

• 论 著 •

WEE1 在胃癌、癌前病变、正常胃组织中的
差异性表达及其临床意义*

孟海¹, 赵成礼¹, 潘伟伟¹, 卢 岑^{2△}

1. 江苏省盐城市滨海县人民医院消化科, 江苏盐城 224500; 2. 东南大学附属
中大医院消化科, 江苏南京 210009

摘 要:**目的** 探讨 WEE1 在胃癌、癌前病变、正常胃组织中的差异性表达及其临床意义。**方法** 收集 74 例胃癌患者、32 例癌前病变患者、34 例胃部良性疾病患者的临床资料, 采用免疫组化法检测胃部病变组织及正常组织中 WEE1 的表达, 同时进行随访, 统计分析 WEE1 在不同病变胃组织中表达的意义。**结果** WEE1 在胃癌细胞的细胞质、细胞核内均有明显表达, 总体阳性率为 43.2%(32/74), 正常胃组织中的总体阳性率为 8.8%(3/34), 癌前病变组织中的总体阳性率为 21.9%(7/32)。WEE1 在胃癌组织中的阳性率高于正常胃组织及癌前病变组织($\chi^2=12.600, 5.895$, 均 $P<0.05$)。肿瘤最大径、T 分期、N 分期、脉管浸润对 WEE1 表达有影响($P<0.05$)。5 年内胃癌患者死亡 41 例, 其中, WEE1 阴性组 13 例、WEE1 阳性组 28 例, 2 组患者的 5 年生存率比较, 差异有统计学意义($\chi^2=32.690, P<0.05$)。WEE1 阳性组无瘤生存期(12.3 ± 4.56)个月; WEE1 阴性组无瘤生存期(37.8 ± 6.72)个月, 2 组比较差异有统计学意义($t=4.697, P<0.05$)。**结论** WEE1 在胃癌中有较高的阳性率, 且与患者分期密切相关, 其 WEE1 阳性是患者预后不良的强烈信号。

关键词: 胃癌; WEE1; 5 年生存率

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.07.016

中图法分类号:R735.2

文章编号:1673-4130(2021)07-0836-04

文献标志码:A

Differential expression of WEE1 in gastric cancer, precancerous lesions, and normal
gastric tissues and its clinical significance*

MENG Hai¹, ZHAO Chengli¹, PAN Weiwei¹, LU Qin^{2△}

1. Department of Gastroenterology, Binhai People's Hospital, Yancheng, Jiangsu 224500, China;

2. Department of Gastroenterology, Zhongda Hospital Affiliated to Southeast University,
Nanjing, Jiangsu 210009, China

Abstract:**Objective** To investigate the differential expression of WEE1 in gastric cancer, precancerous lesions, and normal gastric tissues and its clinical significance. **Methods** The clinical data of 74 patients with gastric cancer, 32 patients with precancerous lesions, and 34 patients with benign gastric diseases were collected, and the expression of WEE1 in gastric lesion tissues and normal tissues were detected by immunohistochemistry. Follow-up was performed at the same time, and the significance of WEE1 expression in different gastric tissues were analyzed statistically. **Results** WEE1 was significantly expressed in the cytoplasm and nucleus of gastric cancer cells, with an overall positive rate of 43.2% (32/74), and an overall positive rate of 8.8% (3/34) in normal gastric tissues, and an overall positive rate of 21.9% (7/32) in precancerous tissues. The positive rate of WEE1 in gastric cancer tissues was higher than that of normal gastric tissues and precancerous tissues($\chi^2=12.600, 5.895$, both $P<0.05$). Tumor diameter, T staging, N staging, and vascular invasion had an influence on the expression of WEE1($P<0.05$). A total of 41 gastric cancer patients died within 5 years, of which 13 were WEE1 negative and 28 were WEE1 positive. The 5-year survival rate of the two groups were compared, and the differences were statistically significant($\chi^2=32.690, P<0.05$). The tumor-

* 基金项目: 盐城市科技计划项目(YK2018080)。

作者简介: 孟海, 男, 主任医师, 主要从事消化道肿瘤作用机制相关研究。△ 通信作者, E-mail: luqin81287@163.com。

本文引用格式: 孟海, 赵成礼, 潘伟伟, 等. WEE1 在胃癌、癌前病变、正常胃组织中的差异性表达及其临床意义[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(7): 836-839.

free survival period of WEE1 positive group was (12.3±4.56) months; the tumor-free survival period of WEE1 negative group was (37.8±6.72) months. The differences between the two groups were statistically significant($t=4.697, P<0.05$). **Conclusion** WEE1 has a high positive rate in gastric cancer and is closely related to the patient's staging. WEE1 positive is a strong signal of poor prognosis for patients.

Key words: gastric cancer; WEE1; 5-year survival rate

WEE1 是丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶基因家族的成员。在哺乳动物中, WEE1 编码一个相对分子质量为 94×10^3 的蛋白, 含 647 个氨基酸残基, 并与髓鞘转录因子组成一个小的基因家族^[1-2]。有研究表明, WEE1 在各种类型的人类恶性肿瘤中的表达增加, 包括黑色素瘤、卵巢癌、肝细胞癌、胶质母细胞瘤和乳腺癌, 抑制 WEE1 的表达可抑制肿瘤细胞增殖, 促进肿瘤细胞凋亡^[3-4]。此外, WEE1 蛋白的选择性抑制剂 AZD1775 通过促进 DNA 修复而增强 T 淋巴细胞急性淋巴细胞白血病对阿糖胞苷的敏感性^[5]。因此, 本研究选取 74 例胃癌患者、32 例癌前病变患者、34 例胃部良性疾病患者为研究对象, 探讨 WEE1 在胃部不同病变组织中的差异性表达及临床意义, 以期对胃癌的机制研究提供更多依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2011 年 1 月至 2013 年 9 月滨海县人民医院收治的胃癌患者为研究对象。纳入标准: (1) 首次确诊胃癌。 (2) 术前未行放化疗等抗肿瘤治疗。 (3) 无胃部手术史及其他病史。 (4) 临床资料及随访资料完整。 排除标准: (1) 围术期死亡病例。 (2) 合并有其他器官或系统的恶性肿瘤或有恶性肿瘤史。 (3) 因肿瘤相关肠梗阻等行急诊手术。 最终, 74 例患者被纳入研究。 其中男 44 例, 女 30 例; 年龄 32~83 岁, 中位年龄 54 岁。 选取同期因胃部癌前病变或胃部良性疾病而行切除手术的患者 66 例, 其中肠型化生患者 20 例、异型增生患者 8 例、慢性萎缩性胃炎患者 4 例、胃部良性疾病患者 34 例, 收集其标本及预后数据(无瘤生存期和 5 年生存率)。

1.2 方法 采用免疫组化法检测胃部病变组织及正常组织中 WEE1 的表达。 将 2 μ m 厚度的组织切片在 60 $^{\circ}$ C 下切烤 1 h, 二甲苯中脱蜡, 乙醇洗涤(100% 乙醇 3 min, 2 次; 95% 乙醇 3 min, 2 次; 蒸馏水 3 min); 随后, 切片在枸橼酸缓冲液(0.01 mmol/L, pH 值为 6.0, 购自北京中山金桥生物技术有限公司)中进行微波热诱导抗原 3 min, 并冷却至室温, 再逐渐加蒸馏水冲洗至少 20 min; 蒸馏水冲洗后, 采用 3% 过氧化氢在室温下阻断内源性过氧化物酶; 切片用磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗 5 次(每次 2 min); 在 4 $^{\circ}$ C 下与多克隆兔抗人 WEE1 抗体过夜孵育(稀释度 1:75); 再次用 PBS 冲洗 5 次(每次 2 min)后, 切片用抗兔过氧

化物免疫球蛋白 G(稀释度 1:300)在 37 $^{\circ}$ C 下孵育 30 min; 苏木精染色。 通过计数区域的 200 个细胞检测 WEE1 染色, 这些细胞集中在肿瘤细胞上。 根据以往研究评分^[6]: 0 为无阳性细胞; 1+为<10% 阳性细胞; 2+为 10%~50% 阳性细胞; 3+为>50% 阳性细胞。 如果评分为 0, 则 WEE1 蛋白的表达被定义为 WEE1 阴性; 如果评分为 1+、2+或 3+, 则被归类为 WEE1 阳性。

1.3 统计学处理 采用 SPSS20.0 统计软件进行数据处理分析。 符合正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 组间比较采用 t 检验, 计数资料以例数和百分率表示, 组间比较采用 χ^2 检验。 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

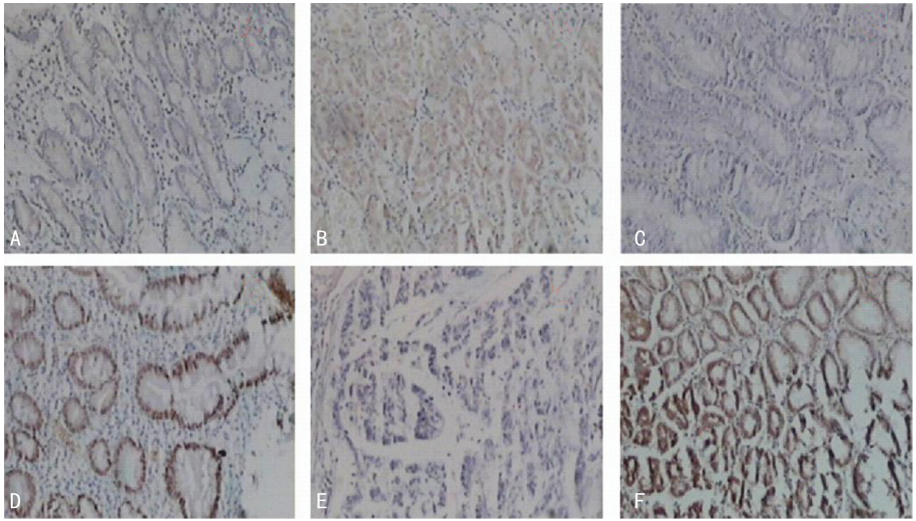
2 结 果

2.1 WEE1 在不同胃部病变组织中的表达 WEE1 在胃癌细胞的细胞质、细胞核内均有表达, 总体阳性率为 43.2% (32/74)。 在正常胃组织中阳性率为 8.8% (3/34)。 在癌前病变组织中的总体阳性率为 21.9% (7/32), 其中肠型化生、异型增生、慢性萎缩性胃炎的阳性率分别为 25.0% (5/20)、12.5% (1/8)、25.0% (1/4)。 WEE1 在胃癌组织中的阳性率高于正常胃组织及癌前病变组织($\chi^2=12.600, 5.895$, 均 $P<0.05$)。 见表 1、图 1。

表 1 WEE1 在不同胃部病变组织中的表达(n)					
组织类型	n	WEE1 阳性	WEE1 阴性	χ^2	P
正常胃组织	34	3	31	1.896	0.168
癌前病变组织	32			4.386	0.036
肠型化生	20	5	15		
异型增生	8	1	7		
慢性萎缩性胃炎	4	1	3		
胃癌组织	74	32	42	12.600	<0.001

2.2 WEE1 表达与胃癌病理参数的关系 肿瘤最大径、T 分期、N 分期、脉管浸润对 WEE1 表达有影响($P<0.05$), 但肿瘤部位、WHO 分型、Lauren 分型、M 分期对 WEE1 表达无明显影响($P>0.05$)。 见表 2。

2.3 WEE1 表达对患者预后的影响 对 74 例胃癌患者进行随访, 6 例患者失访, 均为 WEE1 阴性患者; 5 年内胃癌患者死亡 41 例, 其中, WEE1 阴性组 13 例、WEE1 阳性组 28 例, 2 组患者的 5 年生存率比较, 差异有统计学意义($\chi^2=32.690, P<0.05$)。 见表 3。



注:A 为 WEE1 在正常胃组织中的阴性表达;B 为 WEE1 在正常胃组织中的阳性表达;C 为 WEE1 在肠型化生胃组织中的阴性表达;D 为 WEE1 在肠型化生胃组织中的阳性表达;E 为 WEE1 在胃癌组织中的阴性表达;F 为 WEE1 在胃癌组织中的阳性表达。

图 1 WEE1 在不同胃部病变组织中的表达

表 2 WEE1 表达与胃癌病理参数的关系(n)					
临床病理因素	n	WEE1 阳性	WEE1 阴性	χ^2	P
年龄(岁)				0.249	0.618
≥60	63	28	35		
<60	11	4	7		
性别				0.939	0.333
男	44	17	27		
女	30	15	15		
肿瘤部位				0.846	0.838
上部	2	1	1		
中部	3	2	1		
下部	66	28	38		
≥2 区或残胃	3	1	2		
肿瘤最大径(cm)				7.316	0.007
≥5	33	20	13		
<5	41	12	29		
WHO 分型				1.071	0.957
乳头状腺癌	7	2	5		
管状腺癌低分化	52	24	28		
管状腺癌中分化	3	1	2		
管状腺癌高分化	2	1	1		
黏液腺癌	3	1	2		
印戒细胞癌	7	3	4		
Lauren 分型				0.661	0.416
肠型	50	20	30		
弥漫型	24	12	12		
T 分期				8.124	0.044
T1	9	1	8		
T2	17	5	12		

续表 2 WEE1 表达与胃癌病理参数的关系(n)					
临床病理因素	n	WEE1 阳性	WEE1 阴性	χ^2	P
T3	32	16	16		
T4	16	10	6		
N 分期				8.580	0.035
N0	11	2	9		
N1	13	3	10		
N2	24	11	13		
N3	26	16	10		
M 分期				1.942	0.163
M0	12	3	9		
M1	62	29	33		
脉管浸润				4.576	0.032
有	11	8	3		
无	63	24	39		

表 3 WEE1 表达对患者预后的影响			
组别	n	5 年生存率[n(%)]	无瘤生存期($\bar{x}\pm s$,个月)
WEE1 阳性组	32	4(12.5%)	12.3±4.56
WEE1 阴性组	36	23(71.87%)	37.8±6.72
χ^2/t		32.690	4.697
P		<0.001	<0.001

3 讨 论

胃癌是我国最常见的消化道恶性肿瘤之一,随着我国社会经济的发展,人们的生活习惯、饮食习惯发生巨大改变,胃癌的发病率明显升高,寻找治疗胃癌的分子靶点有重要意义^[7-8]。WEE1 激酶是一种在细胞有丝分裂前 G2~M 期检查点阻滞中发挥关键作用的酶类^[9-10]。正常细胞在 G1 期修复 DNA,但肿瘤细

胞伴有 G1~S 期检查点缺陷,通常依赖 G2~M 期检查点完成 DNA 修复,这为靶向 WEE1 激酶抑制的应用提供了理论基础^[11-12]。临床研究证实,WEE1 抑制剂 AZD1775 对一线治疗抵抗或耐药的 TP53 突变卵巢癌患者有效^[13],但在胃癌中,WEE1 的相关研究尚处于起步阶段。

本研究选取了 74 例胃癌患者、32 例癌前病变患者、34 例胃部良性疾病患者为研究对象,采用免疫组化法检测胃部病变组织及正常组织中 WEE1 的表达,结果发现,WEE1 在胃癌、癌前病变、正常胃组织的阳性率分别为 43.2% (32/74)、21.9% (7/32)、8.8% (3/34),胃癌组织中的阳性率高于正常胃组织及癌前病变组织($P<0.05$)。与其他研究不同,本研究遵循胃癌的自然发生模式,即“正常组织-癌前病变-胃癌”模式进行 WEE1 检测,结果发现检出率呈明显升高趋势。这表明,随着 WEE1 表达强度的升高,机体对正常胃黏膜转变为恶性细胞的抑制能力减弱,细胞发生恶性增殖的能力变强,促进了胃癌的发生。本研究进一步分析了 WEE1 表达与胃癌临床病理参数的关系,结果发现,肿瘤最大径、T 分期、N 分期、脉管浸润对 WEE1 表达有影响。这提示临床,WEE1 的表达上调可能参与了胃癌细胞的浸润和淋巴结转移的调节。这可能是由于:(1)WEE1 阳性意味着胃癌细胞有更强大的分化增殖能力,致使肿瘤细胞更易生长、侵入淋巴管或血管,造成淋巴结转移甚至远隔转移。(2)脉管癌栓与胃癌分期有密切关系,WEE1 可能通过促进脉管癌栓从而促进肿瘤转移。本研究随访发现,WEE1 阳性患者死亡 28 例,WEE1 阴性患者死亡 13 例。与 WEE1 阴性患者比较,WEE1 阳性患者 5 年生存率较差,差异有统计学意义($P<0.05$)。WEE1 阳性患者无瘤生存期低于 WEE1 阴性患者($P<0.05$)。这与 WEE1 对临床病理参数影响的结论相吻合。WEE1 的阳性表达意味着更高的 T 分期与 N 分期,同时也可能导致脉管浸润的发生率升高。这些不良因素共同作用,致使 WEE1 阳性患者预后明显较差、无瘤生存期较短。相应地,WEE1 阴性患者预后较好。

综上所述,WEE1 在胃癌中有较高的阳性率,且与胃癌分期密切相关,其阳性表达是患者预后不良的强烈信号。但本研究为单中心研究,样本量较小,未来在多中心联合的基础上,实施更大样本量的研究,或能得出更具说服力的证据。

参考文献

[1] BAHARUDDIN P, SATAR N, FAKIRUDDIN K S, et al.

- Curcumin improves the efficacy of cisplatin by targeting cancer stem-like cells through p21 and cyclin D1-mediated tumour cell inhibition in non-small cell lung cancer cell lines[J]. *Oncol Rep*, 2016, 35(1):13-25.
- [2] LUJIC N, SOPTA J, KOVACEVIC R, et al. Recurrence of giant cell tumour of bone: role of p53, cyclin D1, β -catenin and Ki67[J]. *Int Orthop*, 2016, 40(11):1-7.
- [3] MATHESON C J, BACKOS D S, REIGAN P. Targeting WEE1 kinase in cancer[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2016, 37(10):872-881.
- [4] KIM H Y, CHO Y, KANG H, et al. Targeting the WEE1 kinase as a molecular targeted therapy for gastric cancer[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(31):49902-49916.
- [5] WEBSTER P J, LITTLEJOHNS A T, GAUNT H J, et al. Upregulated WEE1 protects endothelial cells of colorectal cancer liver metastases[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(26):42288-42299.
- [6] MAHAJAN N P, MALLA P, BHAGWAT S, et al. WEE1 epigenetically modulates 5-hmC levels by pY37-H2B dependent regulation of IDH2 gene expression[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(63):106352-106368.
- [7] JIN J, FANG H, YANG F, et al. Combined inhibition of ATR and WEE1 as a novel therapeutic strategy in triple-negative breast cancer[J]. *Neoplasia*, 2018, 20(5):478-488.
- [8] 左婷婷, 郑荣寿, 曾红梅, 等. 中国胃癌流行病学现状[J]. *中国肿瘤临床*, 2017, 44(1):52-58.
- [9] 常敏, 张久聪, 周琴, 等. 胃癌流行病学研究进展[J]. *胃肠病学和肝病杂志*, 2017, 26(9):966-969.
- [10] LIU W, ZENG X, YIN Y, et al. Targeting the WEE1 kinase strengthens the antitumor activity of imatinib via promoting KIT autophagic degradation in gastrointestinal stromal tumors[J]. *Gastric Cancer*, 2020, 23(1):39-51.
- [11] JIN M H, NAM A R, PARK J E, et al. Therapeutic co-targeting of WEE1 and ATM downregulates PD-L1 expression in pancreatic cancer[J]. *Cancer Res Treat*, 2020, 52(1):149-166.
- [12] EGELAND E V, FLATMARK K, NESLAND J M, et al. Expression and clinical significance of WEE1 in colorectal cancer[J]. *Tumor Biology*, 2016, 37(9):12133-12140.
- [13] RONCO C, MARTIN A R, DEMANGE L, et al. ATM, ATR, CHK1, CHK2 and WEE1 inhibitors in cancer and cancer stem cells[J]. *Medchemcomm*, 2016, 8(2):295-319.

(收稿日期:2020-08-02 修回日期:2020-12-17)