

· 论 著 ·

# 检测胃癌患者 HGC-1 表达的意义及其对预后的评价作用

徐建国

(青海省人民医院肿瘤外科, 西宁 810001)

**摘要:**目的 通过对胃癌患者人粒细胞集落刺激因子-1(HGC-1)的表达情况的检测来探讨其与胃癌临床病理学的关系及对患者预后的影响。**方法** 选取 2013 年 1 月至 2014 年 11 月该院的 63 例胃癌患者为研究对象,分为试验组( $n=21$ )、对照组( $n=21$ )及观察组( $n=21$ ),并组织进行研究。采用定量聚合酶链反应技术检测胃癌患者 HGC-1 mRNA 表达情况,对三组中 HGC-1 蛋白表达应用情况进行检测,并应用免疫组织化学法加以分析与比较。**结果** 经分析研究显示,试验组有 16 例患者的 HGC-1 蛋白于胃癌组织表达为阳性,阳性率为 76.1%;在对照组中,HGC-1 蛋白于正常胃黏膜组织阳性表达者有 4 例,阳性率为 19.1%,HGC-1 蛋白于胃癌组织的阳性表达率明显高于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ );而观察组 HGC-1 蛋白于胃黏膜肠上皮化生组织中有 12 例表现为阳性,阳性率高达 57.1%,明显高于对照组的 HGC-1 蛋白于正常胃黏膜组织表达为 4 例的阳性率(19.1%),差异有统计学意义( $P<0.05$ )。而胃癌中 HGC-1 蛋白表达阳性率与对照组比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。HGC 蛋白表达上调的原因主要与胃癌组织分化及 PCNA 有关,差异有统计学意义( $P<0.05$ );而患者的性别、年龄、浸润深度、UICC 分期、肿瘤大小和部位、淋巴结转移及远处转移、M 分期、脉管浸润不会造成其表达的上调,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。还表明 HGC-1 阴性者比阳性者生存概率相对较低,差异有统计学意义( $P<0.05$ );经分析表明对患者预后产生影响的独立因素为 HGC-1。**结论** HGC-1 对胃癌发生产生着极大的作用,并且还是临床早期诊断及预后判断的重要标准。

**关键词:**人粒细胞集落刺激因子-1; 胃癌; 病理学; 预后; 因素

**DOI:**10.3969/j.issn.1672-9455.2017.19.031 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2017)19-2900-04

## The significance of HGC-1 expression in gastric cancer and its evaluation effect on prognosis

XU Jianguo

(Department of Oncological Surgery, Qinghai Provincial People's Hospital, Xining, Qinghai 810001, China)

**Abstract: Objective** To detect the expression of human granulocyte colony stimulating factor-1(HGC-1) and to investigate its correlation with gastric cancer clinicopathology and its influence on the patient's prognosis. **Methods** Sixty-three cases of gastric cancer in the hospital from January 2013 to November 2014 were selected as the research samples and divided into the experimental group ( $n=21$ ), control group( $n=21$ ) and observation group ( $n=21$ ) for conducting the research. The HGC-1 mRNA expression was detected by adopting quantitative polymerase chain reaction(PCR). Then the analysis and comparison were performed by using the immunohistochemistry. **Results** The analysis research showed that 16 cases in the experimental group were gastric cancer tissue HGC-1 protein expression positive with the positive rate of 76.1%; 4 cases in the control group were normal gastric tissue HGC-1 protein expression positive with the positive rate of 19.1%, the positive expression rate in the gastric cancer group was significantly higher than that in the control group, the difference was statistically significant( $P<0.05$ ); HGC-1 protein expression in gastric mucosal epithelial metaplasia tissue was significantly higher than the expression rate of HGC-1 protein in healthy tissues, the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ); 12 cases in the experimental group were positive in gastric mucosal intestinal epithelial metaplasia tissue, and the positive rate was up to 57.1%, while 4 cases in the control group were positive in normal gastric mucosal tissue with the positive rate of 19.1%, the positive rate in the experimental group was significantly higher than that in the control group, the difference was statistically significant( $P<0.05$ ). But HGC-1 protein expression positive rate had no statistical difference between the gastric cancer group and the control group( $P>0.05$ ). The reasons of HGC-1 protein expression up-regulation were mainly related with the gastric cancer tissue differentiation and PCNA, the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ), while the sex, age, infiltration depth, UICC stage, tumor size and location, lymph node metastasis and distant metastasis, M stage and vascular invasion did not cause its expression up-regulation, the difference was not statistically significant( $P>0.05$ ). The survival probability in the patients with HGC-1 negative was lower than that with HGC-1 positive, the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ); the analysis also showed that the independent factor generating the influence on the patient's prognosis was HGC-1. **Conclusion** HGC-1 has tremendous role on gastric cancer occurrence, moreover is an important criterion for early clinical diagnosis and prognosis judgment.

**作者简介:**徐建国,男,主治医师,主要从事胃肠道肿瘤基础与临床方面的研究。

**Key words:** human granulocyte colony stimulating factor-1; gastric cancer; pathology; prognosis; factor

目前,因为生活节奏快和饮食不规律使得胃癌已经成为一种常见的肿瘤疾病,据相关统计,全世界每年约有 7 000 000 人死因与癌症有关,而约有 70 000 人死于胃癌<sup>[1]</sup>。随着现代生物科技及医学医药技术的发展,虽然胃癌发病率呈递减趋势,但胃癌早期的诊断不够明确及治疗方式也比较简单,薄弱的临床研究,使得患者预后的改变不大,患者存活概率达 5 年左右的尚不足 20%<sup>[2]</sup>。因而深入探究胃癌的发病机制,为胃癌的确诊及治疗提供相关依据,为医疗专家判断胃癌病患预后提供参考。嗅觉介导素相关蛋白家族中成员之一的人粒细胞集落刺激因子-1(HGC-1),其通常表达于小肠和骨髓及结肠、前列腺处,对细胞增殖和凋亡及黏膜过程的作用非常重要<sup>[3]</sup>。近年来,研究发现了多种肿瘤与 HGC-1 的表达异常有着紧密的联系。由于目前对这类研究报道较少,所以本文对 HGC-1 于人体胃癌中表达情况进行研究及 HGC-1 对胃癌临床病理因素及预后的影响进行分析,现报道如下。

**1 资料与方法**

**1.1 一般资料** 选取 2013 年 1 月至 2014 年 11 月本院治疗的胃癌患者,11 例 I 期、19 例 II 期、28 例 III 期、5 例 IV 期共计 63 例,男 40 例,女 23 例,年龄 34~70 岁,平均(56.5±1.5)岁。分为试验组(n=21)、对照组(n=21)及观察组(n=21)。本次采用胃癌根治术对所有患者进行治疗,并组织进行研究。试验组患者取胃癌组织,对照组病患取正常胃黏膜组织,观察组病患取胃黏膜肠上皮化生组织。采用定量聚合酶链反应(PCR)技术检测患者 HGC-1 mRNA 表达情况,对三组中 HGC-1 蛋白表达情况应用进行检测,并应用免疫组织化学法加以分析与比较。研究对象均自愿接受本试验研究,签署过知情书协议,并得到医院伦理委员会批准,且个人病例资料完整。而且为保证试验准确性,试验选择的都是在术前均没有进行放化疗治疗的患者。

**1.2 方法**

**1.2.1 PCR 检测** 根据试验说明书的要求,对新鲜组织进行总 RNA 提取。然后再进行逆转录,进而合成 cDNA,接着对其进行 PCR 实时定量检测,检测的方法为 SYBR Green Assay (美国 Bio-Rad 公司)、Master-Cycler ep realplex(德国 Eppendorf 公司)。引物序列:HGC-1 上游序列:5'-CT-G CCA GAC ACC ACC TTT CC-3';HGC-1 下游序列:5'-CTC GAA GTC CAG TTC AGT GTA AG-3';β-actin 上游序列:5'-TCC TAA AAG CCA CCC CAC T-TC T-3';β-actin 下游序列:5'-GGG AGA GGA CT-G GGC CAT T-3'<sup>[4]</sup>。PCR 反应需要一定的条件:即在 95 ℃ 环境下进行变形反应,用时 3 min;再在 95 ℃ 环境下反应 20 s,以此进行 40 组循环研究,然后在 58 ℃ 环境退火并反应 15 s;再将温度降到 72 ℃,并反应 20 s,然后再持续试验 10 min。然后应用  $RQ=2^{-\Delta\Delta C_t}$  对差异倍数进行计算,并设定公式为  $\Delta C_t = (C_{tHGC-1} - C_{t\beta-actin})$ ,  $\Delta\Delta C_t = (\Delta C_{tHGC-1-tumor} - \Delta C_{tHGC-1-normal})$ <sup>[5]</sup>。

**1.2.2 免疫组化染色** 试验材料的选择:主要选择一抗兔抗人 HGC-1 抗体和一抗兔抗人 PCNA 抗体、二抗,分别由美国 SantaCruz 公司和北京中山生物技术有限公司生产<sup>[6]</sup>。然后分别对抗体进行染色,染色的方法主要是进行免疫组化两步法,

先将组织部分进行水化脱蜡处理,紧接着对组织部分进行修复,主要采用微波抗原热方式进行,修复 15 min,然后再在主治部分滴加 3% 过氧化氢,目的是为了降低内源性过氧化氢酶。一抗兔抗人 PCNA 抗体的反应条件是在 4 ℃ 环境下过夜,而二抗的条件是在室温下保持 1 h,然后分别进行磷酸盐缓冲液(PBS)漂洗,反复漂洗 3 次,再进行二氨基联苯胺显色,停止一段时间后在进行苏木素复染,紧接着对组织切片做脱水和封片处理,最终在显微镜下观察,然后再按照相同的试验步骤,将一抗代替成 PBS,使其成为阴性对照。

本次研究以组织着色深度及阳性细胞范围为依据,对蛋白表达情况进行评分。以着色情况为依据进行级别划分,即无着色 0;着色浅 1;着色中等 2;着色深 3。着色范围等级:0%~5% 为 0 级;>5%~25% 为 1 级;>25%~50% 为 2 级;>50%~75% 为 3 级;>75%~100% 为 4 级。以染色强度及范围评分乘积作为分组的标准,具体的分组:0 分为阴性;>0~4 分为弱阳性;>4 分为强阳性;本次将强阳性+弱阳性纳入阳性范围。增殖细胞核抗原(PCNA)着色细胞核阳性率≥0% 者为阳性,<10% 者为阴性<sup>[7]</sup>。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS20.0 统计学软件对数据进行处理,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  $[n(\%)]$  表示,组间比较  $\chi^2$  检验,以  $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 三组患者 HGC-1 表达情况比较** 试验组有 16 例患者的 HGC-1 蛋白于胃癌组织表达为阳性,阳性表达率 76.1%;在对照组中,HGC-1 蛋白于正常胃黏膜组织表达为阳性表达者有 4 例,阳性率为 19.1%,试验组 HGC-1 蛋白的阳性表达率明显高于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );而观察组 HGC-1 蛋白于胃黏膜肠上皮化生组织中有 12 例阳性,阳性率高达 57.2%,明显高于对照组 HGC-1 蛋白阳性表达者 4 例,阳性率 19.1%,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。而试验组胃癌患者中 HGC-1 蛋白表达阳性率与观察组比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 三组患者 HGC-1 表达情况比较[n(%)]

样本	n	阴性	弱阳性	强阳性
试验组*	21	5(23.9)	6(28.5)	10(47.6)
对照组	21	17(80.9)	4(19.1)	0(0.0)
观察组*	21	9(42.8)	5(23.9)	7(33.3)

注:与对照组比较,\*  $P < 0.05$

表 2 HGC-1 与临床病理间关系

项目	n	HGC-1 表达		t/ $\chi^2$	P
		阴性	阳性		
性别					
男性	40	18	29	0.96	>0.05
女性	23	13	12		

续表 2 HGC-1 与临床病理间关系 (n=100)

项目	n	HGC-1 表达		t/ $\chi^2$	P
		阴性	阳性		
年龄(岁)					
≥60	24	11	13	0.52	>0.05
<60	39	20	19		
肿瘤部位					
胃底	10	7	3	1.71	>0.05
胃体	31	14	17		
胃窦	22	10	12		
肿瘤大小(d/cm)					
≥3	42	22	20	0.96	>0.05
<3	21	9	12		
浸润深度					
T1+T2	29	15	14	1.24	>0.05
T3+T4	34	16	18		
淋巴结转移					
阳性	25	13	12	0.47	>0.05
阴性	38	18	20		
UICC 分期					
I	11	5	3	0.78	>0.05
II	19	9	10		
III	28	14	14		
IV	5	3	8		
M 分期					
M <sub>0</sub>	53	27	26	0.95	>0.05
M <sub>1</sub>	10	4	6		
脉管浸润					
无	41	19	22	1.21	>0.05
有	22	12	10		
分化					
中高分化	32	14	18	42.68	<0.05
低分化	31	17	14		
PCNA					
阴性	20	7	13	8.96	<0.05
阳性	43	24	19		

**2.2 HGC-1 与临床病理间关系** HGC 蛋白表达上调的原因主要与胃癌组织分化及 PCNA 有关, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 而患者的性别、年龄、浸润深度、UICC 分期、肿瘤大小和部位、淋巴结转移及远处转移、M 分期、脉管浸润不会造成其表达的上调, 差异无统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 2。

**2.3 HGC-1 与患者预后关系分析** HGC-1 表达中阳性与阴性的预后判断, 阳性患者较阴性预后良好, 阳性患者生存概率较高, 比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。经研究表明 HGC-1 表达为预后影响的主要危险因素。见图 1。

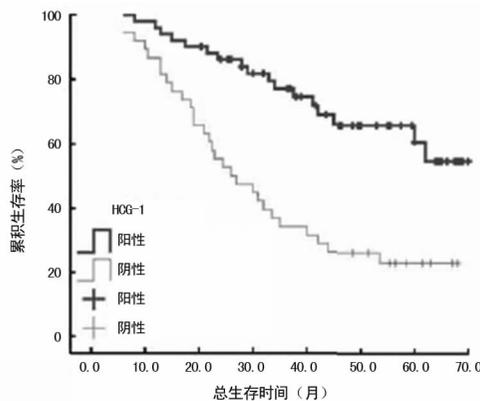


图 1 HGC-1 在胃癌表达阳性与阴性的患者生存曲线图

### 3 讨论

由于人们的生活形式, 饮食习惯与以往不同, 导致胃癌患者人数每年递增, 即使目前医疗技术使胃癌患者的治疗效果有了很大的提高, 但患者的存活时间达 5 年左右的概率仍较低。其主要原因在于胃癌的临床基础研究不够深入, 研究进程较为缓慢, 对胃癌的发病机制尚不明确<sup>[8]</sup>。因而需加快对胃癌临床发病机制的研究, 实施针对性较强的干预性治疗, 以达到延长患者生存时间, 改善其生活质量<sup>[9]</sup>。据有关研究发现, 胃癌中表达呈现为高特异性常发生在 HGC-1 与肺癌、胰腺癌及乳腺癌等表达异常之后, 使得胃癌患者体内的 HGC-1 与蛋白水平和 RNA 表达均出现上调趋势, 而且在癌症早期阶段普遍出现, 这说明了 HGC-1 在癌症患者的确诊起一定作用, 是确诊的靶点基因<sup>[10]</sup>。在 63 例胃癌患者中有 16 例 HGC-1 蛋白于试验组表达为阳性, 阳性表达率为 69.0%, 而对照组的阳性表达者有 4 例, 阳性率为 19.1%, HGC-1 蛋白于试验组的阳性表达率明显高于对照组; HGC-1 蛋白于观察组中有 12 例表现为阳性, 阳性率高达 57.2%, 明显高于对照组, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

综上所述, 胃癌患者在出现癌病变前 HGC-1 蛋白表达可能已经出现异常, 或在患者发生癌变早期 HGC-1 蛋白表达就开始出现异常。总之, HGC-1 蛋白表达升高是胃癌的发生、发展过程中一种潜在的癌变标志性产物。在病患胃癌变的发生、发展过程中转录因子 (NF- $\kappa$ B) 信号通路发挥着重要作用, 因为 NF- $\kappa$ B 与相关启动因子相结合可调控及诱导 HGC-1 蛋白表达出现异常, 而 HGC-1 的异常则导致凋亡启动分子干扰素/维甲酸联合应用诱导细胞凋亡相关基因 19 (GRIM19) 功能低下, 然而由于 GRIM19 功能性低下会抑制细胞的凋亡, 因而 HGC-1 蛋白表达出现异常间接或直接促进及加速了肿瘤形成<sup>[11]</sup>。PCNA 在细胞增殖启动中有着非常重要的作用, 并明确地反映细胞的增殖情况<sup>[12]</sup>。经研究表明, PCNA 与 HGC-1 蛋白关系十分紧密, 提示在癌细胞的增殖中 HGC-1 蛋白发挥着至关重要的作用。因此, NF- $\kappa$ B 信号通路控制 HGC-1, 使细胞凋亡得到抑制, 使细胞繁殖速度加快, 并且介入钙黏蛋白介导过程, 最终进入到肿瘤发生、发展过程中。据结果显示, PCNA 情况及癌细胞增殖与分化可导致 HGC-1 蛋白表达升高, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 而患者的年龄、性别、肿瘤大小和部位、浸

润深度、UICC 分期、淋巴结转移及远处转移、M 分期、脉管浸润不会造成其表达的上调,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。因而在对胃癌患者的预后判断中得出,HGC-1 表达中阳性与阴性的预后判断,阳性患者较阴性预后良好,阳性患者生存概率较高,差异有统计学意义( $P<0.05$ );表明对胃癌患者的预后产生影响的独立因素为 HGC-1。因此,在临床胃癌分化上 HGC-1 可能成为重要的标志,为临床胃癌组织分化鉴定提供参考的作用。

**参考文献**

[1] 张珑涓,李斌,谢至,等. Annexin A1 在胃癌中的表达及其与胃癌预后的关系[J]. 中山大学学报(医学科学版), 2011,32(2):237-241.

[2] 陈义钢,柳珂,朱荣,等. MIM 与 VEGF 在胃癌中的表达及其预后意义的研究[J]. 中国现代医学杂志,2011,21(14):1615-1619.

[3] 杨健,胡宏波,贾安平,等. FHIT 基因在胃癌中的甲基化表达及其与胃癌临床病理特征的关系[J]. 海南医学, 2011,22(10):41-43.

[4] 雷科锋,刘炳亚,张晓青,等. 胃癌相关激肽释放酶的筛选及其临床意义[J]. 外科理论与实践,2011,16(4):374-379.

[5] 叶建新,郑炜,赵新泰. PRR11 在胃癌中的表达及其与预

后的关系[J]. 中国细胞生物学学报,2014,36(2):200-204.

[6] 陈昊,沈艳莹,刘佳骅,等. FGFR4 蛋白表达与胃癌临床病理特征和预后的关系[J]. 胃肠病学,2014,19(6):345-349.

[7] 刘雷,陈国昌,宋振云,等. 胃癌中 Cdk2 和 p21 的表达及其与临床病理和预后的关系[J]. 江苏医药,2014,40(17):2045-2047.

[8] 张世斌. 胃癌组织中皮层肌动蛋白的表达及其对预后的影响[J]. 中国普通外科杂志,2013,22(10):1348-1351.

[9] 李强,党诚学. PPAR $\gamma$  mRNA 在胃癌组织中的表达及其与胃癌预后的关系[J]. 实用癌症杂志,2012,27(1):18-20.

[10] 黄宝俊,赵雨杰,徐惠绵,等. KAI 1 在胃癌中的表达及其临床意义[J]. 中国普通外科杂志,2012,21(4):466-470.

[11] 陈佳慧,肖江卫,任明扬,等. Gastrokine 1 在胃癌组织中的表达及其与胃癌临床病理特征的关系[J]. 中国普外基础与临床杂志,2012,19(10):1089-1093.

[12] 雷科锋,刘炳亚,张晓青,等. Hepsin 在胃癌中表达下调并提示预后不良[J]. 胃肠病学,2012,17(10):592-596.

(收稿日期:2017-03-01 修回日期:2017-05-10)

(上接第 2899 页)

[7] Xu W, Yu S, Xin J, et al. Relationship of 18F-FDG PET/CT metabolic, clinical and pathological characteristics of primary squamous cell carcinoma of the cervix[J]. J Investig Med, 2016,64(8):1246-1251.

[8] Lapresa M, Parma G, Portuesi R, et al. Neoadjuvant chemotherapy in cervical cancer: an update[J]. Expert Rev Anticancer Ther, 2015,15(10):1171-1181.

[9] 张昕蕾,张军,蔡有芹,等. 腹腔镜手术治疗 108 例宫颈癌的临床分析[J]. 中国微创外科杂志,2016,16(11):980-982.

[10] 葛瑜,张林,徐敬云. 血清 TSGF、CA125、CA19-9 联合 SCC 检测在老年宫颈癌诊断中的价值[J]. 中国老年学杂志,2016,36(21):5358-5360.

[11] 刘少晓,程晓燕,郑红枫,等. 紫杉醇联合顺铂新辅助治疗

局部晚期宫颈癌的临床疗效及安全性评价[J]. 中国临床药理学杂志,2015,31(6):432-434.

[12] 邓丽,梁青松,邓琳琳. 宫颈鳞状细胞癌组织 uPA、VEGF、Ki-67 的表达在预测新辅助化疗远期疗效中的作用[J]. 中国老年学杂志,2016,36(18):4506-4507.

[13] 王红霞,丁晓萍,侯庆香,等. SCC-Ag 在宫颈癌新辅助化疗前后的改变及临床意义[J]. 中国妇产科临床杂志, 2015,16(3):229-232.

[14] 庄晴晴,王常玉. 新辅助化疗与单纯手术在局部晚期宫颈癌患者中的疗效对比分析[J]. 现代妇产科进展,2016,25(7):7-10.

[15] 狄文,洪祖蓓. 宫颈癌手术治疗多元化现状及其发展动向[J]. 中国实用妇科与产科杂志,2015,31(6):485-489.

(收稿日期:2017-02-29 修回日期:2017-05-28)

**本刊为基金论文发表开辟“绿色通道”**

为了更加迅速地反映我国医学检验与临床领域科研工作的新成果和新发现,本刊为获得基金支持的论文开辟了“绿色通道”。具体要求如下:(1)国家或省部级专利(需提供编号及证明文件);(2)国家或省部级基金资助的科研论文(需提供基金项目级别、编号及证明文件);(3)有重大学术价值或创新性的科研成果。

特此声明:文章一经审稿录用,不得以任何理由撤销基金或专利证明文件。对于假冒基金等学术不端和学术造假行为,一经查实,予以退稿处理(审稿费、版面费不予退还),并通报给相关机构。