

• 临床研究 •

非小细胞肺癌癌组织中 IFITM1 与 ETAR 的表达
及与临床病理参数和预后的关系

梁亦贤, 章喜林

【摘要】目的 探讨非小细胞肺癌(NSCLC)癌组织中干扰素诱导跨膜蛋白-1(IFITM1)与内皮素 A 受体(ETAR)的表达及与临床病理参数和预后的关系。**方法** 收集 2021 年 3 月至 2023 年 3 月湖州市第一人民医院收治的 NSCLC 患者 60 例,采用实时定量逆转录 PCR 法检测患者癌组织和癌旁组织中 IFITM1 和 ETAR 蛋白及 mRNA 水平,并分析其与临床病理参数和预后的关系。**结果** 癌组织 IFITM1 蛋白和 mRNA 水平均较癌旁组织高(均 $P < 0.05$)。不同分化程度、TNM 分期和淋巴转移患者 IFITM1 mRNA 表达水平差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。低 IFITM1 水平组无病生存率高于高 IFITM1 水平组($P < 0.05$)。TNM 分期Ⅲ期、高 IFITM1 mRNA 水平均为影响 NSCLC 患者预后的独立危险因素(均 $P < 0.05$)。**结论** IFITM1 mRNA 水平会随着 NSCLC 患者分化程度的降低、TNM 分期升高和淋巴转移而升高,且 IFITM1 mRNA 水平升高为影响 NSCLC 患者预后的独立危险因素。

【关键词】 非小细胞肺癌;干扰素诱导跨膜蛋白-1;内皮素 A 受体;病理;预后

doi:10.3969/j.issn.1671-0800.2024.09.009

【中图分类号】 R734.2 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1671-0800(2024)09-1151-04

非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)作为临床较为常见的癌症,其生存率的提高受限于晚期诊断和复杂的分子异质性^[1]。近年来,肿瘤细胞与其周围环境相互作用的调控因子,如干扰素诱导跨膜蛋白-1(interferon-induced transmembrane protein 1, IFITM1)和内皮素 A 受体(endothelin a receptor, ETAR)等肺癌微环境中的特定分子标志物受到广泛关注。IFITM1 是已知的抗病毒蛋白,在肿瘤学中被发现与肿瘤细胞的侵袭性和生存能力相关^[2-3]。ETAR 则参与调节肿瘤细胞的增殖、迁移和血管生成,是肺癌进展中的关键因子^[4]。本研究旨在探讨 NSCLC 癌组织中的 IFITM1 和 ETAR 表达情况,并分析其与病理特征和生存预后之间的关系,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2021 年 3 月至 2023 年 3 月湖州市第一人民医院收治的 NSCLC 患者 60 例,纳入标准:(1)经病理检查确诊为 NSCLC^[5];(2)符合手术

指征,无手术禁忌证。排除标准:(1)合并有其他恶性肿瘤者,(2)不接受本研究方案或依从性较差者,(3)二次手术者,(4)临床资料不完整者。本研究获得湖州市第一人民医院医学科研与临床试验伦理委员会批准,豁免/免除知情同意。

1.2 样本收集 所有样本于手术时收集,收集后将样本立即放入液氮中进行冻存,癌组织取于患者原发癌灶,癌旁组织取自距离癌灶边缘 5 cm 以上的组织,且经病理学检查未见癌细胞。

1.3 实时定量逆转录 PCR 法 在液氮条件下使用研钵将癌组织和癌旁组织粉碎至粉末状,并分别加入 Trizol 试剂(Invitrogen 公司,美国)进行处理。从这些样本中分离出的总 RNA,通过紫外光谱仪测得其浓度,其吸光比($OD_{260/280}$)均超过 1.8。随后,分别取 5 μ g 总 RNA 进行逆转录反应,制备 cDNA。利用 Primer 3.0 软件设计特异性引物,对 ETAR 基因进行 PCR 扩增,引物序列为上游 5'-GGAATIGGGA-TTCCTTTCGT-3'和下游 5'-TTCTCAAGCTCCCAT-TCCCTT-3',扩增片段长度为 292 bp。内参基因 GAPDH 的引物序列为上游 5'-ACCACAGTCCATGCCATCAC-3'和下游 5'-TCCAC-CACCCTGTT-GCTGTA-3',扩增片段长度为 500 bp。IFITM1 基因

基金项目: 浙江省基础公益研究计划项目(LY22H160026)

作者单位: 313000 浙江省湖州,湖州市第一人民医院

通信作者: 梁亦贤, Email: 15257255515@163.com

的引物序列为上游 5'-CTTCCTGCCCTAGAC-TTCACG-3' 和下游 5'-AACACGAAGCACGAT-CAGTCC-3', 扩增片段长度为 231 bp。PCR 反应的组成包括: 10× PCR 缓冲液 2.5 μl、50 mmol/L MgCl₂ 0.75 μl、2.5 mmol/L dNTPs 2 μl、引物各 1 μl、cDNA 模板 1 μl、Taq 酶 0.25 μl 以及补足至 25 μl 的去离子水。PCR 程序设定为 94 °C 预变性 4 min, 随后进行 28 个循环, 每个循环包括 94 °C 变性 30 s, 60 °C 退火 30 s, 以及 72 °C 延伸 30 s, 最后在 72 °C 进行 7 min 的最终延伸。反应产物通过 1.5% 琼脂糖凝胶电泳分析, 并使用 Multi-Analystist 显像系统进行结果评估。

蛋白质分析: 癌组织及癌旁正常组织在冰冷条件下粉碎后, 加入含蛋白酶抑制剂的裂解缓冲液, 以防蛋白降解, 将上清液收集并保存于 -70 °C 以保持蛋白稳定性。用 5% 脱脂奶粉封闭膜上非特异性结合位, 蛋白质的检测过程包括在 4 °C 下用 1 : 500 稀释的一级抗体过夜孵育, 然后使用相对应的辣根过氧化物酶标记的二级抗体, 通过 ECL 对比剂的化学发光反应在 X 光片上进行显色并拍照记录。整个实验过程中, 所使用的一级和二级抗体均购自美国 Santa 公司, 确保实验结果的可重复性和可靠性。

1.4 观察指标 (1) IFITM1 及 ETAR 表达水平。比较癌组织和癌旁组织的 IFITM1、ETAR 蛋白、mRNA 表达水平。(2) 癌组织中 IFITM1 mRNA、ETAR mRNA 水平和临床病理参数的关系, 参数包括年龄、性别、分化程度、TNM 分期和淋巴转移情况。(3) 生存分析。比较低 IFITM1 表达组和高 IFITM1 表达组, 低 ETAR 表达组和高 ETAR 表达组患者术后生存情况。随访截至 2024 年 3 月, 所有患者均随访 12 ~ 36 个月, 中位随访时间 24 个月, 记录患者生存状态(生存、死亡、复发或进展)。(4) 分析影响患者预后的危险因素。

1.5 统计方法 数据采用 SPSS 22.0 软件分析数据, 计量资料采用均数±标准差表示, 采用 *t* 检验; 计数资料用率表示, 采用 χ^2 检验; 采用 Kaplan-Meier 进行

生存分析; 采用 Cox 风险比例回归分析影响患者预后因素。*P* < 0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 IFITM1、ETAR 蛋白和 mRNA 水平比较 癌组织和癌旁组织 ETAR 蛋白和 mRNA 水平差异均无统计学意义(均 *P* > 0.05), 癌组织 IFITM1 蛋白和 mRNA 水平均较癌旁组织高(均 *P* < 0.05), 见表 1。

2.2 癌组织中 IFITM1 及 ETAR mRNA 水平和临床病理参数的关系 不同分化程度、TNM 分期和淋巴转移患者 IFITM1 mRNA 水平差异均有统计学意义(均 *P* < 0.05), 见表 2。

2.3 影响 NSCLC 预后危险因素分析 TNM 分期 III 期、高 IFITM1 水平均为影响 NSCLC 患者预后的独立危险因素(均 *P* < 0.05), 见表 3。

2.4 生存预后分析 采用中位数法将 NSCLC 患者分为高 IFITM1 水平组和低 IFITM1 水平组, 各 46 例。低 IFITM1 水平组无病生存率为 62.80%, 无病生存期为 33 个月; 高 IFITM1 水平组无病生存率为 30.82%, 无病生存期为 16 个月; 两组无病生存率差异有统计学意义(log rank $\chi^2=4.13$, *P* < 0.05), 见图 1。

3 讨论

IFITM1 在多种生物学过程中起作用, 包括细胞信号传导、免疫应答和细胞黏附, 而在 NSCLC 中, 其表达增加可能与肿瘤的恶性程度相关^[6-8]。同样, ETAR 的活化促进了肿瘤细胞的增殖和侵袭, 其在 NSCLC 病理发展中的角色为肿瘤治疗提供了潜在的干预点^[8-9]。

本研究结果显示, IFITM1 mRNA 在癌组织中水平高于癌旁组织(*P* < 0.05)。分析为 IFITM1 通常与抗病毒反应和细胞内信号传导相关^[10], 其在癌组织中的高表达可能与肿瘤细胞抗死亡机制增强有关, 高表达 IFITM1 说明其可以促进肿瘤细胞的侵袭和转移。ETAR 通常与血管生成和细胞增殖相关^[11],

表 1 癌组织和癌旁组织 IFITM1、ETAR 蛋白和 mRNA 水平比较

组别	例数	IFITM1 蛋白	ETAR 蛋白	IFITM1 mRNA	ETAR mRNA
癌组织	60	1.95±0.23	1.58±0.25	1.89±0.29	1.36±0.17
癌旁组织	60	1.42±0.20	1.55±0.22	1.16±0.17	1.41±0.24
<i>t</i> 值		13.46	0.68	16.82	1.31
<i>P</i> 值		< 0.05	> 0.05	< 0.05	> 0.05

表 2 癌组织中 IFITM1、ETAR mRNA 水平和临床病理参数的关系

病理参数	例数	IFITM1 mRNA 水平	<i>t</i> (<i>F</i>)值	<i>P</i> 值	ETAR mRNA 水平	<i>t</i> (<i>F</i>)值	<i>P</i> 值
年龄			1.23	> 0.05		1.36	> 0.05
> 60 岁	33	1.91±0.28			1.37±0.11		
≤60 岁	27	1.85±0.25			1.34±0.13		
性别			1.64	> 0.05		1.04	> 0.05
男	41	1.93±0.26			1.39±0.17		
女	19	1.84±0.27			1.33±0.18		
分化程度			8.62	< 0.05		1.01	> 0.05
低	21	2.19±0.21			1.40±0.25		
中高	39	1.73±0.19			1.34±0.20		
TNM 分期			(10.24)	< 0.05		(0.08)	> 0.05
I 期	14	1.65±0.25			1.36±0.17		
II 期	16	1.81±0.33			1.35±0.14		
III 期	30	2.04±0.26			1.38±0.15		
淋巴结转移			3.67	< 0.05		0.79	> 0.05
有	22	2.01±0.18			1.38±0.16		
无	38	1.82±0.20			1.35±0.13		

表 3 影响 NSCLS 预后危险因素分析

临床病理特征	β 值	<i>SE</i> 值	Wald χ^2 值	<i>P</i> 值	<i>OR</i> 值(95% <i>CI</i>)
肿瘤分化程度	0.534	0.325	2.70	> 0.05	1.706(0.902 ~ 3.225)
TNM 分期	-0.708	0.341	4.31	< 0.05	2.030(1.040 ~ 3.960)
IFITM1	-0.714	0.345	4.28	< 0.05	2.042(1.039 ~ 4.016)

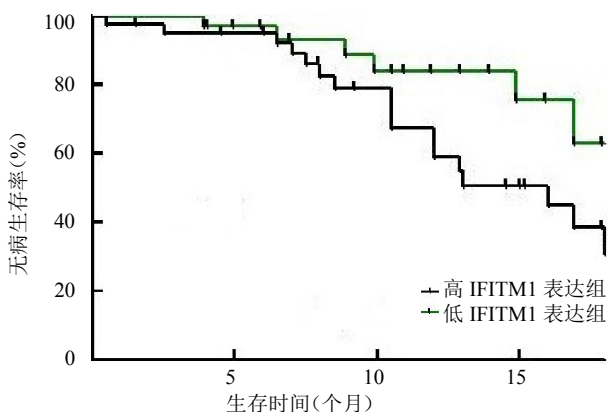


图 1 不同 IFITM1 表达的 NSCLC 患者无病生存期比较

但在某些情况下,其在肿瘤组织和正常组织中的表达可能不会有显著差异,分析原因可能是由于 NSCLC 的特定亚型或者患者个体差异所导致的,或是肿瘤微环境中的因素(如低氧或炎症)对 ETAR 表达的调节作用。

本研究结果显示,不同分化程度、TNM 分期和淋巴结转移患者的 IFITM1 mRNA 水平差异有统计学意义(均 $P < 0.05$),说明 IFITM1 mRNA 水平随着患者 TNM 分期升高和淋巴结转移升高,这可能是由于 IFITM1 在肿瘤的侵袭性和恶化中扮演重要角色^[12],肿瘤细胞分化程度较低、TNM 分期较高患者通常表现出更强的肿瘤进展能力。本研究结果显示,低

IFITM1 水平组无病生存率高于 IFITM1 水平组 ($P < 0.05$),分析为高水平 IFITM1 mRNA 表达可能通过促进肿瘤生长和转移,加速疾病的进展,从而影响着患者的总体预后,特别是 IFITM1 的高表达可能促使肿瘤细胞获得更多的侵袭性和抵抗死亡的能力。

本研究结果显示,高 IFITM1 水平和 TNM 分期 III 期为影响 NSCLC 患者预后的独立危险因素(均 $P < 0.05$)。分析为 IFITM1 可能通过多种机制促进肿瘤细胞的增殖,IFITM1 可以通过激活细胞内的信号通路(如 PI3K/AKT 和 MAPK 路径)来促进细胞生长和存活,这些信号通路在许多类型的癌症中都发挥着关键作用^[13-14]。它们可以增强细胞的生长和分裂能力,同时抑制程序性细胞死亡。IFITM1 通过影响细胞凋亡相关蛋白的表达或活性来实现程序性细胞死亡,比如抑制细胞凋亡执行蛋白如 caspases 的活性。此外,IFITM1 可能通过增强抗凋亡蛋白(如 Bcl-2 家族成员)的表达来增加细胞的存活率^[15]。且 IFITM1 的表达可能通过调节细胞外基质的降解酶(如基质金属蛋白酶 MMPs)的表达或活性来促进肿瘤细胞的迁移,通过影响细胞的黏附性和柔韧性来增强其移动能力,使肿瘤细胞能够更容易地穿越组织屏障并形成转移灶^[16-17]。IFITM1 的高表达通过增

强肿瘤细胞的增殖、生存和侵袭能力,加速肿瘤的进展,从而对患者的总体预后产生负面影响,提示可通过针对 IFITM1 的策略来改善 NSCLC 患者的治疗效果。

综上所述,IFITM1 mRNA 水平会随着 NSCLC 患者分化程度的降低、TNM 分期升高和淋巴转移而升高,且 IFITM1 mRNA 水平升高是影响 NSCLC 患者预后的独立危险因素。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明 梁亦贤:实验操作、论文撰写、数据整理、统计学分析;章喜林:研究指导、论文修改、经费支持

参 考 文 献

- [1] 邱海平,谢晓平,陈天庆.1990—2019年中国肺癌发病死亡趋势分析及年龄-时期-队列模型[J].中国癌症防治杂志,2023,15(5):537-542.
- [2] 北京医学奖励基金会肺癌青年专家委员会,中国胸外科肺癌联盟.肺癌骨转移诊疗专家共识(2019版)[J].中国肺癌杂志,2019,22(4):187-207.
- [3] 陈建军. DDR2 和 IFITM1 在非小细胞肺癌中的表达及临床意义[J].现代肿瘤医学,2020,28(10):1677-1681.
- [4] 张艳玲,夏晓琨,张梦.高级别卵巢浆液性癌组织中 ETAR mRNA 表达的临床意义及 ETAR 来源融合多肽抑癌作用的研究[J].中华妇产科杂志,2023,58(12):930-938.
- [5] 钱剑男,杨邵瑜,陈雪琴,等.2022年第3版《NCCN非小细胞肺癌临床实践指南》更新解读[J].实用肿瘤杂志,2022,37(3):197-204.
- [6] CHIU H Y, CHAO H S, CHEN Y M. Application of artificial intelligence in lung cancer[J]. Cancers (Basel), 2022, 14(6): 1370.
- [7] LIU Z N, ZHANG W L, ZHANG B, et al. MiR-504-3p has tumor-suppressing activity and decreases IFITM1 expression in non-small cell lung cancer cells[J]. Genet Test Mol Biomarkers, 2022, 26(7/8): 351-359.
- [8] 张飞飞,张梦,王中山.ETAR-C58多肽生物合成及其对黑色素瘤A375细胞迁移和侵袭的影响[J].实用医学杂志,2021,37(22):2840-2844.
- [9] 矫文捷,王天佑,丁芳,等.ET-1及其受体ETAR在食管癌中的表达及意义[J].第三军医大学学报,2005,27(23):2314-2316.
- [10] 汪安琪,陈舜,汪铭书,等.抗病毒免疫分子IFITMs的研究进展[J].病毒学报,2016,32(4):509-515.
- [11] DENG J H, HUANG Y, TAO R, et al. The expression of ETAR in liver cirrhosis and liver cancer[J]. Cancer Biol Ther, 2017, 18(9): 723-729.
- [12] YU F, XIE D, NG S S, et al. IFITM1 promotes the metastasis of human colorectal cancer via CAV-1[J]. Cancer Lett, 2015, 368(1): 135-143.
- [13] 张文静,赵可旭,张可越,等.肿瘤干细胞生物学特性及其干性维持机制的研究进展[J].生物工程学报,2024,40(2):391-418.
- [14] 吕安琪,柯佳. cGAS/STING 信号通路干预肺癌的机制及中药干预研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2024,30(9):236-244.
- [15] 尚画雨,付玉,马穰桂,等.自噬/苯氯素1调节因子1在自噬与凋亡中作用的研究进展[J].中国病理生理杂志,2021,37(1):173-180.
- [16] 黄卫国,母光妍,种珊,等.基于生物信息学筛选非小细胞肺癌血小板RNA生物标志物及潜在治疗靶点[J].中国临床药理学杂志,2023,39(16):2404-2408.
- [17] 胡嘉芮,李占林.晚期非小细胞肺癌EGFR-TKI耐药后抗血管生成联合免疫检查点抑制剂作用机制的研究进展[J].中国肿瘤,2023,32(8):617-623.

收稿日期:2024-05-24

(本文编辑:钟美春)