

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2020.23.026

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20201116.1026.004.html\(2020-11-16\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20201116.1026.004.html(2020-11-16))

载脂蛋白 C1 在胃癌患者中的表达及其与预后的关系

徐胜元,毕林刚,于志勇[△]
(辽宁省营口市中心医院普外三科 115200)

[摘要] **目的** 探讨载脂蛋白 C1(APOC1)在胃癌患者中的表达水平及其与预后的关系。**方法** 选取 2010 年 1 月至 2013 年 12 月于该科就诊的胃癌患者 100 例为试验组,另选取健康志愿者 70 例为对照组。检测两组受试者血清 APOC1 表达水平,免疫组织化学法检测 APOC1 在胃癌组织及胃正常组织中的表达情况,分析 APOC1 高、低表达与胃癌患者临床病理资料的关系,应用 Kaplan-Meier 判断 APOC1 表达与胃癌患者生存预后的关系,多因素 logistic 回归分析影响胃癌患者生存预后的危险因素,受试者工作特征曲线(ROC 曲线)分析 APOC1 对胃癌患者生存预后的预测价值。**结果** APOC1 在胃癌组织中呈棕色或黄棕色;APOC1 高表达与患者的肿瘤低分化、TNM 分期Ⅲ~Ⅳ期、淋巴结转移、肝转移、肺转移、侵袭血管有关($P<0.05$)。APOC1 高表达患者的 OS、PFS 均低于 APOC1 低表达,差异有统计学意义($P<0.05$)。多因素 logistic 分析显示肿瘤直径大于 5 cm、肿瘤低分化、淋巴结转移、TNM 分期Ⅲ~Ⅳ期、血清 APOC1 水平升高是影响胃癌患者生存预后的危险因素。APOC1 的 ROC 曲线下面积为 0.780,灵敏度和特异度分别为 0.809 和 0.793。**结论** 血清 APOC1 有望成为胃癌新的肿瘤标志物,对预测胃癌患者的生存预后具有重要意义。

[关键词] 胃肿瘤;载脂蛋白 C1;预后;危险因素;预测
[中图法分类号] R735.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2020)23-3974-05

Expression of apolipoprotein C1 in patients with gastric cancer and its relationship with prognosis

XU Shengyuan, BI Lingang, YU Zhiyong[△]
(Department of General Surgery 3, Yingkou Central Hospital,
Yingkou, Liaoning 115200, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the expression level of apolipoprotein C1 (APOC1) in patients with gastric cancer and its relationship with prognosis. **Methods** A total of 100 patients with gastric cancer who were treated in our department from January 2010 to December 2013 were selected as the experimental group, another 70 healthy volunteers were selected as the control group. Detection of serum APOC1 expression difference between the two groups. Immunohistochemistry was used to detect the expression of APOC1 in gastric cancer tissues and normal gastric tissues. The relationship between APOC1 high or low expression and clinicopathological data was analyzed in patients with gastric cancer. Kaplan-Meier analysis was used to determine the relationship between APOC1 expression and prognosis in patients with gastric cancer. Multivariate logistic regression analysis was used to analyze the risk factors affecting survival prognosis in patients with gastric cancer. Receiver operating characteristic curve (ROC curve) was used to analyze the predictive value of APOC1 in prognosis of patients with gastric cancer. **Results** APOC1 was brown or yellowish brown in gastric cancer tissues. The high expression of APOC1 was associated with low tumor differentiation, TNM stage Ⅲ-Ⅳ, lymph node metastasis, liver metastasis, lung metastasis, and invasion of blood vessels ($P<0.05$). The OS and PFS of patients with high expression of APOC1 were lower than those of patients with low expression of APOC1, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). Multivariate logistic analysis showed that tumor diameter >5 cm, tumor differentiation, lymph node metastasis, TNM stage Ⅲ-Ⅳ, and elevated serum APOC1 level were risk factors for prognosis in patients with gastric cancer. The area under the APOC1 curve is 0.780, and the sensitivity and specificity was 0.809 and 0.793, respectively. **Conclusion** Serum

作者简介:徐胜元(1982—),副主任医师,硕士,主要从事胃肠道肿瘤的微创治疗研究。 [△] 通信作者, E-mail:1731851321@qq.com。

APOC1 is expected to become a new marker for gastric cancer, which is of great significance for predicting the survival prognosis of patients with gastric cancer.

[Key words] stomach neoplasms; apolipoproteins C1; prognosis; risk factors; forecasting

胃癌是消化道常见的恶性肿瘤之一。在我国,胃癌每年新发病例数约为 40 万例^[1]。随着人们生活方式的改变,胃癌的发病率呈现逐年递增的趋势。虽然,胃癌的手术及其他治疗方面取得了明显的进步,但胃癌患者的 5 年生存率仍很低^[2]。因此,选择一种有效的生物标志物来预测胃癌患者的生存预后,对胃癌患者的治疗具有重要意义。载脂蛋白 C1(APOC1)是肝脏中表达的一种蛋白质,主要由肝脏和其他组织(如脑、肺、脾和肠)合成。APOC1 通过调节脂肪酶、转移酶和胆固醇酯转移蛋白(CETP)的表达并抑制肝脂蛋白受体对甘油三酸酯脂蛋白的吸收来参与脂蛋白代谢^[3]。近年来,有研究证实:APOC1 可促进机体组织癌变和肿瘤的发生和发展^[4]。有研究表明,APOC1 是判断甲状腺乳头状癌患者预后的生物标志物^[5]。目前,关于 APOC1 在胃癌中的研究报道较少。因此,本研究旨在分析 APOC1 在胃癌中的表达情况,并分析其与胃癌患者生存预后的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2010 年 1 月至 2013 年 12 月在本科就诊的胃癌患者 100 例为试验组,其中男 58 例,女 42 例;年龄 35~72 岁,平均(58.73±8.52)岁。纳入标准:(1)符合中华医学会制定的胃癌的诊断标准^[6];(2)均为原发性胃癌;(3)入院时均未行放化疗、生物治疗、靶向治疗和免疫治疗等。排除标准:(1)转移性胃癌;(2)合并其他器官恶性肿瘤;(3)存在严重肝肾功能异常;(4)合并心脑血管疾病;(5)合并血液系统及自身免疫系统疾病。另选在本院健康查体的健康人群 70 例为对照组,男 40 例,女 30 例;年龄 32~70 岁,平均(52.55±4.18)岁。两组受试者的年龄、性别相比,差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究经医院伦理委员会批准,患者及家属知情同意。

1.2 方法

1.2.1 血清 APOC1 检测

所有受试者均在空腹状态下抽取静脉血 5 mL,2 000 r/min 离心 15 min,分离血清,-80℃保存待测。采用 ELISA 法检测血清 APOC1 水平,试剂盒购自美国 R&D 公司,具体操作按照说明书严格进行。

1.2.2 免疫组织化学检测

胃癌组织和胃正常组织制备石蜡切片,经二甲苯脱蜡、水化,置于柠檬酸组织抗原修复液(pH6.0)中进行抗原修复。每张切片加 1 滴 3% H_2O_2 ,灭活内源性过氧化物酶。PBS 洗涤切片 3 次,每次 5 min;应用含 10% 山羊血清的 PBS 室温封闭组织切片,封闭液稀释 APOC1 一抗,室温孵育 2 h;应用 PBS 洗涤切片

3 次,每次 3 min;滴加辣根过氧化物酶标记的二抗在温室孵育 30 min;PBS 洗涤切片 3 次,每次 3 min;滴加苏木素复染,0.1% HCl 分化,自来水冲洗、蓝化,切片经乙醇梯度脱水,放入透明二甲苯 10 s,中性树脂封片^[7]。APOC1 抗体及二抗均购自上海允麦生物科技有限公司。

1.2.3 结果判定

根据 APOC1 在胃癌组织及胃正常组织中表达的染色强度分为 0(阴性)、1(弱棕色)、2(中度棕色)或 3(强棕色);染色程度分为 0($\leq 10\%$)、1($> 10\% \sim 25\%$)、2($> 25\% \sim 50\%$)、3($> 50\% \sim 75\%$)或 4($> 75\%$)^[8]。根据染色强度评分和程度评分的乘积来定义高/低表达, > 1 分为高表达, < 1 分为低表达^[9]。

1.2.4 随访

采用电话、门诊复查等方式对胃癌患者进行随访,随访时间为 1~60 个月,终末随访时间为 2018 年 12 月或死亡、失访时间。总生存期(OS)为手术至患者死亡或末次随访的时间;无进展生存期(PFS)为手术至第一次发生疾病进展或患者死亡的时间。

1.3 统计学处理

采用 SPSS20.0 统计软件进行分析。计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验;计数资料以例数表示,采用 χ^2 检验。生存曲线采用 GraphPad Prism 5.0 软件绘制,应用 Kaplan-Meier 分析,并使用 Log-rank test 进行统计学检验;应用多因素 logistic 回归分析影响胃癌生存预后的危险因素;绘制受试者工作特征曲线(ROC 曲线)并计算其灵敏度、特异度及 ROC 曲线下面积(AUC)。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组血清 APOC1 水平比较

试验组患者血清 APOC1 水平[(245.85±41.72) ng/mL]高于对照组[(38.66±7.19) ng/mL],差异有统计学意义($P<0.05$)。

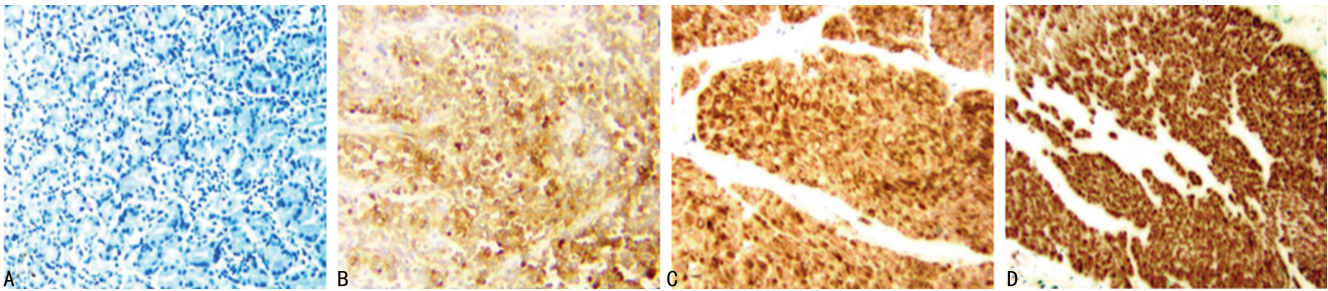
2.2 APOC1 表达与临床病理资料的关系

APOC1 主要表达在细胞质,APOC1 在胃癌组织中呈现棕色或黄棕色,在胃正常黏膜组织中不着色,见图 1。APOC1 表达与胃癌患者的性别、年龄、肿瘤直径、肿瘤部位无关($P>0.05$),与肿瘤低分化、TNM 分期Ⅲ+Ⅳ期、淋巴结转移、肝转移、肺转移及侵袭血管有关($P<0.05$),见表 1。

2.3 APOC1 表达与胃癌患者生存预后的关系

胃癌患者术后随访 60 个月,APOC1 高表达胃癌患者的 OS 低于 APOC1 低表达,差异有统计学意义($\chi^2=6.918, P=0.008 5$);APOC1 高表达胃癌患者

的 PFS 低于 APOC1 低表达,差异有统计学意义 ($\chi^2=4.300,P=0.0381$),见图 2。



A: APOC1 在胃正常组织中染色;B~D: APOC1 在胃癌组织中染色。

图 1 APOC1 在胃癌组织及胃正常组织中表达($\times 100$)

表 1 APOC1 表达与临床病理资料的关系					
项目	n	低表达 (n=22)	高表达 (n=78)	χ^2	P
性别				1.822	0.223
男性	58	10	48		
女性	42	12	30		
年龄(岁)				3.134	0.093
≤ 60	53	8	45		
> 60	47	14	33		
肿瘤直径(cm)				2.197	0.152
≤ 5	41	6	35		
> 5	59	16	43		
部位				1.273	0.332
胃体	44	12	32		
胃窦	56	10	46		
肿瘤分化				7.913	0.010
中+高分化	34	13	21		
低分化	66	9	57		
TNM 分期				14.428	<0.001
I+II	24	12	12		
III+IV	76	10	66		
淋巴结转移				9.350	0.005
是	64	8	56		
否	36	14	22		
肝转移				5.108	0.042
是	23	9	14		
否	77	13	64		
肺转移				5.251	0.043
是	16	7	9		
否	84	15	69		
侵袭血管				4.720	0.039
是	20	8	12		
否	80	14	66		

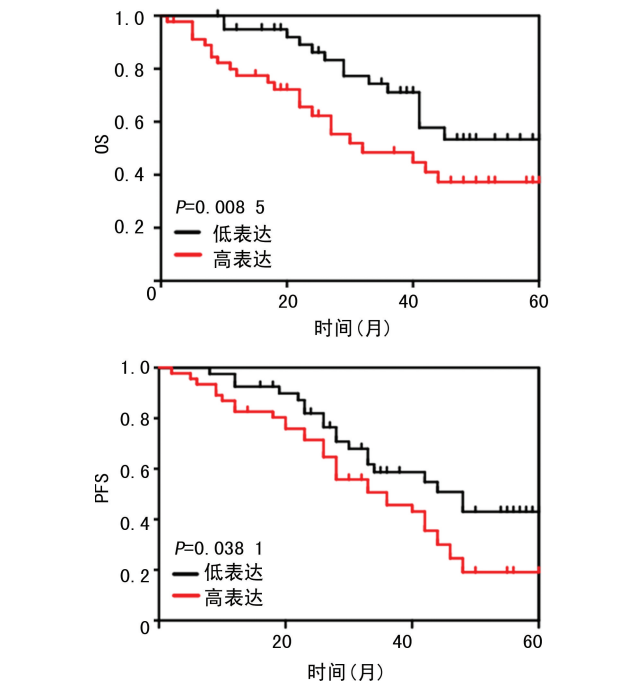


图 2 APOC1 高、低表达胃癌患者 OS、PFS 比较

2.4 影响胃癌患者生存预后的多因素 logistic 分析
多因素 logistic 分析结果显示,患者肿瘤直径大于 5 cm、肿瘤低分化、淋巴结转移、TNM 分期Ⅲ+Ⅳ期及血清 APOC1 水平升高是影响胃癌患者生存预后的危险因素,见表 2。

表 2 影响胃癌患者生存预后的多因素 logistic 分析						
自变量	β	S.E	Wald	P	OR	95%CI
年龄	0.231	0.437	0.565	0.412	0.317	0.020~1.221
性别	0.753	1.502	1.012	0.231	0.491	0.213~3.129
肿瘤直径	0.682	0.479	4.587	0.036	2.011	1.001~5.380
肿瘤分化	1.669	1.597	5.841	0.016	0.241	0.141~2.101
淋巴结转移	0.910	0.873	5.426	0.019	1.102	0.749~3.414
TNM 分期	1.248	0.764	6.250	0.001	0.612	0.328~5.112
APOC1	0.658	1.024	5.231	0.022	0.452	0.289~2.851

2.5 血清 APOC1 对胃癌生存预后的预测价值
血清 APOC1 预测胃癌患者生存预后的 cut-off 值为 211.64 ng/mL, AUC 为 0.780 (95% CI:

0.667~0.894, $P<0.001$), 灵敏度和特异度分别为 0.809 和 0.793, 见图 3。

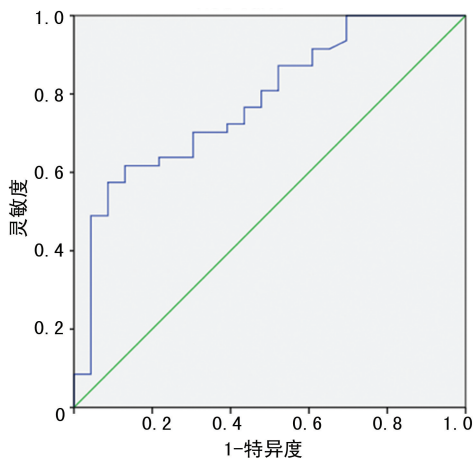


图 3 血清 APOC1 预测胃癌生存预后的 ROC 曲线

3 讨 论

胃癌是起源于胃黏膜上皮的恶性肿瘤, 早期患者症状不明显, 确诊时 30%~50% 的患者已存在微转移灶或临床可检出的转移灶^[10]。而在我国, 胃癌患者发病率和病死率分别占全球胃癌发病和死亡的 42.6% 和 45.0%^[11]。手术治疗是胃癌最有效的治疗方法之一。然而, 只有不到一半的胃癌患者在早期被诊断, 并接受外科手术治疗^[12]。适宜生物标志物的选择, 不仅有助于监测胃癌患者的病情变化, 也有助于预测胃癌患者的预后。

APOC1 是 57 个氨基酸的多肽, 主要在哺乳动物的肝脏中合成。在人血清中, APOC1 以 6.6×10^3 的蛋白形式分泌, 并与乳糜微粒、极低密度脂蛋白和高密度脂蛋白结合; 同时, APOC1 负责酯化卵磷脂胆固醇的活化, 它在脂蛋白颗粒之间酯化胆固醇的交换及在组织中胆固醇的清除中起着重要作用^[13]。因此, APOC1 在动脉粥样硬化和其他心血管疾病、肥胖症和糖尿病的发病过程中起着重要作用。有研究发现: APOC1 在生物过程的许多方面起着重要作用, 如膜重塑、胆固醇分解代谢和树突状重组^[14]。同时, APOC1 也与多种恶性肿瘤的发生、发展有关, APOC1 可通过控制 survivin、p21 和 caspase-3 的信号通路来调节癌细胞的增殖和凋亡, 以及细胞周期^[15]。APOC1 也可通过 p38 MAPK 信号通路促进肿瘤细胞增殖、迁移和侵袭^[3]。此外, APOC1 沉默可抑制前列腺癌细胞的细胞增殖和集落形成, 阻止细胞周期进程, 并增强细胞凋亡; APOC1 沉默也可降低 survivin、phosphoRb 和 p21 水平并增加裂解的 caspase-3 表达。自分泌产生 APOC1 对于癌细胞存活和恶性表型至关重要, 其可能通过抑制细胞凋亡来实现^[16]。CHEN 等^[17]研究表明, 抑制载脂蛋白 E 与卵巢癌细胞中的 APOC1 可导致 G2 细胞周期停滞和凋亡。抑制 APOC1 表达会抑制胰腺癌细胞的增殖并诱导细胞凋亡; 而 APOC1 的功能失调, 包括上调或下

调, 可能会影响肿瘤的生长^[18]。研究发现, 在胰腺癌、肺癌等恶性肿瘤患者中, APOC1 表达较高或阳性的患者生存预后较差, 且肿瘤进展速度较快^[3,16]。同时, APOC1 可通过抑制 PCNA、Ki-67 和 Bcl-2 蛋白表达, 增强 Bax 蛋白表达并抑制乳腺癌细胞增殖的能力^[19]。

本次研究结果显示, 胃癌患者的血清 APOC1 水平高于对照组, 差异有统计学意义 ($P<0.05$); 应用免疫组织化学法检测的 APOC1 在胃癌组织和胃正常黏膜组织中的表达情况, 证实 APOC1 在胃癌组织中呈现高表达, 与 YI 等^[8]研究相一致。APOC1 高表达与胃癌患者的 TNM 分期 III~IV 期、淋巴结转移、肝转移、肺转移、侵袭血管有关, 说明 APOC1 变化可能与胃癌患者的病情进展过程有关。WANG 等^[20]研究发现, APOC1 表达升高与胃癌患者的不同 TNM 分期、肿瘤组织分化及淋巴结转移等临床病理特征有关。APOC1 高表达胃癌患者的 OS 与 PFS 均低于 APOC1 低表达, 差异有统计学意义 ($P<0.05$), 说明 APOC1 表达不同与胃癌患者的生存预后密切相关。多因素 logistic 分析示: 患者肿瘤直径大于 5 cm、肿瘤低分化、淋巴结转移、TNM 分期 III~IV 期及血清 APOC1 水平升高是影响胃癌患者生存预后的独立危险因素。REN 等^[3]研究表明, APOC1 在结直肠癌组织中呈现高表达, 其与患者的不良预后有关, 且 APOC1 是结直肠癌患者 OS 的独立危险因素。ROC 曲线结果示: 血清 APOC1 的 $AUC>0.5$, 且灵敏度和特异度分别为 0.809 和 0.793, 表明血清 APOC1 对胃癌患者的生存预后具有一定预测价值。

综上所述, APOC1 在胃癌组织中表达水平升高, 血清 APOC1 水平变化是影响胃癌患者生存预后的独立危险因素; 血清 APOC1 有望成为胃癌新的肿瘤标志物, 对预测胃癌患者的生存预后具有重要意义。但是, 本次研究也存在样本量小等不足, 尚需大样本、多中心数据加以研究分析; 同时, APOC1 在胃癌的发生机制, 有待在后续研究中加以补充。

参考文献

[1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2018[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68 (1): 7-30.

[2] BANIAK N, SENGER J L, AHMED S, et al. Gastric biomarkers: a global review[J]. World J Surg Oncol, 2016, 14(1): 212.

[3] REN H, CHEN Z, YANG L, et al. Apolipoprotein C1 (APOC1) promotes tumor progression via MARK signaling pathways in colorectal cancer[J]. Cancer Manag Res, 2019, 11: 4917-4930.

[4] ZHANG J, GUO F, WANG L, et al. Identifica-

- tion of apolipoprotein C-I as a potential Wilms' tumor marker after excluding inflammatory factors[J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(9): 16186-16195.
- [5] FAN Y, SHI L, LIU Q, et al. Discovery and identification of potential biomarkers of papillary thyroid carcinoma[J]. *Mol Cancer*, 2009, 8: 79.
- [6] 李忠武. 胃癌规范化病理诊断流程及相关问题[J]. *中国实用外科杂志*, 2014, 34(7): 600-604.
- [7] 王艳瑛, 张志韧, 常雨, 等. 载脂蛋白 A5 蛋白在胆管癌组织的表达及对胆管癌细胞生物学特性的影响[J]. *中华实验外科杂志*, 2018, 35(11): 2069-2071.
- [8] YI J, REN L, WU J, et al. Apolipoprotein C1 (APOC1) as a novel diagnostic and prognostic biomarker for gastric cancer[J]. *Ann Transl Med*, 2019, 7(16): 380.
- [9] SPECHT E, KAEMMERER D, SÄNGER J, et al. Comparison of immunoreactive score, HER2/neu score and H score for the immunohistochemical evaluation of somatostatin receptors in bronchopulmonary neuroendocrine neoplasms[J]. *Histopathology*, 2015, 67(3): 368-377.
- [10] 王震凯, 杨晓倩, 叶雅沁, 等. DNA 甲基转移酶在胃癌中的表达及其意义[J]. *胃肠病学*, 2019, 24(2): 81-85.
- [11] FERLAY J, SOERJOMATARAM I, DIKSHIT R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012[J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(5): E359-386.
- [12] GARATTINI S K, BASILE D, CATTANEO M, et al. Molecular classifications of gastric cancers: novel insights and possible future applications[J]. *World J Gastrointest Oncol*, 2017, 9(5): 194-408.
- [13] ALEXANDER M P, STEVEN B L. The structure of human apolipoprotein C-1 in four different crystal forms[J]. *J Lipid Res*, 2019, 60(2): 400-411.
- [14] LEDUC V, JASMIN-BÉLANGER S, POIRIER J. APOE and cholesterol homeostasis in Alzheimer's disease[J]. *Trends Mol Med*, 2010, 16(10): 469-477.
- [15] SU W P, SUN L N, YANG S L, et al. Apolipoprotein C1 promotes prostate cancer cell proliferation in vitro[J]. *J Biochem Mol Toxicol*, 2018, 32(7): e22158.
- [16] KO H L, WANG Y S, FONG W L, et al. Apolipoprotein C1 (APOC1) as a novel diagnostic and prognostic biomarker for lung cancer: a marker phase I trial[J]. *Thorac Cancer*, 2014, 5(6): 500-508.
- [17] CHEN Y C, POHL G, WANG T L, et al. Apolipoprotein E is required for cell proliferation and survival in ovarian cancer[J]. *Cancer Res*, 2005, 65(1): 331-337.
- [18] GUO F, ZHAO W, YANG L, et al. Truncated apolipoprotein C-I induces apoptosis in neuroblastoma by activating caspases in the extrinsic and intrinsic pathways[J]. *Oncol Rep*, 2017, 38(3): 1797-1805.
- [19] SUN Y, ZHANG J, GUO F, et al. Identification of apolipoprotein C-I peptides as a potential biomarker and its biological roles in breast cancer[J]. *Med Sci Monit*, 2016, 22: 1152-1160.
- [20] WANG M, WANG J, JIANG H. Diagnostic value of apolipoprotein C-I, transthyretin and apolipoprotein C-III in gastric cancer[J]. *Oncol Lett*, 2019, 17(3): 3227-3232.

(收稿日期: 2020-03-11 修回日期: 2020-08-03)

(上接第 3973 页)

- [17] LEI B, LIU S G. Efficient polarization direction measurement by utilizing the polarization axis finder and digital image processing[J]. *Opt Lett*, 2018, 43(12): 2969-2972.
- [18] CHANG H H, LI C Y, ZHUANG A H. Brain MR image restoration using an automatic tri-lateral filter with GPU-based acceleration[J]. *IEEE Trans Biomed Eng*, 2018, 65(2): 400-413.
- [19] BURNS M, SINGH A K, HOEFER C C, et al. Impact of conditioning regimen on peripheral blood hematopoietic cell transplant[J]. *World J Clin Oncol*, 2019, 10(2): 86-97.

(收稿日期: 2020-03-27 修回日期: 2020-08-12)