

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2021.12.018

胃癌组织中 CapG、Prox-1、TrkB 的表达与胃癌 淋巴结转移及预后的关系*

李 姝¹,郭莲怡^{2△}

(1. 辽宁省盘锦市中心医院消化内科 124010;2. 锦州医科大学附属第一医院消化内科,辽宁锦州 121099)

[摘要] **目的** 探讨胃癌组织中巨噬细胞加帽蛋白 G(CapG)、同源异型盒基因转录因子 1(Prox-1)、酪氨酸激酶受体 B(TrkB)的表达对胃癌淋巴结转移(LNM)及预后的影响。**方法** 回顾性分析 2014 年 1 月至 2015 年 4 月在锦州医科大学附属第一医院术前活检确诊并行根治术治疗的 110 例胃癌患者临床资料。于术前对胃癌活检组织中巨噬细胞加帽蛋白 G(CapG)、酪氨酸激酶受体 B(TrkB)、同源异型盒基因转录因子 1(Prox-1)、基质金属蛋白酶 2(MMP-2)、血管内皮生长因子 C(VEGF-C)及血管内皮生长因子受体 3(VEGFR-3)的表达进行检测。采用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)与 Kaplan-Meier 生存曲线分析不同分子生物标志物对胃癌 LNM 及预后的影响。**结果** LNM 患者 CapG、Prox-1、TrkB、MMP-2、VEGF-C 及 VEGFR-3 的阳性表达率均明显高于无 LNM 患者($P<0.05$)。CapG、Prox-1、TrkB 对胃癌 LNM 的预测价值较高。CapG、Prox-1 及 TrkB 的阳性表达患者总生存率均明显低于阴性表达患者($P<0.05$)。CapG 阳性表达($HR=6.524,95\%CI:1.012\sim36.362,P=0.027$)是胃癌患者预后的独立危险因素。**结论** 术前检测 CapG、Prox-1 及 TrkB 表达对胃癌 LNM 及预后具有较高的预测价值。

[关键词] 胃癌;分子生物标志物;淋巴结转移;预后

[中图法分类号] R573 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2021)12-2057-04

Relationship between expression of CapG, PROx-1 and TrkB in gastric cancer tissue with lymph node metastasis and prognosis*

LI Shu¹,GUO Lianyi^{2△}

(1. Department of Gastroenterology, Panjin Municipal Central Hospital, Panjin, Liaoning 124010, China ;

2. Department of Gastroenterology, First Affiliated Hospital of Jinzhou Medical University,
Jinzhou, Liaoning 121099, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of expression of CapG, Prox-1 and TrkB on lymph node metastasis(LNM) and prognosis of gastric cancer. **Methods** The clinical data of 110 patients with gastric cancer confirmed by preoperative biopsy and radical resection in the hospital from January 2014 to April 2015 were retrospectively analyzed. The expressions of capping protein G (CapG), tyrosine kinase receptor B (TrkB), prospero-related homeobox 1 (Prox-1), matrix metalloproteinase 2 (MMP-2), vascular endothelial growth factor C (VEGF-C) and vascular endothelial growth factor receptor 3 (VEGFR-3) in gastric cancer biopsy tissue before surgery were detected. The ROC curve and Kaplan-Meier survival curve were used to analyze the effects of different molecular biomarkers on LNM and prognosis of gastric cancer, respectively. **Results** The positive expression rates of CapG, Prox-1, TrkB, MMP-2, VEGF-C and VEGFR-3 in the patients with LNM were significantly higher than those in the patients without LNM ($P<0.05$). CapG, Prox-1, TrkB had highly predictive value on LNM of gastric cancer. The overall survival rate of the patients with positive expression of CapG, Prox-1 and TrkB was significantly lower than that of the patients with negative expression ($P<0.05$). The positive expression of CapG ($HR=6.524,95\%CI:1.012-36.362,P=0.027$) was an independent risk factor for the prognosis of the patients with gastric cancer. **Conclusion** Preoperative detection of CapG, PROx-1 and TrkB expression has higher predictive value for LNM and prognosis of gastric cancer.

[Key words] gastric cancer; molecular biomarkers; lymph node metastasis; prognosis

* 基金项目:辽宁省自然科学基金项目(1561449995778)。 作者简介:李姝(1986—),主治医师,本科,主要从事消化内科工作。 △ 通信作者,E-mail:goulianyiln@163.com。

胃癌是起源于胃黏膜上皮的恶性肿瘤,在我国各种恶性肿瘤中发病率居首位。近年来,胃癌的早期诊断率不断提高,但是大多数胃癌患者在被诊断时处于中晚期,其预后相对较差^[1]。我国胃癌患者的 5 年生存率为 20%~30%^[2],明显低于日本。淋巴结转移(LNM)是胃癌预后的重要影响因素。术前对 LNM 进行评估与手术方案的选择及淋巴清扫范围的确定存在密切关系^[3]。目前,对于胃癌 LNM 尚无精准的判断方法。螺旋 CT 是评估 LNM 的常用手段,但文献报道其诊断 LNM 的灵敏度及特异度分别在 55%、86%左右^[4]。

近年来,分子生物标志物在恶性肿瘤 LNM 的评估研究中成为热点。传统分子生物标志物的灵敏度及特异度并不高,存在一定局限性。巨噬细胞加帽蛋白 G(CapG)、酪氨酸激酶受体 B(TrkB)、同源异型盒基因转录因子 1(Prox-1)、基质金属蛋白酶 2(MMP-2)、血管内皮生长因子 C(VEGF-C)及血管内皮生长因子受体 3(VEGFR-3)等新型的分子生物标志物,参与了胃癌发生、发展的各个阶段^[5],但其与胃癌 LNM 及预后的相关性研究报道少见。本研究探讨以上分子新型生物标志物表达对胃癌 LNM 及预后的影响,以期临床提供科学的依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

回顾性分析 2014 年 1 月至 2015 年 4 月在锦州医科大学附属第一医院收治的 110 例胃癌患者的临床资料。其中男 64 例,女 46 例;年龄 26~80 岁,平均(62.15±4.77)岁;36 例早期胃癌,74 例进展期胃癌;按照国际抗癌联盟(UICC)及美国肿瘤联合会(AJCC)的 TNM 分期标准进行胃癌分期:I 期 48 例,II 期 32 例,III 期 28 例,IV 期 2 例;术后病理检查:LNM 44 例,无 LNM 66 例;组织学分型:分化 31 例,未分化 79 例;肿瘤大小:直径>5 cm 31 例,≤5 cm 79 例;肿瘤位置:胃体 30 例,胃角 24 例,胃窦 49 例,

多灶或全胃 7 例;浸润深度:T₁~T₃ 76 例,T₄ 34 例。所有患者均实施胃癌根治术,在术前经过胃镜活检病理检查确诊,且没有进行任何放化疗及生物治疗。本研究经医院医学伦理委员会审批,所有患者均知情并签署知情同意书。

1.2 方法

术前,采用 EliVision 两步法对胃癌患者的胃镜活检组织进行免疫组化染色。兔抗人 CapG(Ab94508,1:200)、兔抗人 TrkB(Ab91225,1:200)、兔抗人 Prox-1(Ab96713,1:200)、兔抗人 MMP-2(Ab94032,1:200)、兔抗人 VEGF-C(Ab91106,1:200)及兔抗人 VEGFR-3(Ab90847,1:200)均购自美国 Abcam 公司。采用柠檬酸缓冲液进行 2 min 的高压抗原修复,DAB 显色进行染色,严格按照说明书进行操作。

细胞染色强度评分:0 分,无阳性染色;1 分,浅黄色;2 分,棕黄色;3 分,棕褐色。细胞染色面积评分:0 分,阳性细胞百分比 0~25%;1 分,阳性细胞百分比 26%~50%;2 分,阳性细胞百分比 51%~75%;3 分,阳性细胞百分比>75%。染色积分=染色强度评分×染色面积评分,>3 分表示阳性表达,≤3 分表示阴性表达。

1.3 统计学处理

采用 SPSS20.0 统计软件进行分析。计数资料以率表示,采用 χ^2 检验;受试者工作特征曲线(ROC 曲线)分析不同分子生物标志物预测胃癌 LNM 的效能;Kaplan-Meier 生存曲线分析不同分子生物标志物对胃癌预后的影响。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 LNM 组与无 LNM 组中不同分子生物标志物的表达差异

LNM 患者 CapG、Prox-1、TrkB、MMP-2、VEGF-C 及 VEGFR-3 的阳性表达率高于无 LNM 患者,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

表 1 LNM 组与无 LNM 组中不同分子生物标志物阳性表达率比较[n(%)]

组别	n	CapG	Prox-1	TrkB	MMP-2	VEGF-C	VEGFR-3
LNM	44	37(84.09)	30(68.18)	34(77.27)	28(63.64)	27(61.36)	23(52.27)
无 LNM	66	23(34.85)	8(12.12)	19(28.79)	21(31.82)	19(28.79)	15(22.73)
χ^2		22.473	20.190	17.906	19.443	13.718	15.293
P		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.2 不同分子生物标志物对胃癌 LNM 的预测效能

ROC 曲线分析结果显示, CapG、Prox-1、TrkB、MMP-2、VEGF-C 及 VEGFR-3 预测胃癌 LNM 的曲线下面积(AUC)分别为 0.790、0.781、0.757、0.697、0.680、0.577,比较差异有统计学意义($P<0.05$)。

CapG、Prox-1、TrkB 的预测价值相对较高,故临床研究价值较高。CapG、Prox-1 及 TrkB 单独检测时, CapG 的灵敏度最高(95.16%),Prox-1 的特异度最高(89.37%);联合检测时的 AUC 均大于单独检测, CapG+TrkB 的灵敏度最高(89.25%),CapG+Prox-

1 + TrkB 的 AUC 最大 (0.861)、特异度最高 (97.30%),见表 2、图 1。

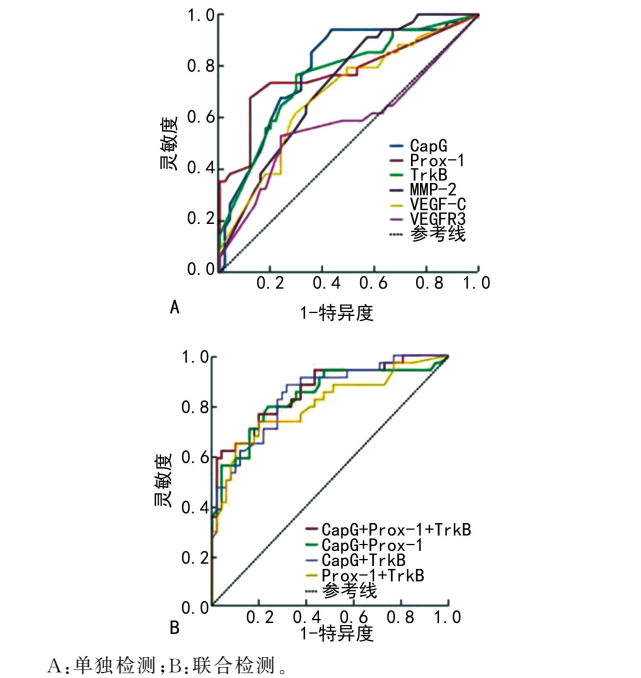
表 2 不同分子生物标志物单独或联合检测对胃癌 LNM 的预测效能				
标志物	AUC	95%CI	灵敏度 (%)	特异度 (%)
CapG	0.790	0.675~0.892	95.16	57.84
Prox-1	0.781	0.650~0.866	68.59	89.37
TrkB	0.757	0.657~0.879	77.43	71.53
CapG+Prox-1	0.840	0.702~0.923	80.27	77.12
CapG+TrkB	0.838	0.699~0.917	89.25	69.47
Prox-1+TrkB	0.810	0.693~0.905	65.62	91.18
CapG+Prox-1+TrkB	0.861	0.726~0.984	62.19	97.30

2.3 CapG、TrkB 及 Prox-1 对胃癌预后的影响

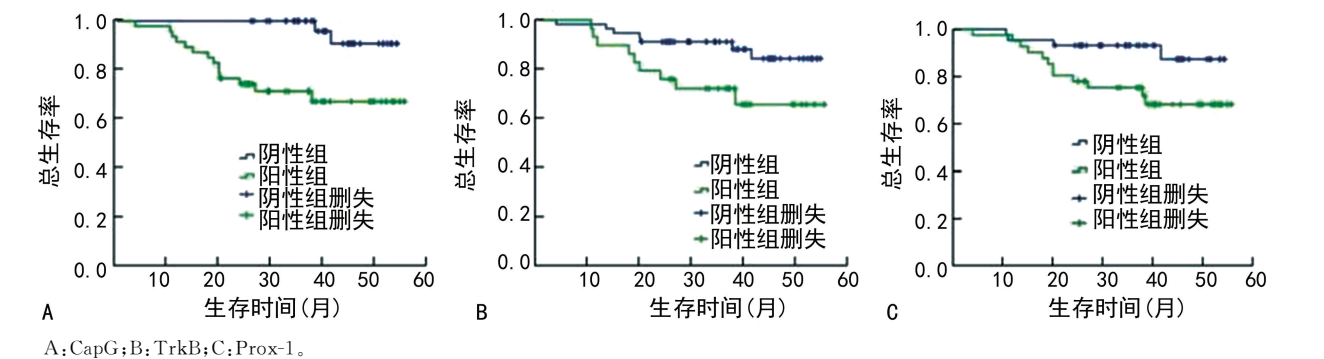
随访时间截止 2020 年 4 月 30 日,随访时间 38.5 (2.8~56.2) 个月。7 例 (6.36%) 患者失访;术后 2.8~36.5 个月,21 例 (19.09%) 患者死亡,12 例 (10.91%) 患者因发生复发死亡,9 例 (8.18%) 患者因发生转移死亡。CapG 阳性表达与阴性表达患者的总生存率分别为 70.00% (42/60)、94.00% (47/50),Prox-1 阳性表达与阴性表达患者的总生存率分别为 68.42% (26/38)、87.50% (63/72),TrkB 阳性表达与阴性表达患者的总生存率分别为 69.81% (37/53)、91.23% (52/57),组间比较差异均有统计学意义 ($P <$

0.05),见图 2。

单因素分析结果显示, CapG 阳性表达、Prox-1 阳性表达、TrkB 阳性表达与胃癌患者的预后存在相关性 ($P < 0.05$);多因素分析结果显示, CapG 阳性表达 ($HR = 6.524, 95\%CI: 1.012 \sim 36.362, P = 0.027$) 是胃癌患者预后的独立危险因素。



A: 单独检测; B: 联合检测。
图 1 不同分子生物标志物单独或联合检测预测胃癌 LNM 的 ROC 曲线



A: CapG; B: TrkB; C: Prox-1。
图 2 CapG、TrkB 及 Prox-1 影响胃癌预后的 Kaplan-Meier 生存曲线

3 讨论

LNM 是肿瘤最常见的转移方式,是指浸润的肿瘤细胞穿过淋巴管壁,脱落后随淋巴液被带到汇流区淋巴结,并且以此为中心生长出同样肿瘤的现象。在胃癌的临床诊疗中,术前对 LNM 进行精确的评估判断,对患者的预后具有重要意义。螺旋 CT 是判断胃癌 LNM 现状的常用手段,但是准确度不够^[6];超声胃镜能够提高早期胃癌的检出率,但是对于远处是否有 LNM 比较难判断^[7],限制了其在临床中的广泛应用。

CapG 是一种肌动蛋白结合蛋白,在各类肿瘤组

织中表达的研究报道相对多见,但是在胃癌组织中表达及临床意义的研究报道较少见。有研究^[8]发现,在有 LNM 胃癌组织中, CapG 的表达水平明显高于无 LNM 胃癌组织;有一项体外实验研究^[9]结果显示,过表达的 CapG 能够促进胃癌细胞的迁移;但是 CapG 导致胃癌 LNM 的具体机制还不清楚。Prox-1 是果蝇蛋白在脊椎动物中的同源物;吴文安等研究^[10]发现, Prox-1 在胃癌组织中的表达水平增高,与胃癌的临床分期及病理分级存在明显正相关,提示 Prox-1 可能与胃癌患者的预后存在相关性。TrkB 是脑源性神

经营养因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) 的受体,能够对肿瘤的失巢凋亡产生抑制作用,对肿瘤的侵袭迁移起到促进作用;有研究发现,TrkB 的表达水平与 LNM 范围存在一定相关性^[11]。

本研究显示, CapG、Prox-1、TrkB、MMP-2、VEGF-C 及 VEGFR-3 在有 LNM 的胃癌患者中的阳性表达率均高于无 LNM 的胃癌患者,可以说明该 6 种分子生物标志物与胃癌的 LNM 存在明显相关性,与闵丛丛等^[12]的研究报道结果相一致。ROC 曲线分析结果显示, CapG、Prox-1、TrkB 预测胃癌 LNM 的 AUC 均高于其他分子生物标志物,说明 CapG、Prox-1、TrkB 的临床研究价值较高。单独检测时, CapG 的灵敏度最高 (95.16%), Prox-1 的特异度最高 (89.37%),与吴元华^[13]的研究报道结果相一致;联合检测时的 AUC 均高于单独检测, CapG+TrkB 的灵敏度最高 (89.25%), CapG+Prox-1+TrkB 的特异度最高 (97.30%),说明不同分子生物标志物联合检测,能够提高灵敏度与特异度;提示术前 CapG、Prox-1、TrkB 单独检测或联合检测可能成为预测胃癌 LNM 的重要手段。

本研究还发现, CapG、Prox-1、TrkB 阳性表达胃癌患者的总生存率均低于阴性表达胃癌患者,多因素分析结果显示, CapG 阳性表达是胃癌患者预后的独立危险因素。研究^[14-15]发现,高表达的 CapG 能够对胃癌细胞的深层浸润及转移起到促进作用,但具体作用机制尚不清楚; Prox-1 能够对肿瘤细胞的增殖及淋巴管的生成起到诱导作用,对胃癌的发生及发展起到促进作用; TrkB 能够对多个重要信号转导通路进行激活,从而对肿瘤细胞侵袭及转移起到促进作用。说明 CapG、Prox-1、TrkB 可能是通过以上作用机制影响胃癌患者的预后。

综上所述,术前检测 CapG、Prox-1 及 TrkB 表达对胃癌 LNM 及预后具有较高的预测价值。但是本研究也存在一定的不足,下一步将扩大样本量进行多中心研究。

参考文献

- [1] 李海强,蒋小华. 胃癌新辅助治疗的研究进展[J]. 临床肿瘤学杂志, 2020, 25(1): 75-80.
- [2] WAKU H, TAKUJI G, TOMOYUKI K, 等. 早期胃癌内镜下切除日本指南的历史和未来展望[J/CD]. 中华胃肠内镜电子杂志, 2020, 7(1): 1-10.
- [3] 李盖天, 阎龙, 余稳稳, 等. 胃癌淋巴结转移相关危险因素及其临床预测价值分析[J]. 中国普通外科杂志, 2020, 29(4): 412-419.
- [4] LAUKKA M, MANNISTO S, BEULE A, et al. Comparison between CT and MRI in detection of metastasis of the retroperitoneum in testicular germ cell tumors: a prospective trial[J]. Acta Oncol, 2020, 59(6): 660-665.
- [5] 闵丛丛. 胃癌淋巴结转移分子标志物的研究进展[J]. 中国微创外科杂志, 2018, 18(1): 68-71.
- [6] LEE J H, HA E J, KIM D, et al. Application of deep learning to the diagnosis of cervical lymph node metastasis from thyroid cancer with CT: external validation and clinical utility for resident training[J]. Eur Radiol, 2020, 30(6): 3066-3072.
- [7] 石琳娜. 早期胃癌淋巴结转移评估方法的研究现状[J]. 实用肿瘤学杂志, 2020, 34(3): 286-290.
- [8] 吕旻桦, 梁博, 徐康保, 等. 胃癌组织中 CapG 蛋白的表达及其与临床病理特征及预后的关系[J]. 临床与实验病理学杂志, 2016, 32(12): 1329-1333.
- [9] 高翔, 陈香梅, 张婷, 等. 巨噬细胞加帽蛋白与胃癌细胞增殖及迁移能力的关系[J]. 北京大学学报(医学版), 2017, 49(3): 489-494.
- [10] 吴文安, 赵金, 廖娟, 等. PROX1 在原创胃癌中的表达及其意义[J]. 陕西医学杂志, 2018, 47(3): 279-281.
- [11] KAMIYA A, INOKUCHI M, OTSUKI S, et al. Prognostic value of tropomyosin-related kinases A, B, and C in gastric cancer[J]. Clin Transl Oncol, 2016, 18(6): 599-607.
- [12] 闵丛丛, 张静, 王晔, 等. 术前预测胃癌淋巴结转移的分子标志物研究[J]. 中华消化杂志, 2020, 40(6): 373-379.
- [13] 吴元华. 胃癌淋巴结转移规律的临床研究[D]. 济南: 山东大学, 2019.
- [14] 贺丽娜, 胡杨志, 周轩, 等. 沉默 PROX1 表达对胃癌 AGS 细胞增殖和侵袭能力的影响[J]. 郑州大学学报(医学版), 2019, 54(4): 559-563.
- [15] 郭江涛. 胃癌淋巴结转移的分子标志物研究进展[J]. 天津医科大学学报, 2017, 23(1): 85-89.