

DOI:10.12025/j.issn.1008-6358.2019.20191154

胃癌组织 C19orf28 蛋白表达的预后价值

高其忠¹, 高翔², 刘芬³, 葛晓松^{2*}

1. 江南大学附属医院胃肠外科, 无锡 214062

2. 江南大学附属医院肿瘤内科, 无锡 214062

3. 江南大学附属医院肿瘤研究所, 无锡 214062

[摘要] **目的:**探讨 C19orf28 是否可以预测胃癌(gastric cancer, GC)患者的预后。**方法:**采用免疫组化染色法检测 141 例胃癌组织及其癌旁组织(距癌组织 5 cm)中 C19orf28 蛋白表达水平。**结果:**C19orf28 蛋白在胃癌组织中的表达显著高于癌旁组织($P<0.05$)。C19orf28 高表达患者($n=43$)的临床病理学特征与 C19orf28 低表达患者($n=98$)的临床病理学特征差异无统计学意义。C19orf28 高表达患者总生存期(overall survival, OS)短于 C19orf28 低表达患者 OS($P=0.0003$)。C19orf28 高表达患者平均生存期(23.40 个月)短于 C19orf28 低表达患者平均生存期(38.35 个月),差异有统计学意义($P<0.01$)。Cox 多因素风险回归模型分析显示,C19orf28 表达($HR=2.34$, $P=0.005$, 95% CI 1.30~4.21)是胃癌患者不良预后的独立预测因子。**结论:**胃癌组织 C19orf28 蛋白表达水平与患者不良预后相关,在预测胃癌患者预后中有潜在应用价值。

[关键词] C19orf28; 胃癌; 预后**[中图分类号]** R 735.2 **[文献标志码]** A

Prognostic value of C19orf28 protein expression in gastric cancer

GAO Qi-zhong¹, GAO Xiang², LIU Fen³, GE Xiao-song^{2*}

1. Department of Gastrointestinal Surgery, Affiliated Hospital of Jiangnan University, Wuxi 214062, Jiangsu, China

2. Department of Oncology, Affiliated Hospital of Jiangnan University, Wuxi 214062, Jiangsu, China

3. Oncology Institute, Affiliated Hospital of Jiangnan University, Wuxi 214062, Jiangsu, China

[Abstract] **Objective:** To investigate whether C19orf28 has prognostic value for patients with gastric cancer (GC). **Methods:** Immunohistochemical staining (IHC) was used to detect the expression of C19orf28 in 141 GC tissues and adjacent tissues (5 cm from cancer tissue). **Results:** The expression of C19orf28 in GC tissues was significantly higher than that in adjacent tissues. There was no significant difference in the clinicopathologic features of patients ($n=43$) with high expression of C19orf28 and those ($n=98$) with low expression of C19orf28. The overall survival (OS) of patients with high expression of C19orf28 was significantly shorter than that of patients with low expression of C19orf28 ($P=0.0003$). The mean survival time of patients with high expression of C19orf28 (23.40 months) was statistically shorter than that of patients with low expression of C19orf28 (38.35 months, $P<0.01$). Cox multivariate risk regression model analysis results showed that C19orf28 expression ($HR=2.34$, $P=0.005$, 95% CI 1.30-4.21) was an independent predictor of poor prognosis in patients with GC. **Conclusions:** The expression of C19orf28 protein in GC may be related to the poor prognosis of GC patients, and it has potential application value in predicting the prognosis of GC patients.

[Key Words] C19orf28; gastric cancer; prognosis

胃癌(gastric cancer,GC)是消化系统高发肿瘤之一,其发病率和死亡率已分别跃居癌症相关第 4

位和第 2 位^[1]。我国每年新增近 68 万 GC 患者^[2-3],约占全世界 GC 新发病例的一半;同时,我国

[收稿日期] 2019-07-10**[接受日期]** 2019-09-26

[基金项目] 国家自然科学基金青年项目(81502042),无锡市“科教强卫工程”-无锡市医学重点人才项目(ZDRC008),无锡市卫计委卫生科研项目(Q201731)。Supported by Youth Project of National Natural Science Foundation of China (81502042),“Science and Education Strong Health Project” of Wuxi-Wuxi Medical Key Talents (ZDRC008), and Health Research Project of Wuxi Municipal Commission of Health and Family Planning(Q201731)。

[作者简介] 高其忠,硕士,副主任医师。E-mail: hui030@sina.com

* 通信作者(Corresponding author)。Tel: 0510-88682209, E-mail: 85410328@qq.com

每年大约 49.8 万人死于 GC。GC 患者 5 年存活率非常低^[4-6], 超过 80% 的病例在诊断时已是晚期^[7-8]。尽管我国 GC 患者年龄标准化的死亡率近年来降低^[9], 但是其仍然严重危害患者的生活质量, 给家庭和社会带来沉重负担。因此, 亟需阐明 GC 的发病机制, 寻找可以诊断 GC 恶性肿瘤的标志分子和预测患者存活的预后预测因子。

C19orf28 也称 PP3501、MFSD12, 是新近发现的一种肿瘤相关基因^[10]。目前, 关于 C19orf28 蛋白表达与 GC 预后和生存的相关性鲜见报道。本文拟通过免疫组化(IHC)方法, 探讨 C19orf28 是否可以作为 GC 患者预后的独立预测因子。

1 资料与方法

1.1 标本来源 纳入 2013-12-31 至 2014-12-30 在江南大学附属医院(无锡市第四人民医院)进行根治性手术的 141 例 GC 石蜡样本及其癌旁组织样本(距癌组织 5 cm)。141 例患者中, 男性 112 例, 女性 29 例; 年龄 34~84 岁, 平均年龄 65 岁; 高/中分化腺癌 32 例, 中低/低分化腺癌 109 例; TNM I~II 期 25 例、III~IV 期 116 例, N₀ 49 例、N₁₋₃ 92 例。患者纳入标准: (1) 原发灶标本为 GC, 所有标本术后均经 2 名病理医师复核证实; (2) 术前未接受放、化疗; (3) 有完整的临床、病理和随访资料; (4) 死亡原因仅为肿瘤复发或转移。本研究经江南大学附属医院(无锡市第四人民医院)医学伦理委员会同意; 患者知情同意并填写知情同意书。

1.2 实验材料 C19orf28 多克隆抗体 (Cat: bs-9680R, 北京博奥森生物技术有限公司), 组织芯片空白蜡块 (UNITMA Quick-Ray UB06-1, 韩国), GTVesionTM III 抗鼠/兔通用型免疫组化检测试剂盒 [GK500705, 基因科技(上海)股份有限公司]。

1.3 免疫组化检测结肠癌组织中 C19orf28 蛋白表达 采用细针打孔方法, 分别选取 141 例胃癌组织及癌旁组织蜡块中的 1 mm 圆柱形癌组织或者癌旁组织, 制备组织芯片蜡块。切片并转移到免疫组化专用载玻片上制成组织芯片。IHC 染色步骤如下: 常规脱蜡水化; 0.01 mol/L 柠檬酸钠缓冲液 (pH 6.0) 进行热修复 10 min; 3% 双氧水室温孵育 15 min, 以阻断内源性过氧化物酶的活性; 滴加 C19orf28 多克隆抗体 (1:600), 4℃ 过夜, PBS 冲洗 3 次, 每次 3

min; 滴加 A 液, 室温孵育 30 min, PBS 冲洗; 滴加新鲜配制的 DAB 工作液, 室温孵育 5~10 min; 苏木精复染; 无水乙醇脱水封片。以 PBS 液替代一抗或二抗作为阴性对照。

1.4 染色结果判断 C19orf28 阳性定位于细胞质, 其表达按染色强度评为: 无 (0 分)、弱 (1 分)、中 (2 分) 和强 (3 分); 按阳性细胞比例评为: <1% (1 分)、1%~10% (1 分)、10%~33% (3 分)、33%~67% (4 分)、>67% (5 分)。总体评分值 = 染色强度 + 阳性细胞比例评分, 评分: ≤2 分为低表达; >2 分为高表达。结果由病理科 2 位医师独立双盲读片评定。

1.5 随访 对全部患者进行术后定期随访, 记录其完整的临床相关资料, 随访截止日期为 2018 年 10 月 31 日。

1.6 统计学处理 采用 SPSS 16.0 进行分析, 计数资料采用 χ^2 检验, 生存分析采用 Kaplan-Meier 方法分析, 影响生存的多因素分析采用 Cox 回归方法。检验水准 (α) 为 0.05。

2 结果

2.1 C19orf28 在 GC 组织中的表达 IHC 结果 (图 1) 显示: 所测 GC 组织均 C19orf28 蛋白阳性 (阳性率为 100%), 癌旁组织均未检测到 C19orf28 蛋白; GC 组织 C19orf28 阳性评分为 (1.972 ± 0.675) 分, 与癌旁组织差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。

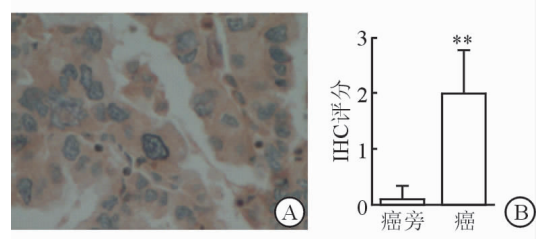


图 1 C19orf28 在胃癌组织中的表达

A: GC 组织 C19orf28 染色强; B: GC 组织及癌旁组织 IHC 评分比较。Original magnification: ×400; ** $P < 0.01$

2.2 GC 组织 C19orf28 表达与患者临床病理特征的关系 结果 (表 1) 发现: C19orf28 低表达患者 ($N=98$) 与 C19orf28 高表达患者 ($N=43$) 性别、神经和 (或) 脉管侵犯、TNM 分期、人类表皮生长因子受体 2 (HER2) 表达、肿瘤分化程度、肿瘤细胞增殖状态 (Ki67) 等差异均无统计学意义。

表 1 C19orf28 表达与患者临床病理特征的相关性				
指 标	总计	C19orf28 低表达 (N = 98)	C19orf28 高表达 (N = 43)	P 值
性别				0.404
男	112(79.4)	76(53.9)	36(25.5)	
女	29(20.6)	22(15.6)	7(5.0)	
年龄				0.045
<65 岁	57(40.4)	45(31.9)	12(8.5)	
≥65 岁	84(59.6)	53(37.6)	31(22.0)	
神经和(或)脉管侵犯				0.875
无	34(24.1)	24(17.0)	10(7.1)	
有	107(75.9)	74(52.5)	33(23.4)	
T 分期				0.209
T _{1~2}	25(17.7)	20(14.2)	5(3.5)	
T _{3~4}	116(82.3)	78(55.3)	38(27.0)	
N 分期				0.130
N ₀	49(34.8)	38(27.0)	11(7.8)	
N _{1~3}	92(65.2)	60(42.6)	32(22.7)	
M 分期				0.658
M ₀	133(94.3)	93(66.0)	40(28.4)	
M ₁	8(5.7)	5(3.5)	3(2.1)	
分化程度				0.442
中低/低	109(77.3)	74(52.5)	35(24.8)	
中/高	32(22.7)	24(17.0)	8(5.7)	
HER2 高低				0.982
0/1	128(90.8)	89(63.1)	39(27.7)	
2/3	13(9.2)	9(6.4)	4(2.8)	
Ki67				0.209
<50%	25(17.7)	20(14.2)	5(3.5)	
≥50%	116(82.3)	78(55.3)	38(27.0)	

HER2:人类表皮生长因子受体 2

2.3 不同 C19orf28 表达患者的生存分析 结果(图 2)显示:C19orf28 高表达患者 OS 短于 C19orf28 低表达患者,差异有统计学意义($P=0.0003$)。C19orf28 蛋白高表达患者平均生存期(23.40 个月)短于 C19orf28 低表达患者平均生存期(38.35 个月),差异有统计学意义($P<0.01$)。

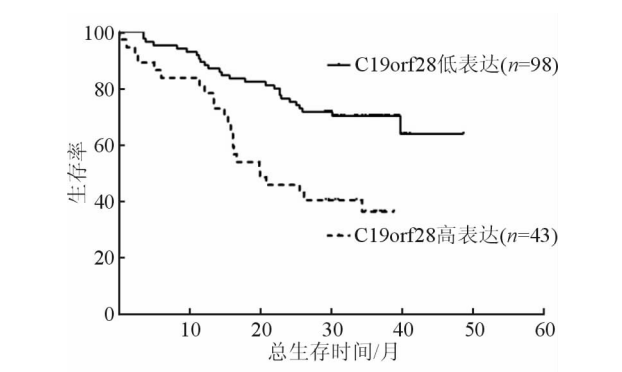


图 2 C19orf28 高表达患者与低表达患者的 Kaplan-Meier 生存曲线

2.4 Cox 风险回归模型分析 GC 患者的生存危险因素 Cox 风险回归模型分析结果(表 2)显示:C19orf28 表达、局部浸润、淋巴结转移、M 分期、神经和(或)脉管侵犯与 GC 患者预后相关($P<0.05$);C19orf28 表达($HR=2.34$, 95% CI 1.30~4.21, $P=0.005$)是 GC 患者预后的独立预测因子。

表 2 Cox 风险回归模型生存分析						
危险因素	单因素分析			多因素分析		
	HR	95% CI	P 值	HR	95% CI	P 值
C19orf28 表达(低 vs 高)	2.75	1.56~4.87	<0.001	2.34	1.30~4.21	0.005
年龄(<65 岁 vs ≥65 岁)	1.57	0.85~2.93	0.153	1.25	0.66~2.39	0.491
性别(男 vs 女)	0.72	0.34~1.53	0.358	0.68	0.31~1.49	0.333
局部浸润(T _{1~2} vs T _{3~4})	6.14	1.49~25.3	0.012	3.59	0.74~17.36	0.112
淋巴结转移(N ₀ vs N _{1~3})	3.44	1.55~7.67	0.002	2.14	0.87~5.25	0.098
M 分期(M ₀ vs M ₁)	3.33	1.32~8.42	0.011	2.50	0.83~7.52	0.104
神经和(或)脉管侵犯(无 vs 有)	3.13	1.24~7.90	0.016	1.23	0.41~3.69	0.712
分化程度(低-中低 vs 中-中高)	0.72	0.36~1.44	0.354	0.73	0.33~1.60	0.431
HER2 表达(0~1 vs 2~3)	0.79	0.41~1.55	0.499	0.75	0.37~1.55	0.440
Ki67(<50% vs ≥50%)	1.14	0.55~2.35	0.727	0.84	0.39~1.81	0.653

3 讨 论

C19orf28 是一种多次跨膜蛋白,属于主要的促进子超家族(the major facilitator superfamily, MFS)。MFS 超家族是生物圈中发现的最大的二级载体超家族^[11],对营养吸收和肾脏清除过程中化合

物穿过生物膜起重要作用。编码 C19orf28 蛋白的基因位于 19 号染色体;由于可变剪接事件,C19orf28 蛋白有两种蛋白亚型。19 号染色体全长大约 6 300 万个碱基,包括 1 400 多个基因,约占人类基因组 DNA 的 2%。19 号染色体具有人染色体的最大基因密度,是多种免疫球蛋白超家族成员的

遗传家园,包括杀伤细胞和白细胞 Ig 样受体、细胞间黏附分子(ICAMs)、癌胚抗原相关的细胞黏附分子(CEACAM)和妊娠特异性糖蛋白家族(PSG)以及 Fc 受体等。眼睛颜色和头发颜色、肤色的关键基因也位于 19 号染色体。C19orf28 与欧亚大陆人色素沉着、非洲人色素沉着相关^[12-13],以及与马的蘑菇毛色^[14]、小鼠的灰色毛色^[12]和狗的白色毛色^[15]有关。

近来研究发现 C19orf28 具有癌基因功能。Wei 等^[10]发现,黑素瘤中异常表达的 C19orf28 通过激活 PI3K 信号通路促进细胞周期进程,促进细胞增殖、侵袭和转移;高表达 C19orf28 是黑素瘤患者 OS 和 DFS 的独立预后因素。Wang 等^[16]也证明,丁酸钠处理神经母细胞瘤细胞后显著诱导 pp3501 (C19orf28)上调,而 pp3501 (C19orf28)抑制神经母细胞瘤细胞增殖,使细胞周期停滞于 G₁ 期。然而,C19orf28 是否在胃癌中扮演重要角色目前还不确定。

本研究首次通过 IHC 方法证明 C19orf28 与 GC 患者预后显著相关。C19orf28 蛋白在 GC 癌组织中高表达(阳性率为 100%)。尽管 C19orf28 蛋白高表达患者与 C19orf28 低表达患者的临床病理特征不存在有意义的统计学差异,但是,C19orf28 高表达患者 OS 显著短于 C19orf28 低表达患者 OS ($P=0.0003$);C19orf28 高表达患者平均生存期(23.40 个月)显著短于 C19orf28 低表达患者平均生存期(38.35 个月, $P<0.01$)。Cox 风险回归模型显示,C19orf28 表达是 GC 患者预后的独立预测因子。因此,C19orf28 蛋白表达在预测 GC 患者预后中有一定的应用价值。

综上所述,本研究通过 IHC 方法检测 GC 组织及癌旁组织中 C19orf28 蛋白的表达,并结合患者临床病理特征及随访患者预后情况,证实了高表达 C19orf28 可能是 GC 患者不良预后的独立预测因子。

参考文献

- [1] ZHANG G, LI J, LI S, et al. Exploring spatial trends and influencing factors for gastric cancer based on bayesian statistics: a case study of shanxi, China[J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2018, 15(9). pii: E1824.
- [2] GLOBALSURG COLLABORATIVE. Mortality of emergency abdominal surgery in high-, middle- and low-income countries[J]. *Br J Surg*, 2016, 103(8):971-988.
- [3] CHEN W, ZHENG R, BAADE P D, et al. Cancer statistics

- in China, 2015[J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2):115-132.
- [4] ZENG H, ZHENG R, GUO Y, et al. Cancer survival in China, 2003-2005: a population-based study [J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(8):1921-1930.
- [5] STRONG V E, WU A W, SELBY L V, et al. Differences in gastric cancer survival between the U. S. and China[J]. *J Surg Oncol*, 2015, 112(1):31-37.
- [6] YE J, REN Y, DAI W, et al. Does lymphadenectomy with at least 15 perigastric lymph nodes retrieval promise an improved survival for gastric cancer: a retrospective cohort study in southern China [J]. *J Cancer*, 2019, 10 (6): 1444-1452.
- [7] ZONG L, ABE M, SETO Y, et al. The challenge of screening for early gastric cancer in China[J]. *Lancet*, 2016, 388(10060):2606.
- [8] ORDITURA M, GALIZIA G, SFORZA V, et al. Treatment of gastric cancer[J]. *World J Gastroentero*, 2014, 20(7): 1635-1649.
- [9] GAO K, WU J. National trend of gastric cancer mortality in China (2003-2015): a population-based study [J]. *Cancer commun(Lond)*, 2019, 39(1):24.
- [10] WEI C Y, ZHU M X, LU N H, et al. Bioinformatics-based analysis reveals elevated MFSD12 as a key promoter of cell proliferation and a potential therapeutic target in melanoma [J]. *Oncogene*, 2019, 38(11):1876-1891.
- [11] REDDY V S, SHLYKOV M A, CASTILLO R, et al. The major facilitator superfamily (MFS) revisited[J]. *FEBS J*, 2012, 279(11):2022-2035.
- [12] CRAWFORD N G, KELLY D E, HANSEN M E B, et al. Loci associated with skin pigmentation identified in African populations[J]. *Science*, 2017, 358(6365). pii: eaan8433.
- [13] ADHIKARI K, MENDOZE-REVILLA J, SOHAIL A, et al. A GWAS in Latin Americans highlights the convergent evolution of lighter skin pigmentation in Eurasia[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1):358.
- [14] TANAKA J L, LEEB T, MACK M, et al. A Frameshift Variant in MFSD12 Explains the Mushroom Coat Color Dilution in Shetland Ponies [Internet] [J]. *PAG*, 2019, (27): W355. (2019-1-12)[2019-05-15]. <https://plan.core-apps.com/pag-2019/abstract/343fb67f-5123-40b8-8885-76ad3141b62e>.
- [15] HÉDAN B, CADIEU E, BOTHEREL N, et al. Identification of a missense variant in MFSD12 involved in dilution of pheomelanin leading to white or cream coat color in dogs[J]. *Genes (Basel)*, 2019, 10(5). pii: E386.
- [16] WANG Y, MA C, ZHANG H, et al. Novel protein pp3501 mediates the inhibitory effect of sodium butyrate on SH-SY5Y cell proliferation[J]. *J Cell Biochem*, 2012, 113(8): 2696-2703.