

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2017.17.010

文章编号: 1005-8982(2017)17-0050-04

## RAGE 和 sRAGE 在胃癌中的表达及其临床意义\*

王崑<sup>1</sup>, 胡炜<sup>1</sup>, 苑红<sup>2</sup>, 苑春慧<sup>1</sup>

(1. 辽宁省锦州市中心医院, 辽宁 锦州 121001; 2. 解放军第 302 医院, 北京 100039)

**摘要: 目的** 通过检测胃癌组织晚期糖基化终末产物受体(RAGE)和血清可溶性 RAGE(sRAGE)表达水平,探讨其在胃癌发生过程中的作用及其临床意义。**方法** 为研究胃癌组织 RAGE 表达水平,纳入非糖尿病胃癌患者(I~III期)38 例的病理组织蜡块,10 例癌周组织(癌组织边缘 $\geq 5$  cm)为对照,以免疫组织化学法染色评价胃癌组织 RAGE 表达水平。为检测外周血 sRAGE 表达水平,采集 38 例胃癌患者(I~III期)术前 24 h、术后 7 d 肘静脉血 2 ml,以 30 例健康捐献者外周血为对照,分离血清,以酶联免疫吸附法检测 sRAGE 浓度。**结果** RAGE 在正常组织和胃癌组织均有表达,胃癌组织表达水平更高( $P < 0.05$ ),而与 TNM 分期和病理组织分型无关( $P > 0.05$ )。胃癌患者手术前后血清 sRAGE 表达水平高于健康捐献者( $P < 0.05$ ),术后血清 sRAGE 水平降低( $P < 0.05$ ),但 II、III 期患者术后 sRAGE 水平高于 I 期患者( $P < 0.05$ )。**结论** 胃癌组织 RAGE 表达水平上调,可作为病理组织学辅助诊断指标;胃癌患者血清 sRAGE 水平上调作为术前辅助诊断指标,有一定临床意义。

**关键词:** 胃癌;晚期糖基化终末产物受体;可溶性晚期糖基化终末产物受体

**中图分类号:** R735.2

**文献标识码:** A

### Clinical significance of RAGE and sRAGE expressions in gastric cancer\*

Wei Wang<sup>1</sup>, Wei Hu<sup>1</sup>, Hong Yuan<sup>2</sup>, Chun-hui Yuan<sup>1</sup>

(1. Jinzhou Central Hospital, Jinzhou, Liaoning 121001, China; 2. The 302nd Hospital of PLA, Beijing 100039, China)

**Abstract: Objective** To reveal the clinical significance of the expressions of receptor of advanced glycation end product (RAGE) and soluble RAGE (sRAGE) in gastric cancer and their correlations with tumor differentiation. **Methods** To study the expression of RAGE in gastric carcinoma tissues, the paraffin-embedded cancerous tissues of 38 patients with stage I - III gastric cancer without diabetes mellitus were enrolled in this study and 10 samples of adjacent tissues (distance from the edge of the cancer tissues  $\geq 5$  cm) as control group. RAGE was analyzed by immunohistochemical staining. To detect the concentration of serum sRAGE, peripheral blood of the 38 gastric cancer patients was collected about 24 hours before operation and on the 7th day after surgery, and the peripheral blood of 30 healthy donors was collected as control group. The concentration of serum sRAGE was analyzed by enzyme-linked immunosorbent assay. **Results** RAGE was expressed in the adjacent tissues and the gastric tumor tissues, but higher in the gastric tumor tissues ( $P < 0.05$ ). RAGE was not correlated with TNM stage or pathological type of the cancer ( $P > 0.05$ ). The expression levels of preoperative and postoperative serum sRAGE from the 38 patients with gastric cancer were higher than that from the healthy donors ( $P < 0.05$ ). The sRAGE expression level decreased after radical gastrectomy ( $P < 0.05$ ). After the surgery, compared with the patients with stage II or III gastric cancer, the patients with stage I gastric cancer had a lower expression level of serum sRAGE ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** RAGE expression is up-regulated in gastric tumor tissues, and is helpful to histopathological diagnosis. Serum sRAGE concentration increases in the patients with stage I - III gastric cancer, which expresses a certain clinical

收稿日期:2016-09-14

\* 基金项目:辽宁省锦州市科学技术计划(No:12A1B36)

significance in preoperative tumor screening.

**Keywords:** gastric cancer; RAGE; sRAGE

晚期糖基化终末产物受体 (the receptor for advanced glycation end product, RAGE) 作为一种多配体的跨膜信号转导受体<sup>[1]</sup>, 与神经血管再生、炎症反应、糖尿病并发症等病理过程有关<sup>[2-3]</sup>, 与胃癌等恶性肿瘤分期、病理组织分级、淋巴结转移及远端转移有关<sup>[4]</sup>。可溶性 RAGE (soluble RAGE, sRAGE) 是 RAGE 的抑制性配体, 是一种可靠的炎症生物标志物<sup>[5]</sup>, 在乳腺癌、胰腺癌的某些阶段表达下调<sup>[6-7]</sup>。本研究拟检测胃癌组织 RAGE 表达水平和手术前后血清 sRAGE 表达水平, 探讨 RAGE、sRAGE 用于胃癌诊断的临床意义。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取 2012 年 1 月 -2013 年 12 月在辽宁省锦州市中心医院接受结直肠癌根治术治疗的胃癌 I ~ III 期患者 62 例, 排除 15 例确诊糖尿病和 9 例接受过术前化疗或免疫治疗的患者, 其余 38 例患者纳入本研究。临床分期采用 2010 年第 7 版国际抗癌联盟 TNM 分期标准<sup>[8]</sup>, 组织病理学分级采用 2010 版世界卫生组织消化系统肿瘤组织学分类标准<sup>[9]</sup>。本研究通过本院伦理委员会审核批准, 患者签署知情同意书。

为检测胃癌细胞 RAGE 表达水平, 38 例患者术后胃癌组织送检, 作为 RAGE 胃癌组。胃癌根治术标本, 距癌组织边缘  $\geq 5$  cm, 经病理诊断为正常组织, 共 10 例, 作为 RAGE 对照组。组织样本行苏木精 - 伊红染色和 RAGE 免疫组织化学染色。

检测外周血 sRAGE 表达水平, 38 例胃癌组患者术前 24 h、术后 7 d 行肘静脉采集外周血样本 2 ml, 送辽宁省锦州市中心医院细胞生物医学研究室备检, 作为 sRAGE 胃癌组; 健康体检患者肘静脉采集外周血 2 ml, 排除糖尿病、肿瘤、外伤和感染患者共 30 例, 作为 sRAGE 对照组。

### 1.2 方法

**1.2.1 组织化学染色** 组织化学实验在本院病理科进行。链霉菌抗生物素蛋白 - 过氧化物酶试剂盒购自上海蓝基生物科技有限公司, 羊抗人 RAGE 抗体购自美国 Santa Cruz 公司。病理切片常规脱蜡入水, 0.3% 过氧化氢阻断内源性过氧化物酶, 10% 小牛血清封闭切片, 滴加一抗 (1 : 200), 4℃ 过夜。以磷酸盐

缓冲液洗后滴加二抗, 二氨基联苯胺法显色, 苏木精复染胞核, 脱水, 透明, 封片。用磷酸盐缓冲液置换一抗作为阴性对照; 以细胞质中出现棕黄色颗粒的细胞作为阳性细胞, 每张切片在 200 倍高倍镜下随机观察 5 个视野, 计数 100 个细胞中阳性细胞比例, 判定阳性细胞显色强度, 无色为 0 分, 淡黄色为 1 分, 棕黄色为 2 分, 棕褐色为 3 分, 两者相乘计算免疫组织化学法评分 (immunohistochemical score, IHS), 5 个视野 IHS 评分取平均值, 既得样本的 IHS。

**1.2.2 酶联免疫吸附法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 检测血清 sRAGE 水平** ELISA 法检测在本院细胞生物医学研究室进行。外周血样本在采集后 4℃ 过夜, 3 000 r/min 离心 10 min, 分离血清, 置入 -80℃ 冰箱冷冻保存待测。sRAGE 检测严格按试剂和仪器使用说明书进行操作。主要包括: ①检测样本准备。将 450.0 ng/L 标准品制备成 450.0、300.0、200.0、100.0、50.0、25.0 和 12.5 ng/L 系列标准品检测样本, 将待检血清 5 倍稀释。②设置空白孔 1 孔、各浓度标准品各 2 孔、待检血清 1 孔进行 ELISA 检测。③以标准品浓度 (取 2 孔均值) 为横坐标、光密度 (optical density, OD) 值为纵坐标, 应用 Curve Expert 1.3 绘制标准曲线, 导出 sRAGE 浓度与 OD 值关系的方程式。根据待测样品 OD 值在标准曲线上查出或由关系方程式计算出相应的浓度, 再乘以稀释倍数即为待测样本的实际 sRAGE 浓度 (ng/L)。

### 1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 17.0 统计软件, 计量资料以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 用独立样本 *t* 检验、配对 *t* 检验或方差分析, 计数资料, 以率表示, 用  $\chi^2$  检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 胃癌患者的一般情况比较

RAGE 胃癌组与 RAGE 对照组患者性别、年龄、临床分期、病理学分级等一般情况比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见附表。

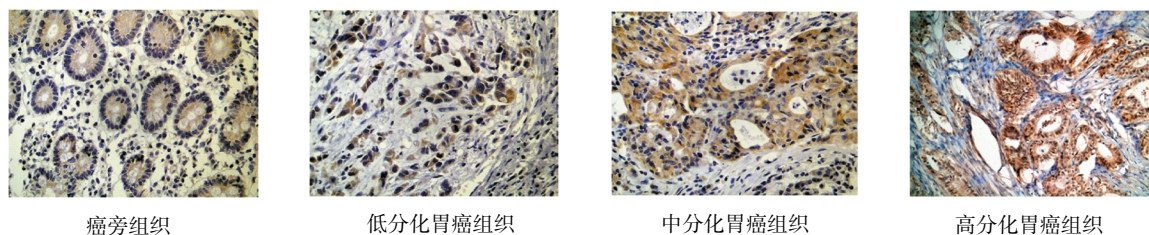
### 2.2 RAGE 在胃癌组织中的表达

RAGE 在癌旁组织和不同分化程度的胃癌组织中都有一定程度的表达 (见附图)。

RAGE 对照组 IHS 为 (0.55  $\pm$  0.17) 分, RAGE 胃

附表 胃癌患者的一般资料

组别	男 / 女 / 例	年龄 / (岁, $\bar{x} \pm s$ )	临床分期 例 (%)			病理学分级 例 (%)		
			I	II	III	低分化	中分化	高分化
RAGE 胃癌组 ( $n=38$ )	28/10	63.76 $\pm$ 8.68	11(28.95)	11(28.95)	16(42.10)	11(28.95)	15(39.47)	12(31.58)
RAGE 对照组 ( $n=10$ )	6/4	62.00 $\pm$ 9.44	3(30.00)	2(20.00)	5(50.00)	4(40.00)	4(40.00)	2(20.00)
$\chi^2/t$ 值	0.208	0.562		0.364			0.690	
$P$ 值	0.648	0.577		0.834			0.708	

附图 胃癌组织 RAGE 的表达 (链霉菌抗生物素蛋白 - 过氧化物酶连接法  $\times 200$ )

癌组 IHS 为(1.33  $\pm$  0.32)分,经  $t$  检验,差异由统计学意义( $t=7.234, P=0.000$ ),胃癌组织 RAGE 表达上调。RAGE 胃癌组中,临床分期 I 期样本 IHS 为(1.19  $\pm$  0.30)分, II 期 IHS 为(1.47  $\pm$  0.40)分, III 期 IHS 为(1.32  $\pm$  0.25)分;3 个临床分期胃癌组织 RAGE 表达水平比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

38 例胃癌组织样本经病理检查,低分化 IHS 为(1.25  $\pm$  0.28)分;中分化 IHS 为(1.40  $\pm$  0.36)分;高分化 IHS 为(1.31  $\pm$  0.32)分,3 个病理分级胃癌组织 RAGE 表达水平比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

### 2.3 sRAGE 在胃癌患者血清中的表达水平

sRAGE 对照组血清 sRAGE 浓度为(149.97  $\pm$  30.12)ng/L, sRAGE 胃癌患者手术前后血清 sRAGE 浓度分别为(395.32  $\pm$  70.43)和(296.61  $\pm$  77.67)ng/L。胃癌患者手术前后血清 sRAGE 浓度分别与 sRAGE 对照组比较,差异有统计学意义( $t=19.351$  和  $10.666$ , 均  $P=0.000$ ),表达水平上调;而术后血清 sRAGE 浓度与术前比较,差异有统计学意义( $t=5.804, P=0.000$ ),术后 sRAGE 表达水平下调。其中,胃癌 I 期患者术前血清 sRAGE 浓度为(413.01  $\pm$  71.05)ng/L,术后为(219.79  $\pm$  67.42)ng/L; II 期患者术前血清 sRAGE 浓度为(367.26  $\pm$  55.07)ng/L,术后为(318.16  $\pm$  53.22)ng/L; III 期患者术前血清 sRAGE 浓度为(402.45  $\pm$  77.37)ng/L,术后为(334.60  $\pm$  61.28)ng/L。胃癌患者经根治术后, I 期患者血清 sRAGE 浓度与 II、III 期患者比较,差异有统计学意义( $t=3.798$  和  $4.594, P=0.001$  和  $0.000$ ), I 期患者血清 sRAGE 浓度表达水平较低。

38 例胃癌患者中,病理组织学诊断低分化胃癌患者术前血清 sRAGE 浓度为(369.71  $\pm$  81.05)ng/L,术后为(281.48  $\pm$  67.42)ng/L;中分化患者术前为(380.06  $\pm$  43.88)ng/L,术后为(312.19  $\pm$  71.18)ng/L;高分化患者术前为(437.88  $\pm$  72.88)ng/L,术后为(334.60  $\pm$  81.74)ng/L。高分化患者术前血清 sRAGE 浓度与低分化、中分化患者比较,差异有统计学意义( $t=2.214$  和  $2.555, P=0.046$  和  $0.017$ ),高分化患者表达水平较高。

### 3 讨论

目前,肿瘤发生、发展过程中配体 RAGE 的作用还存在诸多争议,但越来越多的证据表明, RAGE 在肿瘤微环境形成过程中与促进炎症环境形成有关<sup>[10]</sup>。有证据表明,胃癌组织中 RAGE 表达增高,低分化胃癌尤为显著<sup>[11]</sup>,而且 RAGE 可以作为预测胃癌预后的独立因素,对胃癌的治疗有指导意义<sup>[12]</sup>。胃癌细胞通过自分泌 HMGB1 分子激活 RAGE,促进胃癌细胞增殖<sup>[13]</sup>。但对 RAGE 的抑制性配体 sRAGE 在肿瘤领域的研究还很少。有研究表明,循环 sRAGE 水平降低,增加肿瘤发生的风险<sup>[14]</sup>,血清 sRAGE 水平降低与胰腺癌发生、发展、预后有关<sup>[7,15]</sup>。本研究通过检测胃癌根治术患者肿瘤组织 RAGE 表达水平和手术前后血清 sRAGE 浓度,揭示胃癌组织 RAGE 表达水平、血清 sRAGE 浓度与胃癌临床分期和病理组织分型的关系,以及血清 sRAGE 浓度与胃癌根治术的关联。

本研究发现,正常胃组织和胃癌组织中均有

RAGE 表达,但胃癌组织 RAGE 高表达,与胃癌临床分期和胃癌组织分化程度无关,与 BASTA 等<sup>[11]</sup>的发现并不完全相符。既往研究发现,肿瘤发生、发展过程中均出现血清 sRAGE 浓度降低<sup>[6,15]</sup>,而晚期乳腺癌患者血清 sRAGE 表达上调<sup>[6]</sup>。sRAGE 的产生有 2 种机制,一是由 RAGE mRNA 选择性剪接产生,二是由细胞膜上的 RAGE 经膜表面的金属蛋白酶作用裂解得到的一种异构体<sup>[6]</sup>。本研究发现,胃癌患者手术前后血清 sRAGE 表达水平远高于正常健康捐献者,而术后血清 sRAGE 浓度降低,说明血清 sRAGE 浓度变化受到胃癌根治术的影响,可能在胃癌细胞快速增殖的情况下,血清 sRAGE 的来源主要来自于膜 RAGE 胞外部分脱落。而临床分期 I 期的患者,经胃癌根治术后,无影像学淋巴结转移和远端转移,血清 sRAGE 低于 II、III 期患者也证明该点。因此胃癌组织 RAGE 表达水平上调,可作为病理组织学辅助诊断指标;胃癌患者血清 sRAGE 水平上调,作为术前辅助诊断指标有一定临床意义。

#### 参 考 文 献:

- [1] ROJAS A, GONZÁLEZ I, MORALES E, et al. Diabetes and cancer: looking at the multiligand/RAGE axis[J]. *World J Diabetes*, 2011, 2(7): 108-113.
- [2] ROJAS A, FIGUEROA H, MORALES E, et al. Fueling inflammation at tumor microenvironment: the role of multiligand/RAGE axis[J]. *Carcinogenesis*, 2010, 31: 334-341.
- [3] SINGH V P, BALI A, SINGH N, et al. Advanced glycation end products and diabetic complications[J]. *Korean J Physiol Pharmacol*, 2014, 18: 1-14.
- [4] WANG D, LI T T, YE G T, et al. Overexpression of the receptor for advanced glycation endproducts (RAGE) is associated with poor prognosis in gastric cancer[J]. *PLoS One*, 2015, 10(4): DOI: 10.1371/journal.pone.0122697.
- [5] YILMAZ Y, YONAL O, EREN F, et al. Serum levels of soluble receptor for advanced glycation endproducts (sRAGE) are higher in ulcerative colitis and correlate with disease activity [J]. *J Crohns Colitis*, 2011, 5(5): 402-406.
- [6] TESAROVA P, KALOUSOVA M, JACHYMOVA M, et al. Receptor for advanced glycation end products (RAGE) -soluble form (sRAGE) and gene polymorphisms in patients with breast cancer[J]. *Cancer Invest*, 2007, 25(8): 720-725.
- [7] KRECHLER T, JACHYMOVA M, MESTER O, et al. Soluble advanced glycation end products (sRAGE) and polymorphisms of RAGE and glyoxalase I genes in patients with pancreas cancer[J]. *Clin Biochem*, 2010, 43(10/11): 882-886.
- [8] UICC International Union Against Cancer. TNM classification of malignant tumors [S]. 7 edition. Berlin. Heidelberg. New York, London, Paris, Tokyo: Springer-Verlag, 2009: 1.
- [9] BOSMAN F T, CARNEIRO F, HRUBAN R H, et al. World health organization classification of tumours of the digestive system[M]. Lyon: IARC Press, 2010: 195-334.
- [10] ROJAS A, GONZÁLEZ I, MORALES E, et al. Diabetes and cancer: looking at the multiligand/RAGE axis[J]. *World J Diabetes*, 2011, 2(7): 108-113.
- [11] BASTA G, LAZZERINI G, MASSARO M, et al. Advanced glycation end products activate endothelium through signal-transduction receptor RAGE: a mechanism for amplification of inflammatory responses[J]. *Circulation*, 2002, 105(7): 816-822.
- [12] BONALDI T, TALAMO F, SCAFFIDI P, et al. Monocytic cells hyperacetylate chromatin protein HMGB1 to redirect it towards secretion[J]. *The EMBO Journal*, 2003, 22(20): 5551-5560.
- [13] ZHANG Q Y, WU L Q, ZHANG T, et al. Autophagy-mediated HMGB1 release promotes gastric cancer cell survival via RAGE activation of extracellular signal-regulated kinases 1/2[J]. *Oncology Reports*, 2015, 33: 1630-1638.
- [14] HUANG Q, MI J, WANG X, et al. Genetically lowered concentrations of circulating sRAGE might cause an increased risk of cancer: Meta-analysis using Mendelian randomization [J]. *J Int Med Res*, 2016, 44(2): 179-191.
- [15] WITTEWER C, BOECK S, HEINEMANN V, et al. Soluble receptor of advanced glycation end products (sRAGE) indicates response to chemotherapy in pancreatic cancer patients[J]. *Int J Clin Pharmacol Ther*, 2013, 51(1): 67-69.
- [16] YONEKURA H, YAMAMOTO Y, SAKURAI S, et al. Novel splice variants of the receptor for advanced glycation end-products expressed in human vascular endothelial cells and pericytes, and their putative roles in diabetes-induced vascular injury[J]. *Bio Chem J*, 2003, 370(Pt3): 1097-1109.

(童颖丹 编辑)