doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.24.022

胃癌患者 HER2、VEGF、HIF-1a mRNA 的表达与临床特点及预后的关系 *

周 颖[1] 杨 静[2] 陆丽华[1] 许琦华[1△] 赵 滨[2]

（1 上海中医药大学附属第七人民医院消化科 上海 200137；2 上海中医药大学附属第七人民医院普外科 上海 200137）

摘要 目的：探讨胃癌患者血清中人表皮生长因子受体 -2 (Human epithelial growth factor receptor 2, HER2)HER-2、血管内皮生长因子（Vascular endothelial growth factor ，VEGF）、低氧诱导因子 -1α(hypoxia inducible factor-1, HIF-1α) mRNA 水平与其临床特征及预后的关系。**方法：**选取我院 2015 年 7 月至 2016 年 7 月治疗的 50 例胃癌患者作为研究对象，采用荧光定量 PCR 检测血清中 HER-2、VEGF、HIF-1α mRNA 水平，探讨其与胃癌患者临床特点的关系，采用 COX 回归模型探讨 HER-2、VEGF、HIF-1α mRNA 表达与胃癌临床预后的关系。**结果：**胃癌组患者血清中 HER2、VEGF、HIF-1α mRNA 水平明显高于对照组患者，年龄越高、分化程度越低、临床分期晚、伴有淋巴结转移的胃癌患者血清中 HER2、VEGF、HIF-1α mRNA 水平明显高与相对应的患者，HER-2(P=0.04)、VEGF(P=0.03)、HIF-1α(P=0.04)是胃癌患者预后不良的独立危险因素。**结论：**胃癌组织中 HER-2、VEGF、HIF-1α mRNA 表达水平与胃癌恶性程度密切相关，是胃癌患者预后不良的独立危险因素

关键词：胃癌；转移；复发；化疗

中图分类号：R735.2 **文献标识码：**A **文章编号：**1673-6273(2018)24-4703-04

The Relationship between Serum Levels of HER2, VEGF, HIF-1a mRNA and Clinical Features and Prognosis of Gastric Cancer*

ZHOU Ying[1], YANG Jing[2], LU Li-hua[1], XU Qi-hua[1△], ZHAO Bin[2]

(1 Department of Gastroenterology, Seventh People's Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai, 200137, China; 2 Department of general surgery, Seventh People's Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai, 200137, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the relationship between HER-2, VEGF and HIF-1α levels in serum and clinical prognosis in patients with gastric cancer. **Methods:** In our hospital from July 2015 to July 2016 in 50 cases of gastric cancer patients treated in our hospital as the research object, using SP method and enzyme-linked immunosorbent assay in gastric cancer tissues and serum HER-2, VEGF and HIF-1α mRNA levels to explore the relationship between serum and tissue of patients with gastric cancer HER-2, VEGF, HIF-1α mRNA levels and clinical characteristics of patients with COX. HER-2, VEGF, regression model to investigate the relationship between HIF-1α expression and clinical prognosis of gastric cancer. **Results:** The serum of gastric cancer patients in the HER2, VEGF and HIF-1α mRNA levels were significantly higher than that in control group, comparison of different age, degree of differentiation, clinical stage HER2, VEGF and HIF-1α mRNA levels in the serum of patients with age is higher, the lower the degree of differentiation, clinical stage, lymph node metastasis in patients with serum HER2, VEGF and HIF-1a mRNA significantly patients with high contrast, HER-2 (P=0.04), VEGF (P=0.03), HIF-1α(P=0.04) is an independent risk factor of poor prognosis of patients with gastric cancer. **Conclusion:** Serum levels of HER-2, VEGF and HIF-1a mRNA are closely related to the malignant degree of gastric cancer, which is an independent risk factor for poor prognosis of gastric cancer patients

Key words: Gastric cancer; Metastasis; Recurrence; Chemotherapy

Chinese Library Classification(CLC): R735.2 Document code: A

Article ID: 1673-6273(2018)24-4703-04

前言

胃癌是目前临床常见的恶性肿瘤，严重影响患者生存质量，手术是治愈胃癌的主要方法，改善胃癌的预后是目前研究的热点课题。研究表明胃癌的预后与多种因素密切相关，包括胃癌的临床特点和患者体内基因表达水平[1]。胃癌患者体内多种肿瘤标志物异常表达，可能影响患者的临床预后。HER-2 阳性表达可以促进细胞信号转导系统活化，促进癌细胞增殖、分

* 基金项目：浦东新区卫生系统学科带头培养计划项目(PWRd2016-12)；
上海市卫生和计划生育委员会科研课题资助项目（2016460309）；
上海中医药大学附属第七人民医院人才培养计划(BDX2016-01)，(XX2015-07)；(QMX2016-04)

作者简介：周颖(1977-)，女，本科，副主任医师，研究方向：消化道疾病，E-mail：drzhouying@126.com，电话：13636302644

△ 通讯作者：许琦华(1985-)，女，本科，主治医师，研究方向：消化道疾病

(收稿日期：2018-07-31 接受日期：2018-08-27)

化导致,明显影响肿瘤细胞的恶性生物学行为,进而影响肿瘤行为及预后[2]。血管生长因子(VEGF)参与肿瘤血管生长,有助于促进肿瘤的增殖,可促进肿瘤血管增生,进而导致肿瘤细胞浸润、出现淋巴结和远处转移,进而影响患者胃癌的浸润和转移[3]。缺氧诱导因子 1-α(HIF-1α)在机体缺氧状态下,有助于肿瘤的低氧适应,促进肿瘤细胞出现适应性增殖、发育,可导致肿瘤的生长、发育,诱发肿瘤细胞恶性增殖[4]。本研究探讨患者血清中 HIF-1α、VEGF、HER-2 mRNA 水平与临床特点及预后的关系。

1 资料和方法

1.1 一般资料

选取 2015 年 7 月至 2016 年 7 月在本院确诊为胃癌的患者 50 例患者作为研究对象，参照中华医学会制定的的诊断标准,所有患者均行胃癌根治术治疗。入选标准:① 患者知情同意本研究,能完成随访;② 年龄 >18 岁。排除标准:① 合并慢性系统疾病的患者;② 合并肺癌、胃癌、肝癌等恶性肿瘤的患者。本研究 50 例患者中,男性 22 例、女 28 例,年龄 38-68 例,平均年龄(63.5± 12.6)岁,体重指数(23.5± 1.6)kg/m^2。以 40 例健康人群为对照组,包括男性 19 例,女性 21 例,平均年龄(63.5± 12.6)岁,体重指数(23.8± 1.3)kg/m^2。两组患者性别、年龄、体重指数对比差异无统计学意义(P>0.05),具有可比性。本研究经我院伦理委员会批准。

1.2 方法

胃癌患者血清中 HER-2、VEGF、HIF-1α mRNA 水平检测:提取总 RNA 后进行逆转录得到 cDNA 后进行荧光定量 PCR 扩增,扩增基因包括目的基因 HER-2、VEGF、HIF-1α 及管家基因 β-action。根据 PCR 结果读取读取循环数(Ct),HER-2、VEGF、HIF-1α、β-actin 序列号见表 1。采用 Image J 分析 RNA 的表达量。

表 1 HER-2、VEGF、HIF-1α 及β-actin 的引物序列

Table 1 HER-2, VEGF, HIF-1α and beta-actin primer sequences

project	Primer sequence	End product length (BP)
HER-2	Upper 5'-TGGATACGTTTCCTTATAAG-3'	128
	Lower 5'-GAAATGGAGGCACCCCTTC-'	
VEGF	Upper 5'-GCCCAAATCCCTCATATCCC-3'	113
	Lower 5'-AACAGTTGCCGTCCATGAATAG-3'	
HIF-1α	Upper 5'-CCTCCACATCCTCCCTTCC-3'	782
	Lower :5'-GTCGCAGACAGTGATGAACCTC-3'	
β-action	Upper 5'-AGTCAACGGATTTGGTCG-3'	221
	Lower 5'-CTCGCTCCTGGAAGATGG-3'	

1.3 随访

所有患者每隔 3 个月进行随访,终点事件为转移、复发或死亡,最后一次随访时间为 2017 年 1 月 31 日。

1.4 统计学分析

应用 SPSS 21.0 统计软件进行数据的统计分析，组间资料采用独立样本 t 检验或配对样本 t 检验，计数资料采用卡方检验,采用 Cox 回归模型分析 HER2、VEGF、HIF-1α 与转移或复发的关系,以 P＜0.05 表示差异具有显著性。

2 结果

2.1 两组血清 HER-2、VEGF、HIF-1α mRNA 水平的比较

胃癌组患者血清 HER2、VEGF、HIF-1α mRNA 水平明显高于对照组患者,差异具有统计学意义(P<0.05),具体见表 2。

表 2 两组患者血清 HER-2、VEGF、HIF-1α mRNA 水平的比较

Table 2 The Comparison of HER-2, VEGF and HIF-1α mRNA levels between two groups

Group	N	HER-2	VEGF	HIF-1α
Gastric cancer	50	36.5± 9.5*	68.6± 18.6*	5.8± 1.2*
Normal	40	16.6± 4.8	32.6± 11.4	2.5± 0.9

Note: compared with normal group, *P<0.05.

2.2 不同病理参数胃癌患者血清 HER2、VEGF、HIF-1α mRNA 水平的比较

不同年龄、分化程度、临床分期胃癌患者血清 HER2、VEGF、HIF-1α 水平分析结果显示:年龄越高、分化程度越低、临床分期晚、伴有淋巴结转移的患者血清 HER2、VEGF、HIF-1α mRNA 水平明显高与相对应的其他患者,具体见表 3。

2.3 血清 HER2、VEGF、HIF-1α mRNA 水平与胃癌患者临床预后的相关性

以性别、年龄、体重指数、肿瘤分期、肿瘤病理类型、血清 HER2、VEGF、HIF-1α mRNA 表达为单因素,以死亡、转移、复发为终点事件,logistic 分析结果提示 HER-2(P=0.04)、VEGF(P=0.03)、HIF-1α (P=0.04) 是胃癌患者预后不良的独立危险因

素,具体见表 4。

表 3 不同病理参数胃癌患者血清 HER2、VEGF、HIF-1α 水平比较

Table 3 Comparison of the serum levels of HER2, VEGF and HIF-1α among patients with different pathological parameters

Group	n	HER-2	VEGF	HIF-1α
Age	<65	17.8± 9.2*	52.8± 18.2*	3.6± 0.7*
	>65	39.5± 3.6	74.8± 21.3	6.4± 1.3
Differentiation degree	High	15.8± 2.1	48.6± 12.7	2.6± 0.4
	Medium	20.8± 11.5*	64.8± 21.1*	4.1± 1.3*
	Low	32.8± 12.5*	76.3± 16.2*	6.5± 1.5*
Clinical stages	I+II	21.3± 9.2*	53.4± 9.6*	3.4± 0.6*
	III+IV	36.2± 11.5	82.5± 12.4	6.8± 1.3
Lymph gland	Without Lymph gland metastasis	26.5± 8.2*	62.6± 9.5*	3.4± 0.8*
	Lymph gl*ndmet*st*sis	36.8± 12.4	81.3± 12.6	6.8± 1.6

Notes: Contrast with the corresponding high level, *P<0.05.

表 4 胃癌患者临床预后的多因素分析

Table 4 Multivariate analysis of prognostic factors for patients with gastric cancer

Variable	Prognosis				
	β	SE	HR	95% CI	P
HER-2	0.095	0.045	1.65	1.16~2.18	0.04
VEGF	0.036	0.036	1.55	1.15~2.12	0.03
HIE-1α	1.724	0.375	1.98	1.46~2.25	0.04

3 讨论

胃癌根治术后患者 5 年生存率较高,但是仍有不少患者术后早期发生肿瘤转移、复发，严重影响患者的生活质量[5,6]。HER-2 过度表达可能激活 EGFR,同时能促进 EGFR 介导的恶性肿瘤的转化和肿瘤的发生。EGFR 在恶性肿瘤生长、增殖过程中具有重要的临床意义。此外,HER-2 可以通过介导 Ras/RafMAPK 途径促进正常细胞向恶性肿瘤转化。因此，HER-2 基因高表达可能与肿瘤的恶性程度密切相关[7-11]。本研究探讨了不同临床病理特征患者 HER-2 水平的关系，结果提示年龄越高、恶性程度更高、临床分期越晚、分化程度越低、伴有淋巴结转移的患者 HER-2 更低，可能与 HER-2 通过多种信号途径介导恶性肿瘤细胞的生物学行为有关[13]。HER-2 可以促进肿瘤内皮细胞增生、血管生成,而且相关研究证实 HER-2 可以促进乳腺癌细胞增殖、转移,HER-2 阳性表达的乳腺癌患者恶性程度也更高,与本研究结果类似[14]。

VEGF 是血管形成的标志物，可刺激血管内皮细胞增生，促进血管再生,促进肿瘤转移与复发[15]。VEGF 表达的水平升高有助于促进恶性肿瘤细胞的增殖，胃癌患者临床特征与患者 VEGF 的关系后结果与 HER-2 基因类似，患者血清中 VEGF mRNA 水平在年龄越高、恶性程度更高、临床分期越晚、分化程度越低、伴有淋巴结转移的患者中更高,这与国内研究结果基本类似,进一步的明确了 VEGF 水平升高在胃癌患者中的重要临床意义[15]。

当机体缺氧时,组织中 HIF-1α 的表达会上调,可导致机体 EPO 生成增多,使组织对缺氧进行适应性调节,导致 HIF-1α 分泌增加的原因包括缺氧状态、炎症因子刺激、化学激素等[16-19]。研究证实 HIF-1α 在恶性肿瘤中具有促进增殖抗原增长，恶性肿瘤可以调节 HIF-1α 增长，而 HIF-1α 可能促进 VEGF 增加，促进血管增生使得肿瘤细胞更容易适应低氧环境。

但是有相关研究也证实了 HIF-1α 可能抑制肿瘤细胞生长[20]。相关研究也证实了 HIF-1α 在白血病细胞、胰腺癌肿瘤细胞中的重要作用,可以促进肿瘤细胞的增殖、迁移等[21,22]。HIF-1α 的生理作用是通过 HIF-1α 受体激动，导致红细胞增多促进肿瘤细胞的生长，表明 HIF-1α 在恶性肿瘤的增殖和发育过程中有重要的临床意义。进一步采用 logistics 分析胃癌转移、复发的危险因素,证实肿瘤分期、VEGF、HER-2、HIF-1α 是肿瘤预后的重要风险因素。

综上,血清中 HIF-1α、HER-2、VEGF mRNA 表达是胃癌患者发生转移、复发的风险增高的独立风险因素,密切监测患者血清中 HIF-1α、HER-2、VEGFmRNA 表达有助于监测胃癌患者的病情。

参 考 文 献(References)

[1] Wang XH, Long ZW. Correlations of EGF G1380A, bFGF C754G and VEGF T460C polymorphisms with malignant melanoma susceptibility and prognosis: A case-control study[J]. Gene, 2017, 17(18): 117-119

[2] Wang D, Xin Y, Tian Y, et al. Pseudolaric acid B inhibits gastric cancer cell metastasis in vitro and in haematogenous dissemination model

through PI3K/AKT, ERK1/2 and mitochondria-mediated apoptosis pathways[J]. Exp Cell Res, 2017, 8(13): 326-238

[3] Dai Y, Jiang J, Wang Y, et al. The correlation and clinical implication of VEGF-C expression in microvascular density and lymph node metastasis of gastric carcinoma [J]. Am J Transl Res, 2016, 8(12): 5741-5747

[4] Lin Y, Zhai E, Liao B, et al. Autocrine VEGF signaling promotes cell proliferation through a PLC-dependent pathway and modulates Apatinib treatment efficacy in gastric cancer[J]. Oncotarget, 2017, 3(14): 138-141

[5] Hadi AA, Hindawi AE, Hareedy A, et al. Her2/neu Protein Expression and Oncogene Amplification in Gastric Carcinoma with Clinico-Pathological Correlation in Egyptian Patients[J]. Open Access Maced J Med Sci, 2016, 4(4): 535-542

[6] Kitajima Y1, Miyazaki K.The Critical Impact of HIF-1α on Gastric Cancer Biology[J]. Cancers (Basel), 2013, 5(1): 15-26

[7] Venkateshwari A, Krishnaveni D, Venugopal S, et al. Helicobacter pylori infection in relation to gastric cancer progression [J]. Indian J Cancer, 2011, 48(8): 94-98

[8] Lauwers GY, Carneiro F, Graham DY, et al. Tumours of the Stomach. In: Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND, editors. World Health Organization Classification of Tumours of the Digestive System[M]. 4th ed. Chapter 4. Lyon: IARC press, 2010, 12(7): 45-79

[9] Moelans CB, de Weger RA, van Diest PJ. Multiplex ligation-dependent probe amplification to detect HER2 amplification in breast cancer: new insights in optimal cut-off value[J]. Cell Oncol, 2010, 32(4): 311-312

[10] Jørgensen JT. Targeted HER2 treatment in advanced gastric cancer [J]. Oncology, 2010, 78(1):26-33

[11] Hofmann M, Stoss O, Shi D, et al. Assessment of a HER2 scoring system for gastric cancer: results from a validation study [J]. Histopathology, 2008, 52(7): 797-805

[12] Gordon MA, Gundacker HM, Benedetti J, et al. Assessment of HER2 gene amplification in adenocarcinomas of the stomach or gastroesophageal junction in the INT-0116/SWOG9008 clinical trial[J]. Ann Oncol, 2013, 24(7): 1754-1761

[13] Marano L, Roviello F. The distinctive nature of HER2-positive gastric cancers[J]. Eur J SurgOncol, 2015, 41(8): 271-273

[14] Yang Li, Zhang Chunxia, Wang Wen-chao, et al. Relationship between human epidermal growth factor receptor-2 and cell proliferation antigen Ki67 and sentinel lymph node metastasis of breast cancer [J]. Chinese Journal of Practical Diagnosis and Treatment, 2016, 30 (2): 163-165

[15] Chen XZ, Zhang WH, Yao WQ, et al. Immunohistochemical HER2 expression not associated with clinico pathological characteristics of stage I-III gastric cancer patients[J]. Hepatogastroenterology, 2015, 61 (134): 1817-1821

[16] Otsu H, Oki E, Ikawa Yoshida A, et al. Correlation of HER2 expression with clinicopathological characteristics and prognosis in resectable gastric cancer[J]. Anticancer Res, 2015, 35(4): 2441-2446

[17] Wu X, Yang T, Liu X, et al. IL-17 promotes tumor angiogenesis through Stat3 pathway mediated upregulation of VEGF in gastric cancer[J]. Tumor Biology, 2016, 37(4): 5493-5501

[18] Zeeneldin AA, Ramadan H, El Gammal MM, et al. Gastric carcinoma at Tanta Cancer Center: a comparative retrospective clinico-pathological study of the elderly versus the non-elderly [J]. J Egypt Natl Canc Inst, 2014, 26(11): 127-137

[19] Rohwer N, Welzel M, Daskalow K, et al. Hypoxia-inducible factor 1a mediates anoikisresistance via suppression of α5 integrin [J]. Cancer Res, 2008, 68(7): 10113-10120

[20] Semenza G.L. Hypoxia-inducible factor: Mediators of cancer progression and targets for cancer therapy [J]. Trends Pharmacol Sci, 2012, 33(8): 207-214

[21] Oommen D, Prise K.M. KNK437, abrogates hypoxia-induced radioresistance by dual targeting of the AKT and HIF-1αsurvival pathways[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2012, 421(12): 538-543

[22] Yu J, Mi J, Wang Y, et al. Regulation of radiosensitivity by HDAC inhibitor trichostatin A in the human cervical carcinoma cell line Hela [J]. Eur J Gynaecol Oncol, 2012, 33(15): 285-290