



[DOI] 10.3969/j.issn.1001-9057.2024.02.007

http://www.lcnkzz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2024.02.007

· 论著 ·

肺腺癌患者癌组织人内源性逆转录病毒-H 长末端重复关联蛋白 2、淋巴细胞活化基因 3、整合连接激酶表达情况及与临床病理特点的关系

董亮亮 童春堂 郑明旭 李书阅

[摘要] **目的** 探究肺腺癌(LUAD)患者癌组织人内源性逆转录病毒-H 长末端重复关联蛋白 2(HHLA2)、淋巴细胞活化基因 3(LAG-3)、整合连接激酶(ILK)表达情况及与临床病理特点的关系。**方法** 检测 106 例 LUAD 患者癌组织及癌旁组织 HHLA2、LAG-3、ILK 表达情况,根据 3 项指标在癌组织中的表达情况将所有患者分别分为 HHLA2 高表达组(85 例)和 HHLA2 低表达组(21 例)、LAG-3 高表达组(65 例)和 LAG-3 低表达组(41 例)、ILK 高表达组(78 例)和 ILK 低表达组(28 例)。收集所有患者一般资料、临床病理资料及 3 年生存率并进行组间比较。**结果** LUAD 患者癌组织中 HHLA2、LAG-3、ILK 高表达患者比例均高于同指标低表达患者比例,癌旁组织中上述 3 项指标低表达患者比例均高于同指标高表达患者比例。HHLA2 高表达组年龄 ≥ 60 岁、淋巴结转移患者比例均高于 HHLA2 低表达组;LAG-3 高表达组 TNM Ⅲ、Ⅳ期、淋巴结转移、远处转移患者比例均高于 LAG-3 低表达组;ILK 高表达组组织低分化、TNM Ⅲ、Ⅳ期、淋巴结转移、远处转移患者比例均高于 ILK 低表达组($P < 0.05$)。HHLA2 低表达组、LAG-3 低表达组及 ILK 低表达组 3 年生存率均高于同指标高表达组($P < 0.05$)。**结论** HHLA2、LAG-3、ILK 在 LUAD 患者癌组织中大部分呈高表达,且与临床病理特点、预后存在一定关系。

[关键词] 肺腺癌; 人内源性逆转录病毒-H 长末端重复关联蛋白 2; 淋巴细胞活化基因 3; 整合连接激酶; 临床病理

[中图分类号] R734.2**[文献标识码]** A

作者单位:252600 山东省聊城市第二人民医院呼吸内科

(95% CI 0.874 ~ 0.954), 当 $\text{Log}(P) > 3.77$ 时, 预测敏感度为 76.04%、特异度为 90.38%, 可见该预测模型预测效能良好, 值得临床推广及应用。

综上所述, 老年 T2DM 合并高尿酸血症患者早期肾损害发生率高达 48%, 其影响因素涉及年龄、糖尿病病程、BMI、HbA1c、TG、SUA、CRP、Hey 及 24 h 尿微量白蛋白, 临床需根据上述因素重视对重点人群的筛查, 加强对该群体早期肾功能损害的防治工作。

参 考 文 献

- [1] Hukportie DN, Li FR, Zhou R, et al. Anthropometric Measures and Incident Diabetic Nephropathy in Participants With Type 2 Diabetes Mellitus[J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2021, 7(412):706-845.
- [2] 杨杪, 李新, 刘林杰, 等. 中国 2 型糖尿病人群无症状高尿酸血症与 10 年冠心病风险关系的临床分析[J]. 临床内科杂志, 2020, 37(8):570-572.
- [3] 范美娟, 邓美玉, 徐会, 等. 2 型糖尿病患者高尿酸血症流行状况与相关因素研究[J]. 中国糖尿病杂志, 2018, 26(12):1013-1016.

- [4] 高梦雅, 郭丰, 秦迁, 等. 尿酸/高密度脂蛋白胆固醇比值与估算的肾小球滤过率正常的早期糖尿病肾脏疾病的关系[J]. 临床内科杂志, 2023, 40(5):305-308.
- [5] 《中国老年型糖尿病防治临床指南》编写组. 中国老年 2 型糖尿病防治临床指南(2022 年版)[J]. 中国糖尿病杂志, 2022, 30(1):2-51.
- [6] 中华医学会内分泌学分会. 中国高尿酸血症与痛风诊疗指南(2019)[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2020, 36(1):1-13.
- [7] National Kidney Foundation. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification[J]. Am J Kidney Dis, 2002, 39(21):S1-S266.
- [8] 涂修龙, 王伟, 赵婕, 等. 非布司他与别嘌醇治疗糖尿病肾病合并高尿酸血症临床对比分析[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2020, 21(7):623-624.
- [9] 李文芳, 骆凤, 尹晓燕. 2 型糖尿病慢性并发症患病率及其危险因素分析[J]. 中国实用医药, 2020, 15(21):92-94.
- [10] 张璇, 姜睿斌, 张晓菊, 等. 基于 NF- κ B 通路研究生地黄-玄参对糖尿病肾病大鼠肾脏微炎症状态的影响[J]. 国际中医中药杂志, 2022, 44(1):49-55.
- [11] 张明红, 殷娟. 血清 PTX3、KIM-1 和 Hey 联合检测在糖尿病肾病患者诊断中的临床价值[J]. 中国实验诊断学, 2021, 25(12):1768-1771.
- [12] 侯宇婕. 厄贝沙坦片对老年糖尿病肾病微量白蛋白尿及系统性炎症应激的影响[J]. 中国老年学杂志, 2020, 40(6):1167-1169.

(收稿日期:2023-05-25)

(本文编辑:余晓曼)

Expression of human endogenous retrovirus-H long terminal repeat associated protein 2, lymphocyte-activation gene 3 and integrin-linked kinase in cancer tissues and their relationship with clinic pathology characteristics in patients with lung adenocarcinoma

Dong Liangliang, Tong Chuntang, Zheng Mingxu, Li Shuyue. Department of Respiratory Medicine, Liaocheng Second People's Hospital, Liaocheng 252600, China

[Abstract] **Objective** To explore the expression of human endogenous retrovirus-H long terminal repeat associated protein 2 (HHLA2), lymphocyte-activation gene 3 (LAG-3) and integrin-linked kinase (ILK) in cancer tissues and their relationship with clinic pathology characteristics in patients with lung adenocarcinoma (LUAD). **Methods** The expressions of HHLA2, LAG-3 and ILK in cancer tissues and para-cancerous tissues of 106 LUAD patients were detected. According to the expressions of 3 indexes in cancer tissues, all patients were divided into high-expression HHLA2 group (85 cases) and low-expression HHLA2 group (21 cases), high-expression LAG-3 group (65 cases) and low-expression LAG-3 group (41 cases), high-expression ILK group (78 cases) and low-expression ILK group (28 cases). General data, clinic pathology data and 3-year survival rate were collected and compared between groups. **Results** The expression levels of HHLA2, LAG-3 and ILK were high in cancer tissues, while which were low in para-cancerous tissues ($P < 0.05$). The proportions of age ≥ 60 years and lymph node metastasis in HHLA2 high-expression group were higher than those in low-expression HHLA2 group; The proportions of TNM staging at stage III and IV, lymph node metastasis and distant metastasis in high-expression LAG-3 group were higher than those in low-expression LAG-3 group; The proportions of low tissue differentiation, TNM staging at stage III and IV, lymph node metastasis and distant metastasis in high-expression ILK group were higher than those in low-expression ILK group ($P < 0.05$). 3-year survival rates in low-expression HHLA2, LAG-3 and ILK groups were higher than those in corresponding high-expression groups ($P < 0.05$). **Conclusion** The expressions of HHLA2, LAG-3 and ILK in cancer tissues are up-regulated in LUAD patients, which have certain relationship with clinic pathology characteristics and prognosis.

[Key words] Lung adenocarcinoma; Human endogenous retrovirus-H long terminal repeat associated protein 2; Lymphocyte-activation gene 3; Integrin-linked kinase; Clinic pathology

肺腺癌 (LUAD) 是非小细胞肺癌 (NSCLC) 最常见的亚型, 具有高度浸润和破坏性, 其 5 年生存率仅为 30% ~ 60%^[1-2]。近来免疫治疗成为了肿瘤治疗的热点^[3], 人内源性逆转录病毒-H 长末端重复关联蛋白 2 (HHLA2) 为 T 淋巴细胞共抑分子, 参与相关细胞因子的分泌调节、维持免疫环境稳定及肿瘤进展过程^[4]。淋巴细胞活化基因 3 (LAG-3) 具有负性调节 T 淋巴细胞的功能, 参与多种肿瘤细胞的免疫逃逸过程^[5]。整合连接激酶 (ILK) 可与整合素细胞浆域结合, 参与多种恶性肿瘤细胞的粘连、生长和血管生成等过程^[6]。基于此, 本研究检测 LUAD 患者癌组织 HHLA2、LAG-3、ILK 表达水平, 分析其与临床病理的关系, 为临床治疗提供参考。

对象与方法

1. 对象: 选择 2017 年 9 月 ~ 2019 年 9 月来我院就诊的 LUAD 患者 106 例, 其中男 61 例、女 45 例, 年龄 35 ~ 79 岁, 平均年龄 (61.05 ± 7.12) 岁。纳入标准: (1) 均经组织病理检查确诊为 LUAD; (2) 预计生存时间 > 6 个月; (3) 临床相关资料完整。排除标准: (1) 合并其他器官肿瘤; (2) 术前行放、化疗; (3) 伴心脏、肾脏等严重功能障碍; (4) 存在先天性肺功能异常或肺部感染性疾病; (5) 存在治疗不耐受。本研究已通过我院伦理委员会审核, 所有患者及家属均签订知情同意书。

2. 方法

(1) 癌组织及癌旁组织病理观察: HE 染色: 经手术取 LUAD 患者肺腺癌组织及癌旁组织, 行常规标本固定、包埋等处理, HE 染色后于显微镜下观察。免疫组织化学染色: 采用 SP 法, 组织芯片常规切片、烤片、脱蜡, 水化后 PBS 冲洗; 行抗原封闭, PBS 冲洗, 经 3% H_2O_2 充分消除过氧化酶, 加入稀释后的一抗, 4℃ 冰箱下过夜; 去除一抗, PBS 冲洗, 加入鼠兔通用二抗, 孵育后去除二抗, PBS 冲洗; 再行显色、复染等步骤, 最后用中性树胶及盖玻片封片备用, 于显微镜下观察。参考 Imielinski 等^[7]标准, 采用阳性区域 (AP, 0 ~ 4 分) 及染色强度 (IS, 0 ~ 4 分) 来评价 HHLA2、LAG-3、ILK 的表达水平, 出现棕黄色颗粒为 HHLA2 (细胞膜和细胞质)、LAG-3、ILK (癌细胞细胞质内) 表达阳性细胞。强度分布 (ID, 分) = AP \times IS, ID < 4 分为低表达, ID ≥ 4 分为高表达。

(2) 观察指标: 收集所有患者的一般资料及临床病理资料, 包括性别、年龄、组织分化程度 (低分化、中分化、高分化)、TNM 分期 (I ~ IV 期)、肿瘤直径、淋巴结转移及远处转移情况。采用门诊及电话对所有患者进行随访, 每 3 个月 1 次, 记录患者生存情况, 随访时间截至 2022 年 9 月。

3. 统计学处理: 应用 SPSS 20.0 软件进行统计分析。计数资料以例数和百分比表示, 组间比较采用 χ^2

检验。生存分析采用 *Kaplan-Meier* 法和 *Log-Rank* 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. LUAD 患者肺腺癌组织及癌旁组织中 HHLA2、LAG-3 及 ILK 表达情况比较: LUAD 患者癌组织中 HHLA2、LAG-3、ILK 高表达分别为 85 例(80.19%, HHLA2 高表达组)、65 例(61.32%, LAG-3 高表达组)及 78 例(73.58%, ILK 高表达组),低表达分别为 21 例(19.81%, HHLA2 低表达组)、41 例(38.68%, LAG-3 低表达组)及 28 例(26.42%, ILK 低表达组);上述 3 项指标在 LUAD 患者癌旁组织中高表达分别为 14 例(13.21%)、8 例(7.55%)及 26 例(24.53%),低表达分别为 92 例(86.79%)、98 例(92.45%)及 80 例(75.47%)。LUAD 患者癌组织中 HHLA2、LAG-3、ILK 高表达患者比例均高于同指标低表达患者比例,癌旁组织中上述 3 项指标低表达患者比例均高于同指标高表达患者比例。

2. HHLA2 高表达组与 HHLA2 低表达组患者一般资料及临床病理资料比较:两组患者性别、组织分化程度、TNM 分期、肿瘤直径、远处转移情况比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。HHLA2 高表达组年龄 ≥ 60 岁、淋巴结转移患者比例均高于 HHLA2 低表达组($P < 0.05$)。见表 1。

3. LAG-3 高表达组与 LAG-3 低表达组患者一般资料及临床病理资料比较:两组患者性别、年龄、组织分化程度、肿瘤直径比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。LAG-3 高表达组 TNM Ⅲ、Ⅳ期、淋巴结转移、远处转移患者比例均高于 LAG-3 低表达组($P < 0.05$)。见表 2。

4. ILK 高表达组与 ILK 低表达组患者一般资料及临床病理资料比较:两组患者性别、年龄、肿瘤直径比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。ILK 高表达组组织低分化、TNM Ⅲ、Ⅳ期、淋巴结转移、远处转移患者比例均高于 ILK 低表达组($P < 0.05$)。见表 3。

5. HHLA2、LAG-3、ILK 表达与 LUAD 预后的关系:随访 3 年,106 例患者中存活 42 例,总生存率为 39.62%。HHLA2 低表达组 3 年生存率(61.90%)高于 HHLA2 高表达组(34.11%);LAG-3 低表达组 3 年生存率(53.66%)高于 LAG-3 高表达组(30.77%);ILK 低表达组 3 年生存率(57.14%)高于 ILK 高表达组(33.33%),差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

讨 论

LUAD 在确诊时大多已是晚期,采用化疗、放疗等传统治疗方式疗效均不理想。随着医学研究进展,免疫检查点疗法被认为是阻止肿瘤免疫逃逸的重要方法,但最后多数患者因耐药而复发,因此寻求 LUAD 新

表 1 HHLA2 高表达组与 HHLA2 低表达组患者一般资料及临床病理资料比较[例,(%)]

组别	例数	性别 (男/女)	年龄(岁)		组织分化程度		TNM 分期		肿瘤直径(cm)		淋巴结 转移	远处 转移
			≥ 60	< 60	低分化	中、高分化	I ~ II 期	III ~ IV 期	≥ 4.5	< 4.5		
HHLA2 高表达组	85	47/38	51(60.00)	34(40.00)	55(64.71)	30(35.29)	33(38.82)	52(61.18)	54(63.53)	31(36.47)	57(67.06)	50(58.82)
HHLA2 低表达组	21	14/7	6(28.57)	15(71.43)	16(76.19)	5(23.81)	11(52.38)	10(47.62)	13(61.90)	8(38.10)	9(42.86)	8(38.10)
χ^2 值		0.892	6.692		1.004		1.275		0.019		4.198	2.920
P 值		0.345	0.010		0.316		0.259		0.890		0.040	0.087

表 2 LAG-3 高表达组与 LAG-3 低表达组患者一般资料及临床病理资料比较[例,(%)]

组别	例数	性别 (男/女)	年龄(岁)		组织分化程度		TNM 分期		肿瘤直径(cm)		淋巴结 转移	远处 转移
			≥ 60	< 60	低分化	中、高分化	I ~ II 期	III ~ IV 期	≥ 4.5	< 4.5		
LAG-3 高表达组	65	35/30	36(55.38)	29(44.62)	40(61.54)	25(38.46)	20(30.77)	45(69.23)	37(56.92)	28(43.08)	48(73.85)	42(64.62)
LAG-3 低表达组	41	26/15	21(51.22)	20(48.78)	31(75.61)	10(24.39)	24(58.54)	17(41.46)	30(73.17)	11(26.83)	18(43.90)	16(39.02)
χ^2 值		0.942	0.176		2.251		7.984		2.854		9.594	6.645
P 值		0.332	0.675		0.134		0.005		0.091		0.002	0.010

表 3 ILK 高表达组与 ILK 低表达组患者一般资料及临床病理资料比较[例,(%)]

组别	例数	性别 (男/女)	年龄(岁)		组织分化程度		TNM 分期		肿瘤直径(cm)		淋巴结 转移	远处 转移
			≥ 60	< 60	低分化	中、高分化	I ~ II 期	III ~ IV 期	≥ 4.5	< 4.5		
ILK 高表达组	78	46/32	38(48.72)	40(51.28)	61(78.21)	17(21.79)	26(33.33)	52(66.67)	51(65.38)	27(34.62)	58(74.36)	48(61.54)
ILK 低表达组	28	15/13	19(67.86)	9(32.14)	10(35.71)	18(64.29)	18(64.29)	10(35.71)	16(57.14)	12(42.86)	8(28.57)	10(35.71)
χ^2 值		0.246	3.036		16.820		8.130		0.602		18.384	5.546
P 值		0.620	0.081		< 0.001		0.001		0.438		< 0.001	0.019

的免疫检查点很有必要^[8]。

HHLA2 主要表达于人抗原呈递细胞和 T 细胞,具有免疫监视、辅助 T 细胞激活等作用^[9]。相关研究结果表明,HHLA2 可能与胃癌疾病进展及预后相关^[10]。本研究中,HHLA2 主要表达于肿瘤细胞的细胞膜及细胞质,在 LUAD 患者癌组织中呈高表达,且其表达水平与年龄、淋巴结转移有一定关系,提示 HHLA2 参与了 LUAD 的发生及发展,可能机制为:(1) HHLA2 可与未知受体结合,减弱机体的抗肿瘤免疫应答;(2) HHLA2 可与其受体 TMIGD2 结合,通过 AKT 依赖性信号级联共刺激 T 细胞增殖,促进相应细胞因子产生,同时还能影响肿瘤血管内皮生成^[11-12]。随访 3 年,所有患者中共存活 42 例,总生存率为 39.62%,HHLA2 低表达组 3 年生存率高于 HHLA2 高表达组,提示 HHLA2 水平与 LUAD 预后相关。

LAG-3 属于免疫球蛋白家族,在多种肿瘤微环境中均异常表达,与肿瘤生长与发展相关^[13]。本研究中,LAG-3 表达于肿瘤浸润淋巴细胞的细胞质及细胞膜上,且呈高表达,其表达水平与患者的 TNM 分期、淋巴结转移、远处转移相关;同时发现,LAG-3 低表达组患者 3 年生存率高于 LAG-3 高表达组,说明 LAG-3 可能参与了 LUAD 的进展,并与患者的生存率相关,分析相关机制如下:(1) LAG-3 可和主要组织相容复合体 II (MHC-II) 结合,起到负性调控 T 细胞的作用,维持内环境稳定;(2) LAG-3 促进 Treg 分化,使其发挥免疫抑制作用^[14]。

ILK 是最受关注的新兴免疫靶点之一,可与多种蛋白结合,在胃癌、乳腺癌、结肠癌等研究中均认为 ILK 具有癌基因性质^[15]。本研究中,ILK 表达于癌细胞细胞质内,且呈高表达;进一步发现,ILK 表达水平与组织分化、TNM 分期、淋巴结转移、远处转移相关,同时 ILK 低表达组 3 年生存率高于 ILK 高表达组,提示 ILK 可能参与疾病进展,并与预后相关。分析 ILK 参与肿瘤进展可能是:(1) 通过下游靶蛋白如核转录因子(NF)- κ B 通路、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)等,参与调节细胞粘连、迁移及血管生成等过程;(2) 通过与整合素结合,激活 AMPK、PI3K/Akt 等信号通路,影响细胞周期、促进细胞增殖,进而影响肿瘤进程^[16-17]。当然本研究还存在一定不足:样本量选择较少,研究时间有限,且对于 HHLA2、LAG-3、ILK 与 LUAD 具体作用机制探讨尚不够全面,后期将联合多中心、扩大样本

量,进行深入研究。

综上,HHLA2、LAG-3、ILK 在 LUAD 患者癌组织中大部分呈高表达,且与临床病理特点、预后存在一定关系,可作为肿瘤治疗的药物靶点。

参 考 文 献

- [1] Mithoowani H, Febbraro M. Non-Small-Cell Lung Cancer in 2022: A Review for General Practitioners in Oncology[J]. Curr Oncol, 2022, 29(3):1828-1839.
- [2] 王燕,孙洁,姚宁华. 替雷利珠单抗联合白蛋白紫杉醇+奈达铂治疗晚期基因野生型肺腺癌疗效及对血清细胞蛋白 19 片段 21-1、血管内皮生长因子水平和预后的影响[J]. 临床内科杂志, 2023, 40(3):188-190.
- [3] 贾瑞,王超,李健,等. 安罗替尼联合紫杉醇+卡铂治疗晚期肺腺癌效果及对肿瘤标志物水平影响[J]. 临床军医杂志, 2022, 50(2):185-187.
- [4] 肖文璐,郑盼盼,黄浩,等. 人内源性反转录病毒-H 长末端重复关联蛋白 2 在胆管癌组织的表达及其临床意义[J]. 中华实验外科杂志, 2021, 38(8):1571-1574.
- [5] 王聪,李道堂,高玉军,等. 非小细胞肺癌组织 LAG-3 和 PD-1 表达临床意义分析[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2021, 28(10):727-732.
- [6] 马晓丽,高艳,魏瑜,等. 整合素连接激酶在食管鳞状细胞癌组织中的表达及其对 KYSE-150 细胞增殖,凋亡及裸鼠移植瘤生长的影响[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2022, 29(6):549-556.
- [7] Imielinski M, Berger AH, Hammerman PS, et al. Mapping the hallmarks of lung adenocarcinoma with massively parallel sequencing[J]. Cell, 2012, 150(6):1107-1120.
- [8] Jasper K, Stiles B, McDonald F, et al. Practical Management of Oligometastatic Non-Small-Cell Lung Cancer[J]. J Clin Oncol, 2022, 40(6):635-641.
- [9] 李源,王琦,冯珺,等. 人内源性反转录病毒-H 长末端重复关联蛋白 2 在人非小细胞肺癌细胞株中的表达及其生物学功能[J]. 中华实验外科杂志, 2021, 38(11):2187-2190.
- [10] 王东琴,张欣,霍浩然,等. 胃癌组织 Rap1GAP, HHLA2 表达变化及其与患者临床病理特征和预后的关系[J]. 山东医药, 2021, 61(25):58-61.
- [11] 南方圆,陈梦茜,陈洪雷. 新型免疫检查点 HHLA2 在人肺腺癌中的表达及其临床意义[J]. 数理医药学杂志, 2019, 32(10):1426-1428.
- [12] 刘春,邓述恺. 非小细胞肺癌组织中 HHLA2 表达变化及其意义[J]. 山东医药, 2017, 57(31):64-66.
- [13] 李德伟,张传山,李静. 淋巴细胞活化基因 3 (LAG-3) 在肿瘤免疫治疗与寄生虫病中的研究进展[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2022, 38(7):661-665.
- [14] 田金,张腾龙,李玲,等. LAG-3 分子的研究进展[J]. 新医学, 2020, 51(9):663-666.
- [15] 李晓丹,费晓莺,韩敏,等. 整合素连接激酶和黏着斑激酶在宫颈癌组织中的表达及其与人乳头瘤病毒感染的关系[J]. 新乡医学院学报, 2022, 39(3):218-221.
- [16] 刘娟,魏瑜,高艳,等. 整合素连接激酶在食管鳞状细胞癌中的表达和生物信息分析[J]. 新疆医科大学学报, 2022, 45(6):581-587.
- [17] 祁春艳,齐晓光,蔡少华. 血清维生素水平与肺腺癌转移的相关性[J]. 临床内科杂志, 2019, 36(9):605-607.

(收稿日期:2023-05-23)

(本文编辑:余晓曼)