

# BACH1 在胃癌中的表达及其临床意义

陈冲, 周波, 常家聪

**摘要** 目的 探讨 BTB-CNC 异体同源体 1 (BACH1) 在胃癌中的表达情况及其与临床病理特征和预后的关系。方法 使用含 98 例胃癌病例样本且携带临床病理特征及随访信息的胃癌组织芯片, 采用免疫组化方法检测 BACH1 的表达情况并分析其与胃癌患者临床病理特征及预后之间的关系。结果 BACH1 在胃癌组织中阳性表达率 (44.9%) 高于癌旁正常组织 (25.6%) ( $P < 0.05$ ), 且和胃癌的病理分级、T 分期、淋巴结转移及 TNM 分期均相关 ( $P < 0.05$ )。K-M 生存分析显示 BACH1 高表达患者预后更差 ( $P < 0.05$ ), COX 生存分析显示 BACH1 表达、淋巴结转移、远处转移和 TNM 分期是胃癌不良预后的预测因素 (均  $P < 0.05$ ), 且 BACH1 表达 ( $P = 0.028$ ) 和远处转移 ( $P = 0.001$ ) 是胃癌预后的独立危险因素。结论 BACH1 的异常表达与胃癌的发生发展密切相关, 可能是胃癌患者预后的潜在生物标志物。

**关键词** 胃癌; BACH1; 组织芯片; 免疫组化

**中图分类号** R 735.2

**文献标志码** A **文章编号** 1000-1492(2020)10-1575-04  
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2020.10.019

胃癌作为全球第五大高发癌症, 死亡率位居第三, 目前患者的 5 年生存率依然低下<sup>[1]</sup>。因此, 进一步研究胃癌分子机制并为之提供合理的治疗方案迫在眉睫。当前发现转录因子 BACH1 (BTB and CNC homology1) 是一种转录抑制因子, 属于帽和衣领碱性区域亮氨酸拉链蛋白家族 (cap'n collar type of basic region leucine zipper protein family, CNC-bZip), 它通过抑制血红素环氧化酶 1 (hemoxygenase-1, HO-1) 的表达在调节氧化应激中起重要作用<sup>[2]</sup>, 越来越多的证据表明 BACH1 参与结肠癌、乳腺癌、肺癌等癌症的发生、发展<sup>[3-5]</sup>。然而国内外尚未发现 BACH1

在胃癌组织中的表达情况及其与临床病理资料相关性的文献报道, 因此该研究通过检测 BACH1 在胃癌组织中的表达情况, 分析其与临床病理特征和预后的相关性, 为进一步研究其在胃癌发生、发展中的作用机制奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 胃癌组织芯片及相关信息** 胃癌组织芯片 (型号: HStmA180Su15) 购自上海芯超生物科技有限公司, 包含了手术时间为 2006 年 7 月~2007 年 4 月共 98 例胃癌患者癌组织及与其相对应的 82 例癌旁组织, 经后期实验观察排除取材失败位点, 最终纳入统计的为 89 例胃癌组织和 78 例癌旁组织, 其中癌与癌旁配对共 70 例。组织芯片制作流程: 在组织数据库中选择合适的组织病例编号, 按照组织病例编号从组织库中取出组织蜡块和对应的 HE 染色切片, 用组织阵列仪按照阵列设计抽提病理蜡块组织芯并有规律的排列在空白受体蜡块上, 用全自动组织切片机曝露组织芯后对组织阵列块进行切片, 切片裱附在防脱片处理的载玻片上最终形成胃癌组织芯片。胃癌患者年龄: 41~84 (64.74 ± 10.015) 岁。胃癌患者的随访情况: 采取电话随访形式, 随访截止时间为 2015 年 7 月, 随访时间为 1 个月~107 个月, 中位随访时间 43 个月。所有患者术前均未接受放疗化疗治疗。

**1.1.2 试剂** 兔抗人 BACH1 单克隆抗体 (DF8317; 1:200)、SP 染色试剂盒、DAB 显色试剂盒、苏木精染色剂购自合肥摩尔生物科技有限公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 免疫组化** 将组织芯片置于恒温箱中烘烤脱蜡后置于二甲苯中脱蜡 2 次; 酒精梯度脱水; 抗原修复; 阻断过氧化物酶; 山羊血清室温封闭; 封一抗、封 HRP 标记二抗, DAB 显色; 苏木精复染; 自来水分化; 中性树脂封片; 显微镜观察。

**1.2.2 结果判读** 由 2 名经验丰富的病理科医师通过双盲法对免疫组化结果阅片并评分。采取双评

2020-05-11 接收

基金项目: 国家自然科学基金 (编号: 81801952); 安徽省自然科学基金 (编号: 1708085QH199)

作者单位: 安徽医科大学第一附属医院普外科, 合肥 230022

作者简介: 陈冲, 男, 硕士研究生;

周波, 男, 副教授, 主治医师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: 46173771@qq.com;

常家聪, 男, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: changjiacong03@aliyun.com

分半定量法评估 BACH1 的表达情况,免疫组化结果评分 = 着色程度 × 阳性细胞百分率,按以下评估标准进行结果判读,阳性细胞: ≤5% 计 0 分; 6% ~ 25% 计 1 分; 26% ~ 50% 计 2 分; 51% ~ 75% 计 3 分; ≥75% 计 4 分,最终评分 < 4 分为阴性表达, ≥4 分为阳性表达。着色强度: 无阳性染色计 0 分,浅黄色计 1 分,棕黄色计 2 分,褐色计 3 分。最高分 12 分, 4 分及以下为低表达, 5 分及以上为高表达<sup>[6]</sup>。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS 23.0 软件进行统计学分析,使用卡方检验或 Fisher 确切概率法进行组间比较,使用 Kaplan-Meier 法进行单因素分析并绘制生存曲线,生存率的比较采用 Log-rank 检验,预后评估运用 COX 风险比例模型。以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 BACH1 在胃癌组织和癌旁正常组织中的表达情况** BACH1 集中表达在细胞核和细胞质中,镜下观察为浅黄色至棕黄色沉淀。BACH1 在胃癌组织中呈中度表达或低表达,在癌旁正常组织中呈低表达或不表达,见图 1,胃癌组 BACH1 表达阳性率显著高于癌旁组,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),见表 1。

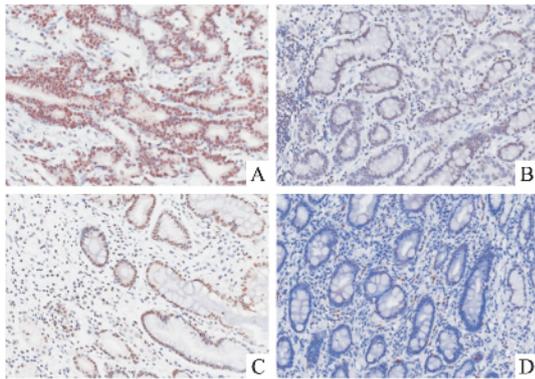


图 1 BACH1 在胃癌组织和癌旁组织中的表达情况 ×200

A、B: BACH1 在癌组织分别呈中度表达和低表达; C、D: BACH1 在癌旁正常组织中分别呈低表达和不表达

表 1 胃癌和癌旁组织中 BACH1 的表达情况 (n)

组别	例数	BACH1 高表达	BACH1 低表达	阳性率 (%)	$\chi^2$	P 值
胃癌	89	40	49	44.9	6.728	0.009
癌旁	78	20	58	25.6		

**2.2 BACH1 的表达与胃癌临床病理特征的关系**

BACH1 的表达和胃癌的病理分级 ( $P = 0.017$ )、T 分期 ( $P = 0.038$ )、淋巴结转移 ( $P = 0.035$ ) 和 TNM 分期 ( $P = 0.007$ ) 相关,而和性别、年龄、肿瘤大小及远处转移无明显相关性,见表 2。

表 2 BACH1 表达水平与胃癌临床病理特征的相关性 (n)

临床病理参数	例数	BACH1 的表达		$\chi^2$ 值	P 值
		高表达	低表达		
性别					
男	58	27	31	2.989	0.084
女	31	13	18		
年龄 (岁)					
≥60	61	27	34	0.036	0.849
<60	28	13	15		
肿瘤直径 (cm)					
≥5	52	23	29	0.026	0.873
<5	37	17	20		
病理分级					
I / II	27	7	20	5.665	0.017
III / IV	62	33	29		
T 分期					
T1/T2	9	0	9	0.038 <sup>a</sup>	
T3/T4	80	40	40		
淋巴结转移					
是	66	34	32	4.457	0.035
否	23	6	17		
远处转移					
是	7	4	3	0.078	0.779
否	82	36	46		
TNM 分期					
I / II	36	10	26	7.199	0.007
III / IV	53	30	23		

a 表示采用 Fisher 确切概率法检验

**2.3 BACH1 表达与胃癌预后的相关性分析** 使用 Kaplan-Meier 生存分析法和 Log-rank 统计检验分析 BACH1 表达和胃癌患者预后的相关性并绘制生存曲线图,结果显示 BACH1 高表达患者预后更差 ( $P = 0.014$ ),见图 2,然后使用单因素 COX 风险比例模型进行生存分析,结果显示淋巴结转移 ( $P = 0.045$ )、远处转移 ( $P < 0.001$ )、TNM 分期 ( $P = 0.019$ ) 及 BACH1 表达 ( $P = 0.016$ ) 可作为胃癌患者预后的预测因子,随即将上述 4 个指标纳入多因素 COX 风险比例模型分析进行生存分析,结果显示 BACH1 表达 ( $P = 0.028$ ) 和远处转移 ( $P = 0.001$ ) 是胃癌不良预后的独立危险因素。见表 3。

**3 讨论**

本研究通过组织芯片技术,用免疫组化实验方法检测胃癌组织中 BACH1 的表达情况,结果显示

表3 影响胃癌患者预后的单因素和多因素 COX 风险比例模型分析

变量	单因素		多因素	
	HR(95% CI)	P 值	HR(95% CI)	P 值
性别	0.777(0.464~1.303)	0.339		
年龄	0.825(0.485~1.405)	0.480		
肿瘤直径	1.469(0.875~2.465)	0.146		
病理分级	1.393(0.783~2.478)	0.259		
T 分期	1.032(0.444~2.402)	0.941		
淋巴结转移	1.913(1.014~3.611)	0.045	1.227(0.514~2.930)	0.644
远处转移	4.664(2.051~10.606)	<0.001	4.235(1.795~9.989)	0.001
TNM 分期	1.893(1.110~3.230)	0.019	1.323(0.629~2.784)	0.461
BACH1	0.534(0.320~0.890)	0.016	0.555(0.328~0.938)	0.028

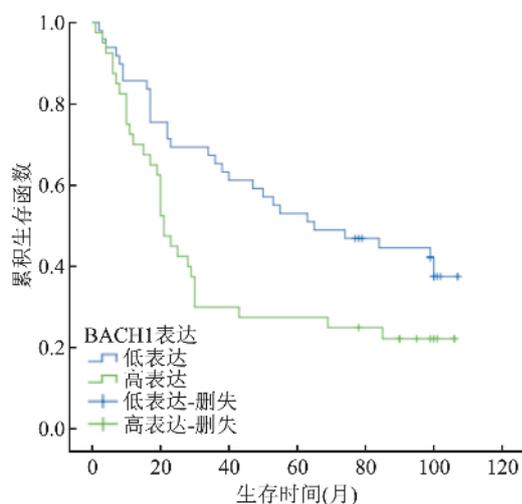


图2 胃癌患者 BACH1 表达的 Kaplan-Meier 生存曲线

其在胃癌组织中的表达高于癌旁正常组织,并证实其与胃癌病理分级、T 分期、淋巴结转移及 TNM 分期显著相关。为了了解 BACH1 表达高低与胃癌患者预后的关系,通过 Kaplan-Meier 单因素生存分析发现 BACH1 高表达胃癌患者预后较低表达更差;通过单因素 COX 风险比例模型分析发现 BACH1 表达、淋巴结转移、远处转移及 TNM 分期均是患者预后的危险因素,将上述 4 个指标纳入多因素 COX 风险比例模型分析发现 BACH1 表达和远处转移是胃癌患者预后的独立危险因素。综合上述结果考虑 BACH1 可能参与了胃癌的发生、发展并与不良预后相关。

细胞衰老是抑制突变细胞增殖的关键,可抑制肿瘤的发生,p53 作为人类癌症中最常见的抑癌基因之一,其突变引起的编码蛋白构象改变和功能丧失最终会导致肿瘤的发生<sup>[7-8]</sup>。当前研究发现转录因子 BACH1 是氧化应激反应的关键负调控因子,其通过抑制血红素氧合酶 1 (hemoxygenase-1, HO-1)

基因的表达来增加氧化应激,BACH1 在 p53 靶基因的一个子集上通过招募组蛋白去乙酰化酶 1 (histone deacetylase 1, HDAC1) 后与 p53 形成复合物,从而抑制 p53 的转录活性,进而抑制氧化应激情况下由 p53 介导的细胞衰老的过程,因此 BACH1 作为 p53 的负调控因子,连接了氧化代谢和细胞衰老<sup>[9-11]</sup>。有学者证实 BACH1 可过表达竞争性结合 p53 从而阻碍其发挥正常生物学效应使得胶质母细胞瘤获得耐药性<sup>[12]</sup>。研究<sup>[4]</sup>表明 BACH1 转录调节多个参与乳腺癌骨转移的基因,可以显著促进乳腺癌细胞的侵袭转移。最新研究<sup>[5]</sup>发现 BACH1 可以通过刺激糖酵解的方式促进肺癌细胞糖酵解依赖性转移。以上研究发现提示 BACH1 可能通过抑制相关抑癌基因如 p53 等和相关抗氧化应激反应基因如 HO-1 等基因的生物学活性破坏胃上皮细胞原有的氧化应激、衰老、凋亡机制的平衡,转录调节促胃癌转移基因,刺激胃癌细胞活性等机制参与胃癌的发生、发展。

综上所述,该研究揭示了 BACH1 表达水平与胃癌患者临床病理特征及预后的关系,表明其可能促进癌症的发生、发展并具有独立的预后意义,因此其有望成为胃癌患者预后的潜在生物标志物,然而 BACH1 在胃癌的发生发展中的具体机制还不清楚,需要通过进一步的实验加以研究。该研究存在了一些不足之处,包括样本量太少、无新鲜胃癌标本进行验证、缺乏细胞水平和动物水平实验验证等问题,这正是课题组后期准备开展的工作。

#### 参考文献

- [1] Chen W, Zheng R, Baade P D, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. CA Cancer J Clin 2016 66(2): 115-32.
- [2] Raval C M, Zhong J L, Mitchell S A, et al. The role of Bach1 in ultraviolet A-mediated human heme oxygenase 1 regulation in hu-

- man skin fibroblasts[J]. *Free Radic Biol Med* 2012, 52(1): 227–36.
- [3] Zhu G D, Liu F, OuYang S, et al. BACH1 promotes the progression of human colorectal cancer through BACH1/CXCR4 pathway[J]. *Biochem Biophys Res Commun* 2018, 499(2): 120–7.
- [4] Liang Y, Wu H, Lei R, et al. Transcriptional network analysis identifies BACH1 as a master regulator of breast cancer bone metastasis[J]. *J Biol Chem* 2012, 287(40): 33533–44.
- [5] Wiel C, Le Gal K, Ibrahim M X, et al. BACH1 stabilization by antioxidants stimulates lung cancer metastasis[J]. *Cell* 2019, 178(2): 330–345, e322.
- [6] 许良中, 杨文涛. 免疫组织化学反应结果的判断标准[J]. *中国癌症杂志*, 1996, 6(4): 229–31.
- [7] Fenoglio-Preiser C M, Wang J, Stemmermann G N, et al. TP53 and gastric carcinoma: a review[J]. *Hum Mutat* 2003, 21(3): 258–70.
- [8] Ohtsuka J, Oshima H, Ezawa I, et al. Functional loss of p53 cooperates with the *in vivo* microenvironment to promote malignant progression of gastric cancers[J]. *Sci Rep* 2018, 8(1): 2291.
- [9] Ota K, Brydun A, Itoh-Nakadai A, et al. Bach1 deficiency and accompanying overexpression of heme oxygenase-1 do not influence aging or tumorigenesis in mice[J]. *Oxid Med Cell Longev* 2014, 2014: 757901.
- [10] Dohi Y, Ikura T, Hoshikawa Y, et al. Bach1 inhibits oxidative stress-induced cellular senescence by impeding p53 function on chromatin[J]. *Nat Struct Mol Biol* 2008, 15(12): 1246–54.
- [11] Nishizawa H, Ota K, Dohi Y, et al. Bach1-mediated suppression of p53 is inhibited by p19(ARF) independently of MDM2[J]. *Cancer Sci* 2012, 103(5): 897–903.
- [12] Nie E, Jin X, Wu W, et al. BACH1 promotes temozolomide resistance in glioblastoma through antagonizing the function of p53[J]. *Sci Rep* 2016, 6: 39743.

## The expression and clinical significance of BACH1 in gastric cancer

Chen Chong, Zhou Bo, Chang Jiacong

(Dept of General Surgery, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230032)

**Abstract Objective** To investigate the expression of BTB and CNC homology 1 (BACH1) in gastric cancer and its relationship with clinicopathological features and prognosis. **Methods** Gastric cancer microarray containing 98 samples of gastric cancer with clinicopathological features and follow-up information was used to detect the expression of BACH1 by immunohistochemical method. And the relationship between the expression of BACH1 and the clinicopathological features and prognosis of gastric cancer patients was analyzed. **Results** The positive expression rate of BACH1 in gastric cancer tissues (44.9%) was higher than that in adjacent normal tissues (25.6%) ( $P < 0.05$ ), which was closely correlated with the pathological grade, T stage, lymph node metastasis and TNM stage of tumor (all  $P < 0.05$ ). K-M survival analysis showed that patients with high expression of BACH1 had a worse prognosis ( $P < 0.05$ ). COX survival analysis showed that the expression of BACH1, lymph node metastasis, distant metastasis and TNM stage were predictors of poor prognosis for gastric cancer (all  $P < 0.05$ ), and the expression of BACH1 ( $P = 0.028$ ) and distant metastasis ( $P = 0.001$ ) were independent risk factors for the prognosis of gastric cancer patients. **Conclusion** The abnormal expression of BACH1 is closely related to the occurrence and development of gastric cancer, which may be a potential biomarker for the prognosis of gastric cancer patients.

**Key words** gastric cancer; BACH1; tissue microarray; immunohistochemistry