

本文引用:蔡迎彬,张玉俊,王岩,等.胃腺体组织癌变过程中CD44和survivin表达与幽门螺杆菌感染的相关性及其在胃癌浸润和转移中的作用[J].新乡医学院学报,2023,40(8):729-735. DOI:10.7683/xyxyxb.2023.08.005.

【临床研究】

胃腺体组织癌变过程中CD44和survivin表达与幽门螺杆菌感染的相关性及其在胃癌浸润和转移中的作用

蔡迎彬¹, 张玉俊², 王岩¹, 李可³

(1. 新疆医科大学附属肿瘤医院内镜诊疗中心, 新疆 乌鲁木齐 830054; 2. 新疆医科大学公共卫生学院, 新疆 乌鲁木齐 830011; 3. 新疆医科大学第五附属医院消化内科, 新疆 乌鲁木齐 830000)

摘要: **目的** 分析胃腺体组织癌变过程中CD44、survivin表达与幽门螺杆菌(HP)感染的相关性,探讨CD44、survivin在胃腺体组织癌变过程及胃癌(GC)浸润和转移中的作用。**方法** 选择2022年4月至2022年6月于新疆医科大学附属肿瘤医院就诊的资料完整且为首次经胃镜及病理学检查后确诊慢性非萎缩性胃炎(CNAG)患者(CNAG组)、慢性萎缩性胃炎(CAG)患者(CAG组)、肠上皮化生(IM)患者(IM组)、异型增生(AH)患者(AH组)和GC患者(GC组)各50例为研究对象,收集各组患者的胃黏膜病变组织。采用快速尿素酶和碳14法分别检测CNAG、CAG、IM、AH和GC患者胃黏膜病变组织中HP感染情况,苏木精-伊红染色观察不同患者胃黏膜病变组织形态,免疫组织化学法检测不同患者胃黏膜病变组织中CD44和survivin的蛋白表达水平,实时荧光定量聚合酶链反应检测不同患者胃黏膜病变组织中CD44和survivin mRNA表达。**结果** 250例患者中,HP感染率为50.4%(126/250),其中CNAG、CAG、IM、AH和GC患者的HP感染率分别为10.0%(5/50)、24.0%(12/50)、44.0%(22/50)、68.0%(34/50)、80.0%(40/50),HP感染率呈显著增高趋势($\chi^2 = 68.068, P < 0.001$)。CNAG组、CAG组、IM组、AH组和GC组患者胃黏膜病变组织中CD44蛋白阳性表达率分别为4.0%、16.0%、32.0%、62.0%、80.0%,呈逐渐升高趋势($\chi^2 = 84.50, P < 0.001$)。CAG组、IM组、AH组和GC组胃黏膜病变组织中survivin蛋白阳性表达率分别为18.0%、38.0%、58.0%、68.0%,呈逐渐升高趋势($\chi^2 = 67.63, P < 0.001$)。CAG组、IM组、AH组和GC组患者胃黏膜病变组织中CD44和survivin mRNA相对表达量显著高于CNAG组,IM组、AH组和GC组患者胃黏膜病变组织中CD44和survivin mRNA相对表达量显著高于CAG组,AH组和GC组患者胃黏膜病变组织中CD44和survivin mRNA相对表达量显著高于IM组,GC组患者胃黏膜病变组织中CD44和survivin mRNA相对表达量显著高于AH组($P < 0.001$)。CAG组、IM组、AH和GC组HP阳性患者胃黏膜组织中CD44、survivin蛋白阳性表达率显著高于阴性患者($P < 0.01$)。CNAG组HP阳性患者与阴性患者胃黏膜组织中CD44、survivin蛋白阳性表达率比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。CD44和survivin蛋白表达与GC患者癌组织分化程度、淋巴结转移、远处转移相关($P < 0.05$),CD44和survivin蛋白表达与GC患者的浸润深度无相关性($P > 0.05$)。**结论** HP感染与CD44和survivin基因表达间存在正关联,胃腺体组织癌变过程中Hp感染可能诱导CD44和survivin基因表达,从而通过改变黏膜细胞的生物学活性来发挥促癌作用;CD44和survivin可促进GC的浸润和转移。

关键词: 胃癌;幽门螺杆菌;CD44;survivin

中图分类号: R735.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-7239(2023)08-0729-07

Relationship between CD44, survivin expression and *Helicobacter pylori* infection in gastric gland tissue carcinogenesis and their role in infiltration and metastasis of gastric cancer

CAI Yingbin¹, ZHANG Yujun², WANG Yan¹, LI Ke³

(1. Endoscopic Diagnosis and Treatment Center, Cancer Hospital Affiliated to Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China; 2. Public Health Institute of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China; 3. Department of Gastroenterology, the Fifth Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China)

Abstract: **Objective** To analyze the correlation between the expressions of CD44 and survivin and *Helicobacter pylori* (HP) infection during the carcinogenesis process of gastric gland tissue, and explore the role of CD44 and survivin in the carcinogenesis process of gastric gland tissue and infiltration and metastasis of gastric cancer (GC). **Methods** The 50 cases of

DOI:10.7683/xyxyxb.2023.08.005

收稿日期:2022-10-26

基金项目:省部共建中亚高发病因与防治国家重点实验室开放课题项目(编号:SKL-HIDCA-2020-ER3;SKL-HIDCA-2020-WF7);新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(编号:2022D01C299)。

作者简介:蔡迎彬(1980-),男,锡伯族,新疆乌鲁木齐人,硕士,副主任医师,研究方向:消化系统疾病。

通信作者:李可(1963-),女,新疆乌鲁木齐人,学士,主任医师,研究方向:消化系统疾病;E-mail:649034284@qq.com。

chronic non-atrophic gastritis (CNAG) patients (CNAG group), 50 cases of chronic atrophic gastritis (CAG) patients (CAG group), 50 cases of intestinal metaplasia (IM) patients (IM group), 50 cases of atypical hyperplasia (AH) patients (AH group) and 50 GC patients (GC group) diagnosed by gastroscopy and pathology for the first time with complete data admitted to Cancer Hospital Affiliated to Xinjiang Medical University from April to June 2022 were selected as the research subjects, and the gastric mucosa lesions of the patients in each group were collected. The HP infection in gastric mucosa pathological tissues of CNAG, CAG, IM, AH and GC patients was detected by rapid urease and C-14 methods, respectively. The morphology of gastric mucosa lesions of different patients was observed by hematoxylin-eosin staining. The expressions of CD44 and survivin protein in gastric mucosa lesions of different patients were detected by immunohistochemical method. The expressions of CD44 and survivin mRNA in gastric mucosa lesions of different patients were detected by real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction. **Results** Among the 250 patients, the HP infection rate was 50.4% (126/250), and the HP infection rate of CNAG, CAG, IM, AH, and GC patients were 10.0% (5/50), 24.0% (12/50), 44.0% (22/50), 68.0% (34/50), and 80.0% (40/50), respectively; the HP infection rate showed a significant increase trend ($\chi^2 = 68.068, P < 0.001$). The positive expression rates of CD44 protein in gastric mucosa lesions of patients in the CNAG group, CAG group, IM group, AH group and GC group were 4.0%, 16.0%, 32.0%, 62.0% and 80.0%, respectively, which showed a gradually increasing trend ($\chi^2 = 84.500, P < 0.001$). The positive expression rates of survivin protein in gastric mucosa lesions of patients in the CAG group, IM group, AH group and GC group were 18.0%, 38.0%, 58.0% and 68.0%, respectively, which showed a gradually increasing trend ($\chi^2 = 67.630, P < 0.001$). The relative expression levels of CD44 and survivin mRNA in gastric mucosa lesions of patients in the CAG group, IM group, AH group and GC group were significantly higher than those in the CNAG group ($P < 0.001$); the relative expression levels of CD44 and survivin mRNA in gastric mucosa lesions of patients in the IM group, AH group and GC group were significantly higher than those in the CAG group ($P < 0.001$); the relative expression levels of CD44 and survivin mRNA in gastric mucosa lesions of patients in the AH group and GC group were significantly higher than those in the IM group ($P < 0.001$); the relative expression levels of CD44 and survivin mRNA in gastric mucosa lesions of patients in the GC group were significantly higher than those in the AH group ($P < 0.001$). The positive expression rates of CD44 and survivin protein in gastric mucosa of HP positive patients was significantly higher than those of HP negative patients in the CAG group, IM group, AH group and GC group ($P < 0.01$). There was no significant difference in the positive expression rates of CD44 and survivin protein in gastric mucosa between HP positive patients and negative patients in the CNAG group ($P > 0.05$). The expressions of CD44 and survivin was correlated with the degree of cancer tissue differentiation, lymph node metastasis and distant metastasis in GC patients ($P < 0.05$); while the expressions of CD44 and survivin protein was not correlated with the depth of infiltration in GC patients ($P > 0.05$). **Conclusion** There is a positive correlation between HP infection and the expression of CD44 and survivin gene. During the carcinogenesis process of gastric gland tissue, Hp infection may induce the expression of CD44 and survivin gene, thereby exerting a tumor-promoting effect by altering the biological activity of mucosal cells; CD44 and survivin can promote the infiltration and metastasis of GC.

Key words: gastric cancer; *Helicobacter pylori*; CD44; survivin

胃癌 (gastric cancer, GC) 是全球第五大常见癌症,也是癌症相关死亡的第三大原因^[1]。肠型 GC 的发生有一个多阶段的癌前病变过程,包括慢性非萎缩性胃炎 (chronic non-atrophic gastritis, CNAG)、慢性萎缩性胃炎 (chronic atrophic gastritis, CAG)、肠上皮化生 (intestinal metaplasia, IM) 和异型增生 (atypical hyperplasia, AH)^[2]。研究表明,幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*, HP) 持续性和慢性感染在胃黏膜病变的恶性进展中发挥重要作用,被世界卫生组织 (World Health Organization, WHO) 确认为 GC 发展的 I 类危险因素^[3-4]。细胞毒素相关基因 A 蛋白是 HP 的主要毒力因子,可通过 IV 型分泌系统转入到宿主细胞中诱导基因组不稳定性^[5],对基因表达水平产生影响,包括异常的 DNA 甲基化和 RNA 表达紊乱^[6]。目前,HP 感染与 GC 之间的相关性已得到广泛证实,但其确切分子机制仍有待进一步阐明。CD44 是透明质酸的跨膜糖蛋白表面受体,参与细胞对其微环境的反应,并通过“外来素信号传导”在细胞-基质相互作用与细胞通信中发挥作用^[7];且

CD44 在致癌、分化和淋巴结转移中起重要作用,可预测乳腺癌^[8]、结直肠癌^[9]和胃癌^[10]等多种癌症的预后。研究表明,胃组织干细胞和胃癌干细胞均表达 CD44 剪接变体 CD44v9,而关于 CD44 及其剪接变体因 HP 急慢性感染而发生表达改变的研究较少^[11]。Survivin 是细胞凋亡蛋白抑制剂 (inhibitors of apoptosis, IAP) 家族成员,在细胞周期的 G₂/M 期高度表达,并在 G₁ 期迅速下降。Survivin 是一种抗凋亡蛋白,可调节细胞存活,降低细胞损失率,促进细胞增殖,并为快速增长的肿瘤提供条件,从而为肿瘤转化提供优势,其与多数肿瘤的预后不良和生存率降低相关^[12]。虽然有大量证据表明 CD44 和 survivin 在胃癌的发生发展中发挥重要作用,但其与并发 HP 感染的相关性尚不清楚。因此,本研究通过检测胃腺体组织癌变过程中 CD44 和 survivin 的蛋白、基因表达水平并分析其与 HP 感染的相关性,探讨 HP 感染致胃腺体组织癌变的可能机制,并分析 CD44 和 survivin 与临床病理特征间的相关性,以期帮助临床 GC 的早期预防、精确诊断及靶向治

疗提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 标本来源

收集 2022 年 4 月至 2022 年 6 月于新疆医科大学附属肿瘤医院就诊的资料完整且为首次经胃镜及病理学检查后确诊为 CNAG、CAG、IM、AH 和 GC 的患者胃黏膜病变组织标本各 50 份,分别设为 CHAG 组、CAG 组、IM 组、AH 组和 GC 组。其中男 138 例(55.20%),女 112 例(44.80%);汉族 186 例(74.40%),维吾尔族 26 例(10.40%),其他民族 38 例(15.20%);年龄 32~70(53.01±8.46)岁。病例纳入标准:(1)符合文献[13]关于 CNAG、CAG、IM、AH 和 GC 诊断标准,并经胃镜及病理学检查确诊;(2)入组前未接受相关治疗;(3)年龄>18 岁;(4)患者知情同意。排除标准:(1)在胃镜检查前 1 个月内有服用抗生素、抗酸剂和益生菌史;(2)有胃部手术史;(3)使用免疫抑制剂者;(4)有严重并发症患者;(5)有严重认知障碍或精神疾病者;(6)怀孕或哺乳期;(7)患血液系统疾病者,包括贫血和出血倾向。本研究方案严格按照赫尔辛基伦理标准进行,获得新疆医科大学附属肿瘤医院伦理委员会审核批准,所有受试者和(或)家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 组织取材

患者空腹行胃镜检查,取距离幽门 2~5 cm 处胃窦大、小弯黏膜,胃窦处为肿瘤组织的取 2 cm 范围内癌旁黏膜及癌组织标本,保存于 -80 °C 冰箱备用。

1.2.2 快速尿素酶和碳 14 法检测 HP

取 -80 °C 冰箱保存的黏膜组织,放置在圆形黄色试纸上,并将该试纸与衬纸复合,保证衬纸、试纸之间含有组织,检测试纸购自上海惠泰医疗科技有限公司,严格按说明书进行操作。强阳性结果为试纸活检组织边缘在 1 min 时间内从黄色转变为樱红色;如延迟 5 min 变为樱红色为弱阳性,不变色为阴性。

另嘱患者在检查前 8 h 禁食、禁水和禁烟,检查时先让患者口服一粒碳 14 尿素胶囊,静坐 15 min 后向集气卡(安徽养和医疗器械设备有限公司)内呼气,当集气卡中央部分的蓝色转变为无色呼气停止,然后医护人员及时将集气卡收回标记、存放,将卡片放置在碳 14 呼吸测定仪(安徽养和医疗器械设备有限公司)中进行检测;结果 >100 dpm·mmol⁻¹ 为阳性,判定为 HP 感染。

1.2.3 苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色观察黏膜组织形态

取 -80 °C 冰箱保存的黏膜组织,将组织在 100 g·L⁻¹多聚甲醛中过夜固定,石蜡包埋,然后切

成 4~5 μm 厚的组织切片;将组织切片在二甲苯中脱蜡并在乙醇中再水化,随后使用标准技术用苏木精和伊红染料染色,在 OLYMPUS/BX40 光学显微镜下观察组织形态。组织病理学分级根据 WHO 的标准分为:I 级(高分化),II 级(中分化),III 级(低分化)^[14]。根据美国癌症分期联合委员会第 7 版(TNM 分期)^[15]记录病理分期。

1.2.4 免疫组织化学法检测胃黏膜病变组织中 CD44 和 survivin 的蛋白表达

取组织切片,用二甲苯脱蜡,然后用乙醇水合;使用柠檬酸(pH 6.0)抗原修复溶液(中国武汉 Servicebio 公司)在压力锅中进行抗原修复,然后用体积分数为 3% 的 H₂O₂ 阻断内源性过氧化物酶活性 30 min,体积分数 10% 正常山羊血清阻断非特异性抗原表位 30 min;滴加 CD44(滴度 1:100,福州迈新生物技术公司)、survivin(滴度 1:100,福州迈新生物技术公司)一抗,4 °C 下孵育过夜;用磷酸盐缓冲液洗涤后,滴加辣根过氧化物酶偶联山羊抗小鼠 IgG 二抗(滴度 1:200),室温下孵育 20 min;然后用二氨基联苯胺显色,苏木精复染,梯度乙醇脱水,二甲苯透明后封片;应用 OLYMPUS/BX40 显微镜拍照分析。使用半定量评分系统评估每张载玻片的 CD44 和 survivin 免疫染色强度及阳性上皮细胞百分比,由 2 名检查员独立评分。染色强度:无染色为 0 分,轻度为 1 分,中度为 2 分,重度为 3 分。阳性范围:<10% 为 0 分,10%~45% 为 1 分,46%~70% 为 2 分,>75% 为 3 分。将染色强度和阳性范围相加得到总分,即 0 分为阴性(-),1~2 分为弱阳性(+),3~4 分为阳性(++),5~6 分为强阳性(+++),以+、++、+++为阳性。

1.2.5 实时荧光定量聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)检测胃黏膜病变组织中 CD44 和 survivin mRNA 表达水平

取 -80 °C 冰箱储存的 100 mg 新鲜组织,滴加 1 mL TRIzol 试剂(中国上海 Invitrogen 公司),通过匀浆器进行组织研磨,待研磨完全后加入 1 mL 氯仿并剧烈颠倒,混合均匀后,室温环境下静置 5 min;4 °C 下 12 000 r·min⁻¹ 离心 15 min 后取上清液,加入 500 μL 异丙醇溶液静置 10 min,然后 4 °C 下 12 000 r·min⁻¹ 离心 10 min 除去上清液,用体积分数 75% 的乙醇溶液清洗沉淀。沉淀干燥后加入 50 μL 焦碳酸二乙酯处理过的双重去离子水溶解 RNA,采用反转录试剂盒(福州迈新生物技术公司)将 RNA 反转录为 cDNA。采用实时荧光定量 PCR 检测 CD44、survivin 基因表达。CD44 基因上游引物序列为 5'-ATTTGAATATAACCTGCCGCTTTG-3',下游引物序列为 5'-TTGTGGCAAGGTGCTATTG-3';survivin 基因上游引物序列为 5'-CCGGATCCACCATGGGTGCCCGACGTTGC-3',下游引物序列为

5'-ACGCGTC-GACTCAATCCATGGCAGCCAGCT-3'; 以甘油醛 3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 作为内参, GAPDH 基因上游引物序列为 5'-GGAGCGAGATCCCCTCCAAAAT-3', 下游引物序列为 5'-GGCTGTTGTCATACTTCTC-3'。反应体系: cDNA (8 × 稀释) 4.0 μL, 上下游引物各 0.4 μL, SYBR Green Master Mix 10.0 μL, 50 × ROX Reference Dye 20.4 μL。反应条件: 50 °C 预变性 2 min, 95 °C 变性 10 min, 95 °C 退火 30 s, 60 °C 延伸 30 s, 共 40 个循环; 采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算靶基因相对表达量。

1.3 统计学处理

应用 SPSS 26.0 进行统计学分析。符合正态分布的计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用方差分析, 两两比较采用 Bonferroni 校正法; 计数资料以例数和百分率表示, 组间比较采用 χ^2 检验, 当 1 < 理论频数 (T) < 5 或 T < 1 时, 采用 Fisher 确切概率法; 等级资料采用 Kruskal-Wallis H 检验; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

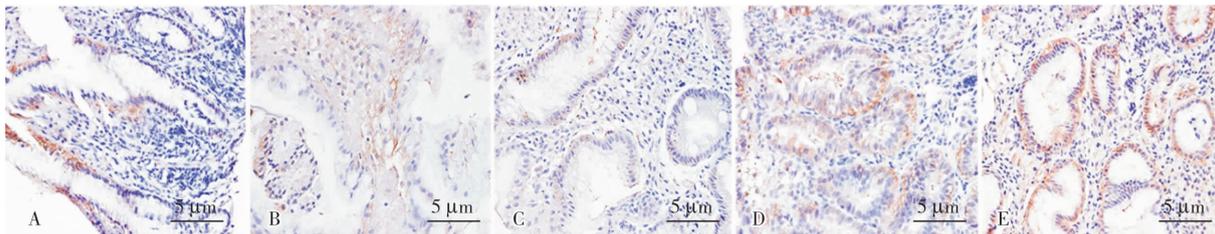
2.1 胃腺体组织癌变过程中 HP 感染率变化

250 例患者中, 快速尿素酶和碳 14 法联合检测

HP 感染率为 50.4% (126/250); CNAG、CAG、IM、AH 和 GC 患者 HP 感染率分别为 10.0% (5/50)、24.0% (12/50)、44.0% (22/50)、68.0% (34/50)、80.0% (40/50), 呈显著增高趋势 ($\chi^2 = 68.068, P < 0.001$)。

2.2 5 组患者胃黏膜病变组织中 CD44 和 survivin 蛋白阳性表达比较

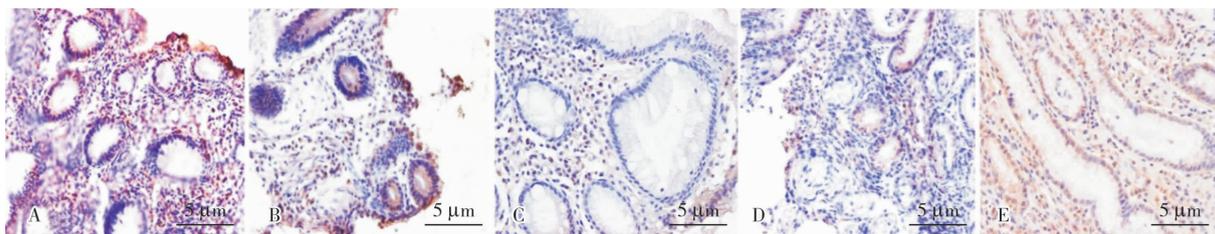
CNAG 组、CAG 组、IM 组、AH 组和 GC 组患者胃黏膜病变组织中均有 CD44 蛋白表达, 呈棕黄色颗粒, 主要表达在细胞膜 (图 1); CNAG 组、CAG 组、IM 组、AH 组和 GC 组患者胃黏膜病变组织中 CD44 蛋白阳性表达率分别为 4.0%、16.0%、32.0%、62.0%、80.0%, 呈逐渐升高趋势, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 84.50, P < 0.001$)。Survivin 蛋白可在 CAG 组、IM 组、AH 组和 GC 组患者胃黏膜病变组织中检测到阳性表达, CNAG 组患者胃黏膜病变组织中未检测到; survivin 主要表达在细胞质, 呈棕黄色颗粒为阳性表达 (图 2); CAG 组、IM 组、AH 组和 GC 组胃黏膜病变组织中 survivin 蛋白阳性表达率分别为 18.0%、38.0%、58.0%、68.0%, 呈逐渐升高趋势, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 67.63, P < 0.001$)。



A: CNAG 组; B: CAG 组; C: IM 组; D: AH 组; E: GC 组。

图 1 5 组患者胃黏膜组织中 CD44 表达 (免疫组织化学染色)

Fig. 1 Expression of CD44 in gastric mucosa of patients in the five groups (immunohistochemical staining)



A: CNAG 组; B: CAG 组; C: IM 组; D: AH 组; E: GC 组。

图 2 5 组患者胃黏膜组织中 survivin 表达 (免疫组织化学染色)

Fig. 2 Expression of survivin in gastric mucosa of patients in the five groups (immunohistochemical staining)

2.3 5 组患者胃黏膜病变组织中 CD44 和 survivin mRNA 相对表达量比较

CNAG 组、CAG 组、IM 组、AH 组和 GC 组患者胃黏膜组织中 CD44 mRNA 相对表达量分别为 0.094 ± 0.015 、 0.114 ± 0.011 、 0.172 ± 0.026 、

0.223 ± 0.041 、 0.367 ± 0.035 。CAG 组、IM 组、AH 组和 GC 组患者胃黏膜组织中 CD44 mRNA 相对表达量显著高于 CNAG 组, 差异有统计学意义 ($t = -7.600$ 、 -18.375 、 -20.894 、 $-50.695, P < 0.001$); IM 组、AH 组、GC 组患者胃黏膜组织中 CD44 mRNA

相对表达量显著高于 CAG 组,差异有统计学意义 ($t = -14.527, 56.018, 58.586, P < 0.001$); AH 组和 GC 组患者胃黏膜组织中 CD44 mRNA 相对表达量显著高于 IM 组,差异有统计学意义 ($t = -82.924, 90.456, P < 0.001$); GC 组患者胃黏膜组织中 CD44 mRNA 相对表达量显著高于 AH 组,差异有统计学意义 ($t = 95.645, P < 0.001$)。CNAG 组、CAG 组、IM 组、AH 组和 GC 组患者胃黏膜组织中 survivin mRNA 相对表达量分别为 $0.000 \pm 0.000, 0.067 \pm 0.006, 0.346 \pm 0.061, 0.552 \pm 0.081, 1.645 \pm 0.357$; IM 组、AH 组和 GC 组患者胃黏膜组织中 survivin mRNA 相对表达量显著高于 CAG 组,差异有统计学意义 ($t = -49.948, 49.538, 49.028, P < 0.001$); AH 组和 GC 组患者胃黏膜组织中 survivin mRNA 相对表达量显著高于 IM 组,差异有统计学意义 ($t = -91.053, 51.859, P < 0.001$); GC 组患者胃黏膜组织中 survivin mRNA 相对表达量显著高于 AH 组,差异有统计学意义 ($t = -213.721, P < 0.001$)。

2.4 5 组 HP 阳性与阴性患者胃黏膜组织中 CD44 和 survivin 蛋白阳性表达率比较

CAG 组、IM 组、AH 组和 GC 组 HP 阳性患者胃黏膜组织中 CD44 和 survivin 蛋白阳性表达率显著高于阴性患者,差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。CNAG 组 HP 阳性患者与阴性患者胃黏膜组织中 CD44 和 survivin 蛋白阳性表达率比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。结果见表 1。

表 1 5 组 HP 阳性与阴性患者胃黏膜组织中 CD44 和 survivin 蛋白阳性表达率比较

Tab.1 Comparison of CD44 and survivin protein positive expression rate in gastric mucosa between the HP positive patients and HP negative patients in the five groups

组别	n	survivin		P	CD44		P
		阳性	阴性		阳性	阴性	
CNAG 组							
HP (+)	5	0	5	-	1	4	>0.05
HP (-)	45	0	45		1	44	
CAG 组							
HP (+)	12	8	4	<0.001	7	5	<0.001
HP (-)	38	1	37		1	37	
IM 组							
HP (+)	22	17	5	<0.001	15	7	<0.001
HP (-)	28	2	26		1	27	
AH							
HP (+)	34	26	8	<0.001	26	8	<0.001
HP (-)	16	3	13		5	11	
GC							
HP (+)	40	31	9	<0.001	37	3	<0.001
HP (-)	10	3	7		3	7	

2.5 GC 患者癌组织中 CD44 和 survivin 蛋白表达与临床病理特征的相关性

CD44 和 survivin 蛋白表达与 GC 患者癌组织分化程度、淋巴结转移、远处转移有关 ($P < 0.05$),

CD44 和 survivin 蛋白表达与 GC 患者的浸润深度无相关性 ($P > 0.05$)。结果见表 2。

表 2 GC 患者癌组织中 CD44 和 survivin 表达与临床病理特征的相关性

Tab.2 Correlation between CD44 and survivin expression and clinical pathological characteristics in gastric cancer tissues of GC patients

临床病理特征	n	CD44 蛋白阳性		P	survivin 蛋白阳性		P
		表达率/例 (%)	χ^2		表达率/例 (%)	χ^2	
组织分化程度							
高分化	26	16(61.54)	5.899	0.039	15(57.69)	6.533	0.026
中分化	8	7(87.50)			6(75.00)		
低分化	16	15(93.75)			15(93.75)		
淋巴结转移							
是	31	27(87.10)	4.023	0.045	26(83.87)	4.258	0.039
否	19	11(57.89)			10(52.63)		
浸润深度							
黏膜下层	7	5(71.43)	0.683	0.722	4(57.14)	1.171	0.613
固有层	29	23(79.31)			21(72.41)		
浆膜层	14	10(71.43)			11(78.57)		
远处转移							
是	36	31(86.11)	5.363	0.021	29(80.56)	3.276	0.070
否	14	7(50.00)			7(50.00)		

3 讨论

肠型 GC 的发展涉及从慢性胃炎到萎缩性胃炎、肠化生和胃发育不良多个过程^[16]。研究表明,萎缩性胃炎伴肠化生和异型增生可显著增加胃癌的发生风险,而遗传和环境因素对 GC 的发生发展到至关重要的作用^[17]。HP 感染已被确认为 GC 的重要危险因素,该细菌能诱导慢性黏膜损伤从而引起慢性胃炎和胃溃疡等炎症性疾病,导致胃黏膜屏障功能受损,进一步诱导黏膜相关淋巴瘤及胃癌等恶性肿瘤的发生发展^[18]。本研究结果显示,CNAG、CAG、IM、AH 和 GC 患者中 HP 感染率分别为 10.0% (5/50)、24.0% (12/50)、44.0% (22/50)、68.0% (34/50)、80.0% (40/50),HP 感染率呈显著增高趋势;这进一步证实,HP 感染参与了从慢性胃炎到萎缩性胃炎、肠化生、GC 的发生、发展。然而,HP 感染引起胃黏膜细胞恶变的确切机制迄今尚不完全清楚^[19]。

CD44 是细胞外基质的重要黏附分子,其表达与肿瘤细胞的侵袭迁移能力密切相关^[20]。CD44 作为透明质酸的细胞表面受体,可干扰多种生物过程,如细胞黏附、细胞迁移和癌症转移,其被认为是多种癌症的重要生物标志物,与预后不良相关^[21]。此外,CD44 基因的过表达可增加肺癌^[22]、口腔癌^[23]和胃癌^[24]等癌症发病风险。DÄMMRICH 等^[25]研究报道,CD44 在慢性萎缩性胃炎和伴有异型增生改变的肠化生胃癌前病变中过表达。并且,有研究报道,随胃腺体组织癌变恶性程度的增加 CD44 阳性细胞百分比也增加^[26]。本研究结果显示, CNAG 组、CAG

组、IM组、AH组和GC组患者胃黏膜病变组织中CD44蛋白阳性表达率为4.0%、16.0%、32.0%、62.0%、80.0%，呈逐渐升高趋势；CAG组、IM组、AH组和GC组患者胃黏膜组织中CD44 mRNA相对表达量显著高于CNAG组，IM、AH、GC组患者胃黏膜组织中CD44 mRNA相对表达量显著高于CAG组，AH、GC组患者胃黏膜组织中CD44 mRNA相对表达量显著高于IM组，GC组患者胃黏膜组织中CD44 mRNA相对表达量显著高于AH组；且CAG、IM、AH和GC组HP阳性患者胃黏膜组织中CD44蛋白阳性表达率显著高于阴性患者；这说明，CD44蛋白和mRNA表达水平随着胃腺体组织癌变恶性程度的加重而升高，提示在胃腺体组织癌变过程中HP感染可能诱导CD44表达，从而改变黏膜细胞的生物学活性，促进了从慢性胃炎、萎缩性胃炎、肠化生到GC的发生、发展进程。

Survivin为凋亡抑制蛋白家族成员之一，可通过促进有丝分裂和抑制细胞凋亡来促进癌细胞的存活和生长^[27]，其表达水平与更具侵袭性的疾病和较差的临床结局相关。研究报道，survivin在多种人类恶性肿瘤中广泛表达，与肿瘤细胞增殖、生长、凋亡及肿瘤形成具有密切关系，可作为食管癌^[28]、结直肠癌^[29]和胃癌^[30]的诊断标志物。另有研究报道，survivin的过表达与GC的发生和发展密切相关^[31]。BURY等^[32]研究报道，GC患者中的survivin表达率为73.17%；GU等^[33]研究发现，survivin在GC组织中的表达率为62.9%。本研究结果显示，CAG组、IM组、AH组和GC组胃黏膜病变组织中survivin蛋白阳性表达率分别为18.0%、38.0%、58.0%、68.0%，呈逐渐升高趋势；IM组、AH组、GC组患者胃黏膜组织中survivin mRNA相对表达量显著高于CAG组，AH、GC组患者胃黏膜组织中survivin mRNA相对表达量显著高于IM组，GC组患者胃黏膜组织中survivin mRNA相对表达量显著高于AH组；且CAG、IM、AH和GC组HP阳性患者胃黏膜组织中survivin蛋白阳性表达率显著高于阴性患者；这说明，survivin蛋白和mRNA表达水平同样随着胃腺体组织癌变恶性程度的加重而升高，提示在胃腺体组织癌变过程中HP感染可能同样诱导了survivin表达，从而改变黏膜细胞的生物学活性，促进了从慢性胃炎、萎缩性胃炎、肠化生到GC的发生、发展进程。

目前，survivin和CD44的表达与GC患者癌组织分化程度、浸润深度和淋巴结转移之间的关系尚不清楚。MIYACHI等^[34]研究发现，survivin的表达与淋巴结转移有关，但与浸润深度无关；TSUBURAYA等^[35]研究表明，survivin mRNA表达与浸润深度有关，但与淋巴结转移无关。HOU等^[36]研究报道，CD44表达水平与浸润程度、分化程度和淋巴结转移有关；XIE

等^[37]研究发现，CD44阳性表达与浸润深度和淋巴结转移相关。本研究结果显示，CD44和survivin的蛋白表达与GC患者的癌组织分化程度、淋巴结转移、远处转移相关，即低分化程度、有淋巴结转移、有远处转移的患者癌组织中CD44和survivin蛋白阳性表达率更高，这与上述研究结果相似，提示CD44和survivin在一定程度上可促进GC的浸润和转移，对GC患者的预后和生存评估具有重大意义。

4 结论

HP感染与CD44和survivin基因表达间存在正关联，胃腺体组织癌变过程中HP感染可能诱导CD44和survivin基因表达，从而通过改变黏膜细胞的生物学活性来发挥促癌作用，CD44和survivin在一定程度上可促进GC的浸润和转移，对GC患者的预后和生存评估具有重大意义，这为开发诊断和治疗GC新策略提供了理论基础。然而，本研究样本量小且为横断面研究，需进一步的随访研究来验证HP感染与CD44和survivin的关系及对GC发生发展的影响。

参考文献：

- [1] XU M Q, SUN K, CAO C, et al. Age-related twin-peak prevalence profiles of *H. pylori* infection, gastritis, GIN and gastric cancer: analyses of 70,534 patients with gastroscopic biopsies [J]. *PLoS One*, 2022, 17(7): e0265885.
- [2] LIU C, NG S K, DING Y, et al. Meta-analysis of mucosal microbiota reveals universal microbial signatures and dysbiosis in gastric carcinogenesis [J]. *Oncogene*, 2022, 41(28): 3599-3610.
- [3] VAHIDI S, MIRZAJANI E, NOROLLAHI S E, et al. Performance of DNA methylation on the molecular pathogenesis of *Helicobacter pylori* in gastric cancer; targeted therapy approach [J]. *J Pharmacopuncture*, 2022, 25(2): 88-100.
- [4] PARK C H, LEE A R, LEE Y R, et al. Evaluation of gastric microbiome and metagenomic function in patients with intestinal metaplasia using 16S rRNA gene sequencing [J]. *Helicobacter*, 2019, 24(1): e12547.
- [5] GENG H, DONG Z, ZHANG L, et al. An immune signature for risk stratification and therapeutic prediction in *Helicobacter pylori*-infected gastric cancer [J]. *Cancers (Basel)*, 2022, 14(13): 3276.
- [6] NAGASAKI N, ITO M, BODA T, et al. Identification of *Helicobacter pylori*-related gastric cancer risk using serological gastritis markers and endoscopic findings: a large-scale retrospective cohort study [J]. *BMC Gastroenterol*, 2022, 22(1): 299.
- [7] XIE P, YAN J, WU M, et al. CD44 potentiates hepatocellular carcinoma migration and extrahepatic metastases via the AKT/ERK signaling CXCR4 axis [J]. *Ann Transl Med*, 2022, 10(12): 689.
- [8] LUBANSKA D, ALRASHED S, MASON G T, et al. Impairing proliferation of glioblastoma multiforme with CD44⁺ selective conjugated polymer nanoparticles [J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 12078.
- [9] WEICHERT W, DENKERT C, BURKHARDT M, et al. Cytoplasmic CD24 expression in colorectal cancer independently correlates with shortened patient survival [J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(18): 6574-6581.

- [10] VILLARD A V, GENNA A, LAMBERT J, *et al.* Regulation of tissue factor by CD44 supports coagulant activity in breast tumor cells[J]. *Cancers (Basel)*, 2022, 14(13):3288.
- [11] SIHOMBING U H M, ANDRIJONO, PURWOTO G, *et al.* Expression of CD44⁺/CD24⁻, RAD6 and DDB2 on chemotherapy response in ovarian cancer: a prospective flow cytometry study[J]. *Gynecol Oncol Rep*, 2022, 42:101005.
- [12] SINGH A, SPITZER M H, JOY J P, *et al.* Postmitotic G₁ phase survivin drives mitogen-independent cell division of B lymphocytes [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2022, 119(18):e2115567119.
- [13] JIA R, GUO X, LIU H, *et al.* Analysis of staged features of gastritis-cancer transformation and identification of potential biomarkers in gastric cancer[J]. *J Inflamm Res*, 2022, 15:6857-6868.
- [14] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, *et al.* Global cancer statistics 2020; GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3):209-249.
- [15] SANO T, COIT D G, KIM H H, *et al.* Proposal of a new stage grouping of gastric cancer for TNM classification; international gastric cancer association staging project [J]. *Gastric Cancer*, 2017, 20(2):217-225.
- [16] BALI P, COKER J, LOZANO-POPE I, *et al.* Microbiome signatures in a fast- and slow-progressing gastric cancer murine model and their contribution to gastric carcinogenesis[J]. *Microorganisms*, 2021, 9(1):189.
- [17] AHADI A. Dysregulation of miRNAs as a signature for diagnosis and prognosis of gastric cancer and their involvement in the mechanism underlying gastric carcinogenesis and progression[J]. *IUBMB Life*, 2020, 72(5):884-898.
- [18] ZHU X, SU T, WANG S, *et al.* New advances in nano-drug delivery systems; *Helicobacter pylori* and gastric cancer [J]. *Front Oncol*, 2022, 12:834934.
- [19] LIU X, SHAO L, LIU X, *et al.* Alterations of gastric mucosal microbiota across different stomach microhabitats in a cohort of 276 patients with gastric cancer [J]. *EBioMedicine*, 2019, 40:336-348.
- [20] MOKHTARIAN R, TABATABAEIAN H, SAADATMAND P, *et al.* CD44 gene rs8193 C allele is significantly enriched in gastric cancer patients[J]. *Cell J*, 2020, 21(4):451-458.
- [21] SOHN S H, KIM B, SUL H J, *et al.* Foretinib inhibits cancer stemness and gastric cancer cell proliferation by decreasing CD44 and c-MET signaling [J]. *Onco Targets Ther*, 2020, 13:1027-1035.
- [22] ELAKAD O, HÄUPL B, LABITZKY V, *et al.* Activation of CD44/PAK1/AKT signaling promotes resistance to FGFR1 inhibition in squamous-cell lung cancer[J]. *NPJ Precis Oncol*, 2022, 6(1):52.
- [23] GUO T, ZHU Y, YUE M, *et al.* The therapeutic effects of DDP/CD44-shRNA nanoliposomes in AMF on ovarian cancer [J]. *Front Oncol*, 2022, 12:811783.
- [24] GAO X, LU C, CHEN C, *et al.* ARPP-19 mediates herceptin resistance via regulation of CD44 in gastric cancer[J]. *Onco Targets Ther*, 2020, 13:6629-6643.
- [25] DÄMMRICH J, VOLLMERS H P, HEIDER K H, *et al.* Importance of different CD44v6 expression in human gastric intestinal and diffuse type cancers for metastatic lymphogenic spreading [J]. *J Mol Med (Berl)*, 1995, 73(8):395-401.
- [26] PARK J Y, SEO H, KANG C S, *et al.* Dysbiotic change in gastric microbiome and its functional implication in gastric carcinogenesis [J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1):4285.
- [27] LIU N, QI D, JIANG J, *et al.* Significance of combined TGF- β_1 and survivin expression on the prognosis of patients with triple-negative breast cancer[J]. *Oncol Lett*, 2022, 23(6):193.
- [28] LIU X, ZHAO Y, ZHANG W, *et al.* Inhibition of survivin enhances radiosensitivity of esophageal cancer cells by switching radiation-induced senescence to apoptosis[J]. *Onco Targets Ther*, 2018, 11:3087-3100.
- [29] MIHANFAR A, YOUSEFI B, GHAZIZADEH DARBAND S, *et al.* Melatonin increases 5-fluorouracil-mediated apoptosis of colorectal cancer cells through enhancing oxidative stress and downregulating survivin and XIAP[J]. *Bioimpacts*, 2021, 11(4):253-261.
- [30] KIM W J, KIM W, BAE J M, *et al.* Dehydroabietic acid is a novel survivin inhibitor for gastric cancer[J]. *Plants (Basel)*, 2021, 10(6):1047.
- [31] HASEGAWA T, SUGIHARA T, HOSHINO Y, *et al.* Photosensitizer verteporfin inhibits the growth of YAP- and TAZ-dominant gastric cancer cells by suppressing the anti-apoptotic protein survivin in a light-independent manner [J]. *Oncol Lett*, 2021, 22(4):703.
- [32] BURY J, SZUMIŁO J, DĄBROWSKI A, *et al.* Vascular endothelial growth factor and survivin immunostaining in gastric adenocarcinoma[J]. *Pol Przegl Chir*, 2012, 84(7):341-347.
- [33] GU Y, JIN S, WANG F, *et al.* Clinicopathological significance of PI3K, Akt and survivin expression in gastric cancer[J]. *Biomed Pharmacother*, 2014, 68(4):471-475.
- [34] MIYACHI K, FUJITA M, TANAKA N, *et al.* Correlation between telomerase activity and telomeric-repeat binding factors in gastric cancer[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2002, 21(2):269-275.
- [35] TSUBURAYA A, NOGUCHI Y, YOSHIKAWA T, *et al.* An anti-apoptosis gene, survivin and telomerase expression in gastric cancer [J]. *Hepatogastroenterology*, 2002, 49(46):1150-1152.
- [36] HOU W, KONG L, HOU Z, *et al.* CD44 is a prognostic biomarker and correlated with immune infiltrates in gastric cancer[J]. *BMC Med Genomics*, 2022, 15(1):225.
- [37] XIE J W, CHEN P C, ZHENG C H, *et al.* Evaluation of the prognostic value and functional roles of CD44v6 in gastric cancer[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2015, 141(10):1809-1817.

(本文编辑:周二强)