doi:10.11659/jjssx.01E022101

·临床研究·

TMSB10 表达水平与胃癌患者淋巴结转移及早期进展的相关性

买尔旦·赛力木,金 钟,柯于必 (新疆医科大学第一附属医院综合外科,新疆 乌鲁木齐 830054)

[摘 要] **目的** 探讨胸腺素 β10(TMSB10)在胃癌组织中的表达水平及其与患者淋巴结转移及早期进展的相关性。**方法** 纳入于我院行胃癌根治术的患者 120 例,采用免疫组织化学法检测胃癌组织中 TMSB10 蛋白表达水平,根据术后病理结果是否存在淋巴结转移分为淋巴结转移组(LN 组,$n=89$)和非淋巴结转移组(非 LN 组,$n=31$),对比 2 组患者临床资料,采用 *Logistic* 回归分析影响胃癌患者淋巴结转移的危险因素。根据 TMSB10 蛋白表达中位数将患者分为 TMSB10 低表达组(60 例)和 TMSB10 高表达组(60 例),分析不同 TMSB10 蛋白表达水平患者术后 12 个月疾病进展风险。**结果** 120 例患者中共有 89 例出现淋巴结转移,对比 2 组临床资料显示,LN 组患者年龄、肿瘤浸润深度、组织学分型、是否合并溃疡、肿瘤直径及 TMSB10 蛋白表达水平与非 LN 组比较差异有统计学意义($P<0.05$);多因素 *Logistic* 回归分析显示,肿瘤浸润至浆膜层($OR=3.607$)、组织学分型为未分化型($OR=1.098$)、合并溃疡($OR=3.824$)及 TMSB10 高表达($OR=1.143$)是导致胃癌患者出现淋巴结转移的独立危险因素($P<0.05$);限制性立方条图显示,TMSB10 蛋白表达水平与胃癌患者淋巴结转移风险呈显著线性关系($\chi^2=1.641$,$P>0.05$)。以 TMSB10 蛋白表达中位数为界值进行生存分析,结果显示,TMSB10 高表达组患者术后早期进展风险明显高于 TMSB10 低表达组(*Log-rank* $\chi^2=7.102$,$P=0.008$)。**结论** TMSB10 在胃癌组织中高表达会增加患者淋巴结转移的风险,且与患者术后早期进展风险高度相关。

[关键词] 胸腺素 β10;胃癌;淋巴结转移;早期进展;胃癌根治术

[中图分类号] R656.6+1 [文献标识码] A [收稿日期] 2022-01-29

Correlation of TMSB10 expression level with lymph node metastasis and early progression in gastric cancer patients

Maierdan·Sailimu, JIN Zhong, KE Yu-bi (Comprehensive Surgery, First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi Xinjiang 830054, China)

Abstract: Objective To investigate the expression level of thymosin beta 10 (TMSB10) in gastric cancer tissues and its correlation with lymph node metastasis and early progression of patients. **Methods** A total of 120 patients underwent radical gastrectomy admitted to our hospital were enrolled. The TMSB10 protein expression in gastric cancer tissue was detected by immunohistochemistry. These patients were divided into the lymph node metastasis group (the LN group, $n=89$) and the non-lymph node metastasis group (the non-LN group, $n=89$) according to the postoperative pathological results of lymph node metastasis. The clinical data of the patients in the two groups were compared, and the risk factors affecting lymph node metastasis in gastric cancer patients were analyzed by *Logistic* regression. According to the median expression of TMSB10 protein, the patients were divided into the TMSB10 low expression group (60 cases) and the TMSB10 high expression group (60 cases), the risk of disease progression 12 months after surgery in patients with different TMSB10 protein expression levels was analyzed. **Results** A total of 89 cases of the 120 patients had lymph node metastasis. There were statistically significant differences in the age, depth of tumor invasion, histological type, combined with ulcer or not, tumor diameter and TMSB10 protein expression level between the LN group and the non-LN group after compared the clinical data of the two groups ($P<0.05$); multivariate *Logistic* regression analysis showed that the tumor infiltrated into the serosal layer ($OR=3.607$), histological type classified as the undifferentiated type ($OR=1.098$), combined with ulcer ($OR=3.824$), and high expression of TMSB10 ($OR=1.143$) were the independent risk factors leading to lymph node metastasis in gastric cancer patients ($P<0.05$); the restricted cubic spline showed that the TMSB10 protein expression level had a significant linear relationship with the risk of lymph node metastasis in gastric cancer patients ($\chi^2=1.641$, $P>0.05$). The survival analysis was performed with the median expression of TMSB10 protein as the cutoff value, which showed that the early postoperative progression risk of patients in the TMSB10 high expression group was significantly higher than that in the TMSB10 low expression group (*Log-rank* $\chi^2=7.102$, $P=0.008$). **Conclusion** The high expression of TMSB10 in gastric cancer tissue can increase the risk of lymph node metastasis of patients, and it is highly correlated with the risk of early postoperative progression.

Keywords: thymosin β10; gastric cancer; lymph node metastasis; early progression; radical gastrectomy

[基金项目] 国家自然科学基金(81760860);新疆维吾尔自治区自然科学基金(2017D01C305)

2018 年中国癌症数据表明,胃癌发病率和病死率高居我国癌症的第 2 位,且 80% 以上的患者为进展期胃癌[1]。淋巴结转移是胃癌最常见的转移方式,18% 的患者在胃癌早期即出现淋巴结转移[2]。同时,淋巴结转移也是影响胃癌患者治疗方式选择及预后的重要因素。目前临床上多采用 CT 或者内镜活检的方式确定患者是否出现淋巴结转移,但 CT 效果不理想,内镜活检作为侵入性操作,患者接受度不高。临床上亟需寻求一种能够准确评估和预测胃癌患者淋巴结转移的生物学标志物。胸腺素 β10(thymosin beta 10,TMSB10)作为胸腺素家族的一员,广泛分布于人体各组织器官中,其在细胞骨架组织和某些生物学行为中发挥重要作用,如细胞形态改变、细胞增殖和迁移[3]。近年来有研究表明,TMSB10 与多种肿瘤进展密切相关,其在肺癌、结直肠癌、甲状腺癌组织中高表达会导致患者病变程度加重、术后生存期缩短[4-5]。另有研究报道,TMSB10 可作为潜在生物学标志物用于预测胃癌患者预后[6]。但类似研究在国内尚未见开展,为了探讨 TMSB10 在胃癌组织中的表达是否与患者淋巴结转移及预后相关,本研究通过分析胃癌患者的 TMSB10 表达水平及其与淋巴结转移的关系,拟为其临床治疗提供参考。

1 资料与方法

1.1 临床资料

本研究为前瞻性随访研究,纳入 2019 年 8 月至 2020 年 8 月我院收治的行胃癌根治术的胃癌患者 120 例,年龄 45 ~ 70 岁,平均(57.22 ± 8.13)岁。根据术后病理结果是否存在淋巴结转移将患者分为淋巴结转移组(LN 组)和非淋巴结转移组(非 LN 组)。纳入标准:①符合《胃癌诊疗规范(2018 年版)》[7]中胃癌的诊断标准;②具有手术指征,符合《中国腹腔镜胃癌根治手术质量控制专家共识(2017 版)》[8]中的标准;③临床及随访资料完整。排除标准:①合并其他部位恶性肿瘤;②合并心、肝、肺、肾功能障碍,无法耐受手术;③术前接受过新辅助化疗。本研究经我院伦理委员会批准(k201907-04),患者及家属均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 治疗方法 所有患者完善术前准备后严格按照腹腔镜胃癌根治术规范进行操作。术后采用替吉奥联合顺铂方案化疗 6 个周期。

1.2.2 资料收集 收集所有患者性别、年龄、BMI、肿瘤浸润深度、肿瘤直径、组织学分型、大体分型、肿瘤位置、是否合并溃疡、癌胚抗原(carcinoembryonic antigen,CEA)水平、糖类抗原 199(carbohydrate antigen 199,CA199)水平等指标。

1.3 TMSB10 蛋白表达水平检测

采用组织芯片蜡块制备仪制备蜡块,8 × 4 孔,间距 1 mm,内径 2.2 mm;将胃癌组织 HE 染色标本利用打孔针放置于制备好的蜡块中,加热,充分融合组织,制备胃癌组织石蜡切片标本;切片厚度为 4 μm,利用 3-氨丙基-3-甲氧基硅烷处理的载玻片捞取切片,全部敷贴完毕后放入 70 ℃恒温箱中过夜。随后进行脱蜡、洗片、清洗、抗体孵育、清洗、抗体结合、清洗、染色、DAB 显色、苏木素复染、脱水、封片。而后采用 Aperio-Cytoplasma 2.0 软件扫描并分析组织芯片中 TMSB10 蛋白表达情况。

1.4 随访

所有患者均随访 12 个月,随访截止时间 2021 年 8 月 31 日。若患者术后出现复发、远处转移、癌因性死亡等,则定义为疾病进展。根据 TMSB10 蛋白表达中位数将患者分为 TMSB10 低表达组(60 例)和 TMSB10 高表达组(60 例),采用 *Log-rank* 生存分析检验分析 2 组患者术后 12 个月疾病进展风险。

1.5 统计学处理

采用 R 语言(V4.0.5)和 GraphPad Prism 7.0 软件进行数据分析,计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 t 检验;计数资料以率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验;等级资料采用秩和检验;采用多因素 *Logistic* 回归模型分析胃癌患者淋巴结转移的相关危险因素;应用 R 语言及 rms 和 ggplot2 软件包绘制限制性立方条图,分析不同 TMSB10 表达水平与患者术后疾病进展的相关性,$P < 0.05$ 为 TMSB10 蛋白表达水平与淋巴结转移风险呈显著非线性相关性;以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 患者淋巴结转移情况及临床资料比较

术后病理检查结果示 120 例患者中共有 89 例患者出现淋巴结转移,据此将患者分为 LN 组($n = 89$)和非 LN 组($n = 31$)。LN 组患者年龄、肿瘤浸润深度、组织学分型、是否合并溃疡、肿瘤直径与非 LN 组比较,差异具有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。

表 1 患者临床资料比较

临床资料		LN 组(n=89)	非 LN 组(n=31)	$t/\chi^2/H$	P
性别/例(%)	男	56(62.92)	18(58.06)	0.229	0.632
	女	33(37.08)	13(41.94)		
年龄/岁		61.31±8.24	55.16±7.95	3.611	0.000
BMI/(kg·m^{-2})		22.14±2.33	22.35±2.78	0.411	0.682
肿瘤浸润深度/例(%)	黏膜层	8(8.99)	7(22.58)	4.817	0.028
	黏膜下层	21(23.60)	10(32.26)		
	浆膜层	60(67.41)	14(45.16)		
组织学分型/例(%)	分化型	50(56.18)	25(80.65)	5.871	0.015
	未分化型	39(43.82)	6(19.35)		
大体分型/例(%)	隆起型或浅表型	41(46.07)	14(45.16)	0.008	0.931
	溃疡型或瘢痕型	48(53.93)	17(54.84)		
肿瘤位置/例(%)	胃上 1/3	30(33.71)	10(32.26)	0.344	0.672
	胃中 1/3	30(33.71)	10(32.26)		
	胃下 1/3	29(32.58)	11(35.48)		
合并溃疡/例(%)	是	62(69.66)	15(48.39)	4.526	0.033
	否	27(30.34)	16(51.61)		
肿瘤直径/例(%)	<2 cm	31(34.83)	18(58.06)	5.137	0.023
	≥2 cm	58(65.17)	13(41.94)		
CEA 水平/(μg·L^{-1})		23.15±3.44	23.41±3.72	0.355	0.723
CA199 水平/(kU·L^{-1})		92.31±9.72	93.43±8.57	0.569	0.571

2.2 患者癌组织和癌旁组织 TMSB10 蛋白表达水平

2 组患者癌旁组织中 TMSB10 蛋白表达水平均明显低于癌组织,且 LN 组癌组织中 TMSB10 蛋白表达水平高于非 LN 组,差异均具有统计学意义(P<0.05),见图 1。

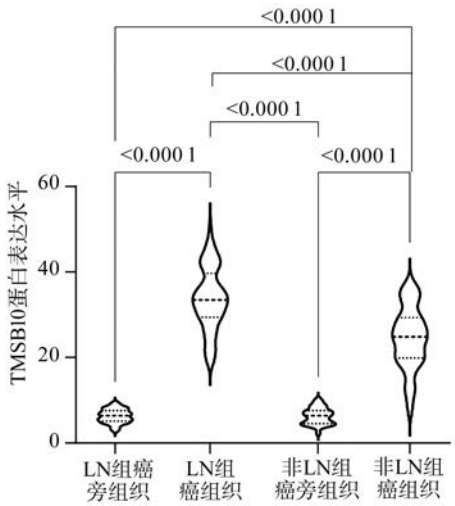


图 1 患者 TMSB10 蛋白表达水平

2.3 影响胃癌患者淋巴结转移的危险因素分析

将表 1 及图 1 中差异有统计学意义的因素进行赋值后带入 *Logistic* 方程后分析,结果显示,肿瘤浸润至浆膜层(OR=3.607)、组织学分型为未分化型(OR=1.098)、合并溃疡(OR=3.824)及 TMSB10 高表达(OR=1.143)是导致胃癌患者出现淋巴结转移的独立危险因素(P<0.05);限制性立方条图显示,TMSB10 蛋白表达水平与胃癌患者淋巴结转移风险呈显著线性关系(χ^2=1.641,P>0.05),见表 2、表 3、图 2。

2.4 不同 TMSB10 蛋白表达水平患者早期进展风险

以 120 例胃癌患者 TMSB10 蛋白表达中位数 29.31为界值,绘制生存分析曲线,结果显示,TMSB10 高表达组患者术后早期进展风险明显高于 TMSB10 低表达组(*Log-rank* χ^2=7.102,P=0.008),见图 3。

表 2 相关因素赋值表

变量	序号	赋值
淋巴结转移	Y	是=1,否=0
年龄	X1	连续变量
肿瘤浸润深度	X2	浆膜层=1,黏膜层或黏膜下层=0
组织学分型为未分化型	X3	是=1,否=0
合并溃疡	X4	是=1,否=0
肿瘤直径	X5	≥2 cm=1,<2 cm=0
TMSB10 表达水平	X6	连续变量

表 3 影响胃癌患者淋巴结转移的 *Logistic* 回归分析

相关指标	β	*S.E*	*Wald*	P	*OR*	95% *CI*	
						下限	上限
肿瘤浸润至浆膜层	1.283	0.556	5.318	0.021	3.607	1.212	10.732
肿瘤直径≥2 cm	1.175	0.745	2.487	0.115	3.237	0.752	13.931
年龄	0.077	0.040	3.811	0.051	1.080	1.000	1.168
TMSB10 高表达	0.134	0.042	10.194	0.001	1.143	1.053	1.241
组织学分型为未分化型	0.093	0.035	6.947	0.008	1.098	1.024	1.177
合并溃疡	1.341	0.593	5.118	0.024	3.824	1.196	12.225
常量	-49.204	9 547.455	0.000	0.996	0.000		

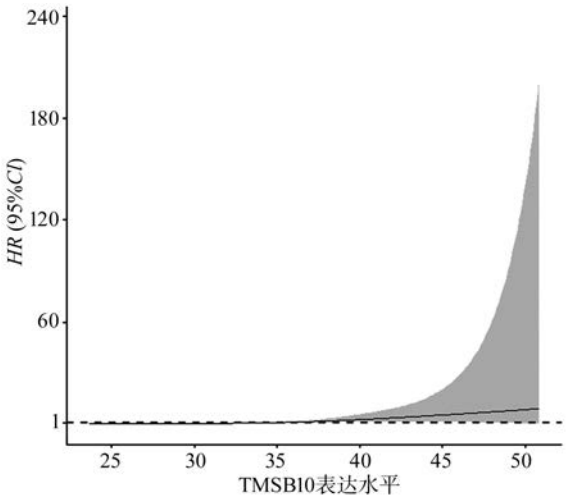


图 2 TMSB10 蛋白表达水平与患者淋巴结转移风险的相关性

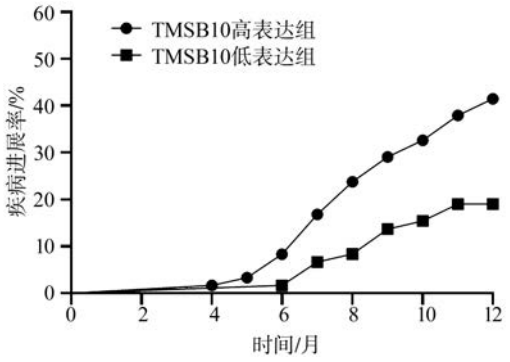


图 3 不同 TMSB10 蛋白表达水平患者生存曲线

3 讨论

β-胸腺素家族最初是从胸腺中鉴定出来的,主要包括胸腺素 β4(TMSB4)、TMSB10 和 TMSB15[9],其在调节 F-肌动蛋白的形成、抗炎、组织发育再生以及诱导胰岛素分泌方面起关键作用[10]。有研究表明,β-胸腺素家族参与了肿瘤的发生和进展,其中 TMSB4 在乳腺癌、结直肠癌和其他类型的癌症中充当致癌基因[11]。但对于 TMSB10 在癌症进展中起致癌还是抑癌作用尚不清楚。有研究显示,TMSB10 在乳腺癌、甲状腺乳头状癌、肝细胞癌中过表达,并参与癌症的进展[12-13]。也有研究显示,TMSB10 过表达能够抑制癌细胞增殖,并诱导胆管癌和卵巢癌细胞凋亡[14]。目前,TMSB10 在胃癌中的作用及其对于预后的影响尚不明确。

本研究结果显示,肿瘤浸润至浆膜层、组织学分型为未分化型、合并溃疡及 TMSB10 高表达是导致胃癌患者出现淋巴结转移的独立危险因素。肿瘤浸润至浆膜层说明肿瘤已经到进展期,浸润深度较深,极易转移至胃周淋巴结。未分化型的肿瘤异型性较高,侵袭力较强,早期出现淋巴结转移的可能性大,且分化程度越低,患者出现淋巴结转移的时间越早,预后越差。研究显示,胃癌合并胃溃疡的患者早期淋巴结转移率明显高于无溃疡者,但其机制尚不明确[15]。关于 TMSB10 表达水平与胃癌细胞早期出现淋巴结转移之间的关系,研究表明,人为沉默 TMSB10 能够抑制胃癌细胞迁移、侵袭和血管生成[16]。TMSB10 作为肌动蛋白结合蛋白,含有 40~44 个氨基酸残基,具有多种生理功能,如抑制炎症和骨髓干细胞增殖,增加金属蛋白酶的活性,促进肿瘤血管生成等,其作用机制可能与 TMSB10 作用于 Ras 系统有关[17]。研究指出,TMSB10 通过抑制 Ras 系统进一步干扰肌动蛋白的聚合,从而调控肌动蛋白的运动,TMSB10 促进肿瘤的转移可能是通过抑制 Ras 相关蛋白和肌动蛋白聚合,导致细胞连接丧失,进而促进肿瘤细胞扩散[18]。

相关研究表明,TMSB10 的 mRNA 在许多肿瘤组织中呈高表达状态[19]。有研究报道,TMSB10 在肺癌、肝癌、食管癌和结肠癌等多种恶性肿瘤组织中高表达,且与肿瘤的转移及侵袭密切相关[20]。同时,TMSB10 在肿瘤转移、血管生成、细胞凋亡和创伤愈合等多种生理病理过程中发挥重要作用,能够影响癌症患者的预后[21]。本研究对行胃癌根治术的患者进行了 12 个月的随访,观察其是否出现进展,结果发现,TMSB10 高表达组患者术后早期进展风险明显高于 TMSB10 低表达组,进一步证实了 TMSB10 高表达能够促进肿瘤细胞增殖转移。一项动物试验显示,敲除 TMSB10 会抑制大鼠早期胃癌细胞的增殖、迁移和侵袭,而过表达 TMSB10 则结果相反[22]。另有研究表明,抑制 TMSB10 可通过激活体内外 AKT/FOXO 信号通路抑制胃癌细胞的增殖和侵袭[23]。因此,TMSB10 高表达为胃癌早期进展创造了有利的环境。

本研究为单中心研究,样本量有限,后期仍需要增大样本量,进行多中心进行论证;另外,本研究随访时间较短,TMSB10 对患者总生存期以及远期进展的影响仍需进一步探讨。

综上所述,TMSB10 在胃癌组织中高表达能够增加患者淋巴结转移的风险,且与胃癌患者术后早期进展高度相关。

[参考文献]

[1] 徐惠绵,王 鑫. 我国胃癌诊治临床研究现状与展望[J]. 中华胃肠外科杂志,2020,23(2):109-114. doi:10.3760/cma.j.issn.1671-0274.2020.02.003.

[2] 韩文秀,徐阿曼,陈章明,等. 早期胃癌患者淋巴结转移危险因素分析及风险预测模型的建立[J]. 中华普通外科杂志,2017,32(4):

285 - 288. doi:10.3760/cma.j.issn.1007 - 631X.2017.04.001.

[3] 雷新益,张志云,吉祖进,等. IL-11、STAT3 及 P-STAT3 蛋白在胃癌患者组织中的表达及与疾病进展的关系研究[J]. 实用癌症杂志,2019,34(2):5. doi:10.3969/j.issn.1001 - 5930.2019.02.005.

[4] Zeng J,Yang X,Yang L,et al. Thymosin β10 promotes tumor-associated macrophages M2 conversion and proliferation via the PI3K/Akt pathway in lung adenocarcinoma[J]. Respir Res,2020,21(1):328. doi:10.1186/s12931 - 020 - 01587 - 7.

[5] 马 丽,石荣珍,邓九零,等. 胸腺素 β4 和 β10 表达促进小鼠乳腺癌细胞转移[J]. 中国药理学与毒理学杂志,2018,32(7):61 - 68. doi:10.3867/j.issn.1000 - 3002.2018.07.008.

[6] Yan Z,Yan Q,Song Y,et al. TMSB10,a potential prognosis prediction biomarker,promotes the invasion and angiogenesis of gastric cancer[J]. J Gastroenterol Hepatol,2021,33(13):11 - 16. doi:10.1111/jgh.15576.

[7] 国家卫生健康委员会. 胃癌诊疗规范(2018 年版)[J]. 中华消化病与影像杂志(电子版),2019,9(3):118 - 144. doi:10.3877/cma.j.issn.2095 - 2015.2019.03.008.

[8] 中国医师协会内镜医师分会腹腔镜外科专业委员会,中国研究型医院学会机器人与腹腔镜外科专业委员会,中国腹腔镜胃肠外科研究组. 中国腹腔镜胃癌根治手术质量控制专家共识(2017 版)[J]. 中华消化外科杂志,2017,16(6):539 - 547. doi:10.3760/cma.j.issn.1673 - 9752.2017.06.001.

[9] Yang C,Liu Y,Fang K. Thymosin β10 mediates the effects of micro RNA-184 in the proliferation and epithelial-mesenchymal transition of BCPAP cells[J]. Exp Ther Med,2021,22(1):742. doi:10.3892/ETM.2021.10174.

[10] Wang B,Wang Z,Zhang T,et al. Overexpression of thymosin β10 correlates with disease progression and poor prognosis in bladder cancer[J]. Exp Ther Med,2019,18(5):3759 - 3766. doi:10.3892/etm.2019.8006.

[11] 杨继岚,蒋永新. 胸腺素 β10 与恶性肿瘤相关性的研究进展[J]. 中国老年学杂志,2015,35(1):257 - 259. doi:10.3969/j.issn.1005 - 9202.2015.01.131.

[12] Zhang X,Ren D,Guo L,et al. Thymosin beta 10 is a key regulator of tumorigenesis and metastasis and a novel serum marker in breast cancer[J]. Breast Cancer Res,2017,19(1):15. doi:10.1186/s13058 - 016 - 0785 - 2.

[13] Jia K,Lin M,Kong D,et al. Recombinant expression and bioactivity characterization of TAT-fused thymosin β10[J]. Protein J,2019,38(6):675 - 682. doi:10.1007/s10930 - 019 - 09855 - 2.

[14] Li J,Zhou S,Li H,et al. PTEN/AKT upregulation of TMSB10 contributes to lung cancer cell growth and predicts poor survival of the patients[J]. Biosci Biotechnol Biochem,2021,85(4):805 - 813. doi:10.1093/bbb/zbaa113.

[15] 闵丛丛,张 静,丁士刚,等. 早期胃癌淋巴结转移的多因素分析[J]. 中国微创外科杂志,2018,18(3):193 - 196. doi:10.3969/j.issn.1009 - 6604.2018.03.001.

[16] Zhou J,Zhu X,Wu S,et al. Glycoprotein hormone α-subunit promotes cell proliferation and tumorigenesis in breast cancer[J]. Oncol Lett,2022,23(5):142. doi:10.3892/ol.2022.13263.

[17] Wang J,Liu M,Bai X,et al. Molecularcloning,expression,purification and osteoblasts proliferation activity of sika deer thymosin beta10[J]. Pol J Vet Sci,2017,20(4):751 - 758. doi:10.1515/pjvs - 2017 - 0095.

[18] Pan Q,Cheng G,Liu Y,et al. TMSB10 acts as a biomarker and promotes progression of clear cell renal cell carcinoma[J]. Int J Oncol,2020,56(5):1101 - 1114. doi:10.3892/ijo.2020.4991.

[19] Knipper S,Tilki D,Mazzone E,et al. Contemporary clinicopathological characteristics of pT0 prostate cancer at radical prostatectomy:a population-based study[J]. Urol Oncol,2019,37(10):696 - 701. doi:10.1016/j.urolonc.2019.05.001.

[20] Wang C,Ma X,Zhang J,et al. DNMT1 maintains the methylation of miR-152-3p to regulate TMSB10 expression,thereby affecting the biological characteristics of colorectal cancer cells[J]. IUBMB Life,2020,72(11):2432 - 2443. doi:10.1002/iub.2366.

[21] 张 莹,孙 思,王宽宇,等. 胸腺素 β10 在脑胶质瘤中表达及其临床意义[J]. 肿瘤,2018,38(5):460 - 468. doi:10.3781/j.issn.1000 - 7431.2018.33.041.

[22] Xiao R,Shen S,Yu Y,et al. TMSB10 promotes migration and invasion of cancer cells and is a novel prognostic marker for renal cell carcinoma[J]. Int J Clin Exp Pathol,2019,12(1):305 - 312.

[23] Song C,Su Z,Guo J. Thymosin β 10 is overexpressed and associated with unfavorable prognosis in hepatocellular carcinoma[J]. Biosci Rep,2019,39(3):BSR20182355. doi:10.1042/BSR20182355.

(编辑:龙小芬)