

# SLC25A13 的表达与胃癌临床病理特征及预后的相关性分析

张捷<sup>1</sup>, 蔡钦波<sup>1</sup>, 陈焕杰<sup>1</sup>, 傅桦烽<sup>1</sup>, 侯浩斌<sup>1</sup>, 黄嘉华<sup>1</sup>, 何裕隆<sup>2\*</sup>

1. 中山大学附属第一医院 胃肠外科中心, 广东 广州 510080

2. 中山大学附属第七医院 消化医学中心, 广东 深圳 517108

**【摘要】** 目的 分析 SLC25A13 的表达与胃癌临床病理特点及预后的相关性。方法 本研究回顾性选取了从 2010 年 1 月至 2014 年 12 月在中山大学附属第一医院胃肠外科中心接受根治性切除的确诊胃癌 I~III 期的患者。通过免疫组织化学染色评分将患者从蛋白水平上分为 SLC25A13 低表达组和高表达组;进一步分析了 SLC25A13 表达水平与胃癌的临床病理特点,5 年总生存率和 5 年无复发生存率之间的关系。并采用单因素和多因素 Cox 比例风险模型分析探讨 SLC25A13 高表达是否为胃癌患者预后的独立危险因素。结果 根据 SLC25A13 表达水平将 195 例胃癌患者划分为 60 例 SLC25A13 低表达患者与 134 例 SLC25A13 高表达的患者,两组患者在肿瘤直径、分化程度、T 和 N 分期及总 TNM 分期等方面的差异均有统计学意义( $P<0.05$ ),在性别、年龄、肿瘤分化程度上差异均无统计学意义。Kaplan-Meier 生存分析显示 SLC25A13 高表达组 5 年生存率为 32.1%,生存时间为 36 个月,5 年无复发生存率为 68.2%,无复发时间为 48 个月。单因素 Cox 比例风险模型分析提示分化程度、T 分期、N 分期和 SLC25A13 高表达是 5 年总生存时间的危险因素,其中 T 分期( $HR=2.697$ , 95% $CI$ : 1.134~6.415,  $P=0.025$ )、N 分期( $HR=3.051$ , 95% $CI$ : 1.937~4.805,  $P<0.001$ )是独立危险因素;N 分期和 SLC25A13 高表达是 5 年无复发生存时间的危险因素,其中 T 分期( $HR=3.658$ , 95% $CI$ :1.043~12.823,  $P=0.018$ )是独立危险因素。结论 SLC25A13 高表达与胃癌肿瘤直径大、分化差、分期晚以及较差的预后相关,提示 SLC25A13 高表达是胃癌的危险因素。

**【关键词】** SLC25A13; 临床病理特征; 生存分析; 预后因素

## Analysis of association between the expression of SLC25A13 and clinicopathological characteristics and prognosis of gastric cancer

Zhang Jie<sup>1</sup>, Cai Qinbo<sup>1</sup>, Chen Huanjie<sup>1</sup>, Fu Huafeng<sup>1</sup>, Hou Haobin<sup>1</sup>, Huang Jiahua<sup>1</sup>, He Yulong<sup>2\*</sup>

1. Gastrointestinal Surgery Center, the First Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, Guangdong, China

2. Gastroenterology Center, the Seventh Hospital of Sun Yat-sen University, Shenzhen 510080, Guangdong, China

\*Corresponding author: He Yulong, E-mail: heyulong@mail.sysu.edu.cn

**【Abstract】 Objective** Analyze the clinicopathological features, overall survival rate and prognostic significance of gastric cancer with high and low expression of SLC25A13. **Method** This study retrospectively selected consecutive patients with stage I to III gastric adenocarcinoma who underwent radical resection in the Gastrointestinal Surgery Center of the First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University from January 2010 to December 2014. The patients were divided into SLC25A13 low expression group and high expression group by immunohistochemical staining score. The relationship between the expression level of SLC25A13 and the clinicopathological features, 5-year overall survival rate and 5-year recurrence-free survival rate of

基金项目:国家自然科学基金面上项目(82172637);中国博士后科学基金(2022M713583,2022T150756);广东省基础与应用基础研究(2021A1515110495)

\*通信作者:何裕隆,电子邮箱:heyulong@mail.sysu.edu.cn

gastric cancer was further analyzed. Univariate and multivariate Cox proportional risk models were used to investigate whether high expression of SLC25A13 was an independent prognostic risk factor for patients with gastric cancer. **Result** In this study, 195 patients with gastric cancer were divided into 60 patients with low expression of SLC25A13 and 135 patients with high expression of SLC25A13 at the protein level. The tumor diameter, degree of differentiation, There were statistically significant differences in T and N stages and total TNM stages ( $P < 0.05$ ), but there were no statistically significant differences in gender, age and degree of tumor differentiation. Kaplan-Meier survival analysis showed that the 5-year survival rate of SLC25A13 high expression group was 32.1%, the survival time was 36 months, the 5-year recurrence-free survival rate was 68.2%, and the recurrence-free time was 48 months; Univariate Cox proportional hazards model analysis indicated that degree of differentiation, T stage, N stage and high expression of SLC25A13 were risk factors for 5-year overall survival, among which T stage ( $HR = 2.697, 95\% CI: 1.134 \sim 6.415, P = 0.025$ ), N stage ( $HR = 3.051, 95\% CI: 1.937 \sim 4.805, P < 0.001$ ) is independent risk factor. T stage, N stage and high expression of SLC25A13 were risk factors for five-year recurrence-free survival time, among which T stage ( $HR = 3.658, 95\% CI: 1.043 \sim 12.823, P = 0.018$ ) was independent risk factor. **Conclusion** High expression of SLC25A13 is associated with large tumor diameter, poor differentiation, late stage and poor prognosis of gastric cancer, suggesting that high expression of SLC25A13 is a risk factor for gastric cancer.

**【Key words】** SLC25A13; Clinicopathological characteristics; Survival analysis; Prognostic factor

线粒体内钙结合天冬氨酸/谷氨酸载体蛋白(solute carrier family 25 member 13, SLC25A13)作为一种受钙离子调节的线粒体内膜载体蛋白,在钙离子的激活下,将谷氨酸和  $H^+$  运输入线粒体内,同时将天冬氨酸运出到胞浆中<sup>[1-2]</sup>,和其亚型 SLC25A12 结构相似功能相同但组织分布不同,前者主要在小肠和结肠中高表达,而后者主要在脑和心脏中高表达,且两者在大多数人类肿瘤中高表达<sup>[1]</sup>。既往研究,天冬氨酸在胃癌组织中的浓度较正常胃黏膜组织明显升高<sup>[3]</sup>,高表达细胞膜上的天冬氨酸/谷氨酸载体蛋白(solute carrier family 1 member 3, SLC1A3)能提高胃癌细胞天冬氨酸摄取能力,促进增殖,并与不良预后相关<sup>[4]</sup>。抑制 SLC25A12 的表达水平,会显著抑制细胞内天冬氨酸的合成,从而抑制肿瘤生长<sup>[5]</sup>,但目前 SLC25A13 在胃癌尚无大规模患者队列报道 SLC25A13 与胃癌预后之间的关系。本研究通过大样本量队列研究,确定 SLC25A13 的表达与胃癌临床病理特点和患者预后的关系,并探讨 SLC25A13 在肿瘤中的相关信号通路,为后续的研究提供参考。

## 1 资料与方法

1.1 研究对象 选取 2010 年 1 月至 2014 年 10 月在中山大学附属第一医院胃肠外科中心接受治疗的胃癌患者。纳入标准:①术后病理证实为原发性

胃癌;②接受了根治性或非根治性手术治疗,术式为胃大部切除术或全胃切除术;③pTNM 分期 I~III 期;④术后随访资料完整,随访时间 > 30 d。排除标准:①早期胃癌或残胃癌;②缺乏准确的 TNM 分期;③接受新辅助化疗或放疗。研究已获得本院伦理委员会的审批。所有患者签署了手术程序在内的知情同意书。本研究涉及的所有内容均符合本院伦理委员会标准。

1.2 一般资料 收集患者临床病理资料:确诊年龄、性别、肿瘤最大直径、TNM 分期、组织学分期。TNM 分期采用第 8 版美国癌症联合委员会(American Joint Committee on Cancer, AJCC)胃癌分期<sup>[6]</sup>。肿瘤的浸润深度、病理组织类型、有无转移及由病理科医生评估并记录于病理报告。

1.3 随访 随访内容包括常规体检、肿瘤标志物、胸部 X 线片、腹部计算机断层扫描(computed tomography, CT)/超声、内镜。随访问隔为术后 2 年内每 3 个月随访 1 次,第 3~5 年每 6 个月随访 1 次,第 6 年起每年随访 1 次。随访由本中心专职人员进行电话随访并将相关生存资料记录于表格。最后随访时间为 2021 年 12 月 31 日,随访率 87%。

1.4 免疫组织化学染色 3  $\mu m$  厚组织切片的样品在二甲苯中脱蜡,在浓度梯度下降的乙醇中重新水化,并放入柠檬酸缓冲液(pH 6.0)加热进行抗原修复。内源过氧化物酶活性被 3%过氧化氢阻断。

然后将载玻片在抗 SLC25A13 抗体(1:100, 来自 Santa Cruz Biotechnology 的 SC-393303) 中于 4℃ 孵育过夜。然后进行免疫组织化学(immunohistochemistry, IHC)染色:将玻片置于通风橱内自然风干;使用中性树脂封片,扫片机对玻片进行扫描。通过染色强度评分为 0 分(阴性)、1 分(弱阳性)、2 分(阳性)和 3 分(强阳性),染色面积评分为 1 (0%~25%)、2 (25%~50%)、3 (50%~75%)、4 (75%~100%),再将染色强度评分和染色面积评分相乘即为 IHC 染色评分<sup>[7]</sup>。IHC 染色评分 $\geq 8$  分为高表达, $< 8$  分为低表达。

**1.5 统计学方法** 采用 SPSS 17.0 统计软件进行统计分析用于临床病理资料基线对比,用例(%)表示定性资料,卡方检验用于比较定性资料的组间差异。R 软件包 survival 用于生存分析,Kaplan-Meier 生存分析用于评估术后累积生存率和术后无复发生存(recurrence free survival, RFS)率,Log-rank 检验法用于生存率和无复发生存率的比较,Cox 比例风险模型用于单因素和多因素分析。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 胃癌患者临床数据分析** 根据纳入和排除标准,共有 194 例胃癌患者被纳入研究,其中 IHC 染色根据方法中的染色强度(图 1)和面积得到染色评分以此分为低表达组和高表达组,SLC25A13 低表达与高表达胃癌患者的例数分别为 60(30.8%)、134(69.2%)。SLC25A13 高表达与低表达患者肿瘤直径大小、病理分期、T 分期、N 分期、组织学分期的差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),性别、年龄间的差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )(表 1)。

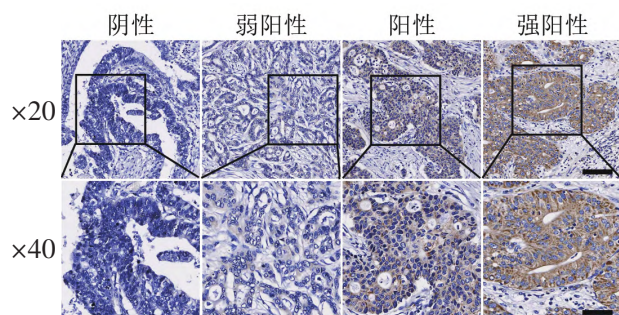


图 1 SLC25A13 免疫组织化学染色强度评分

注:通过免疫组织化学染色深浅将其染色强度评分,分别为阴性、弱阳性、阳性和强阳性。

表 1 SLC25A13 低表达与高表达胃癌的临床病理参数比较[例(%)]

项目	SLC25A13 低表达	SLC25A13 高表达	$\chi^2$ 值	P 值
性别			0.018	0.892
男	37(61.7)	84(62.2)		
女	23(38.3)	50(37.8)		
年龄			0.235	0.628
$\leq 65$ 岁	45(75.0)	96(71.6)		
$> 65$ 岁	15(25.0)	38(28.4)		
肿瘤直径			5.826	0.016
$\leq 4$ cm	39(65.0)	62(45.9)		
$> 4$ cm	21(35.0)	72(54.1)		
pTNM 分期			25.415	$< 0.001$
I~II 期	39(65.0)	36(26.7)		
III 期	21(35.0)	98(73.3)		
浸润深度			53.880	$< 0.001$
T <sub>1</sub> ~T <sub>2</sub> 期	31(51.7)	8(5.9)		
T <sub>3</sub> ~T <sub>4</sub> 期	29(48.3)	126(95.1)		
淋巴结转移			11.537	0.001
N <sub>0</sub> ~N <sub>1</sub> 期	40(66.7)	54(40)		
N <sub>2</sub> ~N <sub>3</sub> 期	20(33.3)	80(60)		
组织学分级			8.428	0.004
G <sub>1</sub> ~G <sub>2</sub> 级	52(57.8)	51(38.1)		
G <sub>3</sub> 级	38(42.2)	83(61.9)		

**2.2 生存分析** SLC25A13 高表达患者 5 年生存率为 32.1%,中位生存期为 30 个月,胃癌低表达患者的 5 年生存率为 60.0%,中位生存期 66 个月,生存曲线差异有统计学意义( $P < 0.001$ )。亚组分析显示,SLC25A13 高表达和低表达胃癌患者在 pTNM I~II 期 5 年生存率为 58.3%、79.5%,生存曲线差异有统计学意义( $P = 0.032$ ),SLC25A13 高表达和低表达胃癌患者 III 期的 5 年生存率分别为 22.4%、23.8%,生存曲线差异无统计学意义( $P = 0.378$ )(图 2)。

SLC25A13 高表达患者 5 年 RFS 率为 68.2%,中位生存期为 99 个月,胃癌低表达患者的 5 年 RFS 率 85.0%,中位生存期 107 个月,生存曲线差异有统计学意义( $P = 0.013$ )。亚组分析显示,SLC25A13 高表达和低表达胃癌患者在 pTNM I~II 期 5 年 RFS 率为 74.3%、89.7%生存曲线差异无统计学意义( $P = 0.072$ ),SLC25A13 高表达和低表达胃癌患者 III 期的 5 年 RFS 率分别为 66.0%、76.2%,生存曲线无统计学意义( $P = 0.344$ )(图 2)。

**2.3 单因素及多因素 Cox 比例风险回归模型分析** 单因素分析显示,组织学分级 G<sub>3</sub> 级、浸润深

度 T<sub>3</sub>~T<sub>4</sub> 期、淋巴结转移 N<sub>3</sub>~N<sub>4</sub> 期、SLC25A13 高表达是 5 年生存率的危险因素;将差异有意义的变量纳入多因素分析中,显示浸润深度 T<sub>3</sub>~T<sub>4</sub> 期和淋巴结转移 N<sub>3</sub>~N<sub>4</sub> 期是 5 年生存率的独立危险因素(表 2)。

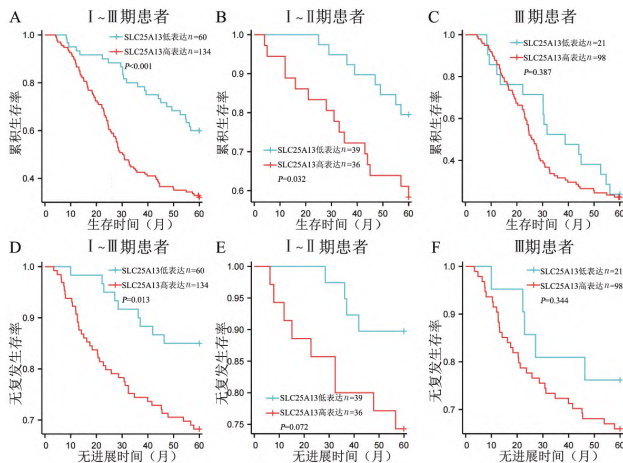


图 2 SLC25A13 低表达与高表达胃癌患者的生存曲线比较

单因素分析显示,浸润深度 T<sub>3</sub>~T<sub>4</sub> 期、SLC25A13 高表达是 5 年 RFS 率的危险因素;将差异有意义的变量纳入多因素分析,显示浸润深度 T<sub>3</sub>~T<sub>4</sub> 期是 5 年 RFS 率的独立危险因素(表 2)。

### 3 讨论

在这项研究中,通过 IHC 染色我们观察到 SLC25A13 高表达的患者有肿瘤直径大、pT 分期晚、pN 分期晚、组织学分级高的特点。SLC25A13 高表达的患者术后 5 年的生存率及术后 5 年的 RFS 率均低于 SLC25A13 低表达的患者。生存曲线进一步证实了 SLC25A13 高表达的影响。在分层分析中,我们观察到,SLC25A13 表达量可以对 I~II 期患者进行分层,但不能对 III 期患者进行分层。这种差异可能是由于 III 期胃癌患者不足所致。多因素 Cox 回归分析中 SLC25A13 的 IHC 评分无统计学意义,提示 SLC25A13 高表达可能不是胃癌患者预后的独立危险因素,但也可能是由于样本量不足所致。

天冬氨酸参与了细胞内多种重要的代谢过程,包括非必需氨基酸的合成、蛋白质合成、尿素循环和核苷酸的合成<sup>[9-10]</sup>。SLC25A13 位于线粒体膜上,负责天冬氨酸转运的载体蛋白。SLC25A13 及其亚型 SLC25A12 两者结构相似,功能相同,但组织分布不同,前者主要高表达与小肠和结肠,后者高表达于脑和心脏中,其功能为谷氨酸和 H<sup>+</sup> 运输入线粒体内,使谷氨酸参与三羧酸循环成为可

表 2 影响 5 年生存率、5 年无复发生存率的单因素和多因素 Cox 比例风险回归模型分析

项目	总数	5 年生存率				5 年无复发生存率			
		单因素		多因素		单因素		多因素	
		HR (95% CI)	P 值	HR (95% CI)	P 值	HR (95% CI)	P 值	HR (95% CI)	P 值
性别	189								
男	116								
女	73	1.053(0.717~1.547)	0.793			1.128(0.633~2.010)	0.682		
年龄	190								
≤65 岁	142								
>65 岁	48	1.330(0.881~2.008)	0.175			1.530(0.845~2.773)	0.161		
组织学分级	189								
G <sub>1</sub> ~G <sub>2</sub> 级	70								
G <sub>3</sub> 级	119	1.538(1.029~2.298)	0.036	1.129(0.743~1.715)	0.569	0.741(0.424~1.295)	0.292		
浸润深度	189								
T <sub>1</sub> ~T <sub>2</sub> 期	39								
T <sub>3</sub> ~T <sub>4</sub> 期	150	5.899(2.738~12.707)	<0.001	2.697(1.134~6.415)	0.025	4.743(1.476~15.243)	0.009	3.658(1.043~12.823)	0.043
淋巴结转移	189								
N <sub>1</sub> ~N <sub>2</sub> 期	91								
N <sub>3</sub> ~N <sub>4</sub> 期	98	4.348(2.841~6.656)	<0.001	3.051(1.937~4.805)	<0.001	1.675(0.946~2.965)	0.077		
SLC25A13	189								
低表达	60								
高表达	129	2.376(1.508~3.472)	<0.001	0.273(0.802~2.181)	0.273	2.392(1.162~4.923)	0.018	1.540(0.709~3.345)	0.276

生成脂质、蛋白质的中间产物<sup>[10]</sup>,同时将天冬氨酸运出到胞浆中<sup>[2]</sup>。既往研究发现,抑制 SLC25A12/13 的表达水平,会明显抑制肿瘤细胞中天冬氨酸的合成,从而抑制肿瘤增殖侵袭及转移<sup>[5,12-14]</sup>,这些结果提示 SLC25A13 很可能是一个癌基因,这与本研究结果相似。本研究发现 SLC25A13 高表达与更加恶性的肿瘤病理特征相关,同样提示了 SLC25A13 的促癌作用。本研究在 SLC25A13 的 IHC 染色结果中发现术后 5 年生存率及术后 5 年 RFS 率的单因素分析差异均有统计学意义,但在多因素分析中均无统计学意义,可能是由于样本量小和原始队列两组患者在临床病理变量组间差距过大,或是 SLC25A13 参与了其他代谢通路,结果与既往研究相符<sup>[12]</sup>。

本研究存在局限性。首先,虽然术后随访按照国家指南进行,但部分患者预后病理参数存在数据缺失。其次,本研究所纳入的病例数不足,有可能导致偏倚,且未检测肿瘤组织的 mRNA 水平。最后,我们缺乏体内外试验及机制的研究,需要多中心前瞻性的研究来进一步实施并扩展对其机制的研究。

综上所述,SLC25A13 高表达的胃癌患者具有恶性程度更高的临床病理特征,且其术后 5 年生存率和 5 年 RFS 率较短。SLC25A13 高表达的胃癌患者复发的风险往往显得更高,这些发现可以为进一步研究 SLC25A13 及其个体化预后提供证据。

#### 参考文献

- [1] AMOEDO ND, PUNZI G, OBRE E, et al. AGC1/2, the mitochondrial aspartate-glutamate carriers[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1863(10): 2394-2412.
- [2] SATRÚSTEGUI J, CONTRERAS L, RAMOS M, et al. Role of aralar, the mitochondrial transporter of aspartate-glutamate, in brain N-acetylaspartate formation and Ca(2+) signaling in neuronal mitochondria[J]. *J Neurosci Res*, 2007, 85(15): 3359-3366.
- [3] OKADA A, TAKEHARA H, YOSHIDA K, et al. Increased aspartate and glutamate levels in both gastric and colon cancer tissues[J]. *Tokushima J Exp Med*, 1993, 40(1-2): 19-25.
- [4] XU L, CHEN J, JIA L, et al. SLC1A3 promotes gastric cancer progression via the PI3K/AKT signalling pathway[J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(24): 14392-14404.
- [5] ALKAN HF, WALTER KE, LUENGO A, et al. Cytosolic Aspartate Availability Determines Cell Survival When Glutamine Is Limiting[J]. *Cell Metab*, 2018, 28(5): 706-720.e6.
- [6] OLAWAIYE AB, BAKER TP, WASHINGTON MK. The new (Version 9) American Joint Committee on Cancer tumor, node, metastasis staging for cervical cancer[J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(4): 287-298.
- [7] GUO Z, ZHANG X, ZHU H. Telo2 induced progression of colorectal cancer by binding with RICTOR through mTORC2[J]. *Oncol Rep*, 2021, 45(2): 523-534.
- [8] 黄嘉华, 唐维, 李广华, 等. Borrmann IV型胃癌的临床病理特点及预后分析[J/CD]. *消化肿瘤杂志(电子版)*, 2022, 14(1): 48-54.
- [9] KATANE M, HOMMA H. D-Aspartate—an important bioactive substance in mammals; a review from an analytical and biological point of view[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2011, 879(29): 3108-3121.
- [10] ZHU J, THOMPSON CB. Metabolic regulation of cell growth and proliferation[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2019, 20(7): 436-450.
- [11] 杨力. 新陈代谢对肿瘤免疫治疗影响的进展研究[J/CD]. *消化肿瘤杂志(电子版)*, 2021, 13(03): 209-215.
- [12] RABINOVICH S, SILBERMAN A, ADLER L, et al. The mitochondrial carrier Citrin plays a role in regulating cellular energy during carcinogenesis[J]. *Oncogene*, 2020, 39(1): 164-175.
- [13] INFANTINO V, DITURI F, CONVERTINI P, et al. Epigenetic upregulation and functional role of the mitochondrial aspartate/glutamate carrier isoform 1 in hepatocellular carcinoma[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2019, 1865(1): 38-47.
- [14] SULLIVAN LB, LUENGO A, DANAI LV, et al. Aspartate is an endogenous metabolic limitation for tumour growth[J]. *Nat Cell Biol*, 2018, 20(7): 782-788.