

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2021.09.003

View this article at: <https://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2021.09.003>

KIF4A 蛋白在胰腺癌组织中的表达及临床意义

李明晨, 许立新, 陈名霞

(东南大学附属中大医院检验科, 南京 210047)

[摘要] 目的: 探讨驱动蛋白家族4A(kinesin family member 4A, KIF4A)蛋白在胰腺癌组织中的表达情况及临床意义。方法: 选择东南大学附属中大医院手术切除并经病理证实的72例胰腺癌患者的癌组织及癌旁组织标本。采用免疫组织化学法检测KIF4A蛋白表达情况; 比较KIF4A在胰腺癌组织中的表达与患者临床参数的关系; 采用Kaplan-Meier法分析KIF4A在胰腺癌中的表达与患者预后的关系; 采用Cox比例风险模型进行胰腺癌预后的多因素分析。结果: KIF4A阳性细胞主要表达在细胞核内, 与癌旁组织相比, KIF4A在胰腺癌组织中的阳性表达率显著升高($\chi^2=32.211$, $P<0.05$)。肿瘤TNM分期III期患者胰腺癌组织中KIF4A阳性表达率高于I+II者, 分化程度低的患者KIF4A阳性表达率高于分化程度高+中者, 有淋巴结转移的患者KIF4A阳性表达率高于无淋巴结转移者($P<0.05$)。生存分析结果显示胰腺癌组织中KIF4A阳性表达组生存时间明显低于KIF4A阴性表达组($\chi^2=10.306$, $P=0.001$)。Cox比例风险回归模型结果显示: TNM分期($P=0.011$)、肿瘤分化程度($P<0.001$)、淋巴结转移($P=0.001$)、KIF4A阳性表达($P=0.043$)是胰腺癌患者预后的独立危险因素。结论: KIF4A在胰腺癌组织中呈阳性表达, 且与TNM分期、分化程度、淋巴结转移及不良预后有关, KIF4A可作为胰腺癌患者预后的分子标志物。

[关键词] 驱动蛋白家族4A; 胰腺癌; 表达; 预后

Expression and clinical significance of KIF4A protein in pancreatic cancer

LI Mingchen, XU Lixin, CHEN Mingxia

(Department of Clinical Laboratory, Chinese University Hospital Affiliated to Southeast University, Nanjing 210047, China)

Abstract **Objective:** To investigate the expression of kinesin family member 4A (KIF4A) protein in pancreatic cancer and its clinical significance. **Methods:** The specimens of pancreatic cancer and its adjacent tissues were selected from 72 patients who were surgically removed and confirmed by pathology. The expression level of KIF4A protein in each group was detected by immunohistochemistry. The expression of KIF4A in pancreatic cancer and its relationship with clinical parameters were compared between the two groups. Kaplan-Meier method was used to analyze the relationship between the expression of KIF4A and the prognosis of patients. Cox proportional risk model was used to for multivariate analysis of pancreatic cancer prognosis. **Results:** KIF4A positive cells were mainly expressed

收稿日期 (Date of reception): 2020-06-10

通信作者 (Corresponding author): 李明晨, Email: lmc7862@163.com

in the nucleus, and the positive expression rate of KIF4A in pancreatic cancer was significantly higher than that in adjacent tissues ($\chi^2=32.211$, $P<0.05$). The positive expression rate of KIF4A in patients with TNM stage III was higher than that in patients with stage I+II. The positive expression rate of KIF4A in patients with low differentiation was higher than that in patients with high and medium differentiation. The positive expression rate of KIF4A in patients with lymph node metastasis was higher than that in patients without lymph node metastasis ($P<0.05$). Survival analysis showed that the survival time of KIF4A positive expression group was significantly lower than that of KIF4A negative expression group ($\chi^2=10.306$, $P=0.001$). The Cox proportional hazard regression model was used to analyze the risk factors for the prognosis of pancreatic cancer. The results showed that TNM stage ($P=0.011$), and the tumor differentiation ($P<0.001$), lymph node metastasis ($P=0.001$), expression level of KIF4A positive expression ($P=0.043$) were independent risk factors for prognosis of pancreatic cancer patients. **Conclusion:** KIF4A is positively expressed in pancreatic cancer and is related to TNM stage, differentiation degree, lymph node metastasis, and poor prognosis. KIF4A can be used as a molecular marker for prognosis of pancreatic cancer.

Keywords kinesin family member 4A; pancreatic cancer; expression; prognosis

胰腺导管腺癌通常称为胰腺癌, 属于消化系统恶性肿瘤, 是一种恶性程度较高、早期诊断率低且预后较差的实体瘤, 其具有较强的侵袭能力, 患者确诊时已发生远处转移, 导致患者病死率逐年升高^[1-2]。驱动蛋白家族4A(kinesin family member 4A, KIF4A)是驱动蛋白超家族(KIFs)的成员, 位于人类基因组Xq13.1, 其编码的蛋白质由1 232个氨基酸组成, 参与多种细胞活动, 特别是有丝分裂中纺锤体的形成和中心体组装、染色体浓缩和分离以及DNA损伤修复, 可参与多种肿瘤的发生发展^[3]。吴珏堃等^[4]发现: KIF4A在乳腺癌组织中的表达升高, 且与患者的预后相关, 其在乳腺癌的发生中起重要作用。江涛等^[5]发现: KIF4A在结直肠癌组织中高表达, 且与结直肠癌的侵袭转移密切相关, 是术后结直肠癌患者的预后评估的重要参考。然而目前关于KIF4A在胰腺癌组织中表达及其对胰腺癌患者预后的关系研究鲜见报道。因此, 本研究探讨KIF4A蛋白在胰腺癌患者癌组织中的表达及临床意义, 为临床治疗胰腺癌提供新思路。

1 对象与方法

1.1 对象

收集2011年7月至2015年5月在东南大学附属中大医院行手术治疗的胰腺癌患者, 选择经病理证实的胰腺癌组织标本及其癌旁组织(距肿瘤边缘>5 cm)共计72例。其中男45例, 女27例, 年龄35~76(53.43±11.89)岁。纳入标准: 1)患者均有完整的病例资料及随访资料; 2)未合并其他恶性肿

瘤性疾病; 3)未接受放化疗及其他辅助治疗, 随访时间为4年。

1.2 主要试剂

KIF4A兔抗人单克隆抗体购自美国Abcam公司; 二抗试剂盒、免疫组织化学试剂盒购自武汉博士德有限公司。

1.3 方法

1.3.1 免疫组织化学

组织经10%中性甲醛固定, 常规包埋制成4 μm 厚的切片, 经二甲苯脱蜡、乙醇逐步水化后, 抗原热修复15 min。3%双氧水浸泡10 min, 用于去除内源性酶。每张切片的组织上滴加50 μL 山羊血清, 封闭30 min。弃去山羊血清, 加50 μL KIF4A兔抗人单克隆抗体4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。次日, 弃去一抗后滴加二抗孵育30 min。滴加DAB显色剂, 之后进行苏木精复染。依次经过梯度乙醇脱水, 二甲苯20 min后用中性树脂封片。显微镜下观察KIF4A蛋白表达情况。

1.3.2 染色结果判定

本试验采用双盲阅片法, 每张切片均随机观察5个高倍视野, 切片由2位病理科医师分别阅片。细胞核内出现棕黄色颗粒为KIF4A阳性表达。根据文献[6], 按照肿瘤着色强度及阳性细胞率分别计分。着色强度: 无着色为0分, 淡黄色为1分, 黄色为2分, 棕黄色为3分; 阳性细胞率: <5%为0分, 6%~25%为1分, 26%~50%为2分, 50%~75%为3分, >75%为4分; 根据2个评分乘积: 0分判定为阴性表达, 1~4分判定为弱阳性表达,

5~8分判定为阳性表达, 9~12分判定为强阳性表达。其中阴性及弱阳性为低表达, 即KIF4A在胰腺癌组织及癌旁组织中阴性表达, 阳性及强阳性为高表达, 即KIF4A在胰腺癌组织及癌旁组织中阳性表达^[6]。

1.3.3 随访方法

纳入本研究的患者均具有完整随访资料。患者出院后前3个月, 每个月随访1次; 第4~9个月, 每3个月随访1次; 之后每6个月随访1次。所有患者均随访48个月, 本研究的随访方式为患者复诊、电话回访等。

1.4 统计学处理

采用SPSS 20.0统计软件进行数据分析。数据符合正态分布, 结果用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示; 数据不符合正态分布, 结果用中位数(四分位数间距)表示; 计数资料比较采用 χ^2 检验; Kaplan-Meier法进行生存分析; Cox比例风险回归模型进行多因素生存分析。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 KIF4A 在胰腺癌及癌旁组织中的表达

免疫组织化学结果显示: 胰腺癌组织KIF4A阴性表达21例(29.17%), 阳性表达51例(70.83%), 癌旁组织中阴性表达55例(76.39%), KIF4A阳性表达17例(23.61%), 与癌旁组织相比, KIF4A在

胰腺癌组织中的阳性表达率显著升高($\chi^2=32.211$, $P<0.05$; 图1)。

2.2 KIF4A 在胰腺癌组织中的表达与胰腺癌临床指标的关系

对KIF4A在胰腺癌组织中的表达与患者的临床指标进行统计学分析, 结果显示: 胰腺癌组织中KIF4A阳性表达与TNM分期($P=0.041$)、分化程度($P=0.001$)及淋巴结转移($P<0.001$)有关; 肿瘤TNM分期III期患者胰腺癌组织中KIF4A阳性表达率高于I+II者, 分化程度低的患者KIF4A阳性表达率高于分化程度高+中者, 有淋巴结转移的患者KIF4A阳性表达率高于无淋巴结转移者(表1)。

2.3 KIF4A 阳性表达对胰腺癌患者预后的影响

72例胰腺癌患者无失访病例, 随访结果显示: 存活48例, 死亡24例; KIF4A在胰腺癌组织中阳性表达组生存时间16(12.0~23.0)个月; 在胰腺癌组织中阴性表达组生存时间35(22.5~40.5)个月, KIF4A阳性表达组生存时间明显低于KIF4A阴性表达组。进一步采用log-rank法进行生存曲线比较, 2组差异有统计学意义($\chi^2=10.306$, $P=0.001$; 图2)。

Cox比例风险回归模型进一步分析发现TNM高分期($P=0.011$)、肿瘤分化程度低($P<0.001$)、有淋巴结转移($P=0.001$)、KIF4A在胰腺癌组织中的阳性表达($P=0.043$)是影响胰腺癌患者预后的独立危险因素(表2)。

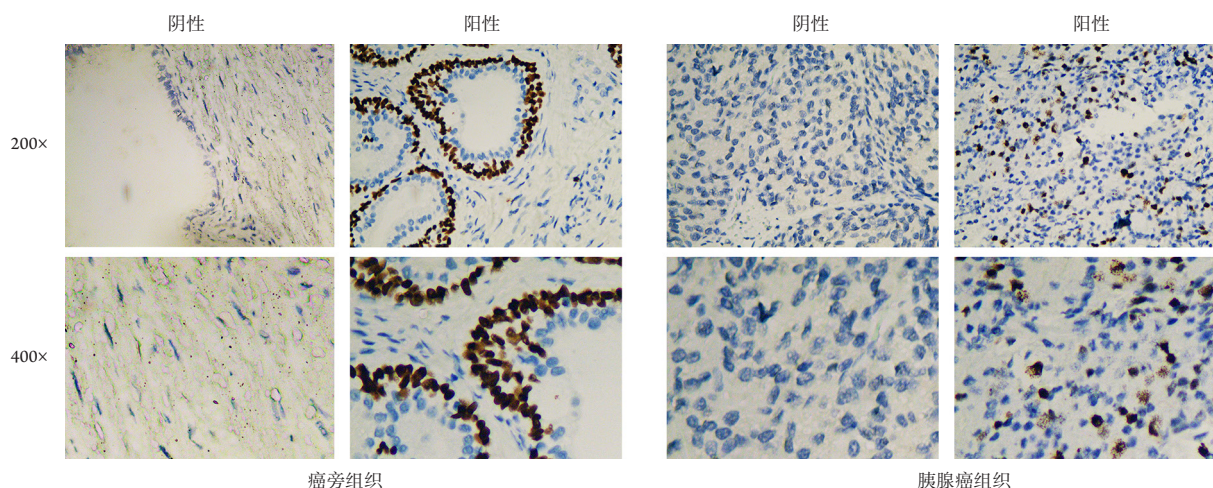


图1 KIF4A在胰腺癌及癌旁组织中的表达

Figure 1 Expression of KIF4A in pancreatic cancer and adjacent tissues

表1 KIF4A在胰腺癌组织中表达与胰腺癌患者临床指标的关系

Table 1 Relationship between KIF4A expression in pancreatic cancer tissues and clinical indicators in patients with pancreatic cancer

临床指标	<i>n</i>	KIF4A蛋白阳性表达 (<i>n</i> =51)/[例(%)]	KIF4A蛋白阴性表达 (<i>n</i> =21)/[例(%)]	χ^2	<i>P</i>
年龄/岁				1.143	0.285
<50	31	24 (47.06)	7 (33.33)		
≥50	41	27 (52.94)	14 (66.67)		
性别				0.363	0.547
男	45	33 (64.71)	12 (57.14)		
女	27	18 (35.29)	9 (42.86)		
肿瘤直径/cm				0.004	0.947
<5	45	32 (62.75)	13 (61.90)		
≥5	27	19 (37.25)	8 (38.10)		
TNM分期				4.157	0.041
I+II	25	16 (31.37)	9 (42.86)		
III	47	35 (68.63)	12 (57.14)		
分化程度				12.413	0.001
高+中	35	18 (35.29)	17 (80.95)		
低	37	33 (64.71)	4 (19.05)		
淋巴结转移				13.209	<0.001
有	44	38 (74.51)	6 (28.57)		
无	28	13 (25.49)	15 (74.43)		

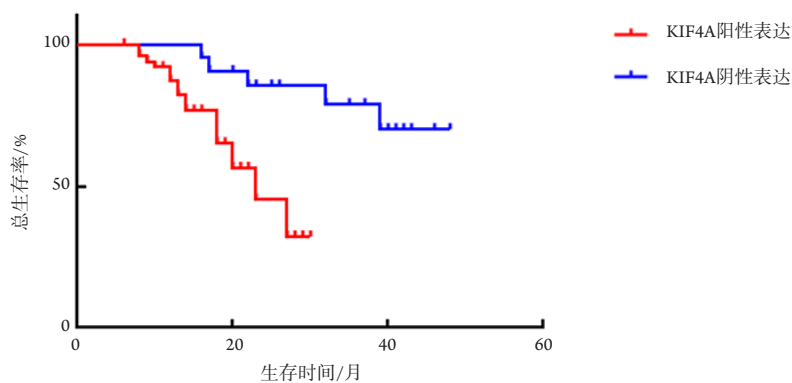


图2 KIF4A阳性组和KIF4A阴性组的生存曲线

Figure 2 Survival curves of KIF4A positive group and KIF4A negative group

表2 影响胰腺癌患者预后的多因素分析

Table 2 Multivariate analysis of prognostic factors in patients with pancreatic cancer

因素	B	SE	Wald	P	Exp(B)	95%CI
年龄(<50岁 vs ≥50岁)	-0.756	0.648	1.363	0.243	0.469	0.132~1.671
性别(男 vs 女)	0.188	0.633	0.088	0.766	1.207	0.349~4.169
肿瘤直径(≥5 cm vs <5 cm)	0.732	0.471	2.420	0.120	2.079	0.827~5.231
TNM分期(III vs I+II)	1.639	0.643	6.495	0.011	5.152	1.460~18.177
分化程度(低 vs 中+高)	2.392	0.596	16.084	<0.001	10.932	3.397~35.182
淋巴结转移(有 vs 无)	2.005	0.607	10.923	0.001	7.423	2.261~24.368
KIF4A(阳性 vs 阴性)	1.432	0.707	4.108	0.043	4.188	1.048~16.728

3 讨论

胰腺癌是一种具有局部晚期和转移表型的全身性疾病, 5年生存率约为8%。现有的技术无法实现对胰腺癌的早期诊断^[7]。胰腺癌的发病率每年呈上升趋势, 由于诊断晚、转移早, 对化学疗法或放射疗法的反应有限, 因此病死率也较高。手术切除后的辅助化疗通常是治疗早期胰腺癌的首选方案^[8]。即使进行手术, 患者预后改善仍不明显。因此, 迫切需要了解潜在的机制并寻找手术、放疗以外有效的治疗手段^[9-10]。

KIF4在不同癌症中具有不同的调节机制, 因此, KIF4可作为癌症治疗的治疗靶标^[11]。KIF4A在控制纺锤体组织、完成细胞质分裂、染色体排列和染色体缩合中起关键作用; 失调的KIF4A导致纺锤体异常分离, 并进一步诱导非整倍体, 这可能导致细胞获得或失去遗传物质, 而非整倍体与癌症进展密切相关^[12]。研究^[13]发现: KIF4A在乳腺癌组织中呈高表达, 并且与患者的预后相关, 对乳腺癌的诊断及预后具有重要意义。KIF4A在胃癌组织中低表达, 且在KIF4A低表达的胃癌SGC细胞株中细胞的迁移速率增加, KIF4A过表达的胃癌SGC细胞株中细胞的迁移速率减慢, 提示KIF4A抑制胃癌细胞的迁移参与调控胃癌转移的过程^[14-15]。Haider等^[16]使用公开的mRNA丰度数据集对466位胰腺导管腺癌患者进行了大型回顾性荟萃分析, 并鉴定了225个候选预后基因, 结果发现KIF4A的高表达与生存期短有关。本研究发现: 在胰腺癌组织中, KIF4A的阳性表达率高于癌旁组织, 由于癌细胞的特征是异常的有丝分裂引起染色体异常, 而KIF4A与染色体结构完整性、纺锤体中间区形成和细胞质分裂的调节密切相关, 因此, 这可

能是KIF4A在胰腺癌组织中阳性表达率高于癌旁组织的原因之一; 此外, KIF4A在胰腺癌组织中的阳性表达与TNM分期、肿瘤分化程度及淋巴结转移等临床指标有关。有淋巴结转移及TNM分期高, 肿瘤分化程度越低的患者, 胰腺癌组织中KIF4A的阳性表达率越高, 这可能与KIF4A通过细胞周期相关途径促进癌细胞的增殖和迁移有关^[17]。本研究生存分析结果发现: KIF4A阳性表达组生存时间明显低于KIF4A阴性表达组; 进一步采用多因素分析发现TNM高分期、低肿瘤分化程度、有淋巴结转移及KIF4A阳性表达均是影响胰腺癌患者预后的独立因素。这提示KIF4A在胰腺癌组织中的阳性表达是胰腺癌患者不良预后的重要原因之一。

综上, KIF4A在胰腺癌组织中呈阳性表达, 且与TNM分期、分化程度、淋巴结转移及不良预后有关, KIF4A可作为患者预后的分子标志物。下一步我们将深入研究KIF4A的异常表达在胰腺癌发生发展中的作用机制, 为临床治疗胰腺癌提供新的治疗靶点。

参考文献

- Zhou C, Qian W, Li J, et al. High glucose microenvironment accelerates tumor growth via SREBP1-autophagy axis in pancreatic cancer[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38(1): 302.
- 王开琼, 邢貽雷, 乔欣, 等. miR-144对胰腺癌SW1990细胞增殖、迁移、侵袭及PI3K通路的影响[J]. *肿瘤防治研究*, 2019, 46(10): 879-883.
- WANG Kaiqiong, XING Yilei, QIAO Xin, et al. Effects of miR-144 on proliferation, migration, invasion and PI3K pathway of pancreatic cancer SW1990 cells[J]. *Cancer Research on Prevention and*

- Treatment, 2019, 46(10): 879-883.
3. Cao Q, Song Z, Ruan H, et al. Targeting the KIF4A/AR axis to reverse endocrine therapy resistance in castration-resistant prostate cancer[J]. Clin Cancer Res, 2020, 26(6): 1516-1528.
 4. 吴珏堃, 熊志勇. KIF4A在乳腺癌中的功能分析及临床意义[J]. 新医学, 2018, 49(12): 884-888.
WU Juekun, XIONG Zhiyong. Functional analysis and clinical significance of KIF4A in breast cancer[J]. New Medicine, 2018, 49(12): 884-888.
 5. 江涛, 吴兆映, 史沛聪, 等. KIF4A在结直肠癌中的表达及其临床意义[J]. 南京医科大学学报: 自然科学版, 2018, 38(5): 628-632.
JIANG Tao, WU Zhaoying, SHI Peicong, et al. Expression and clinical significance of KIF4A in colorectal cancer tissues[J]. Journal of Nanjing Medical University. Natural Sciences, 2018, 38(5): 628-632.
 6. 赵海涛, 张海涛. E-cadherin、 β -catenin表达与胰腺癌预后的关系[J]. 实用癌症杂志, 2016, 31(6): 899-900.
ZHAO Haitao, ZHANG Haitao. Relationship between expression of E-cadherin, p-catenin, and prognosis of pancreatic cancer[J]. The Practical Journal of Cancer, 2016, 31(6): 899-900.
 7. Zhu H, Li T, Du Y, et al. Pancreatic cancer: challenges and opportunities[J]. BMC Med, 2018, 16(1): 214.
 8. Zeng S, Pöttler M, Lan B, et al. Chemoresistance in pancreatic cancer[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(18): 4504.
 9. Fang C, Dai CY, Mei Z, et al. microRNA-193a stimulates pancreatic cancer cell repopulation and metastasis through modulating TGF- β 2/TGF- β RIII signalings[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2018, 37(1): 25.
 10. 曹锋, 李嘉, 孙海晨, 等. Notch-3表达与胰腺癌患者上皮-间质转化及预后的关系[J]. 中华肝胆外科杂志, 2018, 24(7): 459-463.
CAO Feng, LI Jia, SUN Haichen, et al. Role of Notch-3 in epithelial-mesenchymal transition and prognosis of pancreatic cancer patients[J]. Chinese Journal of Hepatobiliary Surgery, 2018, 24(7): 459-463.
 11. Sheng L, Hao SL, Yang WX, et al. The multiple functions of kinesin-4 family motor protein KIF4 and its clinical potential[J]. Gene, 2018, 678: 90-99.
 12. Gao HW, Chen XR, Cai QL, et al. Increased KIF4A expression is a potential prognostic factor in prostate cancer[J]. Oncol Lett, 2018, 15(5): 7941-7947.
 13. 陈柱, 宋晓薇, 曹稳琰, 等. KIF4A在乳腺癌组织中的表达及其临床意义[J]. 广西医科大学学报, 2019, 36(11): 1733-1737.
CHEN Zhu, SONG Xiaowei, CAO Wenlong, et al. Expression and clinical significance of KIF4A in breast cancer[J]. Journal of Guangxi Medical University, 2019, 36(11): 1733-1737.
 14. 刘海燕, 李陪, 高辉, 等. 染色体驱动蛋白KIF4A对胃癌细胞迁移和转移的影响[J]. 山东大学学报(医学版), 2013, 51(12): 25-28.
LIU Haiyan, LI Pei, GAO Hui, et al. Effect of chromokinesin KIF4A on gastric carcinoma migration and metastasis[J]. Journal of Shandong University. Health Science, 2013, 51(12): 25-28.
 15. 胡晓晴, 梁爽爽, 冀美超, 等. 染色体驱动蛋白KIF4A抑制胃癌细胞的迁移运动[J]. 山东大学学报(理学版), 2015, 50(11): 1-7.
HU Xiaoqing, LIANG Shuangshuang, JI Meichao, et al. Chromokinesin KIF4A inhibits migration of gastric cancer cells[J]. Journal of Shandong University. Natural Science, 2015, 50(11): 1-7.
 16. Haider S, Wang J, Nagano A, et al. A multi-gene signature predicts outcome in patients with pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. Genome Med, 2014, 6(12): 105-116.
 17. Hou G, Dong C, Dong Z, et al. Upregulate KIF4A enhances proliferation, invasion of hepatocellular carcinoma and indicates poor prognosis across human cancer types[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 4148-4158.

本文引用: 李明晨, 许立新, 陈名霞. KIF4A蛋白在胰腺癌组织中的表达及临床意义[J]. 临床与病理杂志, 2021, 41(9): 1989-1994. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2021.09.003

Cite this article as: LI Mingchen, XU Lixin, CHEN Mingxia. Expression and clinical significance of KIF4A protein in pancreatic cancer[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2021, 41(9): 1989-1994. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2021.09.003