

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.11.028

CDX2 和 HNF4 α 在胃癌中的表达及其临床意义 *

孙妮娜¹ 石 森¹ 刘彩芳¹ 张 剑² 韩 川^{2,3} 袁 挺^{2,4} 倪 阵^{2,5}陆文全⁶ 陈 升^{2,7} 时永全^{1,2 Δ}

(1 西安医学院 陕西 西安 710021; 2 空军军医大学西京消化病医院肿瘤生物学国家重点实验室 陕西 西安 710032;

3 火箭军峨眉疗养院消化内科 四川 峨眉 614200; 4 中国人民解放军 150 医院消化内科 河南 洛阳 471000;

5 中国人民解放军西部战区总医院消化内科 四川 成都 610083; 6 郑州大学第一附属医院消化内科 河南 郑州 450000;

7 中国人民解放军战略支援部队 61068 部队消化内科 陕西 西安 710100)

摘要 目的:探讨尾侧型同源转录因子 2 (Caudal type homeobox transcription factor-2, CDX2) 和肝细胞核因子 4 α (Hepatocyte nuclear factor 4 α , HNF4 α) 在胃癌组织中的表达,并分析其与胃癌患者临床病理特征和预后的关系。方法:采用免疫组化染色法检测 53 例慢性胃炎、86 例肠化生、97 例胃癌患者组织标本中 CDX2、P1-HNF4 α 和 P2-HNF4 α 的表达,分析其在胃癌组织中表达的相关性,并结合胃癌患者 9 年随访资料,分析 CDX2 和 HNF4 α 的表达对胃癌患者预后评估的参考意义。结果:CDX2 蛋白在肠化生组中的表达水平显著高于慢性胃炎组和胃癌组($P < 0.05$)。胃癌组织中 CDX2 蛋白的表达与患者的年龄、淋巴结转移和 TNM 分期均呈显著相关性($P < 0.05$)。胃癌组 P1-HNF4 α 的表达明显高于慢性胃炎组,而肠化生组 P1-HNF4 α 的表达显著高于胃癌组($P < 0.01$)。胃癌组织中 P1-HNF4 α 的表达与 T 分期显著相关($P < 0.05$)。P2-HNF4 α 在慢性胃炎组中的表达显著低于肠化生组和胃癌组($P < 0.01$),而肠化生组与胃癌组之间比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。胃癌组织中 P2-HNF4 α 的表达与临床 TNM 分期相关($P < 0.05$)。P2-HNF4 α 高表达与胃癌患者的预后不良相关($P < 0.05$)。胃癌组织中 CDX2、P1-HNF4 α 及 P2-HNF4 α 的表达间均呈显著正相关($r = 0.604, r = 0.464, r = 0.441, P < 0.01$)。结论:CDX2 和 HNF4 α 在胃癌组织中均存在不同程度的表达,且三者之间存在显著相关性,可能共同参与了胃癌的发生发展。

关键词: 尾侧型同源转录因子 2; 肝细胞核因子 4 α ; 肠化生; 胃癌

中图分类号: R735.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2019)11-2133-07

Expression and Clinical Significance of CDX2 and HNF4 α in Gastric Cancer*

SUN Ni-na¹, SHI Miao¹, LIU Cai-fang¹, ZHANG Jian², HAN Chuan^{2,3}, YUAN Ting^{2,4}, NI Zhen^{2,5},LU Wen-quan⁶, CHEN Sheng^{2,7}, SHI Yong-quan^{1,2 Δ}

(1 Xi'an Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710021, China; 2 State Key Laboratory of Cancer Biology & Xijing Hospital of Digestive Diseases, Air Force Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China;

3 Department of Gastroenterology, Rocket Army Emei Sanatorium, Emei, Sichuan, 614200, China;

4 Department of Gastroenterology, The 150 Hospital of the People's Liberation Army, Luoyang, Henan, 471000, China;

5 Department of Gastroenterology, The General Hospital of Western Theater Command, Chengdu, Sichuan, 610083, China;

6 Department of Gastroenterology, First Affiliated Hospital, Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan, 450000, China;

7 Department of Gastroenterology, Troop No.61068, Xi'an, Shaanxi, 710100, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the expression of caudal homologous transcription factor 2 (CDX2) and hepatocyte nuclear factor 4 α (HNF4 α) in gastric cancer (GC) tissues, and to analyze their relationship with the clinicopathological characteristics as well as patients prognosis. **Methods:** The expression of CDX2, P1-HNF4 α and P2-HNF4 α in 53 cases of chronic gastritis, 86 cases of intestinal metaplasia and 97 cases of gastric cancer tissues were detected by immunohistochemical staining, and their correlation in gastric cancer tissues was analyzed. The relationship between CDX2 and HNF4 α and the prognosis of patients with gastric cancer were further analyzed with the 9-year follow-up data. **Results:** The expression level of CDX2 protein was highest in intestinal metaplasia comparing to chronic gastritis and gastric cancer ($P < 0.05$). The expression of CDX2 protein in GC was significantly correlated with age, lymphatic metastasis and TNM stage ($P < 0.05$). The expression level of P1-HNF4 α in intestinal metaplasia was significantly higher than that both in

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81470805; 81873554)

作者简介:孙妮娜(1993-),硕士研究生,主要从事消化系统肿瘤的生物医学行为及早癌防治研究,

电话:18702912410, E-mail: snn42409909@163.com

Δ 通讯作者:时永全(1973-),主任医师,博士生导师,主要从事消化系统肿瘤的生物医学行为及早癌防治研究, E-mail: shiyquan@fmmu.edu.cn

(收稿日期:2018-12-07 接受日期:2018-12-30)

chronic gastritis and in GC ($P < 0.05$). The expression of P1-HNF4 α in GC was significantly correlated with T stage only ($P < 0.05$). The expression of P2-HNF4 α in chronic gastritis was significantly lower than that in intestinal metaplasia and in GC ($P < 0.01$), there was no significant difference of P2-HNF4 α between intestinal metaplasia and GC ($P > 0.05$). The expression of P2-HNF4 α in GC was significantly correlated with TNM stage ($P < 0.05$). High expression of P2-HNF4 α is associated with poor prognosis in GC patients ($P < 0.05$). There was a significant correlation between CDX2 and P1-HNF4 α as well as P2-HNF4 α in gastric cancer ($r = 0.604$, $r = 0.464$, $r = 0.441$, $P < 0.01$).

Conclusions: Both CDX2 and HNF4 α are expressed at different degrees in gastric cancer tissues. They may have a role in development of gastric cancer.

Key words: CDX2; HNF4 α ; Intestinal metaplasia; Gastric cancer

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

Article ID: 1673-6273(2019)11-2133-07

前言

胃癌是常见的消化道恶性肿瘤之一。在全球范围内,胃癌的发病率位居恶性肿瘤第5位,死亡率位居第3位^[1],每年约有新发病例103.37万,死亡病例78.27万。我国是胃癌高发区,胃癌的发病率和死亡率均位居恶性肿瘤第2位,每年新发病例约67.91万,死亡病例约49.80万^[2]。Correa模型指出胃癌尤其是肠型胃癌的发生是由正常胃粘膜经历慢性胃炎、萎缩、肠化生、异型增生直至发生胃癌的渐进性发展过程^[3],如肠化生和异型增生被认为是肠型胃癌的癌前病变。目前,越来越多的分子被证明参与了肠化生及胃癌发生的调节,如肠化生直至胃癌的发生涉及尾侧型同源转录因子2(Caudal type homeobox transcription factor-2, CDX2)、OCT-1及Erk通路成分的异常活化,以及SOX2、Shh信号通路、RUNT相关转录因子3等的表达受抑^[4]。

CDX2属肠特异性转录因子,编码基因位于染色体13q12~13,由3个外显子和2个内含子构成,与之对应的CDX2蛋白包含311个氨基酸残基,通过螺旋-环-螺旋的方式结合于DNA的相应区域,以转录因子的形式调节靶基因的表达^[5]。CDX2参与调节肠细胞发育过程中的多个步骤,包括细胞增殖、分化、黏附以及迁移,尤其是在早期肠分化过程中起重要作用。近年来,CDX2被证实可以通过作用于某些肠道特异性基因诱导胃上皮细胞转分化为肠型上皮细胞,可能与胃癌的发生发展相关^[6]。CDX2在肠型胃癌中呈高表达而在弥漫型胃癌中低表达,可能对胃癌起抑制作用^[7]。

肝细胞核因子4 α (Hepatocyte nuclear factor 4 α , HNF4 α)是一种锌指结构蛋白,其编码基因位于染色体20q13.12,包含12个外显子和11个内含子。HNF4 α 分子表达根据其选择性启动子1(promoter 1, P1)和P2调控的不同,可以分为P1-HNF4 α 和P2-HNF4 α 两大类^[8]。HNF4 α 在肝脏发育、肝细胞功能维持,以及肝干细胞向肝细胞的分化、增殖等过程中具有重要调控作用^[9,10]。有研究证实HNF4 α 的表达仅限于胚胎内胚层,是消化道早期发育的一个关键因子,有利于胃肠表型的维持^[11]。有文献报道,HNF4 α 过表达可以在成人食管上皮细胞模型中诱导肠柱状上皮产生,提示HNF4 α 是一种可能诱导柱状上皮化生的关键基因^[12]。

研究表明胃癌中HNF4 α 的表达高于癌旁组织,HNF4 α 作为消化道早期发育的转录因子可以直接调控CDX2的表达,从而启动小肠和大肠的发育,但有关二者在胃癌中的相关性研究却鲜见报道。本研究采用免疫组织化学方法检测了CDX2与

HNF4 α 在胃癌及其癌前病变组织中的表达,分析其与胃癌患者临床病理特征及预后的相关性,旨在为胃癌的诊断、治疗和预后评估提供更多的参考依据。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取2018年西京医院消化病医院经外科手术切除的胃癌组织标本和经内镜活检的慢性胃炎组织块标本各6例,行4 μ m组织切片。慢性胃炎(ST 806)和胃粘膜肠上皮化生(ST 8017a)组织芯片购于西安艾丽娜生物科技有限公司(ST 806:包括53例胃炎组织;ST 8017a:包括86例胃粘膜肠化生组织),带患者预后的胃癌组织芯片(HStmA180Su15)购于上海芯超生物科技有限公司(HStmA180Su15:包括97例胃癌组织,患者中位随访时间为9年)。

1.2 免疫组化检测

采用免疫组织化学(ABC法)检测CDX2与HNF4 α 在胃癌、肠上皮化生和慢性胃炎组织中的表达。兔抗人CDX2单克隆抗体(稀释度1:800)购自Abcam公司,鼠抗人P1-HNF4 α (K9218,稀释度1:100)、P2-HNF4 α (H6939,稀释度1:100)单克隆抗体均购自美国R&D Systems公司。ABC组化试剂盒(G1211)为Servicebio公司产品,按照试剂盒说明书所示步骤进行染色。首先利用6例慢性胃炎组织切片和6例胃癌组织切片确定上述抗体的最佳滴度,之后对组织芯片进行免疫组织化学染色。

1.3 结果判定标准

所有病理切片均经2位病理科主治医师进行双盲法阅片,结果采用半定量分析方法判定。染色强度分级评分标准为:无着色为0分,淡黄色为1分;棕黄色为2分;棕褐色为3分。按照每张切片阳性细胞数的比例进行染色细胞百分比评分,阳性细胞数比例取各视野记数的平均数:0~5%为0分,6%~25%为1分,26%~50%为2分,51%~75%为3分,>75%为4分。综合评分为阳性细胞染色强度评分和阳性细胞百分比评分的乘积。根据综合评分判断:0分为阴性(-),1~4分为弱阳性(+),5~8分为中度阳性(++),9~12分为强阳性(+++)。

1.4 统计学方法

本研究所有数据均采用SPSS 23.0统计学系统软件处理,应用Wilcoxon秩和检验评估CDX2与HNF4 α (P1和P2)在胃癌组及肠化生组和慢性胃炎组的组间差异和与胃癌临床病理因素之间的关系。CDX2与HNF4 α 在胃癌组织中的表达相关性

采用 Spearman 秩相关进行分析。根据 Kaplan-Meier 生存曲线法描绘胃癌患者的总体生存曲线,并使用对数秩检验计算统计学差异,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CDX2 与 HNF4 α 在不同类型胃粘膜组织中的表达

CDX2、P1-HNF4 α 及 P2-HNF4 α 主要在细胞核表达,也有少数表达于胞浆。236 例免疫组化结果显示:CDX2 在慢性胃炎组中的阳性表达率为 16.98%,表达水平以 - 为主,其在肠上皮化生组(77.91%)的阳性表达率较慢性胃炎显著升高,且表达水平上以 +++ 为主 ($P < 0.01$)。胃癌组 CDX2 的阳性表达率为 75.26%,表达水平以 + 为主。慢性胃炎组、肠化生组和胃癌组 CDX2 的表达组间两两比较差异均有统计学意义($P < 0.01$),见

表 1、图 1 和图 2。

与 CDX2 的表达模式相似,在慢性胃炎组中 P1-HNF4 α 的阳性表达率为 43.40%,表达水平以 - 为主,少部分患者呈 + 表达。在肠化生组中,P1-HNF4 α 的阳性表达率达到最高,为 82.56%,表达水平以 +++ 为主。胃癌组中,P1-HNF4 α 的阳性表达率为 77.32%,表达水平以 + 为主。P1-HNF4 α 在肠化生组中的阳性表达率和表达水平显著高于胃癌组,胃癌组的 P1-HNF4 α 阳性表达率明显高于慢性胃炎组($P < 0.01$),见表 1、图 1 和图 2。

P2-HNF4 α 在慢性胃炎组、肠化生组及胃癌组中的阳性表达率分别为 71.70%、91.86%、87.63%。慢性胃炎组中 P2-HNF4 α 的阳性表达率和表达水平显著低于肠上皮化生组和胃癌组($P < 0.01$),而肠化生组与胃癌组 P2-HNF4 α 表达之间比较差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 1、图 1 和图 2。

表 1 慢性胃炎、肠上皮化生和胃癌中 CDX2、P1-HNF4 α 和 P2-HNF4 α 的表达(例)

Table 1 Expression of CDX2, P1-HNF4 α and P2-HNF4 α in chronic gastritis, IM and GC(n)

Groups	CDX2				P	P1-HNF4 α				P	P2-HNF4 α				P
	-	+	++	+++		-	+	++	+++		-	+	++	+++	
Gastritis	44	3	5	1	<0.001 ^a	30	20	3	0	<0.001 ^a	15	20	7	11	<0.001 ^a
IM	19	22	8	37	<0.003 ^b	15	25	18	28	<0.001 ^b	7	26	24	29	0.767 ^b
GC	24	44	16	13	<0.001 ^c	22	62	10	3	<0.001 ^c	12	29	21	35	0.003 ^c

Note: a: chronic gastritis vs IM; b: IM vs GC; c: chronic gastritis vs GC.

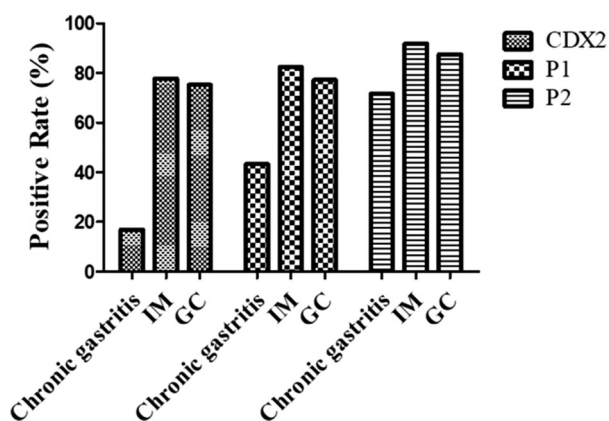


图 1 慢性胃炎、肠上皮化生和胃癌中 CDX2、P1-HNF4 α 和 P2-HNF4 α 的阳性表达率(%)

Fig.1 The positive expression rate of CDX2, P1-HNF4 α and P2-HNF4 α in chronic gastritis, IM and GC(%)

注:CDX2 在慢性胃炎组(A)、肠化生组(B)和胃癌组(C)中的表达(ABC 法, $\times 20$);P1-HNF4 α 在慢性胃炎组(D)、肠化生组(E)和胃癌组(F)中的表达(ABC 法, $\times 20$);P2-HNF4 α 在慢性胃炎组(G)、肠化生组(H)和胃癌组(I)中的表达(ABC 法, $\times 20$)。

Note: Expression of CDX2 in chronic gastritis (A), intestinal metaplasia (B) and GC (C) (ABC method, $\times 20$); expression of P1-HNF4 α in chronic gastritis (D), intestinal metaplasia (E) and GC (F) (ABC method, $\times 20$); expression of P2-HNF4 α in chronic gastritis (G), intestinal metaplasia (H), and GC (I) (ABC method, $\times 20$).

2.2 胃癌组织 CDX2 和 HNF4 α 的表达与患者临床病理因素的相关性

胃癌组织中 CDX2 的表达与患者的性别、肿瘤部位、肿瘤

大小、远处转移、Borrmann 分型等临床病理因素无相关性($P > 0.05$)。但胃癌组织中 CDX2 的表达与患者年龄、淋巴结是否转移和 TNM 分期均显著相关($P < 0.05$),即 I-II 期胃癌患者 CDX2 的表达显著高于 III-IV 期胃癌患者,无淋巴结转移的胃癌患者 CDX2 的表达高于有淋巴结转移的胃癌患者, ≥ 65 岁的胃癌患者 CDX2 的表达高于 < 65 岁胃癌患者,见表 2。

胃癌组织中 P1-HNF4 α 的表达与患者的性别、年龄、肿瘤部位、肿瘤大小、WHO's 分型、淋巴结转移、远处转移、Borrmann 分型等临床病理因素均无显著相关性($P > 0.05$),仅与 T 分期有关 ($P < 0.05$),T1-2 期胃癌患者中 P1-HNF4 α 的表达显著高于 T3-4 期胃癌患者,见表 2。

胃癌组织中 P2-HNF4 α 的表达与患者的性别、年龄、肿瘤部位、大小、WHO's 分型、T 期、淋巴结转移、远处转移、Borrmann 分型等临床病理因素均无明显相关性($P > 0.05$),但与临床 TNM 分期显著相关($P < 0.05$),III+IV 期胃癌患者 P2 的表达显著高于 I+II 期胃癌患者,见表 2。

2.3 胃癌组织中 CDX2 与 HNF4 α 表达的相关性

胃癌组织中 CDX2 与 P1-HNF4 α 、P2-HNF4 α 的表达均呈显著正相关($r=0.604$, $r=0.464$, $P < 0.01$, 表 3、表 4),胃癌组织中 P1-HNF4 α 与 P2-HNF4 α 的表达呈明显正相关 ($r=0.441$, $P < 0.01$, 表 5)。

2.4 胃癌组织 CDX2 和 HNF4 α 的表达与患者预后的关系

97 例胃癌患者均具有完整的随访资料。Kaplan-Meier 生存分析表明 CDX2 低表达($P=0.036$, 图 3A)和 P2-HNF4 α 高表达($P=0.029$, 图 3C)与胃癌患者的预后不良相关。P1-HNF4 α 的表达与胃癌患者的预后无关($P=0.907$, 图 3B)。

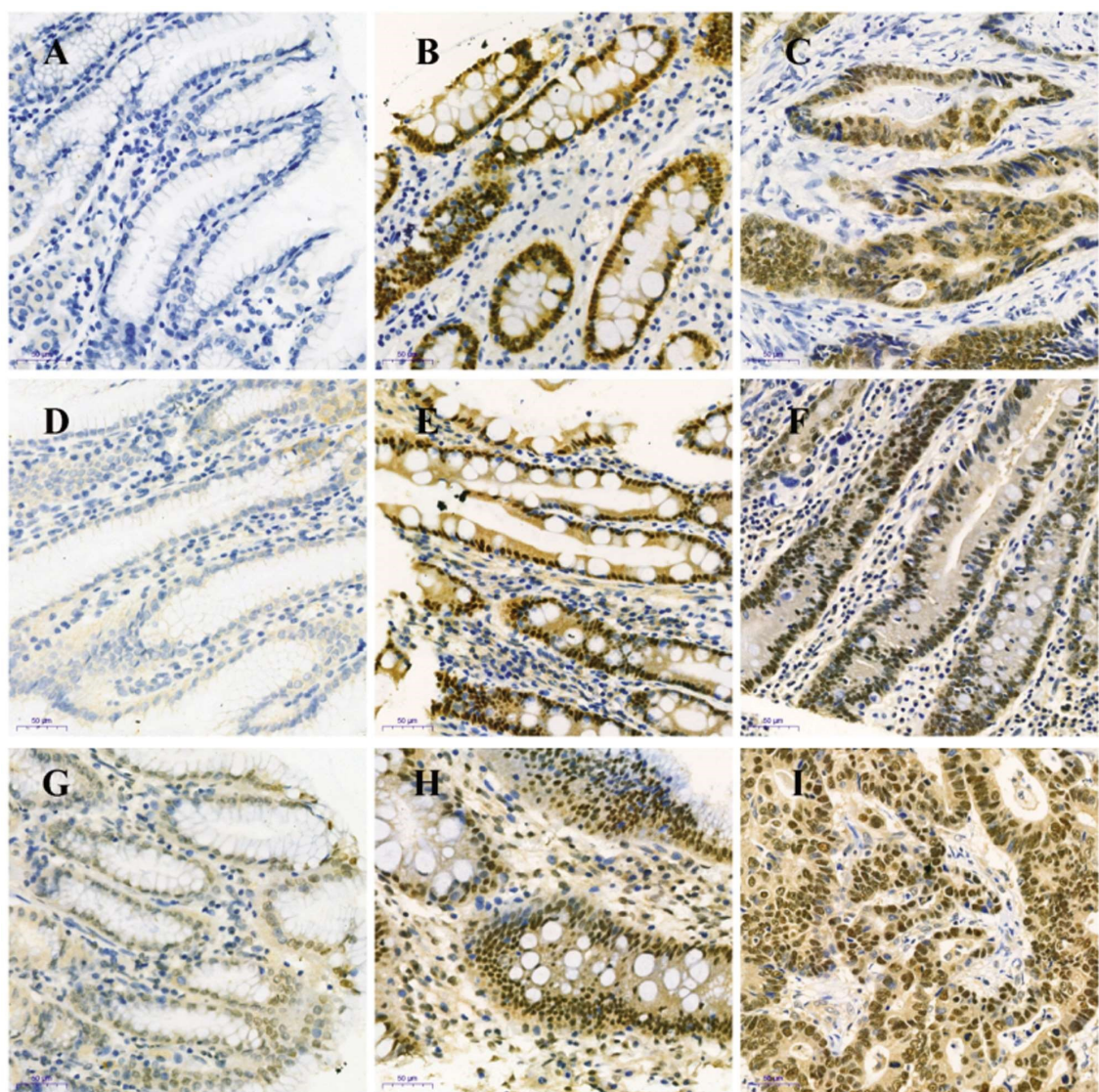


图2 慢性胃炎、肠上皮化生和胃癌中CDX2、P1-HNF4 α 和P2-HNF4 α 的表达

Fig.2 Expression of CDX2, P1-HNF4 α and P2-HNF4 α in chronic gastritis, IM and GC

表2 胃癌组织CDX2、P1-HNF4 α 、P2-HNF4 α 的表达与患者临床病理因素的关系(例)

Table 2 Correlation of CDX2, P1-HNF4 α and P2-HNF4 α expression with the clinicopathological features of GC patients(n)

Groups	CDX2				P	P1-HNF4 α				P	P2-HNF4 α				P
	-	+	++	+++		-	+	++	+++		-	+	++	+++	
Age															
≥ 65	9	23	10	9	0.042	8	35	6	2	0.059	6	14	11	20	0.410
<65	15	19	6	4		14	26	3	1		6	15	9	14	
Gender															
M	14	29	10	8	0.827	18	36	5	2	0.058	8	7	11	25	0.116
F	10	15	6	5		4	26	5	1		4	12	10	10	
Tumor size(cm)															
≥ 5	11	32	8	5	0.913	13	35	7	1	0.786	6	16	12	22	0.786
<5	13	12	6	8		9	26	3	1		6	13	8	12	
T staging															
T1+2	1	7	3	2	0.209	1	8	3	1	0.038	1	7	2	3	0.265
T3+4	23	36	13	11		21	53	7	2		11	21	19	32	

TNM staging															
I+II	9	12	9	9	0.045	8	25	5	1	0.682	7	16	10	6	0.001
III+IV	14	32	7	4		13	37	5	2		5	13	11	28	
Distant metastasis															
Mo	20	41	14	13	0.193	18	57	10	3	0.063	10	28	19	31	0.765
M1	4	3	2	0		4	5	0	0		2	1	2	4	
Lymphatic metastasis															
Yes	17	37	12	4	0.034	17	45	6	2	0.226	9	18	14	29	0.115
No	6	7	4	9		4	17	4	1		3	11	7	5	
Lymphatic infiltration															
Yes	3	8	1	1	0.692	4	9	0	0	0.243	1	4	1	7	0.107
No	7	10	6	2		5	17	2	1		4	10	6	5	
Location															
C*	2	5	3	2	0.430	3	5	3	1	0.366	3	1	3	5	0.550
A*	15	23	7	5		13	33	4	0		6	20	8	16	
SB*	6	13	4	5		6	18	2	2		3	5	8	12	
STO*	1	3	2	1		0	6	1	0		0	3	2	2	
WHO's histological types															
TAC*	3	10	3	3	0.178	5	11	3	0	0.068	2	5	3	9	0.335
MAC*	3	3	2	0		5	3	0	0		3	2	1	2	
UC*	3	7	1	1		1	9	1	1		2	3	4	3	
SRC*	3	2	0	0		1	4	0	0		2	1	1	1	
Borrmann types															
I	1	2	2	3	0.073	3	3	2	0	0.892	2	0	2	4	0.162
II	10	20	4	4		9	23	5	1		6	15	6	11	
III	10	15	9	6		8	27	3	2		3	10	10	17	
IV	3	5	0	0		2	6	0	0		1	4	2	1	

*Note: M: Moderate differentiation; C: Cardia; A: Antrum; SB: Gastric body; STO: Stomach; TAC: Tubular adenocarcinoma;

MAC: Mucus adenocarcinoma; UC: Undifferentiated carcinoma; SRC: Signet ring cell carcinoma.

表 3 胃癌组织 CDX2 和 P1-HNF4 α 表达的相关性(例)

Table 3 Correlation between the expression of CDX2 and P1-HNF4 α in GC(n)

CDX2	P1-HNF4 α				r	P
	-	+	++	+++		
-	13	11	0	0	0.604	<0.001
+	7	34	3	0		
++	1	11	3	1		
+++	1	6	4	2		

3 讨论

CDX2 属于尾型同源盒转录因子家族,最早从果蝇中分离成功。人体 CDX2 主要是在内胚层来源的肠道上皮、胰腺导管和腺泡上皮中表达,但在正常胃黏膜和食管上皮中不表达。本研究结果显示 CDX2 蛋白在肠化生组织中的表达显著高于慢

性胃炎和胃癌组织,提示 CDX2 可能在胃黏膜肠化生及胃癌发生过程中起重要作用,这与孙丹等^[13]的研究结果一致。有研究显示 CDX2 能够抑制 MGC-803 胃癌细胞的生长和增殖,使细胞周期停滞在 G0/G1 期,并抑制胃癌细胞的侵袭和转移能力^[14,15]。另外,CDX2 也可以通过逆转上皮-间质转化的过程在胃癌中发挥着抑癌基因的作用^[16]。我们对临床病理因素如年龄、性别、

表 4 胃癌组织 CDX2 和 P2-HNF4 α 表达的相关性(例)

Table 4 Correlation between the expression of CDX2 and P2-HNF4 α in GC(n)

CDX2	P2-HNF4 α				r	P
	-	+	++	+++		
-	8	11	2	3	0.464	<0.001
+	3	12	11	18		
++	1	6	4	5		
+++	0	0	4	9		

表 5 胃癌组织 P1-HNF4 α 和 P2-HNF4 α 表达的相关性(例)

Table 5 Correlation between the expression of P1-HNF4 α and P2-HNF4 α in GC(n)

P1-HNF4 α	P2-HNF4 α				r	P
	-	+	++	+++		
-	10	3	2	7	0.441	<0.001
+	2	25	17	18		
++	0	1	2	7		
+++	0	0	0	3		

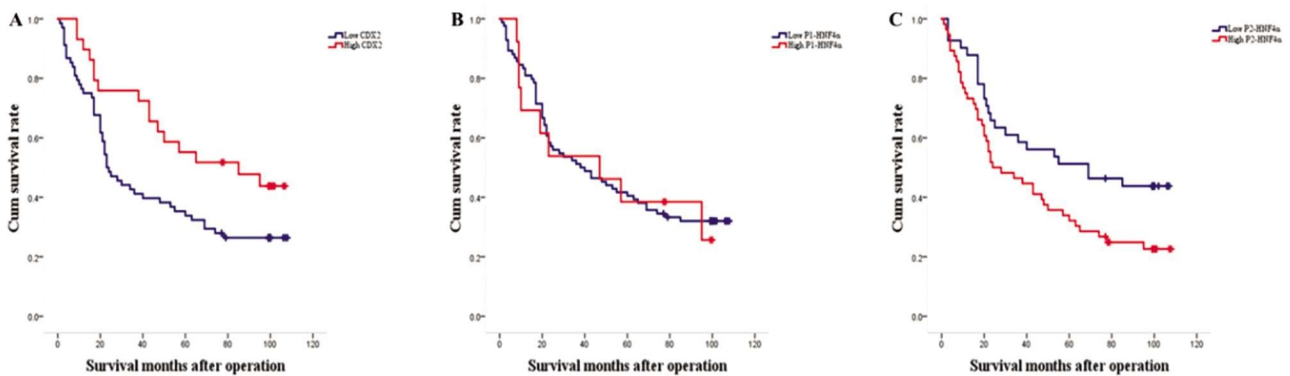


图 3 CDX2 和 HNF4 α 高表达组和低表达组与胃癌患者预后的关系

Fig.3 Kaplan-Meier overall survival curve of GC patients with low and high expression of CDX2 and HNF4 α

淋巴结转移、肿瘤 TNM 分期等进行分析,发现 CDX2 与淋巴结转移和胃癌患者 TNM 分期显著相关,即 CDX2 的表达随着淋巴结的转移和 TNM 分期的进展而降低,说明 CDX2 可能抑制胃癌的侵袭与转移。本研究结果还显示 CDX2 高表达的胃癌患者预后较好。Masood 等^[17]回顾性分析了 CDX2 在 101 例胃癌患者中的表达并比较了 CDX2 阳性和阴性组的总体存活率,结果显示,CDX2 阳性组的胃癌患者平均总生存期为 17 个月,而阴性组为 6 个月。Nakayama 等^[15,18]将 876 例胃癌患者分为 CDX2 高表达组和低表达组,K-M 生存曲线显示,CDX2 高表达组的胃癌患者总体存活率及无病生存率均明显高于 CDX2 低表达组。这些研究结果均与本实验的研究结果一致,表明 CDX2 可能作为预测胃癌转移及评估患者预后的生物学标志物。

HNF4 α 的表达仅限于内胚层,是多个内胚层衍生器官分化的关键发育调节因子,也是胃肠上皮细胞的稳态增殖和发育分化所必需的一个转录因子^[11]。有研究显示^[18,20],从慢性胃炎进展到胃癌的过程中,某些致病因素尤其是幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, Hp)的感染可能通过 NF- κ B 信号传导途径促使 HNF4 α 的蛋白质和 mRNA 水平在胃癌中明显升高,HNF4 α 反

向刺激白细胞介素 -1 受体 1 (IL-1R1) 的表达,增强其配体 IL-1 β 诱发的炎症反应,IL-1 β /IL-1R1 激活 NF- κ B 信号传导,从而形成一个反馈环,维持 NF- κ B 途径的持续激活并驱使胃炎朝向胃癌发展。Ma 等^[18,19]还利用特异性小鼠模型敲低 HNF4 α 的表达,发现 HNF4 α 的表达下降可以减缓胃癌细胞增殖,诱导 S 期阻滞,并显著减弱胃癌细胞的转移和侵袭。此外,在胃癌细胞系中,应用 HNF4 α 拮抗剂(BI6015)抑制 HNF4 α 的表达可以有效降低胃癌细胞存活率^[20-22]。这些结果表明 HNF4 α 可能是胃癌发生过程中关键的信号分子,可以作为潜在的治疗靶点。

Zhang 等^[22,23]研究发现 P1-HNF4 α 在正常胃粘膜中不表达,而在胃炎组织中表达,且与胃炎的严重程度呈正相关。Takano 等^[23,24]选取 38 例正常胃黏膜组织、38 例肠化生组织和 39 例分化型早期胃癌组织进行免疫组化染色方法的检测,也发现 P1-HNF4 α 在正常胃黏膜组织中几乎不表达,肠上皮化生组织中的表达明显高于胃癌组织,与 CDX2 的染色模式平行,两者之间存在显著的正相关性,还发现了在肠型和弥漫型胃癌中 P1-HNF4 α 的表达为强阳性,但在胃型胃癌中为阴性。Uozaki 等^[24,25]选取了 255 例胃癌组织应用免疫组化方法检测 SOX2、

CDX2 和 P1-HNF4 α 的表达,结果也显示 P1-HNF4 α 和 CDX2 之间呈正相关表达。本研究中也发现了同样的结果,P1-HNF4 α 和 CDX2 在肠化生中的表达显著高于慢性胃炎组织,提示 P1-HNF4 α 可能也在肠化生过程中起着十分重要的作用,是胃黏膜上皮细胞发生肠化生的关键分子。而在由肠化生到胃癌的进展过程中,P1-HNF4 α 和 CDX2 的表达均有所下降,提示可能在这个进展过程中,P1-HNF4 α 和 CDX2 的基因突变或者其他原因导致二者表达缺失,最终导致胃癌特别是肠型胃癌的发生。另外,有研究显示 P1-HNF4 α 和 CDX2 均可以通过调节 p21 等增殖抑制因子的表达而抑制胃癌细胞的生长和侵袭^[25,26],证实 P1-HNF4 α 和 CDX2 之间在胃癌组织中的表达存在相关性。

Zhang 等^[22,23]还发现 P2-HNF4 α 在所有的胃黏膜组织中均为强阳性表达。Takano 等^[23,24]也证实 P2-HNF4 α 在正常胃黏膜组织、肠化生和胃癌组织中均为阳性表达。这些结果均与本研究的研究结果一致。我们发现 P2-HNF4 α 在慢性胃炎、肠化生和胃癌组织中均存在明显的阳性表达率,且在胃癌组织中的表达显著高于慢性胃炎组织,提示 P2-HNF4 α 可能发挥着促癌的作用。此外,P2-HNF4 α 的表达与胃癌 TNM 分期显著相关,II-IV 期胃癌患者中 P2-HNF4 α 的表达显著高于 I-II 期胃癌患者。K-M 生存曲线显示 P2-HNF4 α 的表达越高,胃癌患者的预后越差,提示 P2-HNF4 α 与 CDX2 和 P1-HNF4 α 在胃癌发生过程中可能扮演着相反的角色。

本实验室前期研究发现 HNF4 α 可以转录调控 CDX2 等肠道特异性基因的表达,在肠道上皮细胞发育过程中发挥着重要作用。CDX2 基因的启动子区域存在 5 个潜在的 HNF4 α 结合位点,报告基因实验表明第 1 和第 2 个位点能够被 HNF4 α 调控;通过转染在 GES-1 和 AGS 细胞中分别上调和下调 CDX2,同样可以显著上调和下调 HNF4 α 的表达。生物信息学分析显示 HNF4 α 基因的启动子和增强子区域存在 CDX2 的结合位点,提示 CDX2 可能转录激活 HNF4 α 的表达,从而形成正反馈调控。这些数据表明 HNF4 α -CDX2 正反馈调控对肠道上皮细胞发育过程至关重要,同样也是肠化生及胃癌发生的重要信号通路。胃粘膜肠化生和胃癌的发生可以看做是胃上皮干细胞的异常发育。HNF4 α 和 CDX2 作为肠道发育调控因子共同参与了胃粘膜肠化生和胃癌的发生。我们的研究结果显示,CDX2 和 P1-HNF4 α 、P2-HNF4 α 在肠化生组的表达均显著高于慢性胃炎组;但 CDX2 和 P1-HNF4 α 在胃癌组的表达有所降低,虽高于慢性胃炎组但低于肠化生组;而 P2-HNF4 α 在胃癌组的表达与肠化生组无显著差异。此外,CDX2 在胃癌的高表达预示着较好的预后,而 P2-HNF4 α 在胃癌的高表达却预示着较差的预后。我们推测 CDX2 和 HNF4 α 互相激活共同促进了胃粘膜肠化生,而当胃粘膜病变进一步向胃癌演变时,CDX2 和 P1-HNF4 α 由于基因突变或者某些因素的影响表达下调,P2-HNF4 α 在未知因素下持续活化,促进胃癌发生。

总之,本研究结果表明 CDX2 和 HNF4 α 在胃癌组织中均存在不同程度的表达,且三者之间存在显著相关性,可能共同参与了胃癌的发生发展。P1-HNF4 α 和 P2-HNF4 α 的表达可能存在差异调控,需要进一步的研究来阐明。进一步深入研究 CDX2 和 HNF4 α 在肠化生及胃癌发生过程中的具体作用机制可能为临床防治胃癌的发生和发展提供有效途径。

参考文献(References)

- [1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global Cancer Statistics 2018: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424
- [2] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132
- [3] Barros R, Freund JN, David L, et al. Gastric intestinal metaplasia revisited: function and regulation of CDX2 [J]. Trends Mol Med, 2012, 18(9): 555-563
- [4] Giraud AS. Metaplasia as a Premalignant Pathology in the Stomach[J]. Gastroenterology, 2007, 132(5): 2053-2056
- [5] Saad RS, Ghorab Z, Khalifa MA, et al. CDX2 as a marker for intestinal differentiation: Its utility and limitations [J]. World J Gastrointest Surg, 2011, 3(11): 159-166
- [6] Chatterjee I, Kumar A, Castilla-Madrigras RM, et al. CDX2 upregulates SLC26A3 gene expression in intestinal epithelial cells[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2017, 313(3): G256-G264
- [7] 刘贵生, 周子涵, 郭雪艳, 等. 同源盒转录因子 CDX2 与 Y 染色体决定因子 SOX9 在肠上皮化生及胃癌组织中的表达[J]. 现代肿瘤医学, 2017, 25(5): 760-765
- [8] Guo S, Lu H. Novel mechanisms of regulation of the expression and transcriptional activity of hepatocyte nuclear factor 4 α [J]. J Cell Biochem, 2019, 120(1): 519-532
- [9] Lu H. Crosstalk of HNF4 α with extracellular and intracellular signaling pathways in the regulation of hepatic metabolism of drugs and lipids[J]. Acta Pharm Sin B, 2016, 6(5): 393-408
- [10] Wu N, Zhang YL, Wang HT, et al. Overexpression of hepatocyte nuclear factor 4 α in human mesenchymal stem cells suppresses hepatocellular carcinoma development through Wnt/ β -catenin signaling pathway downregulation[J]. Cancer Biol Ther, 2016, 17(5): 558-565
- [11] Moore BD, Khurana SS, Huh WJ, et al. Hepatocyte nuclear factor 4 α is required for cell differentiation and homeostasis in the adult mouse gastric epithelium[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2016, 311(2): G267-G275
- [12] Colleypriest BJ, Burke ZD, Griffiths LP, et al. Hnf4 α is a key gene that can generate columnar metaplasia in oesophageal epithelium[J]. Differentiation, 2017, 93: 39-49
- [13] 孙丹, 武洋, 辛彦. Sox2 和 Cdx2 基因编码蛋白在胃癌及其癌前病变中的表达及意义[J]. 现代肿瘤医学, 2016, 24(10): 1585-1591
- [14] Liu YQ, Bai ZG, Ma XM, et al. CDX2 inhibits invasion and migration of gastric cancer cells by phosphatase and tensin homologue deleted from chromosome 10/Akt signaling pathway [J]. Chin Med J (Engl), 2015, 128(8): 1065-1071
- [15] Nakayama C, Yamamichi N, Tomida S, et al. Transduced caudal-type homeobox (CDX) 2/CDX1 can induce growth inhibition on CDX-deficient gastric cancer by rapid intestinal differentiation[J]. Cancer Sci, 2018, 109(12): 3853-3864
- [16] Zhang JF, Qu LS, Qian XF, et al. Nuclear transcription factor CDX2 inhibits gastric cancer cell growth and reverses epithelial-to-mesenchymal transition in vitro and in vivo [J]. Mol Med Rep, 2015, 12(4): 5231-5238

- ing the gap between evidence and practice[J]. *Journal of Clinical Oncology*, 2016, 27(34): 5680-5684
- [12] Ko S S, Yi K C, Kang S S. The Usefulness of Intraoperative Circumferential Frozen-Section Analysis of Lumpectomy Margins in Breast-Conserving Surgery[J]. *Journal of Breast Cancer*, 2017, 20(2): 176-182
- [13] Wu C L, Jar-Yi H, Sheng-Chieh C, et al. MiR-429 reverses epithelial-mesenchymal transition by restoring E-cadherin expression in bladder cancer[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(18): 26593-26603
- [14] Li M Y, Yang Y L, Li L, et al. Effects of social support, hope and resilience on quality of life among Chinese bladder cancer patients: a cross-sectional study[J]. *Health & Quality of Life Outcomes*, 2016, 14 (1): 73
- [15] Li K, Xu Y, Tan M, et al. A retrospective comparison of thulium laser en bloc resection of bladder tumor and plasmakinetic transurethral resection of bladder tumor in primary non-muscle invasive bladder cancer[J]. *Lasers in Medical Science*, 2019, 34(1): 85-92
- [16] Li J, Zhuang C, Liu Y, et al. shRNA targeting long non-coding RNA CCAT2 controlled by tetracycline-inducible system inhibits progression of bladder cancer cells[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(20): 28989-28997
- [17] Merrill A Y, Brown D R, Klepin H D, et al. Outcomes after Mastectomy and Lumpectomy in Octogenarians and Nonagenarians with Early-Stage Breast Cancer[J]. *American Surgeon*, 2017, 83(8): 887-894
- [18] Galsky M D, Stensland K D, Moshier E, et al. Effectiveness of Adjuvant Chemotherapy for Locally Advanced Bladder Cancer[J]. *Journal of Clinical Oncology Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 2016, 34(8): 825
- [19] Penson D F. Re: Effectiveness of Adjuvant Chemotherapy for Locally Advanced Bladder Cancer [J]. *European Urology*, 2016, 196 (2): 352-354
- [20] Guo C C, Dadhania V, Zhang L, et al. Gene Expression Profile of the Clinically Aggressive Micropapillary Variant of Bladder Cancer[J]. *European Urology*, 2016, 70(4): 611-620
- [21] Landercasper J, Bennie B, Parsons B M, et al. Fewer Reoperations After Lumpectomy for Breast Cancer with Neoadjuvant Rather than Adjuvant Chemotherapy: A Report from the National Cancer Database[J]. *Annals of Surgical Oncology*, 2017, 24(6): 1507-1515
- [22] Zeng L P, Hu Z M, Li K, et al. miR-222 attenuates cisplatin-induced cell death by targeting the PPP2R2A/Akt/mTOR Axis in bladder cancer cells [J]. *Journal of Cellular & Molecular Medicine*, 2016, 20(3): 559-567
- [23] Milowsky M I, Rumble R B, Booth C M, et al. Guideline on Muscle-Invasive and Metastatic Bladder Cancer (European Association of Urology guideline): American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline Endorsement [J]. *Journal of Clinical Oncology*, 2016, 34(16): 1945
- [24] Kim H, Park W, Yu J I, et al. Prognostic Impact of Elective Supraclavicular Nodal Irradiation for Patients with N1 Breast Cancer after Lumpectomy and Anthracycline Plus Taxane-Based Chemotherapy (KROG 1418): A Multicenter Case-Controlled Study [J]. *Cancer Research & Treatment Official Journal of Korean Cancer Association*, 2017, 49(4): 970-980
- [25] Al-Zalabani A H, Stewart K F J, Wesselius A, et al. Modifiable risk factors for the prevention of bladder cancer: a systematic review of meta-analyses [J]. *European Journal of Epidemiology*, 2016, 31 (9): 811-851
- [26] Matullo G, Naccarati A, Pardini B. microRNA expression profiling in bladder cancer: The challenge of Next Generation Sequencing in tissues and biofluids[J]. *International Journal of Cancer Journal International Du Cancer*, 2016, 138(10): 2334-2345
- [27] Mogal H D, Clark C, Dodson R, et al. Outcomes After Mastectomy and Lumpectomy in Elderly Patients with Early-Stage Breast Cancer [J]. *Annals of Surgical Oncology*, 2017, 24(1): 100-107
- [28] Aurélie M, Ilaria L, Romain M, et al. Current Status of Urinary Biomarkers for Detection and Surveillance of Bladder Cancer[J]. *Urologic Clinics of North America*, 2016, 43(1): 47-62
- [29] Dunham A L, Ramirez L D, Vang C A, et al. Profiling Surgeon Performance for Breast Cancer Lumpectomy by Composite Measurement of Reoperations, Cosmetic Outcomes, and Patient Preferences[J]. *Annals of Surgical Oncology*, 2018, 25(10): 1-10
- [30] Lombard A P, Mooso B A, Libertini S J, et al. miR-148a dependent apoptosis of bladder cancer cells is mediated in part by the epigenetic modifier DNMT1[J]. *Mol Carcinog*, 2016, 55(5): 757-767

(上接第 2139 页)

- [17] Masood MA, Loya A, Yusuf MA. CDX2 as a prognostic marker in gastric cancer[J]. *Acta Gastroenterol Belg*, 2016, 79(2): 197-200
- [18] Ma L, Zeng J, Guo Q, et al. Mutual amplification of HNF4 α and IL-1R1 composes an inflammatory circuit in *Helicobacter pylori* associated gastric carcinogenesis [J]. *Oncotarget*, 2016, 7 (10): 11349-11363
- [19] 马琳. 转录调节分子 HNF4 α 和 FoxM1 参与胃癌发生的功能与机制[D]. 山东大学, 2016, 119
- [20] Chang HR, Nam S, Kook MC, et al. HNF4 α is a therapeutic target that links AMPK to WNT signalling in early-stage gastric cancer[J]. *Gut*, 2015, 65(1): 19-32
- [21] Hu Q, Li L, Zou X, et al. Berberine Attenuated Proliferation, Invasion and Migration by Targeting the AMPK/HNF4 α /WNT5A Pathway in Gastric Carcinoma[J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 1150
- [22] Zhang Z, Chu M, Hu J, et al. P1-hepatocyte nuclear factor 4 α expression significantly correlates with the severity of chronic gastritis [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2017, 10(6): 7029-7034
- [23] Takano K, Hasegawa G, Jiang S, et al. Immunohistochemical staining for P1 and P2 promoter-driven hepatocyte nuclear factor-4 α may complement mucin phenotype of differentiated-type early gastric carcinoma[J]. *Path Int*, 2009, 59(7): 462-470
- [24] Uozaki H, Barua RR, Minhua S, et al. Transcriptional factor typing with SOX2, HNF4aP1, and CDX2 closely relates to tumor invasion and Epstein-Barr virus status in gastric cancer [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2011, 4(3): 230-240
- [25] Chiba H, Itoh T, Satohisa S, et al. Activation of p21CIP1/WAF1 gene expression and inhibition of cell proliferation by overexpression of hepatocyte nuclear factor-4 α [J]. *Exp Cell Res*, 2005, 302 (1): 11-21