

# 高迁移率族蛋白B1在伴有神经浸润胃癌组织中的表达及意义

拓婷,朱飞虎

延安市人民医院肛肠科,陕西 延安 716000

**【摘要】** 目的 分析高迁移率族蛋白B1(HMGB1)在伴有神经浸润(PNI)的胃癌组织中的表达及意义。方法 回顾性分析延安市人民医院2017年2月至2019年2月期间收治的82例胃癌患者的临床资料,根据病理是否合并PNI进行分组,其中38例合并PNI者纳入观察组,44例未合并PNI者纳入对照组,比较两组患者的临床资料。采用免疫组化方法检测所有癌组织HMGB1的表达水平,比较伴有PNI的胃癌患者阳性组与阴性组的性别、年龄、肿瘤大小、TNM分期及是否合并淋巴结转移。**结果** 观察组患者中合并糖尿病的比例为63.16%,明显高于对照组的38.64%,差异有统计学意义( $P<0.05$ );观察组胃癌组织中的HMGB1阳性率为73.68%,明显高于对照组的47.73%,差异有统计学意义( $P<0.05$ );观察组患者中,HMGB1阳性组肿瘤直径 $\geq 3$  cm、TNM III~IV、淋巴结转移的比例分别为82.14%、78.57%、92.86%,明显高于阴性组的50.00%、40.00%、60.00%,差异均具有统计学意义( $P<0.05$ )。**结论** 合并糖尿病的胃癌患者可能更容易发生神经浸润,而伴有PNI胃癌组织中HMGB1的表达高于未伴有PNI的胃癌组织,且其与肿瘤大小、临床分期及淋巴结转移关系密切。

**【关键词】** 胃癌;神经浸润;高迁移率族蛋白B1;临床病理;淋巴结转移

**【中图分类号】** R735.2 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2020)19-2470-03

**Expression and significance of HMGB1 in gastric cancer with perineural invasion.** TUO Ting, ZHU Fei-hu. Anorectal Department, Yan'an People's Hospital, Yan'an 716000, Shaanxi, CHINA

**【Abstract】 Objective** To analyze the expression and significance of high mobility group B1 protein (HMGB1) in gastric cancer with perineural invasion (PNI). **Methods** Eighty-two patients with gastric cancer treated in Yan'an People's Hospital from February 2017 to February 2019 were analyzed retrospectively. According to whether with PNI, they were included into the observation group ( $n=38$ , with PNI) and the control group ( $n=44$ , without PNI), and the clinical data of the two groups were compared. The expression of HMGB1 in cancer tissue was analyzed by immunohistochemistry. In the observation group, the clinicopathological characteristics of positive group and negative group were compared, including gender, age, tumor size, TNM stage, and lymph node metastasis. **Results** The proportion of diabetes in the observation group was significantly higher than that in the control group (63.16% vs 38.64%,  $P<0.05$ ). The positive rate of HMGB1 in the observation group was 73.68%, which was higher than 47.73% in the control group ( $P<0.05$ ). In the observation group, the proportion of tumor diameter $\geq 3$  cm, TNM III-IV, lymph node metastasis in the HMGB1 positive group was 82.14%, 78.57%, 92.86%, respectively, significantly higher than 50.00%, 40.00%, 60.00% in the negative group ( $P<0.05$ ). **Conclusion** Gastric cancer patients with diabetes mellitus are more likely to have PNI, and the expression of HMGB1 in gastric cancer patients with PNI is higher than that in gastric cancer patients without PNI, which is closely related to tumor size, clinical stage, and lymph node metastasis.

**【Key words】** Gastric cancer; Perineural invasion; HMGB1; Clinicopathology; Lymph node metastasis

胃癌是临床上消化道肿瘤中最常见的类型,调查显示胃癌的年发生率为138.6/10万,且其病死率在所有癌症致死病因中仅次于呼吸系统恶性肿瘤而居第2位<sup>[1]</sup>。胃癌的临床特点包括发病率及转移率高、病死率高,早期诊断率低等,其治疗效果不佳也多与转移率高关系密切<sup>[2]</sup>。神经浸润(PNI)目前被认为是一种新的肿瘤转移途径,是指肿瘤周围神经被侵及、包绕,或者瘤细胞直接进入神经纤维间隙,从而造成肿瘤的转移扩散<sup>[3]</sup>。高迁移率族蛋白B1(HMGB1)是一种仅合成或表达于增殖细胞中的核内多肽,既往临床多重重视其在炎症反应中的作用,现在认识到其在多种肿瘤组织尤其是转移瘤中具有高表达的特点,可通过促进肿瘤细胞侵袭迁移而引起肿瘤的转移、进展<sup>[4]</sup>。目前关于胃癌PNI与HMGB1关系的临床研究尚不多见,

因此本研究分析了HMGB1在伴有PNI的胃癌组织中的表达及临床意义,现将结果报道如下:

## 1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性分析延安市人民医院2017年2月至2019年2月期间收治的82例胃癌患者的临床资料。纳入标准:①年龄 $\geq 18$ 岁;②术前均经病理检查证实为胃癌,术后病理进一步证实;③术前未接受放化疗及生物免疫等手段治疗;④临床及病理资料完整。排除标准:①合并严重的免疫系统疾病以及长期应用免疫抑制剂治疗者;②合并其他脏器、系统的严重病变,或其合并其他恶性肿瘤者。82例患者中男性49例,女性33例;年龄52~84岁,平均(64.1 $\pm$ 10.2)岁。

1.2 研究方法 所有患者均接受胃癌根治术治疗,收集患者的临床及病理资料,根据术后病理结果

将伴有 PNI 的 38 例患者纳入观察组,余 44 例未伴有 PNI 者纳入对照组。比较两组患者的性别、年龄、饮酒、吸烟以及高血压、糖尿病等临床资料。饮酒标准:饮酒史>3 年,≥100 mL/d;吸烟标准:吸烟史>5 年,≥20 支/d。同时测定所有患者的胃癌组织 HMGB1 的表达,对 PNI 胃癌患者再次分组,根据 HMGB1 表达是否阳性将患者分别纳入阳性组和阴性组,比较两组患者的性别、年龄、临床分期及肿瘤大小、临床分期、是否有淋巴结转移等临床和病理特征。其中临床分期的依据为国际抗癌联盟 TNM 分期标准。

### 1.3 HMGB1 表达的测定

1.3.1 免疫组织化学方法 手术结束后将胃癌组织送检病理科,制备石蜡切片,进行免疫组化染色。采用 Envision 两步法,阴性对照选择磷酸盐缓冲液(PBS)替代一抗。首先将石蜡包埋的组织进行 4 μm 的连续切片;使用二甲苯脱蜡,再使用梯度酒精进行逐级水化;将其放置在 3% 双氧水、甲醇室温下予以作用 30 min,以阻断内源性过氧化物酶活性;然后使用乙二胺四乙酸缓冲液进行抗原热修复,时间为 90 s;加入一抗 HMGB1,放置在 4℃ 条件下孵育过夜,使用 PBS 充分冲洗;加入 Envision 二抗,在室温下孵育

30 min;在光镜下用二氨基联苯胺(DAB)进行显色,苏木精复染、脱水、风干及封片等步骤,封片材料为中性树脂。其中鼠单克隆抗体 HMGB1 由北京博奥森生物技术有限公司提供,二抗、DAB、PBS 等试剂由福州迈新公司提供。

1.3.2 阳性结果的判读 HMGB1 蛋白阳性表现为显微镜下细胞核或者细胞质内呈现棕色,观察显色癌细胞比例和染色强度,然后进行半定量评分,标准:肿瘤组织内未发现棕色染色组织,或≤10%细胞膜/浆/核染色时判定为(-);肿瘤组织出现>10%细胞膜/浆/核部分染色,则判断为阳性。

1.4 统计学方法 应用 SPSS19.0 统计学软件进行数据分析,计量数据以均数±标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,组间均数比较采用 *t* 检验,计数资料比较采用  $\chi^2$  检验,以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 观察组和对照组患者的临床资料比较 观察组和对照组患者在性别、年龄、饮酒、吸烟及合并高血压方面比较差异均无统计学意义( $P>0.05$ );但是观察组患者合并糖尿病的比例明显高于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见表 1。

表 1 观察组和对照组患者的临床病理资料比较

组别	例数	性别[例(%)]	年龄( $\bar{x}\pm s$ ,岁)	饮酒[例(%)]	吸烟[例(%)]	糖尿病[例(%)]	高血压[例(%)]
观察组	38	22 (57.89)	63.78±9.13	17 (44.74)	16 (42.11)	24 (63.16)	16 (42.11)
对照组	44	27 (61.36)	65.20±10.07	18 (40.91)	18 (40.91)	17 (38.64)	15 (34.09)
<i>t</i> / $\chi^2$ 值		0.371	0.665	0.122	0.012	4.904	0.557
<i>P</i> 值		>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	<0.05	>0.05

2.2 观察组和对照组患者的 HMGB1 表达水平比较 HMGB1 蛋白表达在显微镜下细胞质或细胞核内呈现棕色见图 1 和图 2。观察组中有 28 例 HMGB1 表达阳性,阳性率为 73.68%,明显高于对照组的 47.73% (21/44),差异具有统计学意义( $\chi^2=5.173, P<0.05$ )。

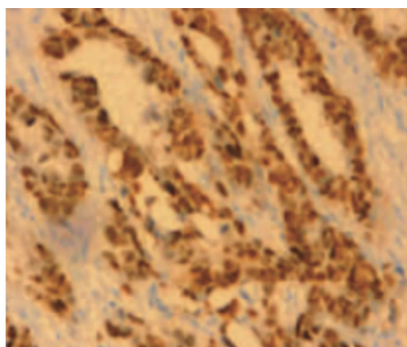


图 1 细胞质中 HMGB1 的表达(×200)

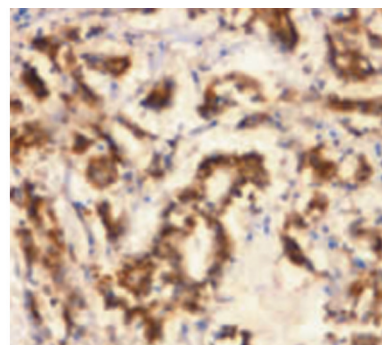


图 2 细胞核中 HMGB1 的表达(×200)

2.3 观察组患者 HMGB1 表达与临床病理指标的关系 观察组患者中, HMGB1 阳性组与阴性组的年龄、性别比较差异均无统计学意义( $P>0.05$ );但是阳性组患者肿瘤直径≥3 cm、TNM III~IV、淋巴结转移的比例明显高于阴性组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ ),见表 2。

表 2 观察组患者 HMGB1 表达与临床病理指标的关系

组别	例数	男[例(%)]	年龄( $\bar{x}\pm s$ ,岁)	肿瘤大小[例(%)]		TNM [例(%)]		淋巴结转移[例(%)]
				≥3 cm	<3 cm	I~II	III~IV	
阳性组	28	16 (57.14)	64.26±7.54	23 (82.14)	5 (17.86)	6 (21.43)	22 (78.57)	26 (92.86)
阴性组	10	6 (60.00)	63.18±8.10	5 (50.00)	5 (50.00)	6 (60.00)	4 (40.00)	6 (60.00)
<i>t</i> / $\chi^2$ 值		0.187	0.382		3.927		5.074	5.983
<i>P</i> 值		>0.05	>0.05		<0.05		<0.05	<0.05



### 3 讨论

胃癌在我国是最常见的消化系统恶性肿瘤之一,其发病率出现逐年上升的趋势,已经成为威胁我国居民健康及生命安全的重要疾病<sup>[5]</sup>。胃癌患者早期常常缺乏典型临床症状,一旦发病则出现快速进展,患者就诊时常常处于中晚期<sup>[6-7]</sup>。近些年来,恶性肿瘤神经浸润的机制及意义不断被深入研究,临床上也越来越重视PNI在恶性肿瘤中的重要意义<sup>[8]</sup>。目前研究认为PNI是恶性肿瘤的一种新的转移方式,可能独立于既往的血道转移、淋巴转移、种植转移以及直接转移,且与恶性肿瘤的预后关系密切。目前胃癌PNI的具体机制尚不明确,但是研究指出合并PNI的胃癌患者其预后更差<sup>[9]</sup>。周乐盈等<sup>[10]</sup>对413例胃癌患者的临床资料并进行回顾性分析,指出神经浸润与肿瘤的进展密切相关,对胃癌患者预后评估有着重要的作用。本研究对比了合并PNI的观察组与未合并PNI的对照组的临床资料,发现观察组合并糖尿病的比例明显高于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。既胃癌PNI的发生与年龄、性别及饮酒、吸烟、高血压等因素无明显的相关性,但是糖尿病与PNI的发生可能存在关联,说明胃癌患者如合并糖尿病则增大了其发生神经浸润的风险。分析其原因可能是因为糖尿病患者长期存在高血糖状态加重了其神经病变,进而导致了神经浸润的发生,患者也更容易发生PNI<sup>[11]</sup>。

高迁移率族蛋白B1常位于真核生物的细胞核内,是一种生物学功能多样的核内蛋白。既往认为HMGB1在细胞外具有强大的致炎效应,且被认为是新型的炎性细胞因子之一<sup>[12]</sup>。随着对HMGB1研究的深入,发现HMGB1在核内主要与DNA结合,不仅可以起到稳定核小体结构的作用,还与DNA的一系列生命活动关系密切如参与重组、修复、调控等<sup>[13]</sup>。此外, HMGB1与肿瘤关系密切,通过结合不同受体可以发挥不同作用如促进基质降解、诱发新生血管形成、调节神经轴突生长能力等,进而促进肿瘤的发生、发展以及肿瘤的转移等过程<sup>[14-15]</sup>。既往有研究指出, HMGB1与肝癌者的临床分期、分级密切相关<sup>[16]</sup>。CHUANG等<sup>[17]</sup>观察了胃癌患者血清HMGB1浓度与临床与病理指标的关系,发现患者血清HMGB1水平与胃癌肿块大小、淋巴结转移及患者的预后均存在显著的相关性。在本研究中,观察组胃癌组织HMGB1的阳性表达率为73.68%,明显高于对照组的47.73%,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。另一方面,在伴有PNI胃癌中, HMGB1阳性组与阴性组比较,年龄、性别差异无统计学意义( $P>0.05$ );但是阳性组其肿瘤直径 $\geq$

3 cm、TNM III~IV、淋巴结转移的比例均明显高于阴性组,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),这进一步提示HMGB1可能参与了胃癌PNI的发生与发展。

综上所述,合并糖尿病的胃癌患者可能更容易发生神经浸润;而神经浸润胃癌组织中HMGB1的表达高于未伴有PNI的胃癌组织,且其与肿瘤大小、临床分期及淋巴结转移关系密切,有望成为胃癌的靶向治疗及预后评估中的新的指标。

#### 参考文献

- [1] JEMAL A, BRAY F, CENTER MM, et al. Global cancer statistic [J]. CAC ancer J Clin, 2012, 61(2): 69-90.
- [2] 陆俊,黄昌明,郑朝辉,等.腹腔镜根治性全胃切除术治疗老年原发性胃癌患者的倾向评分分配比预后分析[J].中华消化外科杂志, 2016, 15(3): 221-227.
- [3] 丁珊珊,杨冰.神经周围浸润在早期宫颈癌中的意义[J].实用医学杂志, 2015, 31(24): 4105-4107.
- [4] 陆长艳,王忠昊,张昊,等.肝细胞癌患者行TACE前后HMGB1表达变化及其对预后的影响[J].国际肿瘤学杂志, 2018, 45(5): 277-280.
- [5] 尹红,罗保平,李春亭,等.腹腔镜辅助与开腹远端胃癌根治术对机体血清炎症因子水平及近期疗效的影响[J].海南医学, 2017, 28(10): 1575-1577.
- [6] 高欣欣,王新.影响胃癌患者预后的独立危险因素研究进展[J].肿瘤预防与治疗, 2016, 29(2): 123-127.
- [7] 韩新影,刘红正,李秀清,等.胃癌组织中VGLL4、YAP蛋白表达与胃癌患者预后的关系[J].海南医学, 2017, 28(23): 3883-3886.
- [8] 张树朋,梁月祥,吴亮亮,等.神经浸润对胃癌患者生存预后的影响[J].中国肿瘤临床, 2019, 46(7): 330-336.
- [9] 陈路川,魏晟宏,叶再生,等.神经浸润对1801例胃癌术后预后的影响[J].中华消化外科杂志, 2017, 16(3): 262-268.
- [10] 周乐盈,金尹,林晓晓,等.神经浸润与胃癌预后相关性研究[J].医学研究杂志, 2014, 43(11): 111-115.
- [11] 贾如江,侯丽艳,兰春根,等.高血糖对胰腺癌患者神经浸润及预后的影响[J].中华肝胆外科杂志, 2017, 23(2): 136-137.
- [12] 王伶俐,晏维,付好.高迁移率族蛋白B1在肠道炎症和肿瘤中的作用[J].临床消化病杂志, 2015, 27(1): 49-51.
- [13] 张晓丽,于金明,朱慧,等.非小细胞肺癌组织HMGB1表达临床意义Meta分析[J].中华肿瘤防治杂志, 2017, 24(9): 630-636.
- [14] 王艳军,王高雄,黄天从,等.高迁移率族蛋白1通过调控Erk1/2、Cyclin D1及MMP14蛋白促进肝内胆管细胞癌进展[J].第三军医大学学报, 2019, 41(5): 430-436.
- [15] 杨超,孙航,吴传新. HMGB1在肝脏炎症微环境及肝细胞癌发生发展中的作用[J].解放军医学杂志, 2015, 40(2): 159-162.
- [16] CHENG BQ, JIA CQ, LIU CT, et al. Serum high mobility group box-chromosomal protein1 is associated with clinicopathologic features in patients with hepatocellular carcinoma [J]. Dig Liver Dis, 2008, 40(6): 446-452.
- [17] CHUNG HW, LEE SG, KIM H, et al. Serum high mobility group box-1 (HMGB-1) is closely associated with the clinical and pathologic features of gastric cancer [J]. Transl Med, 2009, 7(2):38.

(收稿日期:2020-03-30)