DOI:10.13210/j.cnki.jhmu.20170721.008
网络出版地址:http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1049.R.20170721.1628.016.html

胃癌患者血清 sLAG-3、PARP-1、CA50 含量与手术切除病灶中癌基因表达的相关性

马乐群[1],李新房[1],王 斌[2] ✉
(1.陕西省周至县人民医院外一科,陕西 周至 710400;2.陕西省榆林市星元医院普外科,陕西 榆林 719000)

[**摘要**] **目的**:研究胃癌患者血清可溶性淋巴细胞活化基因-3(soluble 1ymphocyte activation gene3,sLAG-3)、多聚 ADP-核糖聚合酶-1(poly ADP-ribose polymeras-1,PARP-1)、糖类抗原 50(carbohydrate antigen 50,CA50)含量与手术切除病灶中癌基因表达的相关性。**方法**:选择 2015 年 6 月~2017 年 3 月期间在周至县人民医院诊断为胃癌的 98 例患者作为研究的胃癌组,同期体检的健康志愿者 60 例作为研究的对照组。采集两组受试者的血清并测定 sLAG-3、PARP-1、CA50 的含量;采集胃癌组患者的胃癌病灶和癌旁病灶,测定 PDCD4、RASSF1A、p16ink4a、Kiss-1、Eaf-2、CDC4、UHRF1、OCT4、Zeb-1、c-jun 的蛋白表达量。**结果**:胃癌组患者血清 sLAG-3、PARP-1、CA50 的含量均显著高于对照组($P<0.05$),且 TNM 分期越高,血清 sLAG-3、PARP-1、CA50 的含量越高($P<0.05$);胃癌病灶内 PDCD4、RASSF1A、p16ink4a、Kiss-1、Eaf-2、CDC4 的蛋白含量均显著低于癌旁病灶($P<0.05$),且与血清 sLAG-3、PARP-1、CA50 的含量呈负相关,胃癌病灶内 UHRF1、OCT4、Zeb-1、c-jun 的蛋白含量均显著高于癌旁病灶($P<0.05$),且与血清中 sLAG-3、PARP-1、CA50 的含量呈正相关。**结论**:胃癌患者血清中 sLAG-3、PARP-1、CA50 含量的增多与胃癌的病理进程及抑癌基因表达缺失、原癌基因表达增多密切相关。

[**关键词**] 胃癌;可溶性淋巴细胞活化基因-3(sLAG-3);多聚 ADP-核糖聚合酶-1(PARP-1);糖类抗原 50(CA50);增殖
[**中图分类号**]R735.2 [**文献标识码**] A [**文章编号**] 1007-1237(2017)14-1957-04

Correlation of serum sLAG-3, PARP-1 and CA50 levels with oncogene expression in surgically removed lesions in patients with gastric cancer

MA Le-qun[1], LI Xin-fang[1], WANGBin[2] ✉
(1. *Surgery Department, Zhouzhi County People's Hospital, Zhou* 710400, *China*; 2. *Department of General Surgery, Xingyuan Hospital of Yulin, Yulin* 719000, *China*)

[*Foundation Project*]: *This study was supported by Shannxi Provincial Science and Technology Research and Development Project* (*Grant No.* 2011k13-02-06)
[*Author*]:*MA Le-qun* (1973-), *Male, Zhouzhi Shannxi, M.B., Associate Chief Physician, Tel*: 13891805181, *E-mail*: *malqun*630@163.*com*.
[*Correspondence to*]:*WANG Bin, Tel*: 13809120583, *E-mail*:50121995@*qq.com*.
Received: 2017-07-04 *Revised*: 2017-07-10 *JHMC*,2017;23(14):1957-1960

View from specialist: It is creative, and of certain scientific and educational value.

[ABSTRACT] **Objective**: To study the correlation of serum sLAG-3, PARP-1 and CA50 levels with oncogene expression

[基金项目] 陕西省科学技术研究发展计划项目(2011k13-02-06)
[作者简介] 马乐群 (1973-),男 ,陕西省周至县人,本科,副主任医师,电话:13891805181,邮箱:malqun630@163.com。
[通讯作者] 王斌,电话:13809120583,邮箱:50121995@qq.com。
[收稿日期] 2017-07-04 [修回日期] 2017-07-10 网络出版时间:2017-07-21 16:28:23

in surgically removed lesions in patients with gastric cancer. **Methods**: A total of 98 patients who were diagnosed with gastric cancer in Zhouzhi County People's Hospital between June 2015 and March 2017 were selected as gastric cancer group, and 60 healthy volunteers who received physical examination during the same period were selected as control group. The serum was collected from the two groups to determine the contents of sLAG-3, PARP-1 and CA50; gastric cancer lesions and adjacent lesions were collected from gastric cancer group to determine protein expression of PDCD4, RASSF1A, p16ink4a, Kiss-1, Eaf-2, CDC4, UHRF1, OCT4, Zeb-1 and c-jun. **Results**: Serum sLAG-3, PARP-1 and CA50 levels of gastric cancer group were significantly higher than those of control group ($P<0.05$) and the higher the TNM stage , the higher the serum sLAG-3, PARP-1 and CA50 levels were ($P<0.05$); PDCD4, RASSF1A, p16ink4a, Kiss-1, Eaf-2 and CDC4 protein levels in gastric cancer lesions were significantly lower than those in adjacent lesions ($P<0.05$) and negatively correlated with serum sLAG-3, PARP-1 and CA50 levels while UHRF1, OCT4, Zeb-1 and c-jun protein levels in gastric cancer lesions were significantly higher than those in adjacent lesions ($P<0.05$) and positively correlated with serum sLAG-3, PARP-1 and CA50 levels. **Conclusions**: The increase of serum sLAG-3, PARP-1 and CA50 levels in patients with gastric cancer is closely related to pathological process of gastric cancer, deletion of tumor suppressor gene expression and increase of proto-oncogene expression.

[KEY WORDS] Gastric cancer; Soluble lymphocyte activationgene-3; Poly ADP-ribose polymerase-1; Carbohydrate antigen 50; Proliferation

胃癌是我国发病率最高的消化道恶性肿瘤，且预后不佳，5 年生存率较低。由于胃癌早期的临床症状不典型，容易与胃溃疡等疾病混淆，因而疾病的早期诊断难度大、早期诊断率低[1]。在临床实践中，早期发现并诊断胃癌是改善疾病预后的最有效手段。血清肿瘤标志物是筛查恶性肿瘤的常用手段之一，具有操作方便、可重复进行的优势[2]，因此，探寻胃癌相关的肿瘤标志物对疾病的早期诊断具有现实的意义和价值。可溶性淋巴细胞活化基因-3(soluble 1ymphocyte activation gene3，sLAG-3)、多聚ADP-核糖聚合酶-1(poly ADP-ribose polymeras-1，PARP-1)、糖类抗原 50(carbohydrate antigen 50，CA50)是近年来新发现的消化道恶性肿瘤标志物，其血清含量被证实与多种消化道恶性肿瘤的病理进程相关[3,4]。本研究分析了胃癌患者血清中 sLAG-3、PARP-1、CA50 含量与手术切除病灶中癌基因表达的相关性。

1 资料与方法

1.1 受试者的一般资料

选择 2015 年 6 月～2017 年 3 月期间在周至县人民医院诊断为胃癌的 98 例患者作为研究的胃癌组，均经病理学活检诊断为胃癌、TNM Ⅰ～Ⅲ期，拟行胃癌根治术。排除术前进行过放化疗、生物靶向治疗、免疫治疗的患者以及合并自身免疫性疾病的患者。选择同期体检的健康志愿者 60 例作为研究的对照组，均经体检确认体健。胃癌组中男性 65 例、女性 33 例，年龄 45～66 岁；对照组中男性 40 例、女性 20 例，年龄 42～63 岁。两组受试者一般资料的比较无显著性差异($P>0.05$)，具有可比性。

1.2 研究方法

1.2.1 血清指标检测方法 胃癌组患者手术前采集外周静脉血 5 mL，对照组受试者体检时采集外周静脉血 5 mL，离心后分离得到血清，采用酶联免疫吸附试剂盒测定 sLAG-3、PARP-1、CA50 的含量。

1.2.2 癌基因表达检测方法 胃癌组患者手术切除后采集适量胃癌病灶和癌旁病灶，生理盐水清洗后加入 RIPA 裂解液，匀浆后取匀浆液，采用酶联免疫吸附试剂盒测定 PDCD4、RASSF1A、p16ink4a、Kiss-1、Eaf-2、CDC4、UHRF1、OCT4、Zeb-1、c-jun 的含量。

1.3 统计学处理

采用 SPSS21.0 软件进行数据的统计，两组间数据的比较采用 t 检验，3 组间数据的比较采用方差分析，相关性分析采用 Pearson 检验，检验及分析结果按照 $P<0.05$ 判断差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清中 sLAG-3、PARP-1、CA50 的含量

胃癌组和对照组受试者血清中 sLAG-3(ng/mL)、PARP-1(pg/mL)、CA50(U/mL)含量的分析如下：胃癌组患者血清中 sLAG-3、PARP-1、CA50 的含量均显著高于对照组。胃癌组和对照组受试者血清中 sLAG-3、PARP-1、CA50 含量的差异有统计学意义($P<0.05$)。胃癌组中不同 TNM 分期患者血清 sLAG-3、PARP-1、CA50 含量的分析如下：TNM II 期和 III 期患者血清中 sLAG-3、PARP-1、CA50 的含量均显著高于 TNM I 期，TNMIII 期患者血清中 sLAG-3、PARP-1、CA50 的含量均显著高于 TNM II 期，不同 TNM 分期胃癌患者血清中 sLAG-3、PARP-1、CA50 含量两两比较的差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1、2。

表 1 两组受试者血清中 sLAG-3、PARP-1、CA50 的含量比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	sLAG-1	PARP-1	CA50
胃癌组	98	264.61±33.52	672.31±79.86	45.51±6.35
对照组	60	103.13±15.37	257.64±34.23	20.31±3.63
t		16.598	12.038	11.385
P		<0.05	<0.05	<0.05

表 2 不同 TNM 分期胃癌患者血清中 sLAG-3、PARP-1、CA50 的含量比较($\bar{x}\pm s$)

TNM 分期	n	sLAG-1	PARP-1	CA50
Ⅰ期	29	138.51±17.84	379.76±46.84	31.25±5.86
Ⅱ期	47	221.35±31.93*	524.52±78.21*	42.15±6.21*
Ⅲ期	22	397.76±52.93*#	894.52±113.52*#	67.54±8.94*#

注:与 TNM Ⅰ期患者相比,* $P<0.05$;与 TNM Ⅱ期患者相比,# $P<0.05$。

2.2 手术切除病灶中抑癌基因的表达量

手术切除的胃癌病灶和癌旁病灶中抑癌基因 PDCD4(ng/mL)、RASSF1A(pg/mL)、p16ink4a(ng/mL)、Kiss-1(ng/mL)、Eaf-2(pg/mL)、CDC4(ng/mL)表达量的分析如下:胃癌病灶内 PDCD4、RASSF1A、p16ink4a、Kiss-1、Eaf-2、CDC4 的蛋白含量均显著低于癌旁病灶($P<0.05$)。胃癌病灶和癌旁病灶中 PDCD4、RASSF1A、p16ink4a、Kiss-1、Eaf-2、CDC4 蛋白含量的差异有统计学意义($P<0.05$)。Pearson 检验显示:胃癌患者血清中 sLAG-3、PARP-1、CA50 的含量与胃癌病灶中 PDCD4、RASSF1A、p16ink4a、Kiss-1、Eaf-2、CDC4 的蛋白含量呈负相关。见表 3。

表 3 胃癌病灶和癌旁病灶中抑癌基因的表达量比较($\bar{x}\pm s$)

组织来源	n	PDCD4	RASSF1A	p16ink4a	Kiss-1	Eaf-2	CDC4
胃癌病灶	98	1.88±0.24	106.5±12.8	0.42±0.06	3.44±0.51	55.6±7.3	1.15±0.18
癌旁病灶	98	4.18±0.52	235.6±33.2	1.05±0.12	7.93±0.99	109.3±12.8	2.41±0.35
t		12.038	13.428	11.983	12.485	9.398	10.308
P		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

2.3 手术切除病灶中原癌基因的表达量

手术切除的胃癌病灶和癌旁病灶中原癌基因 UHRF1(ng/mL)、OCT4(ng/mL)、Zeb-1(pg/mL)、c-jun(pg/mL)表达量的分析如下:胃癌病灶内 UHRF1、OCT4、Zeb-1、c-jun 的蛋白含量均显著高于癌旁病灶。胃癌病灶和癌旁病灶中 UHRF1、OCT4、Zeb-1、c-jun 蛋白含量的差异有统计学意义($P<0.05$)。Pearson 检验显示:胃癌患者血清中 sLAG-3、PARP-1、CA50 的含量与胃癌病灶中 UHRF1、OCT4、Zeb-1、c-jun 的蛋白含量呈正相关。见表 4。

表 4 胃癌病灶和癌旁病灶中原癌基因的表达量比较($\bar{x}\pm s$)

组织来源	n	UHRF1	OCT4	Zeb-1	c-jun
胃癌病灶	98	13.27±2.03	6.58±0.88	203.51±33.51	225.68±24.95
癌旁病灶	98	5.38±0.67	2.33±0.41	93.58±11.28	142.59±19.38
t		14.958	16.408	12.485	8.457
P		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

3 讨论

血清肿瘤标志物是恶性肿瘤早期筛查、治疗效果评价的有效手段,能够可重复操作,适用于病情的长期随访评估。sLAG-3、PARP-1、CA50 是近年来新发现的消化道恶性肿瘤相关标志物。LAG-3 是免疫球蛋白超家族的一类跨膜糖蛋白,sLAG-3 是 LAG-3 的可溶性形式,能够与 MHC-Ⅱ类分子相互作用并诱导 $CD4^+$ T 淋巴细胞的成熟,在恶性肿瘤病程中代偿性生成增多并参与抗肿瘤免疫应答的过程[5];PARP-1 是参与 ADP 核糖化过程的催化酶,能够通过对 DNA 损伤的修复来促进细胞的增殖[6];CA50 是唾液酸酯和唾液酸糖蛋白为主要成分的肿瘤抗原,在癌细胞的增殖过程大量合成并分泌进入血液循环[7]。本文通过分析胃癌患者血清中上述分子的含量可知:胃癌组患者血清中 sLAG-3、PARP-1、CA50 的含量均显著高于对照组。进一步分析不同肿瘤分期胃癌患者血清中上述分子的含量可知:胃癌患者的 TNM 分期越高,血清中 sLAG-3、PARP-1、CA50 的含量越高。这就说明血清中 sLAG-3、PARP-1、CA50 的含量能够用于胃癌的诊断及病情的评估。

在胃癌的病情进展过程中,肿瘤标志物的分泌与癌细胞的增殖密切相关,而癌细胞的增殖又涉及抑癌基因失活、原癌基因激活。PDCD4、RASSF1A、p16ink4a、Kiss-1、Eaf-2、CDC4 是与胃癌密切相关的抑癌基因。PDCD4 是新发现的凋亡相关基因,所编码的产物一方面能够拮抗 Cyclin、CDKs 的活性并阻碍细胞周期,另一方面能够增强 TRAIL 敏感性、增加 Caspase-8 的活性,最终引起细胞凋亡[8];RASSF1A 是 Ras 相关区域家族基因的剪切体,能够影响 Rb 蛋白的功能并造成细胞周期停滞,进而使细胞进入凋亡程序并被清除[9];p16ink4a 是 MTS1 基因的编码产物,对 CDK4 具有选择性的抑制作用,进而阻碍细胞周期由 G1 期进入 S 期、抑制细胞的增殖[10];Kiss-1 基因的编码产物同时参与细胞增殖及侵袭的调节,一方面能够拮抗 MMPs 的活性并抑制细胞侵袭,另一方面能够通过受体 GPR54 阻碍细胞周期 G2/M 期的转换[11];Eaf-2 是一类 ELL 相关蛋白,通过与 ELL 结合来发挥抑癌基因的活性[12];CDC4 基因的编码产物是 F-box 家族的成员,能够诱导 cyclinE、c-Myc 等原癌基因降解并抑制细胞增殖。我们通过分析胃癌病灶内上述抑癌基因的蛋白表达量可知:胃癌病灶内 PDCD4、RASSF1A、p16ink4a、Kiss-1、Eaf-2、CDC4 的蛋白含量均显著低于癌旁病灶。这就说明 PDCD4、RASSF1A、p16ink4a、Kiss-1、Eaf-2、CDC4 等抑癌基因的表达缺失与胃癌的发生密切相关。进一步分析血清肿瘤标志物与抑癌基因表达量的相关性可知:胃癌患者血清中 sLAG-3、PARP-1、CA50 的含量与胃癌病灶中 PDCD4、RASSF1A、p16ink4a、Kiss-1、

Eaf-2、CDC4 的表达量呈负相关。这就说明胃癌患者血清中肿瘤标志物 sLAG-3、PARP-1、CA50 分泌增多与胃癌病灶内抑癌基因表达的缺失密切相关，通过检测血清肿瘤标志物的含量能够反映抑癌基因的表达情况。

胃癌细胞的增殖同时受到抑癌基因和原癌基因的调控，UHRF1、OCT4、Zeb-1、c-jun 等原癌基因的高表达与细胞的增殖及浸润性生长密切相关。UHRF1 基因的编码产物是表观遗传学的调节分子，能够促进甲基转移酶 DNMT1 与 DNA 结合并维持 DNA 的甲基化状态，肿瘤病灶内多种抑癌基因的甲基化状态均受到 UHRF1 的调控并处于转录抑制的状态[13]；OCT4 是维持肿瘤干细胞活性的转录因子，一方面能够维持干细胞的多能性和自我更新能力，另一方面能够通过促凋亡因子的生物学效应来促进细胞增殖[14]；Zeb-1 是具有锌指结构的转录因子，能够与 E-cadherin 基因启动子区域的 E 盒结合并阻碍基因转录、降低 E-cadherin 表达，进而降低细胞间的极性、促进细胞的浸润性生长[15]；c-jun 是受到上游 JNK 通路调节的转录因子，能够与 Zeb-1 相互作用并增强 Zeb-1 的活性、促进细胞侵袭[16]。本文通过分析胃癌病灶内上述原癌基因的蛋白表达量可知：胃癌病灶内 UHRF1、OCT4、Zeb-1、c-jun 的蛋白含量均显著高于癌旁病灶。这就说明 UHRF1、OCT4、Zeb-1、c-jun 等原癌基因的表达增多与胃癌的发生密切相关。进一步分析血清肿瘤标志物与原癌基因表达量的相关性可知：胃癌患者血清中 sLAG-3、PARP-1、CA50 的含量与胃癌病灶中 UHRF1、OCT4、Zeb-1、c-jun 的表达量呈正相关。这就说明胃癌患者血清中肿瘤标志物 sLAG-3、PARP-1、CA50 分泌增多与胃癌病灶内原癌基因表达的增多密切相关，通过检测血清肿瘤标志物的含量能够反映原癌基因的表达情况。

胃癌患者血清中 sLAG-3、PARP-1、CA50 的含量异常升高；sLAG-3、PARP-1、CA50 含量的增多与胃癌病灶内抑癌基因表达缺失、原癌基因表达增多密切相关。

参考文献

1 Rokutan H, Hosoda F, Hama N, Nakamura H, Totoki Y, Furukawa E, et al. Comprehensive mutation profiling of mucinous gastric carcinoma[J]. J Pathol, 2016, 240(2): 137-148.

2 Virgilio E, Proietti A, D'Urso R, Cardelli P, Giarnieri E, Montagnini M, et al. Measuring intragastric tumor markers in gastric cancer patients: a systematic literature review on significance and reliability[J]. Anticancer Res, 2017, 37(6): 2817-2821.

3 Huang RY, Francois A, McGray AR, Miliotto A, Odunsi K. Compensatory upregulation of PD-1, LAG-3, and CTLA-4 limits the efficacy of single-agent checkpoint blockade in metastatic ovarian cancer[J]. Oncoimmunology, 2016, 6(1): e1249561.

4 Park SH, Jang KY, Kim MJ, Yoon S, Jo Y, Kwon SM, et al. Tumor suppressive effect of PARP1 and FOXO3A in gastric cancers and its clinical implications[J]. Oncotarget, 2015, 6(42):44819-44831.

5 Takaya S, Saito H, Ikeguchi M. Upregulation of immune checkpoint molecules, PD-1 and LAG-3, on $CD4^+$ and $CD8^+$ T cells after gastric cancer surgery[J]. Yonago Acta Med, 2015, 58(1):39-44.

6 Liu Y, Zhang Y, Zhao Y, Gao D, Xing J, Liu H. High PARP-1 expression is associated with tumor invasion and poor prognosis in gastric cancer[J]. Oncol Lett, 2016, 12(5):3825-3835

7 Virgilio E, Giarnieri E, Montagnini M, D'Urso R, Proietti A, Mesiti A, et al. Analyzing gastric lavage of gastric cancer patients: a prospective observational study on cytopathology and determination of intragastric CEA, CA 19.9, CA 72.4, and CA 50[J]. Acta Cytol, 2016, 60(2):161-166.

8 Yu H, Zeng J, Liang X, Wang W, Zhou Y, Sun Y, et al. Helicobacter pylori promotes epithelial-mesenchymal transition in gastric cancer by downregulating programmed cell death protein 4 (PDCD4)[J]. PLoS One, 2014, 9(8):e105306.

9 Guo L, Huang C, Ji QJ. Aberrant promoter hypermethylation of p16, survivin, and retinoblastoma in gastric cancer[J]. Bratisl Lek Listy, 2017, 118(3):164-168.

10 Balgkouranidou I, Matthaios D, Karayiannakis A, Bolanaki H, Michailidis P, Xenidis N, et al. Prognostic role of APC and RASSF1A promoter methylation status in cell free circulating DNA of operable gastric cancer patients[J]. Mutat Res, 2015, 778:46-51.

11 Ji K, Ye L, Mason MD, Jiang WG. The Kiss-1/Kiss-1R complex as a negative regulator of cell motility and cancer metastasis (Review)[J]. Int J Mol Med, 2013, 32(4):747-754.

12 李峰，杜军，梁爱华，等. Eaf2 在胃癌中的表达及其对细胞增殖、迁移和侵袭的影响[J]. 山西大学学报(自然科学版)，2016，39(2):307-312.

13 Soleimani A, Ghanadi K, Noormohammadi Z, Irani S. The correlation between miR-146a C/G polymorphism and UHRF1 gene expression level in gastrictumor[J]. J Dig Dis, 2016, 17(3): 169-174.

14 Yong X, Tang B, Xiao YF, Xie R, Qin Y, Luo G, et al. Helicobacter pylori upregulates Nanog and Oct4 via Wnt/β-catenin signaling pathway to promote cancer stem cell-like properties in human gastric cancer[J]. Cancer Lett, 2016, 374(2): 292-303.

15 Chen H, Lu W, Huang C, Ding K, Xia D, Wu Y, et al. Prognostic significance of ZEB1 and ZEB2 in digestive cancers: a cohort-based analysis and secondary analysis[J]. Oncotarget, 2017, 8(19):31435-31448.

16 Li LH, Wu GY, Lu YZ, Chen XH, Liu BY, Zheng MH, et al. p21-activated protein kinase 1 induces the invasion of gastric cancer cells through c-Jun NH2-terminal kinase-mediated activation of matrix metalloproteinase-2[J]. Oncol Rep, 2017, 38(1): 193-200.