

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2019.03.005

文章编号: 1005-8982(2019)03-0028-05

临床研究·论著

Notch-1、Notch-3 和 Hes-1 在胃癌中的表达及其临床意义*

张映城¹, 矫健鹏¹, 李勇进¹, 秦志丰¹, 岳小强¹, 魏品康¹, 颜兵²

(1. 中国人民解放军海军军医大学附属长征医院 中医科, 上海 200003;
2. 中国人民解放军总医院海南医院 肿瘤科, 海南 三亚 572000)

摘要: **目的** 探讨 Notch 信号通路不同受体 (Notch-1、Notch-3) 及下游基因 *Hes-1* 在胃癌中的表达及与临床病理参数的关系。**方法** 选取 2014—2016 年中国人民解放军海军军医大学附属长征医院经病理确诊的具备完整资料的 30 例不同分期的胃癌标本, 通过免疫组织化学染色检测 Notch-1、3 及 *Hes-1* 的表达, 并收集患者临床病理参数进行统计分析。**结果** Notch-1、3 及 *Hes-1* 在胃癌不同分期中均存在表达, 其中 Notch-1 和 *Hes-1* 阳性率在不同的 T 分期中差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 在中晚期患者中较高 ($P < 0.05$), 进一步分析表明 *Hes-1* 和 Notch-1 表达有相关性 ($P < 0.05$)。Notch-3 的表达在不同年龄中有差异 ($P < 0.05$) 外, 在其他临床病理参数中均无差异。**结论** Notch 信号通路中 Notch-1、3 及 *Hes-1* 在胃癌患者不同临床病理参数中的表达存在一定差异, 未来仍需进一步研究。

关键词: 胃肿瘤; Notch 信号通路 / 生物化学进程; *Hes-1* / 基因; TNM 分期

中图分类号: R735.2

文献标识码: A

Expression and clinical significance of Notch-1, Notch-3 and Hes-1 in gastric cancer*

Ying-cheng Zhang¹, Jian-peng Jiao¹, Yong-jin Li¹, Zhi-feng Qin¹,
Xiao-qiang Yue¹, Pin-kang Wei¹, Bing Yan²

(1. Department of Traditional Chinese Medicine, Shanghai Changzheng Hospital, Shanghai, 200003, China; 2. Department of Oncology, Hainan Hospital of PLA General Hospital, Sanya, Hainan 572000, China)

Abstract: Objective To determine the expression of Notch receptors (Notch-1 & 3) and the downstream gene *Hes-1* in gastric cancer and potential clinical significance. **Methods** Thirty gastric cancer patients enrolled in Shanghai Changzheng Hospital during 2014 to 2016 were involved in this study. Clinical-pathological parameters were collected, and expression of Notch-1 & 3 and *Hes-1* were measured by immunohistochemical staining. **Results** Notch-1 & 3 and *Hes-1* were heterogeneously expressed in the patients with different stage while patients with advanced stage of tumor experienced increased levels of Notch-1 and *Hes-1* ($P < 0.05$). Expression of *Hes-1* was positively correlated with Notch-1 ($P < 0.05$). However, expression of Notch-3 was not affect by all clinical

收稿日期: 2018-06-27

* 基金项目: 国家自然科学基金(No: 81503391); 海南省自然科学基金面上项目(No: 817352); 海南省三亚市医疗卫生科技创新项目(No: 2016YW08、2018YW06)

[通信作者] 颜兵, E-mail: y_bing41@163.com; Tel: 0898-37330615

parameters except ages ($P < 0.05$). **Conclusions** Expression of Notch-1 & 3 and Hes-1 is likely to be affected in gastric cancer patients, and additional studies are necessary.

Keywords: gastric neoplasms; Notch signaling pathway/biochemical processes; Hes-1/genes; TNM stage

Notch 信号通路可能在恶性肿瘤发生、发展中起到一定的作用。在哺乳动物中,目前发现 Notch 信号通路存在 Notch-1、Notch-2、Notch-3、Notch-4 4 个受体及 Jag-1、Jag-2 和 DLL-1、DLL-3、DLL-4 5 个配体,其常见的经典下游基因有 Hes-1^[1]。在恶性肿瘤中,Notch 信号通路不同的配体和受体表达具有不同的意义,比如 REEDIJK 等^[2]研究发现,在乳腺癌中高 Notch-1 和 Jag-1 共表达提示患者不良预后;LIN 等^[3]在头颈部肿瘤中亦有类似发现;LEE 等^[4]在非小细胞肺癌中发现 Notch-3 高表达和 T 分期负相关。然而,对 Notch 信号通路相关受体和配体在胃癌中的表达及其临床意义尚不明确。基于此背景,本研究旨在分析 Notch-1、3 及 Hes-1 在胃癌中的表达及其与相关临床病理参数的联系。

1 资料与方法

1.1 临床标本

选取 2014 年 1 月—2016 年 1 月中国人民解放军海军军医大学附属长征医院首次活检病理确诊的胃癌患者 30 例,所有患者术前均未接受新辅助治疗。患者病理分期参照第 7 版美国癌症联合委员会(AJCC)指南,所有患者均签署知情同意书。

1.2 试剂及实验方法

人胃癌标本的处理采取本院病理科标准法处理,免疫组织化学(以下简称免疫组化)染色简述如下:取 4 μm 薄层切片,常规处理后按比例加入一抗[兔抗人 Notch-1 单克隆抗体(ab52627)、兔抗人 Notch-3 多克隆抗体(ab23426)、兔抗人 Hes-1 单克隆抗体购(ab108937)购自美国 Abcam 公司],过夜加入二抗后常规显色,树脂封片后晾干保存。

1.3 数据读取

免疫组化结果分别由 2 位独立的病理科医师完成,取两者均数为最终结果。读数标准如下:取染色良好切片,显微镜 100 倍视野下随机选取 5 个视野。

采用下列方法判断染色结果。将染色强度(0:无染色,1:轻度,2:中度,3:高度)和染色范围(0:1%~10%,1:>10%~25%,2:>25%~50%,3:>50%~75%,4:>75%)两者取乘积,按 0~12 分为 4 个等级,以 0 得 0 分,1~4 得 1 分,5~8 得 2 分,9~12 得 3 分的方法取值。

1.4 统计学方法

数据分析采用 SPSS 18.0 统计软件,计数资料以率(%)表示,比较采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法;相关分析采用 Spearman 法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者一般情况

本研究共纳入 30 例不同分期的胃癌患者。其中,男性 21 例,女性 9 例,男:女约为 2.3:1,符合我国胃癌男性多于女性的特点;年龄 22~85 岁,平均 54.10 岁。

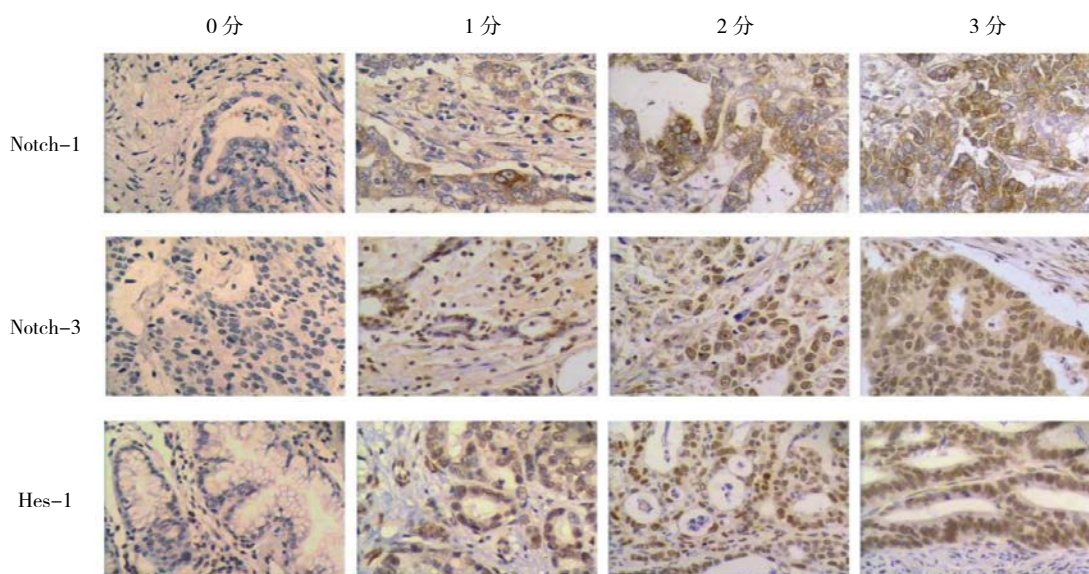
2.2 Notch-1、Notch-3 和 Hes-1 与 TNM 分期的相关性

Notch-1 和 Hes-1 阳性率在不同的 T 分期中差异有统计学意义($P < 0.05$),其中在中晚期患者中较高。Notch-3 的阳性率仅在不同年龄的患者间差异有统计学意义($P < 0.05$),其他临床病理参数比较差异无统计学意义($P > 0.05$)(见附表)。通过进一步相关性分析表明,Notch-1 的表达和 Hes-1 有相关性($r = 0.471, P = 0.009$),而 Notch-1 和 Notch-3 ($r = 0.308, P = 0.097$)、Notch-3 和 Hes-1 ($r = 0.218, P = 0.247$)的表达无相关性。

Notch-1 表达多表现为细胞膜染色,核阳性少见,在胃癌细胞中表达高于周边细胞;Notch-3 在胃癌细胞中多呈核阳性;Hes-1 表达以细胞核阳性为主。见附图。

附表 不同影响因素 Notch-1, Notch-3, Hes-1 表达阳性率的比较 例

影响因素	n	Notch-1			Notch-3			Hes-1		
		阳性例数	χ^2 值	P 值	阳性例数	χ^2 值	P 值	阳性例数	χ^2 值	P 值
性别										
男	21	10	1.267	0.260	13	1.088	1.088	9	1.449	0.427
女	9	7			8			6		
年龄										
≥ 60 岁	9	4	0.233	0.630	3	5.926	0.015	4	0.159	1.000
<60 岁	21	13			18			11		
T 分期										
I、II 期	20	8	4.904	0.027	13	0.179	0.673	7	5.400	0.020
III、IV 期	10	9			8			8		
N 分期										
N ₀ 、N ₁	25	14	1.000		18	0.274	1.000	14	2.288	0.330
N ₂ 、N ₃	5	3			3			1		
M 分期										
M ₀	27	17	5.460	0.070	20	1.930	0.165	15	4.493	0.224
M ₁	3	0			1			0		
TNM 分期										
I、II 期	23	13	0.001	1.000	17	0.689	0.640	13	1.721	0.390
III、IV 期	7	4			4			2		
Lauren 分型										
弥漫型	16	7	2.695	0.288	14	5.367	0.077	8	0.435	1.000
肠型	5	3			2			3		
混合型	9	7			5			4		
分化程度										
低分化	19	8	3.003	0.083	14	0.027	0.869	11	1.292	0.450
中分化	11	9			7			4		



附图 Notch-1、Notch-3 和 Hes-1 在胃癌中的表达 (×100)

3 讨论

本研究结果显示, Notch 信号通路相关受体 Notch-1、Notch-3 及其下游基因 *Hes-1* 在不同分期的胃癌患者中均存在一定表达, Notch-1 和 *Hes-1* 的表达有相关性, 两者在不同的 T 分期中表达均有差异。本研究提示 Notch-1 和 *Hes-1* 在胃癌的发生、发展中可能比 Notch-3 作用更重要, 但未来仍需进一步研究。

既往研究提示, Notch 信号通路的不同的受体和配体均在胃癌中有所表达, 如 DU 等^[5] 通过一项包含 15 项研究的 Meta 分析发现 Notch-1、Notch-2、Notch-3、Jag-1、Jag-2、DLL-4 及 *Hes-1* 在胃癌中高表达, 但部分研究结论并不完全一致。相比其他的受体和配体, Notch-1 在胃癌组织中的表达及其临床意义基本明确。研究显示 Notch-1 在胃癌中高表达, 且和不良预后因素相关, 如 YEH 等^[6] 报道 Notch-1 在胃癌组织中的激活能够促进肿瘤的进展; 李大卫等^[7] 通过免疫组化对比 168 例胃癌和 27 例正常胃黏膜发现, Notch-1 在胃癌组织中表达增加且和肿瘤大小、分化程度、浸润深度、血管侵袭等相关, Notch-1 阳性的患者 3 年生存率低于阴性的患者; SUN 等^[8] 同样发现 Notch-1 在胃癌中高表达, 且和肠型胃癌联系密切; DU 等^[5] 报道尽管 Notch-1 和肿瘤体积、淋巴结侵袭和远处转移等相关, 但却和弥漫型胃癌相联系。综合既往的研究基本可看出, Notch-1 在胃癌中提示不良预后, 在本研究中, Notch-1 和高 T 分期中更倾向于高表达, 这和既往研究结果较为一致, 但在其他病理参数上(如胃癌 Lauren 分型)并未得出有意义结论, 提示未来仍需进一步扩大样本量。

Notch-3 在分子结构上和 Notch-1 并不完全一致, 两者功能不完全重叠。对 Notch-3 在肿瘤中的意义有不少报道, 如在胆囊癌中, LIU 等^[9] 报道, Notch-3 在腺鳞癌及鳞癌中表达较高, 且和小瘤块、TNM 分期较早相关; 但不论是在何种病理类型的胆囊癌中, Notch-3 的高表达都和不良预后相关; 在非小细胞肺癌中, LEE 等^[4] 报道 Notch-3 和高 T 分期呈负相关, 但无预后意义。在胃肠道肿瘤中, SERAFIN 等^[10] 报道 Notch-3 高表达可促进结肠癌细胞增殖; 与之类似, OZAWA 等^[11] 报道 Notch-3 核阳性在 II 期和 III 期结肠癌中和肿瘤复发相关。在胃癌中关于 Notch-3 的报道较少, 结论也极为不一致。如 DU 等^[5] 通过 Meta 分析发现 Notch-3 在胃癌中高表达且和弥漫性胃癌相关; KANG 等^[12] 却发现 Notch-3 在肠型胃癌中高表达且和

良好预后相关。本研究发现, Notch-3 在胃癌中呈现核阳性表达, 但其与相关临床病理参数尚无相关, 提示未来对于 Notch-3 在胃癌中的表达状态及其临床意义仍需要进一步的研究。

HES 和 *HEY* 是 Notch 信号通路经典下游基因, 在恶性肿瘤中, Notch-1 和 *Hes-1* 信号通路常常是调节肿瘤细胞增殖的关键通路(如胶质瘤^[13])。Hes-1 基因对于调控胃肠道正常干细胞具有至关重要的作用^[14], 也是促成消化道肿瘤的关键^[15]。值得注意的是由于 Notch-1 在消化道肿瘤中的高表达, Notch-1 也往往是 *Hes-1* 高表达的主要原因(如胰腺癌^[16]、肠癌^[17]), 尽管在胃癌细胞株中同样发现 Notch-1 可导致 *Hes-1* 高表达^[18], 但在胃癌标本中此类研究较少。本研究中发现 Notch-1 高表达和 *Hes-1* 相关, 和既往研究结论较为一致。

本研究尚存在以下不足, 首先是样本量较小有可能导致结论不准确, 尽管部分结论和既往研究较为一致, 但仍存在不一致之处, 且无法明确解释, 需要进一步扩大样本量。二是本研究纳入患者含所有临床分期, 因不同分期患者后续治疗上无法统一, 即便随访存在部分生存数据, 但因无法排除不同治疗方法等混杂因素, 尚无法分析上述指标和患者最终生存的关系, 需后续进一步研究。

参考文献:

- [1] 张映城, 李勇进, 施俊, 等. Notch 信号通路在胃癌中的研究进展[J]. 世界华人消化杂志, 2015, 23(3): 381-387.
- [2] REEDIJK M, ODORCIC S, CHANG L, et al. High-level coexpression of Jag1 and Notch1 is observed in human breast cancer and is associated with poor overall survival[J]. Cancer Research, 2005, 65(18): 8530-8537.
- [3] LIN J T, CHEN M K, YEH K T, et al. Association of high levels of Jagged-1 and Notch-1 expression with poor prognosis in head and neck cancer[J]. Annals of Surgical Oncology, 2010, 17(11): 2976-2983.
- [4] LEE S M, JUNG C K, KO Y H, et al. Expression of Notch 1 and 3 is related to inhibition of lymph node metastasis and progression in non-small cell lung carcinomas[J]. Basic and Applied Pathology, 2008, 1(2): 93-97.
- [5] DU X, CHENG Z, WANG Y H, et al. Role of Notch signaling pathway in gastric cancer: A meta-analysis of the literature[J]. World Journal of Gastroenterology, 2014, 20(27): 9191-9199.
- [6] YEH T S, WU C W, HSU K W, et al. The activated Notch1 signal pathway is associated with gastric cancer progression through cyclooxygenase-2[J]. Cancer Research, 2009, 69(12): 5039-5048.
- [7] 李大卫, 吴晴, 彭志海, 等. Notch1 和 PTEN 在胃癌组织中的表

- 达及其意义[J]. 癌症, 2007, 26(11): 1183-1187.
- [8] SUN Y, GAO X, LIU J, et al. Differential Notch1 and Notch2 expression and frequent activation of Notch signaling in gastric cancers[J]. Archives of Pathology & Laboratory Medicine, 2011, 135(4): 451-458.
- [9] LIU L, YANG Z L, WANG C, et al. The expression of Notch 1 and Notch 3 in gallbladder cancer and their clinicopathological significance[J]. Pathology & Oncology Research, 2016, 22(3): 483-492.
- [10] SERAFIN V, PERSANO L, MOSERLE L, et al. Notch 3 signalling promotes tumour growth in colorectal cancer[J]. Journal of Pathology, 2011, 224(4): 448-460.
- [11] OZAWA T, KAZAMA S, AKIYOSHI T, et al. Nuclear Notch3 expression is associated with tumor recurrence in patients with stage II and III colorectal cancer[J]. Annals of Surgical Oncology, 2014, 21(8): 2650-2658.
- [12] KANG H, AN H J, SONG J Y, et al. Notch 3 and Jagged 2 contribute to gastric cancer development and to glandular differentiation associated with MUC2 and MUC5AC expression[J]. Histopathology, 2012, , 61(4): 576-586.
- [13] YAO J, ZHENG K, LI C, et al. Interference of Notch1 inhibits the growth of glioma cancer cells by inducing cell autophagy and down-regulation of Notch1-Hes-1 signaling pathway[J]. Medical Oncology, 2015, 32(6): 1-8.
- [14] SIKANDAR S S, PATE K T, ANDERSON S, et al. NOTCH signaling is required for formation and self-renewal of tumor-initiating cells and for repression of secretory cell differentiation in colon cancer[J]. Cancer Research, 2010, 70(4): 1469-1478.
- [15] UEO T, IMAYOSHI I, KOBAYASHI T, et al. The role of Hes genes in intestinal development, homeostasis and tumor formation[J]. Development, 2012, 139(6): 1071-1082.
- [16] WANG Z, ZHANG Y, LI Y, et al. Down-regulation of Notch-1 contributes to cell growth inhibition and apoptosis in pancreatic cancer cells[J]. Molecular Cancer Therapeutics, 2006, 5(3): 483-493.
- [17] MENG R D, SHELTON C C, LI Y M, et al. γ -Secretase inhibitors abrogate oxaliplatin-induced activation of the Notch-1 signaling pathway in colon cancer cells resulting in enhanced chemosensitivity[J]. Cancer Research, 2009, 69(2): 573-582.
- [18] YAO J, QIAN C. Over-activated Notch-1 protects gastric carcinoma BGC-823 cells from TNF α -induced apoptosis[J]. Digestive and Liver Disease, 2009, 41(12): 867-874.

(王荣兵 编辑)