN H X, et al. Differential expression of IQGAP1/2 in hepatocellular carcinoma and its relationship with clinical outcomes[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014, 15(12): 4951-4956.
- [3] WHITE C D, ERDEMIR H H, SACKS D B. IQGAP1 and its binding proteins control diverse biological functions[J]. *Cell Signal*, 2012, 24(4): 826-834.
- [4] MATARAZA J M, LI Z, JEONG H, et al. Multiple proteins mediate IQGAP1-stimulated cell migration [J]. *Cellular Signalling*, 2007, 19(9): 1857-1865.
- [5] KOZLOVA I, RUUSALA A, VOYTYUK O, et al. IQGAP1 regulates hyaluronan-mediated fibroblast motility and proliferation [J]. *Cellular Signalling*, 2012, 24(9): 1856-1862.
- [6] JADESKI L, MATARAZA J M, JEONG H, et al. IQGAP1 stimulates proliferation and enhances tumorigenesis of human breast epithelial cells[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2008, 283(2): 1008-1017.
- [7] BROWN M D, SACKS D B. IQGAP1 in cellular signaling: bridging the GAP[J]. *Trends in Cell Biology*, 2006, 16(5): 242-249.
- [8] MEYER R D, SACKS D B, RAHIMI N. IQGAP1-dependent signaling pathway regulates endothelial cell proliferation and angiogenesis[J]. *PLoS One*, 2008, 3(12): e3848.
- [9] JAMESON K L, MAZUR P K, ZEHNDER A M, et al. IQGAP1 scaffold-kinase interaction blockade selectively targets RAS-MAP kinase-driven tumors[J]. *Nature Medicine*, 2013, 19(5): 626-630.
- [10] LI G, GAO Y, CUI Y, et al. Overexpression of CD44 is associated with the occurrence and migration of non-small cell lung cancer[J]. *Molecular Medicine Reports*, 2016, 14(4): 3159-3167.
- [11] WANG X, WANG K, LI X, et al. Targeted knockdown of IQGAP1 inhibits the progression of esophageal squamous cell carcinoma in vitro and in vivo[J]. *PLoS One*, 2014, 9(5): e965015.
- [12] WANG X, LI X, ZHAI L, et al. Overexpression of IQGAP1 in human pancreatic cancer[J]. *Hepatobiliary & Pancreatic Diseases International*, 2013, 12(5): 540-545.
- [13] JIN X, LIU Y, LIU J, et al. The overexpression of IQGAP1 and beta-catenin is associated with tumor progression in hepatocellular carcinoma in vitro and in vivo[J]. *PLoS One*, 2015, 10(8): e133770.
- [14] JIN Y, LV X, ZHOU J, et al. Potential involvement of IQGAP1 in proliferation and metastasis of human pancreatic cancer [J]. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2016, 21: 1076-1083.
- [15] DONG P, IHIRA K, XIONG Y, et al. Reactivation of epigenetically silenced miR-124 reverses the epithelial-to-mesenchymal transition and inhibits invasion in endometrial cancer cells via the direct repression of IQGAP1 expression[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(15): 20260-20270.
- [16] DONG P, NABESHIMA K, NISHIMURA N, et al. Overexpression and diffuse expression pattern of IQGAP1 at invasion fronts are independent prognostic parameters in ovarian carcinomas[J]. *Cancer Lett*, 2006, 243(1): 120-127.
- [17] HAYASHI H, NABESHIMA K, AOKI M, et al. Overexpression of IQGAP1 in advanced colorectal cancer correlates with poor prognosis-critical role in tumor invasion[J]. *Int J Cancer*, 2010, 126(11): 2563-2574.
- [18] MCDONALD K L, O'SULLIVAN M G, PARKINSON J F, et al. IQGAP1 and IGFBP2: valuable biomarkers for determining prognosis in glioma patients[J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2007, 66(5): 405-417.

(王荣兵 编辑)