

网络出版时间: 2020-6-29 11:28 网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20200629.1110.027.html>

GPR110 在 IA 期肺腺癌不同亚型中表达差异及意义

张 叶^{1,2}, 余科科², 邢 杰², 丁闻洁³, 戎伟芳¹

摘要 目的 探讨 GPR110 在 Ia 期肺腺癌不同病理组织亚型中的表达及其与临床病理特征、预后的关系。方法 选取 90 例 IA 期肺腺癌病例; 其中附壁生长组、腺泡/乳头组、微乳头/实体组各 30 例。采用免疫组织化学技术检测各组中 GPR110 蛋白表达情况。结果 GPR110 的表达与病理亚型具有相关性($P < 0.05$), 与患者年龄、性别、肿块大小无相关性($P > 0.05$)。经 COX 回归分析, 病理亚型对患者 5 年生存率产生影响, 是影响预后的危险因素($P < 0.05$)。结论 GPR110 的高低表达与 IA 期肺腺癌病理亚型密切相关, GPR110 可能是潜在的早期肺腺癌患者术后预防性治疗及危险性预测的新的靶分子。

关键词 GPR110; 肺腺癌; 免疫组化; 病理亚型

中图分类号 R 734.2

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2020)07-1122-04

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2020.07.027

恶性肿瘤严重危害人类健康, 在我国肺癌发病率和死亡率均位居各类肿瘤之首, 其中肺腺癌是肺癌中最常见的组织学类型^[1]。肺叶切除是临床治疗早期肺腺癌的传统方式, IA 期肺腺癌通常无需术后放化疗^[2-3]; 但即使具有相同临床指标, 患者预后也有显著不同。课题组前期研究^[4-5]显示肺腺癌病理亚型是影响 IA 期肺腺癌患者的重要预后因素。

近期, GPR110 多项研究被相继报道。Lee et al^[6]发现 synaptamide 是 GPR110 特异性配体, 可触发诱导发育神经元神经、突触发生。Ma et al^[7]报道: GPR110 在肝细胞肝癌中高表达; 敲除 GPR110 后削弱了肝细胞癌的发生。但 GPR110 在肺腺癌进展中的作用及意义尚不明确。因此, 该研究将分析

GPR110 在 IA 期肺腺癌不同病理组织亚型中表达差异与预后的相关性, 探索一种新的肺腺癌特异性分子标志物。

1 材料与方法

1.1 病例资料 收集 2012 年 1~12 月肺腺癌石蜡标本 90 例, 其中附壁生长型肺腺癌标本(包括原位腺癌、微浸润性腺癌和以附壁生长为主的浸润性腺癌) 30 例、以腺泡/乳头样为主的浸润性腺癌标本 30 例、以微乳头/实体为主的浸润性腺癌标本 30 例, 均取材于上海交通大学附属胸科医院手术切除标本, 术前、术后诊断明确, 所有标本均经两名资深病理医生重新判读、确认其病理组织学亚型。所有标本均为 IA 期肺腺癌, 无远处器官及淋巴结转移; 临床资料完整, 术前均未接受放疗、化疗, 且无其他基础性疾病或急慢性病。同时选取炎症石蜡标本 10 例作为对照。其中男 47 例, 女 43 例; 年龄 31~82 (60.86 ± 8.908) 岁; 肿块大小: < 1 cm 19 例、 $1 \sim 2$ cm 46 例、 > 2 cm 25 例, 见表 1。

表 1 三种亚型临床病理参数(n)

项目	附壁生长组	腺泡/乳头组	微乳头/实体组	χ^2 值	P 值
性别					
女	18	16	9	5.967	0.051
男	12	14	21		
年龄					
≤ 60	14	15	12	0.627	0.731
> 60	16	15	18		
肿块大小(cm)					
< 1	11	6	2	22.311	< 0.001
$1 \sim 2$	16	19	11		
> 2	3	5	17		

1.2 主要实验试剂 GPR110 试剂: ADGRF1/GPR110 Antibody (N-Terminus) IHC-plus™ LS-A2021 购自上海斯信生物科技有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 免疫组织化学 免疫组织化学操作具体步骤如下: ① 切片: 切 3.5 m 石蜡切片, 70℃ 烤箱烤片 1 h; ② 脱蜡: 石蜡切片使用 EZ 脱蜡液 72℃ 脱蜡,

2020-03-24 接收

基金项目: 上海市卫生和计划生育委员会科研课题(编号: 201740131); 上海市胸科医院科技发展基金课题(编号: 2018YNJCM01)

作者单位: ¹ 上海交通大学医学院基础医学院生理学教研室, 上海 200025

上海交通大学附属胸科医院(上海市胸科医院) ² 生物样本库、³ 病理科, 上海 200030

作者简介: 张 叶, 女, 硕士研究生;

戎伟芳, 男, 教授, 博士生导师, 责任作者, E-mail: weifan-grong@shsmu.edu.cn

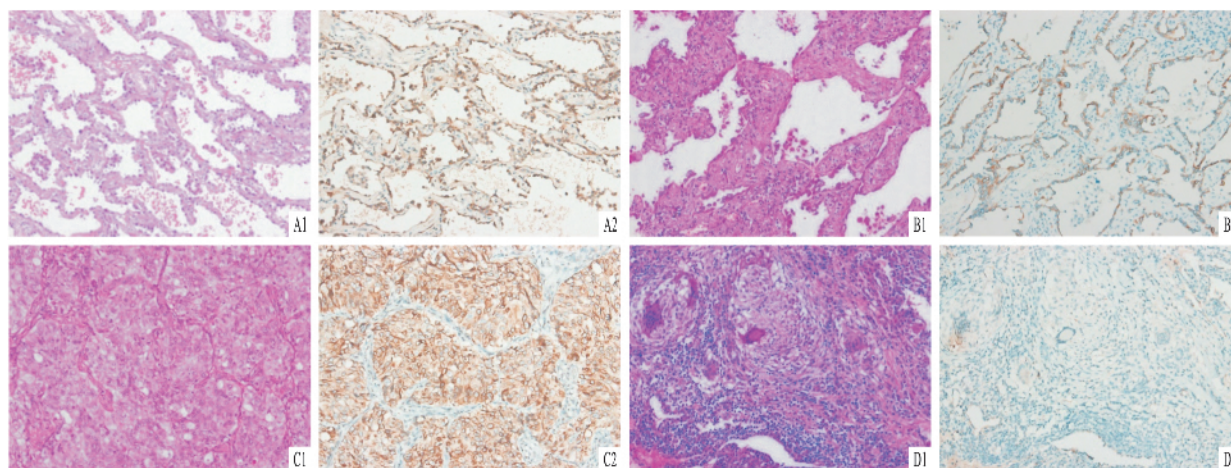


图1 免疫组化法检测 GPR110 在不同病理亚型肺腺癌中的表达 $\times 200$

A: 附壁型; B: 腺泡型; C: 实体型; D: 炎症; 1: 病理切片; 2: GPR110 表达

冲洗液洗3次; ③ 抗原修复: 使用碱性细胞调节液 CC1 95 ℃ 修复 36 min, 冲洗液冲洗3次; ④ 一抗: 36 ℃ 孵育 32 min, 冲洗液冲洗3次; ⑤ 二抗: 使用罗氏 ultra view DAB 试剂盒, 二抗 36 ℃ 孵育 8 min, DAB 在 36 ℃ 显色 8 min, 冲洗液冲洗3次; ⑥ 衬染: 使用 hematoxylin ii 36 ℃ 染色 8 min, 冲洗3次, 返蓝液 Bluing reagent 36 ℃ 染色 4 min, 用冲洗液冲洗3次; ⑦ 洗洁精水溶液浸泡免疫组化片 3 min, 水洗3次, 表面无油渍即可; ⑧ 脱水、透明, 中性树胶封片。

1.3.2 捷达形态学图像分析系统 (JEDA 801D) 处理 GPR110 染色定位在胞膜, 阳性信号的判定标准是胞膜棕黄色或黄色染色显现。在附壁生长组、腺泡/乳头组、微乳头/实体组的肺腺癌标本中, 每组、每位患者的每张免疫组化切片, 任取6个阳性区域, 测量切片的平均光密度值, 统计分析每组 GPR110 表达水平的高低。

1.3.3 随访 所有患者均随访5年, 期间无1例失访, 随访率达100%。通过门诊定期复查或电话联系方式随访患者5年生存情况。

1.4 统计学处理 使用 SPSS 25.0 统计软件进行统计分析。实验数据中计量资料采用单因素方差分析; 两组间比较采用 Mann-Whitney U 检验; 多组间比较采用 Kruskal-Wallis 检验; 计数资料采用卡方检验; 采用 Kaplan-Meier 绘制生存曲线图, 并进行 Log-Rank 检验; 所有检验结果均以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 肺腺癌不同组织亚型中 GPR110 表达水平比

较 在附壁生长组、腺泡/乳头组、微乳头/实体组的肺腺癌组织标本中 GPR110 的表达呈逐渐递增趋势, 炎症对照组未见阳性表达, 见图1, 平均光密度值分别为 (0.484 ± 0.073) 、 (0.500 ± 0.058) 、 (0.542 ± 0.073) , 3种亚型平均光密度经方差分析差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 后经两两比较可知, 附壁生长组与腺泡/乳头组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 附壁生长组与微乳头/实体组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 腺泡/乳头组与微乳头/实体组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

2.2 GPR110 表达与临床相关因素分析 进一步分析3种亚型中 GPR110 表达差异与临床各因素的相关性。分别检验3组中各因素平均光密度值可知: 3种亚型肺腺癌患者性别、年龄、肿块大小均与 GPR110 表达无相关性 ($P > 0.5$) (表2)。

2.3 不同组织亚型肺腺癌患者5年生存率与 GPR110 表达的相关性分析 采用 Kaplan-Meier 绘制3种亚型累积生存曲线分析图 (图2), 并进行

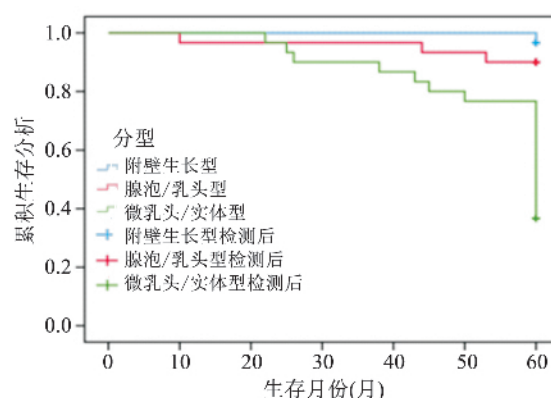


图2 3种亚型累积生存分析

表2 3种亚型 GPR110 表达与临床相关因素分析($\bar{x} \pm s$)

分组	附壁生长组			腺泡/乳头组			微乳头/实体组		
	平均光密度	F 值	P 值	平均光密度	F 值	P 值	平均光密度	F 值	P 值
性别(n)									
女	0.48 ± 0.07	0.147	0.704	0.49 ± 0.06	-0.437	0.662	0.54 ± 0.08	0.083	0.776
男	0.49 ± 0.07			0.51 ± 0.06			0.54 ± 0.07		
年龄(岁)									
≤ 60	0.47 ± 0.07	1.606	0.215 ^a	0.48 ± 0.03	-1.037	0.300 ^b	0.54 ± 0.08	-0.423	0.672 ^b
> 60	0.50 ± 0.07			0.52 ± 0.07			0.54 ± 0.07		
肿块大小(cm)									
< 1	0.48 ± 0.07	0.852	0.438 ^a	0.50 ± 0.06	3.477	0.176 ^c	0.49 ± 0.05	0.865	0.649 ^c
1 ~ 2	0.47 ± 0.07			0.48 ± 0.04			0.55 ± 0.09		
> 2	0.53 ± 0.06			0.57 ± 0.08			0.54 ± 0.07		

a: 方差分析; b: Mann-Whitney U 检验; c: Kruskal-Wallis 检验

Log-Rank 检验, 可知 3 种分型生存曲线比较, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。采用 Cox 比例风险模型分析肺腺癌患者 5 年生存率的可能危险因素, 结果显示: 以微乳头/实体型为参照组, 附壁生长型是微乳头/实体型发生死亡的 0.014 倍; 腺泡/乳头型是微乳头/实体型发生死亡的 0.103 倍。患者 5 年生存率与性别、年龄、分化程度、肿块大小无相关性 ($P > 0.05$); 与组织亚型密切相关, 是肺腺癌患者 5 年生存的危险因素 ($P < 0.05$) (表 3)。

表3 90例肺腺癌患者5年生存危险因素的 COX 回归分析

危险因素	相对危险度(95% CI)	P 值
性别(男/女)	0.979 (0.400 ~ 2.391)	0.962
年龄(≤60 / >60)	0.915 (0.388 ~ 2.159)	0.840
病理分型		
高分化	参照	
低分化	0.237 (0.014 ~ 3.863)	0.312
中分化	0.236 (0.026 ~ 2.149)	0.200
病理亚型		
微乳头/实体型	参照	
附壁生长型	0.014 (0.001 ~ 0.329)	0.008
腺泡/乳头型	0.103 (0.012 ~ 0.845)	0.034
肿块大小(cm)		
> 2	参照	
< 1	1.061 (0.248 ~ 4.532)	0.936
1 ~ 2	0.941 (0.363 ~ 2.437)	0.900

3 讨论

G 蛋白偶联受体(G protein-coupled receptor, GPCR) 是细胞膜上具有 7 次跨膜结构的受体蛋白, 是人体内最大的蛋白质家族。近 40% 的药物是针对 GPCR 的, 靶向这一完整的膜蛋白超家族成员的药物是现代医学的核心。黏附 G 蛋白偶联受体(adhesion G protein-coupled receptor, aGPCR) 是数目第二多的 GPCR 家族, 因胞外含有大量黏附蛋白

中的结构域而被广泛认为和细胞运动及识别等相关, 是胞内外信号连接的桥梁。GPR110 是一种孤儿 G 蛋白偶联受体, 属于 aGPCR 子家族。已有的研究表明多种黏附 G 蛋白偶联受体蛋白在肿瘤中起着重要功能。如 GPR116 促进乳腺癌转移; GPR126 促进结肠癌的发生和发展^[8-10]。Shi et al^[11] 研究发现 GPR110 在胶质瘤中的表达高于正常脑组织, 高表达 GPR110 的胶质瘤患者总体生存率较低, GPR110 在不影响细胞增殖和迁移的前提下, 增强了细胞的侵袭能力。

本研究检测 GPR110 在 IA 期肺腺癌不同病理亚型, 即附壁生长组、腺泡/乳头组、微乳头/实体组中的表达水平, 结果显示 GPR110 在 3 组中的表达差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。炎症对照组中未见阳性表达。该结果与相关的研究^[12-13] 报道一致, 提示 GPR110 可能是肺腺癌的潜在肿瘤标志物, 参与了肺腺癌肿瘤发生、发展及恶性进展过程。同时, 经检验 3 种病理亚型中, 性别、年龄、肿块大小等因素中 GPR110 的表达差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 提示 GPR110 的表达与性别、年龄、肿块大小无相关性。进一步对不同病理亚型肺腺癌患者 5 年生存率随访数据进行多因素方差分析发现: 性别、年龄、分化程度、肿块大小等因素对患者 5 年生存率无影响, 而病理组织亚型是影响肺腺癌患者 5 年生存率的危险因素 ($P < 0.05$); GPR110 表达量较高的微乳头/实体型患者与 GPR110 表达量较低的附壁生长型患者相比, 其累积生存时间差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。

综上所述, GPR110 可能是潜在的早期肺腺癌患者术后预防性治疗及危险性预测的新的靶分子, 通过检测 GPR110 表达, 可初步对早期肺腺癌患者进行筛查并可对 IA 期不同组织亚型肺腺癌患者的

5 年生存率进行预测、评估,对临床诊疗具有辅助、指导作用。本研究结果显示 GPR110 在 IA 期不同病理亚型的肺腺癌中表达差异具有统计学意义,表达量越高,患者预后越差,提示 GPR110 可能参与了不同病理亚型肺腺癌肿瘤的发生、发展过程,并对预后产生影响。但由于研究样本量较小,还需进一步扩大样本量加以验证;同时,因无法定量分析,目前还不能成为提示早期肺腺癌预后的预测指标。另据报道^[13]称,GPR110 分子结构中有两个蛋白结构域可以发生剪切,剪切产物进入血液循环可以被检测到,因此这也是未来的可能研究方向。综上,根据本研究结果,GPR110 可能参与肺腺癌发生发展进程,但其参与的分子机制尚不明确,仍需进一步的深入研究。

参考文献

- [1] Jemal A, Bray F, Center M M, et al. Global cancer statistics [J]. *CA Cancer J Clin*, 2011, 61(2): 69–90.
- [2] 陆舜,虞永峰,纪文翔. 2015 年肺癌诊疗指南: 共识和争议 [J]. *解放军医学杂志*, 2016, 41(1): 1–6.
- [3] Nakamura H, Kawasaki N, Taguchi M. Survival following lobectomy vs limited resection for stage I lung cancer: a meta-analysis [J]. *Br J Cancer*, 2005, 92(6): 1033–7.
- [4] Zhang J, Wu J, Tan Q, et al. Why do pathological IA lung adenocarcinomas vary from prognosis?: a clinicopathologic study of 176 patients with pathological stage IA lung adenocarcinoma based on the IASLC/ATS/ERS classification [J]. *J Thorac Oncol*, 2013, 8(9): 1196–202.
- [5] Zhang J, Shao J C, Zhu L, et al. Molecular profiling identifies prognostic markers of stage IA lung adenocarcinoma [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(43): 74846–55.
- [6] Lee J W, Huang B X, Kwon H S, et al. Orphan GPR110 (ADGRF1) targeted by N-docosahexaenylethanolamine in development of neurons and cognitive function [J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 13123.
- [7] Ma B, Zhu J, Tan J, et al. Gpr110 deficiency decelerates carcinogen-induced hepatocarcinogenesis via activation of the IL-6/STAT3 pathway [J]. *Am J Cancer Res*, 2017, 7(3): 433–47.
- [8] Bjarnadottir T K, Gelrardsdottir K, Ingemansson M, et al. Identification of novel splice variants of adhesion G protein-coupled receptors [J]. *Gene*, 2007, 387(1–2): 38–48.
- [9] Tang X, Jin R, Qu G, et al. GPR116, an adhesion G-protein-coupled receptor, promotes breast cancer metastasis via the Gαq-p63RhoGEF-Rho GTPase pathway [J]. *Cancer Res*, 2013, 73(20): 6206–18.
- [10] 崔恒祥. 黏附家族 G 蛋白偶联受体 GPR126 在血管新生及结肠癌发生发展中的功能和机理研究 [D]. 上海: 华东师范大学, 2011.
- [11] Shi H, Zhang S. Expression and prognostic role of orphan receptor GPR110 in glioma [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 491(2): 349–54.
- [12] Espinal-Enriquez J, Munoz-Montero S, Imaz-Rosshandler I, et al. Genome-wide expression analysis suggests a crucial role of dysregulation of matrix metalloproteinases pathway in undifferentiated thyroid carcinoma [J]. *BMC Genomics*, 2015, 16: 207.
- [13] Lum A M, Wang B B, Beck-Engeser G B, et al. Orphan receptor GPR110, an oncogene overexpressed in lung and prostate cancer [J]. *BMC Cancer*, 2010, 10: 40.

Expression and significance of GPR110 in different subtypes of stage IA lung adenocarcinoma

Zhang Ye^{1,2}, Yu Keke², Xing Jie², et al

(¹Dept of Physiology, Basic Medical College, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200025; ²Dept of Biobank, Shanghai Chest Hospital, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200030)

Abstract Objective To investigate the expression of GPR110 in different pathological subtypes of stage IA lung adenocarcinoma and its relationship with clinicopathological features and prognosis. **Methods** 90 cases of stage IA lung adenocarcinoma were selected. There were 30 cases each in the wall growth group, the acinar/nipple group and the micronipple/solid group. Immunohistochemistry was used to detect the expression of GPR110 protein in each group. **Results** The expression of GPR110 was correlated with the pathological subtype ($P < 0.05$), but not with the patients' age, gender and tumor size ($P > 0.05$). COX regression analysis showed that pathological subtype had an impact on the 5-year survival rate of patients. It was a risk factor for prognosis ($P < 0.05$). **Conclusion** The high and low expression of GPR110 is closely related to the pathological subtype of stage IA lung adenocarcinoma, which may be a new biomarker for the potential prevention and risk prediction of early lung adenocarcinoma patients after surgery operation.

Key words GPR110; lung adenocarcinoma; immunohistochemistry; pathological subtypes