

# NET-1 在结肠癌中的表达、临床意义和预后分析

杨永江<sup>1</sup> 武雪亮<sup>2</sup> 屈明<sup>2</sup> 李曙光<sup>1</sup> 薛军<sup>2</sup>

**摘要** 目的 探讨新四极体-1 (NET-1) 在结肠癌中的表达、临床意义及预后分析。方法 收集 50 例结肠癌组织和 50 例癌旁正常组织,应用逆转录聚合酶链反应法 (RT-PCR) 和 Western blot 检测两组中 NET-1 mRNA 和蛋白质的表达情况,并应用免疫组化法 (SP) 检测 NET-1 在两组中的表达,分析 NET-1 在结肠肿瘤发生、发展中的作用,并随访、分析 NET-1 的表达与结肠癌患者生存的相关性。结果 RT-PCR 结果显示 NET-1 mRNA 在结肠癌和癌旁正常组织中的表达水平分别为  $(0.95 \pm 0.07)$  和  $(0.26 \pm 0.04)$ , 差异有统计学意义 ( $P=0.005$ ); Western blot 结果显示: NET-1 蛋白在结肠癌和癌旁正常组织中的表达水平分别为  $(0.83 \pm 0.09)$  ( $0.22 \pm 0.03$ ), 差异有统计学意义 ( $P=0.003$ ); SP 法结果表明 NET-1 蛋白在结肠癌和癌旁正常组织中的阳性表达分别为 64.00% (32/50) 和 36.00% (18/50), 差异有统计学意义 ( $P<0.001$ ); NET-1 与肿瘤的 TNM 分期、脉管浸润、淋巴结转移及肝转移等病理参数密切相关; NET-1 阳性组的中位生存时间为 299 d (95% CI: 230.07 ~ 303.93), 阴性组的中位生存时间为 387 d (95% CI: 279.16 ~ 335.82), 差异有统计学意义 ( $P=0.031$ )。NET-1 表达水平与结肠癌患者预后明显相关 ( $RR=2.092$   $P=0.002$ )。结论 NET-1 的异常表达在结肠癌病变的发生、发展中具有重要作用,且与患者的生存期亦明显相关,是结肠癌潜在的生物学指标。

**关键词** NET-1; 结肠癌; 逆转录聚合酶链反应; 蛋白质印迹; 免疫组化; 临床意义; 预后

中图分类号 R 735.1

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2019)06-0963-05  
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2019.06.027

据最新流行病学调查显示,2014 年我国居民结肠直肠癌发病例数继肺癌、胃癌之后位居第三,死亡例数继肺癌、肝癌、胃癌、食管癌之后位居第五,严重威

胁国民健康安全。在经济发展迅速的今天,该病在我国的发病率反而呈上升趋势,并且近来有年轻化的趋势<sup>[1-2]</sup>。新四极体-1 (new EST tetraspan numbered 1, NET-1) 是近年来发现的一种致癌基因,与肿瘤细胞的增殖、浸润、迁移和转移密切相关。研究<sup>[3-5]</sup>证实,NET-1 在子宫内膜癌、肺癌、胃癌等诸多恶性肿瘤中均呈高表达状态,而在结肠癌中的相关研究尚未见报道。该研究应用 RT-PCR、Western blot、免疫组化法 (immuno-histochemical staining, SP) 从基因、蛋白水平分析 NET-1 在结肠癌组织中的表达情况及与相关临床病理特征的关系,为结肠癌的早期诊断、治疗和预后监测提供可靠的分子生物学指标。

## 1 材料与方法

**1.1 病例资料** 收集 2012 年 1 月 ~ 2013 年 10 月河北北方学院附属第一医院胃肠肿瘤外科手术切除的原发性结肠癌和癌旁正常组织标本各 50 例,材料来自于病理标本被证实的癌灶中心的癌细胞组织,另取标本残端切缘经病理证实为正常结肠组织,所有病例均为原发肿瘤,且术前未行新辅助放化疗等治疗。

## 1.2 主要试剂与实验方法

**1.2.1 主要试剂** 兔抗人浓缩型 NET-1 单克隆抗体、免疫组化试剂盒、DAB 显色试剂盒购自北京中杉公司, RM-2245 组织切片机构自德国 LEICA 公司, Odyssey 双色红外荧光成像仪购自美国 LI-COR 公司, TRIzol 裂解液购自南京 KeyGentrans 公司, DEPC 水购自美国 sima 公司, RNA 逆转录试剂盒购自加拿大 Fermentas, 引物及产物测序购自长沙达尔锋生物科技有限公司, 荧光定量 PCR 仪购自郑州南北仪器设备有限公司。

**1.2.2 RT-PCR 法** 提取总 RNA 浓度, 设计 NET-1 上游引物: 5'-CTCTCCAGCCCAGTCTCACA-3' 下游引物: 5'-CCCTCACACTCTTCGTGCAG-3'; Beta-Actin 上游引物: 5'-GTCCACCTTCCAGCAGATGT-3', 下游引物: 5'-CTGTCACCTTCCACCGTTCCA-3'; 反应体系: 1 × PCR Buffer 2.5 μl, dNTP 0.5 μl, cDNA 模板 2 μl,

2019-02-28 接收

基金项目: 河北省临床医学优秀人才培养研究项目 (编号: 361009);  
河北省医学科学重点课题计划 (编号: 20160364)

作者单位: 河北北方学院附属第一医院<sup>1</sup> 胃肠肿瘤外科,<sup>2</sup> 血管腺体外科, 张家口 075000

作者简介: 杨永江 男, 硕士, 主治医师;

屈明 男, 副教授, 主任医师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: jianjian99905@163.com;

李曙光 男, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: shuguangli6688@126.com

Taq 酶 1.25 U ,上下游引物各 1 μl ,RNA 酶抑制剂 1 μl ,反应总体积 25 μl .扩增条件:95 °C 预变性 30 s ; 95 °C 变性 5 s ,58 °C 退火 30 s ,72 °C 延伸 15 s ,40 个循环。2% 琼脂糖凝胶后电泳分离 ,紫外线灯下观察。

1.2.3 Western blot 法 提取 50 mg 蛋白 ,置入 5 × 缓冲液(4 : 1) ,电泳 转至 PVDF 膜 ,加 5% 脱脂奶粉封闭 ,滴加特异性一抗 , -4 °C 孵育过夜 ,加 TBST 洗涤液 ,滴加特异性二抗 ,37 °C 孵育 1 h ,再次加入 TBST 洗涤液 ,荧光成像检测定量分析 ,计算目的蛋白相对表达量。

1.2.4 SP 法 10% 的甲醛溶液固定 ,石蜡包埋 ,切片厚度 4 μm ,苏木精 - 伊红染色 ,病理诊断。80 °C 烤箱烘烤 30 min ,脱水 ,内源性过氧化物酶灭活 ,高温高压水化修复 ;加入一抗 (1 : 100) 50 μl ,4 °C 一夜 ;加入二抗 50 μl ,DAB 显色 ,苏木精轻度复染 ,盐酸乙醇分化 ,梯度乙醇脱水 (70% ~ 90% ~ 100%) ,松节油透明和树胶行封片处理 ,PBS 代替一抗作为阴性对照 ,光镜下观察。

1.2.5 结果判定 按染色强度 :无着色为 0 分 ,淡黄为 1 分 ,深黄 2 分 ,棕褐或棕黄 3 分 ;阳性细胞计数 : <10% 为 0 分 ,10% ~ 25% 为 1 分 ,26% ~ 50% 为 2 分 ,51% ~ 75% 为 3 分 ,≥76% 为 4 分。两者相加 <2 分为阴性 (-) ,2 ~ 3 分为弱阳性 (+) ,4 ~ 5 分为中等强度阳性 (++) ,6 ~ 7 分为强阳性 (+++) ,由两名具备高级职称的病理医师经双盲法独立评分。

1.2.6 随访 定期复查、电话随访 ,末次随访时间为 2017 年 12 月 31 日 ,中位随访时间为 50 个月。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 17.0 软件进行统计分析 ,计数资料以百分率表示 ,比较采用  $\chi^2$  检验 ,计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示 ,比较采用  $t$  检验 ,应用 Kaplan-Meier 法绘制生存曲线 ,通过 Cox 回归模型分析结肠癌患者预后独立因素 , $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 RT-PCR 检测 NET-1mRNA 的表达 以 NET-1/Beta-Actin 比值作为 RT-PCR 定量分析 ,癌组织中 NET-1mRNA 的表达水平 ( $0.95 \pm 0.07$ ) ,结肠正常组织为 ( $0.26 \pm 0.04$ ) ,差异有统计学意义 ( $t = 3.890 , P = 0.005$ ) ,见图 1。

2.2 Western blot 检测 NET-1 蛋白的表达 以 NET-1/Beta-Actin 比值作为 NET-1 相对表达量 ,癌组织和正常组织中 NET-1 蛋白的表达水平差异有

统计学意义 ( $t = 4.010 , P = 0.003$ ) ,见图 2。

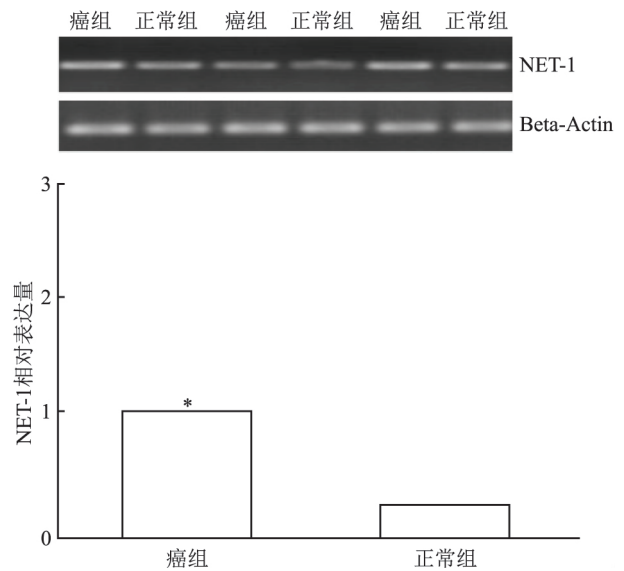


图 1 RT-PCR 检测 NET-1 在癌和癌旁正常组织中的表达与正常组比较 : \*  $P < 0.05$

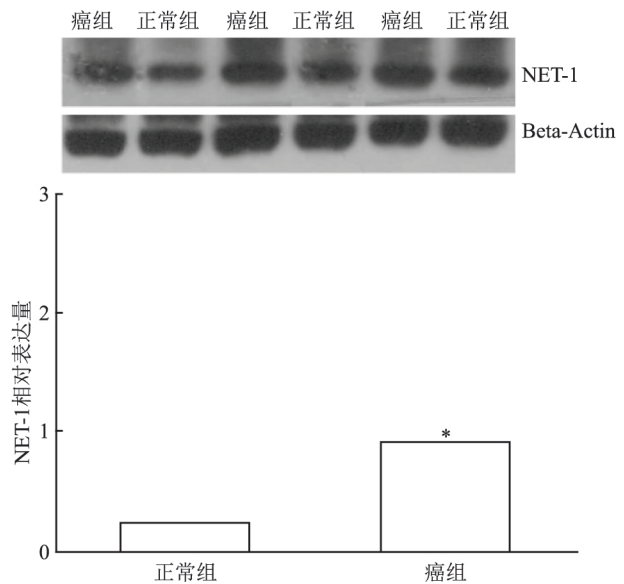


图 2 Western blot 检测 NET-1 在癌和癌旁正常组织中的表达与正常组比较 : \*  $P < 0.05$

2.3 SP 检测 NET-1 蛋白的表达 结肠癌组织中 NET-1 的阳性表达率为 64.00% (32/50) 明显高于在正常组织中的表达 36.00% (18/50) ,差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 9.392 , P < 0.001$ ) ,见图 3。

2.4 NET-1 表达与临床病理参数的关系 NET-1 的表达与肿瘤的 TNM 分期、淋巴结转移、肝转移、脉管浸润等相关  $P$  均  $< 0.05$ 。分期越高、伴淋巴结转移、肝转移和脉管浸润的患者 NET-1 的表达均明显增强 ,见表 1。

表 1 结肠癌组织中 NET-1 的表达与临床病理参数的关系

病理参数	n	NET-1			χ <sup>2</sup> 值	P 值
		阴性(n)	阳性(n)	阳性率(%)		
肿瘤大小(cm)					0.299	0.591
≥5	29	10	19	65.51		
<5	21	8	13	61.90		
分化程度					0.279	0.618
高	11	5	6	54.54		
中	24	8	16	66.67		
低	15	5	10	66.67		
TNM 分期					11.280	0.000
I + II	11	7	4	36.36		
III + IV	39	11	28	71.79		
淋巴结转移					10.958	0.000
有	29	5	24	82.76		
无	21	13	8	38.10		
肝转移					11.270	0.000
有	12	0	12	100.00		
无	38	18	20	52.63		
脉管浸润					10.755	0.000
有	23	2	21	91.30		
无	27	16	11	40.74		

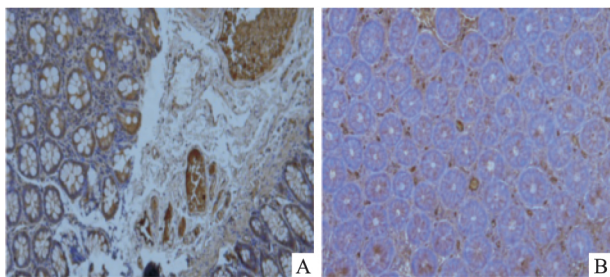


图 3 癌旁正常组织和癌组织中 NET-1 的表达 SP × 100  
A: 正常组织; B: 癌组织

2.5 生存分析 NET-1 阳性组的中位生存时间为 299 d (95% CI: 230.07 ~ 303.93), 阴性组的中位生存时间为 387 d (95% CI: 279.16 ~ 335.82), 差异有统计学意义 (P = 0.031), 生存曲线如图 4。

2.6 Cox 回归分析 Cox 回归模型分析显示, NET-1 表达水平 (P = 0.002)、脉管浸润 (P = 0.001)、是否存在转移 (P < 0.001) 和 TNM 分期 (P < 0.001) 均是影响结肠癌患者预后的独立因素, 见表 2。

表 2 结肠癌患者预后 Cox 多因素回归分析

项目	回归系数	标准差	RR	95% CI	P 值
NET-1	0.737	0.241	2.092	1.302 ~ 3.355	0.002
脉管浸润	1.130	0.343	3.008	1.625 ~ 5.887	0.001
是否存在转移	0.947	0.259	2.581	1.553 ~ 4.289	<0.001
TNM 分期	0.935	0.256	2.536	1.531 ~ 4.214	<0.001

### 3 讨论

NET-1 基因是研究较热的一种致癌基因, 系四

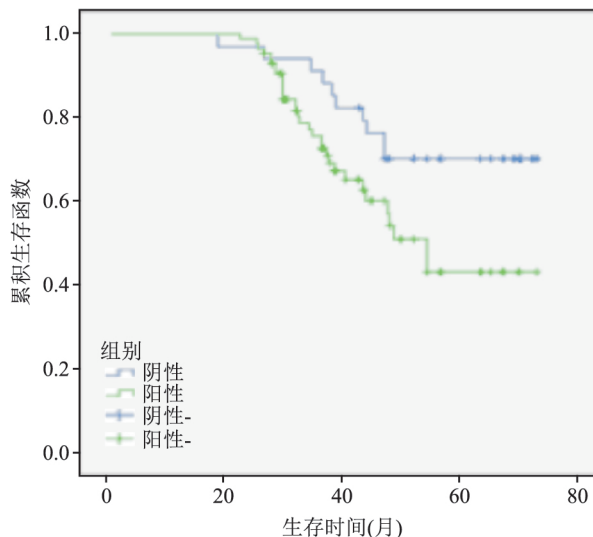


图 4 结肠癌患者 NET-1 表达水平与生存期相关性

聚体超家族 (tetramer superfamily, TM4SF) 的成员之一。NET-1 基因定位于人染色体 1p34.1, 其 mRNA 全长为 1 297 bp, 编码蛋白质序列长为 128 ~ 853 bp, 内含 241 个氨基酸的开放阅读框, 具有典型的 TM4SF 结构特征<sup>[6]</sup>。NET-1 基因表达广泛, 几乎表达于人类所有组织及相应肿瘤细胞, 通过与跨膜结构区域的半胱氨酸残基特异性结合, 从而介导信号向胞外转导, 参与肿瘤发生、进展的各个环节<sup>[7]</sup>。

NET-1 的发现主要是在基因芯片技术发展的基础上开始被揭示的, 随着基因芯片技术的发展, 在之后的研究中发现, NET-1、复制因子 C 亚单位 2 等因子在鼻咽癌组织中检测到相对于正常组织中较高的表达水平, 差异明显。并且在重复测量后也得到相同的结果, 提示 NET-1 的表达可作为鼻咽癌发生、发展的生物学标志物<sup>[8-9]</sup>。进一步研究发现该基因的表达水平与皮肤鳞癌的病理分型之间存在关联, 在一级和三级中的表达存在明显差异, 因而证实 NET-1 的表达水平与皮肤鳞癌的恶性程度、浸润和侵袭能力呈一定正相关<sup>[10]</sup>。

目前, 对于 NET-1 在肝癌和子宫内膜癌中的研究较多, Wang et al<sup>[11]</sup> 研究证实 NET-1 通过激活细胞外信号调节激酶 (extracellular signal-regulated kinase, ERK) 使 p27 蛋白发生泛素化、磷酸化、降解, 从而导致细胞周期调控紊乱, 同时将多种细胞外信号逐级传递至细胞核, 促进细胞增殖和浸润。Wu et al<sup>[12]</sup> 在镜下发现 NET-1 在弥漫浸润的癌细胞及脉管癌栓内呈高表达, 其水平与癌细胞的病理分级、临床分期和死亡风险呈正显著相关, 因而推测 NET-1 是影响肝癌预后的重要因素。宋晓花等<sup>[13]</sup> 通

通过对正常子宫内膜、增生及子宫内膜癌组织性免疫组化检测发现 ,NET-1 在癌组织中的表达明显高于正常子宫内膜和良性增生组织 ,且 NET-1 的表达与病变的病理分级、病变分期及转移程度等均明显相关 ,提示 NET-1 是子宫内膜癌早期诊断、预后评估的重要指标。

本项研究从基因和蛋白两方面均证实 ,NET-1 mRNA 和蛋白在结肠癌组织中的表达均明显高于癌旁正常组织 ,表明 NET-1 的异常表达能促进结肠癌变的发生和发展 ,且 NET-1 表达越高 ,其对周围组织器官的侵袭能力越强 ,肝转移、淋巴结和血行转移风险越大 ,TNM 分期越晚; 进一步研究显示 NET-1 与结肠癌患者的生存期相关 ,NET-1 表达越高 ,其生存期越短 ,预后越差 ,NET-1 的表达是结肠癌患者预后的重要危险因素。因而 ,NET-1 检测可作为结肠癌患者预后的重要生物学指标。

综上 ,NET-1 的异常表达参与了结肠癌的发生和进展过程 ,且与结肠癌患者的预后相关 ,但目前对其具体的致癌机制及相关通路的研究尚不明确 ,这也将是本课题下一步的研究方向。

### 参考文献

[1] Pardamean B ,Baurley J W ,Pardamean C I , et al. Changing colorectal cancer trends in Asians[J]. Int J Colorectal Dis ,2016 ,31 ( 8) : 1537 - 8.

[2] 冯雅靖 ,王 宁 ,方利文 ,等. 1990 年与 2013 年中国人群结直肠癌疾病负担分析[J]. 中华流行病学杂志 2016 ,37( 6) : 768

- 72.

[3] 宋 曙 ,费嘉鸿 ,卞伟钢 ,等. 非小细胞肺癌组织中 PGSK-3β、TCF4、NET-1 的表达及意义[J]. 山东医药 2014 ,54( 29) : 30 - 1.

[4] 栗一帆 ,王晓娟 ,马晋峰 ,等. 胃腺癌组织中 NET-1、FHT1 及 Ki-67 的表达及其临床意义[J]. 中国肿瘤外科杂志 2013 ,5( 1) : 26 - 8.

[5] 叶蕴瑶 ,陈 莉 ,王桂兰 ,等. 肝细胞肝癌中神经上皮细胞转化基因 1 及皮质肌动蛋白表达及其意义[J]. 江苏医药 2015 ,41 ( 17) : 2009 - 13.

[6] Hou F Q ,Lei X F ,Yao J L , et al. Tetraspanin 1 is involved in survival proliferation and carcinogenesis of pancreatic cancer[J]. Oncol Rep 2015 ,34( 6) : 3068 - 76.

[7] 郭 飞 ,林 杨 ,张鹏程 ,等. 结直肠癌组织中 CEACAM-1、NET-1 的表达变化及其意义[J]. 山东医药 2018 ,58( 23) : 48 - 50.

[8] 顾婷婷 ,陈 莉. 肿瘤相关基因 NET-1 的研究进展[J]. 现代肿瘤医学 2016 ,24( 12) : 1999 - 2001.

[9] 陈静静 ,陈建民 ,孙 泉. 多肿瘤标志物蛋白芯片检测系统在直结肠癌诊断中的临床意义[J]. 现代免疫学 2016( 4) : 319 - 22.

[10] 吴彩兰. 四种肿瘤标记物在直结肠癌诊断中的临床应用[J]. 中国临床研究 2009 ,22( 2) : 192 - 3.

[11] Wang ,G L ,Chen i ,Wei Y Z , et al. The effect of NET-1 on the proliferation , migration and endocytosis of the SMMC-7721 HCC cell line[J]. Oncol Rep 2012 ,27( 6) : 1944 - 52.

[12] Wu Y Y ,Chen L ,Wang G L , et al. Inhibition of hepatocellular carcinoma growth and angiogenesis by dual silencing of NET-1 and VEGF[J]. J Mol Histol 2013 ,44( 4) : 433 - 45.

[13] 宋晓花 ,耿佃忠 ,尹洪花 ,等. NET-1 在子宫内膜癌中的表达及意义[J]. 中国医师杂志 2012 ,14( 1) : 27 - 33.

## Expression ,clinical significance and prognosis of NET - 1 in colon cancer

Yang Yongjiang<sup>1</sup> ,Wu Xueliang<sup>2</sup> ,Qu Ming<sup>2</sup> , et al

(<sup>1</sup>Dept of Gastroenteral Tumor Surgery ,<sup>2</sup>Dept of Vascular Gland ,

The First Affiliated Hospital of Hebei North University ,Zhangjiakou 075000)

**Abstract Objective** To study the expression of inhibitors of NET-1 in human colorectal adenocarcinoma tissues and explore their correlation between the expression of NET-1 and clinical prognosis. **Methods** 50 cases of colorectal adenocarcinoma tissues and 50 cases of normal eolorectal tissues were selected. Reverse-transcription polymerase chain reaction and Western blot were used to detect the expression level of NET-1 mRNA and protein. Meanwhile , NET-1 protein was detected by immunohistochemistry in order to analyze the role in the development and development of colorectal tumor. By follow-up ,the correlation between the expression of NET-1 and survival time was analyzed. **Results** The expression level of NET-1 mRNA in colorectal adenocarcinoma tissues and normal colorectal tissues was( 0. 95 ± 0. 07) and( 0. 26 ± 0. 04) ,and there was significant difference( P = 0. 000) . The expression of NET-1 protein in colorectal adenocarcinoma tissues and normal colorectal tissues were( 0. 83 ± 0. 09) and( 0. 22 ± 0. 03) ,and there was significant difference( P = 0. 000) . The positive expression rate of NET-1 protein in colorectal 4 6 adenocarcinoma tissues ( 64. 00%) was higher than that ( 36. 00%) in normal colorectal tissues ( P = 0. 000) .

# TP53/EGFR 基因共突变对 肺腺癌患者 EGFR-TKIs 疗效的影响

张乾坤 郝吉庆

**摘要** 目的 探讨 TP53/EGFR 基因共突变对肺腺癌(LUAD)患者表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂(EGFR-TKIs)疗效的影响。方法 回顾性分析 TP53/EGFR 基因共突变晚期 LUAD 患者临床病理资料,分析其临床特征与 TP53/EGFR 基因突变的关系,并进行生存分析。采用多因素 Cox 回归模型分析 TP53/EGFR 基因共突变与 EGFR-TKIs 疗效及预后关系。结果 100 例 LUAD 患者中,TP53/EGFR 基因共突变 44 例,突变率 44.0%(44/100)。一线接受 EGFR-TKIs 治疗单纯表皮生长因子受体(EGFR)基因突变 LUAD 患者的无进展生存时间(PFS)较 TP53/EGFR 基因共突变 LUAD 患者显著延长( $P < 0.05$ )。单纯 EGFR 基因突变 LUAD 患者的 EGFR-TKIs 客观缓解率(ORR)和疾病控制率(DCR)高于 TP53/EGFR 基因共突变 LUAD 患者。结论 TP53 基因突变与 EGFR 基因突变的 LUAD 患者使用 EGFR-TKIs 的疗效有一定相关性。

**关键词** EGFR; TP53; EGFR-TKIs; 疗效

**中图分类号** R 730.53

**文献标志码** A 文章编号 1000-1492(2019)06-0967-05  
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2019.06.028

在全球范围内,肺癌是发病率及死亡率较高的一种恶性肿瘤<sup>[1]</sup>,其中非小细胞肺癌占肺癌的 80%

2019-04-16 接收

基金项目:安徽省 2018 年度重点研究与开发计划项目(编号:1804h08020240)

作者单位:安徽医科大学第一附属医院肿瘤内科,合肥 230022

作者简介:张乾坤,男,硕士研究生;

郝吉庆,女,副教授,主任医师,博士生导师,责任作者,E-mail: ayfy\_hjq@163.com

~85%,目前,在非小细胞肺癌的治疗模式中对于驱动基因的研究越来越普遍。多项临床研究<sup>[2]</sup>显示,与传统的含铂两药联合方案相比,在客观缓解率(objective response rate, ORR)和无进展生存时间(progression-free survival, PFS)等方面,第一代表表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂(epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitors, EGFR-TKIs)一线治疗表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)基因突变型晚期肺腺癌(lung adenocarcinoma, LUAD)具有显著优势。然而,最新研究<sup>[3]</sup>显示,约 20%~30% EGFR 基因突变型的患者会对 EGFR-TKIs 产生原发性耐药。因此,如何选择相关分子生物标志物来预测 EGFR-TKIs 疗效并指导后续治疗显得尤为重要。该研究主要通过检测 EGFR 基因突变型晚期 LUAD 患者组织中 TP53 基因的表达,分析 TP53 基因在 EGFR 基因突变型晚期 LUAD 患者中的表达及临床特征的关系,并探讨其对 EGFR-TKIs 疗效的影响。

## 1 材料与方法

**1.1 病例资料** 回顾性分析安徽医科大学第一附属医院、安徽省第二人民医院、安徽省胸科医院 2017 年 1 月~2018 年 8 月期间 100 例一线接受一代 EGFR-TKIs(如厄洛替尼、吉非替尼或埃克替尼)治疗晚期 LUAD 患者的临床住院病历资料。纳入标准:①所有患者均经组织学、细胞学确诊为腺癌,同时为 III B 期~IV 期或手术后复发的患者;②患者确诊

Expression of NET-1 was correlated with TNM stage, lymph node metastasis, vessel invasion, and liver metastasis ( $P < 0.05$ ). The median survival time in positive group and negative group were 299 days (95% CI: 230.07 ~ 303.93) and 387 days (95% CI: 279.16 ~ 335.82),  $P = 0.031$ . The expression of NET-1 was obviously correlated with the prognosis of colorectal cancer tissues ( $RR = 2.092$ ,  $P = 0.002$ ). **Conclusion** NET-1 plays an important role in the occurrence and development of colorectal cancer and is also significantly associated with the survival time, so it is a potential biological indicator of colorectal cancer.

**Key words** NET-1; colorectal neoplasms; RT-PCR; Western blot; immunohistochemistry; clinical significance; prognostic