

# ALDH3B1 的表达与肿瘤组织病理学和远期预后相关

李晴晴<sup>1,2</sup>, 邱权威<sup>2,3</sup>, 张乐乐<sup>2,5</sup>, 张小凤<sup>4</sup>, 王月月<sup>1</sup>, 耿志军<sup>4</sup>, 葛思堂<sup>3</sup>, 左芦根<sup>3</sup>, 宋雪<sup>4</sup>, 李静<sup>1</sup>, 胡建国<sup>1</sup>  
蚌埠医学院第一附属医院<sup>1</sup>检验科,<sup>3</sup>胃肠外科,<sup>4</sup>中心实验室,安徽蚌埠 233000;<sup>2</sup>蚌埠医学院,安徽蚌埠 233030;<sup>5</sup>蚌埠医学院组织移植重点实验室,安徽蚌埠 233000

**摘要:**目的 探究乙醛脱氢酶3B1(ALDH3B1)在胃癌组织中的表达情况,明确其与胃癌病理参数和远期预后的关系。方法 纳入分析我院行胃癌根治术患者101例,治疗时间范围在2013年1月~2016年11月,采用免疫组织化学法检测胃癌和癌旁组织中ALDH3B1的表达,统计学分析ALDH3B1与病理组织学参数的关系以及对胃癌术后远期生存的预测评估价值;对MGC-803胃癌细胞系采用慢病毒特异性干扰和过表达ALDH3B1,经免疫印迹法验证基因调控效果,实验分为正常对照组(NC),干扰组(Si-ALDH3B1)和过表达组(LV-ALDH3B1),探究ALDH3B1作用于胃癌细胞恶性行为的影响。结果 胃癌组织中ALDH3B1和Ki67的表达显著增加( $P<0.05$ );胃癌组织中ALDH3B1表达量与外周血CEA及CA19-9间均存在正相关关系( $P<0.01$ )。ALDH3B1高表达组患者CEA $\geq 5$   $\mu\text{g/L}$ 、CA19-9 $\geq 37$   $\text{kU/L}$ 、T分期为3~4期及N分期为2~3期的比例显著高于ALDH3B1低表达组( $P<0.05$ )。K-M生存分析结果显示ALDH3B1高表达组患者5年生存率显著降低( $P<0.01$ )。经单因素及Cox多元回归模型分析得出ALDH3B1高表达( $P<0.05$ , HR=0.231, 95% CI: 0.064~0.826)、CEA $\geq 5$   $\mu\text{g/L}$ ( $P<0.01$ , HR=4.478, 95% CI: 1.530~13.110)、CA19-9 $\geq 37$   $\text{kU/L}$ ( $P<0.01$ , HR=3.877, 95% CI: 1.625~9.247)、T分期为3~4期( $P<0.01$ , HR=4.953, 95% CI: 1.768~13.880)及N分期为2~3期( $P<0.05$ , HR=2.152, 95% CI: 1.152~4.022)为影响胃癌根治术后5年生存期的独立危险因素。此外,以ALDH3B1相对表达量4.66为截点值,预判术后5年死亡的敏感性为76.47%,特异性为76%( $P<0.01$ );细胞学实验证明ALDH3B1高表达可促进胃癌细胞的增殖、迁移及侵袭能力。结论 ALDH3B1在胃癌组织中高表达与肿瘤病理学参数相关,是胃癌根治术后5年生存率的独立危险因素,可能促进肿瘤细胞的增殖、侵袭及转移等生物学过程。

**关键词:**胃癌;乙醛脱氢酶3B1;病理;生存分析;危险因素分析

## ALDH3B1 expression is correlated with histopathology and long-term prognosis of gastric cancer

LI Qingqing<sup>1,2</sup>, QIU Quanwei<sup>2,3</sup>, ZHANG Lеле<sup>2,5</sup>, ZHANG Xiaofeng<sup>4</sup>, WANG Yueyue<sup>3</sup>, GENG Zhijun<sup>4</sup>, GE Sitang<sup>3</sup>, ZUO Lugen<sup>3</sup>, SONG Xue<sup>4</sup>, LI Jing<sup>1</sup>, HU Jianguo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Clinical Laboratory, <sup>2</sup>Department of Gastrointestinal surgery, <sup>4</sup>Central Laboratory, First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu 233000, China; <sup>3</sup>Bengbu Medical College, Bengbu 233030, China; <sup>5</sup>Key Laboratory of tissue transplantation, Bengbu Medical College, Bengbu 233000, China

**Abstract: Objective** To investigate the expression of aldehyde dehydrogenase 3B1 (ALDH3B1) in gastric cancer and explore its correlation with the pathological parameters and long-term prognosis of the patients. **Methods** We analyzed the clinical data of 101 patients who underwent radical gastrectomy for gastric cancer in our hospital between January, 2013 and November, 2016, and examined the expression of ALDH3B1 in paraffin-embedded samples of gastric cancer tissues and adjacent tissues from these cases by immunohistochemical staining. We evaluated the correlation between ALDH3B1 expressions and histopathological parameters and assessed the predictive value of ALDH3B1 expression for long-term survival of the patients. We also examined the effect of lentivirus-mediated interference and overexpression of ALDH3B1 on the malignant behaviors of MGC-803 gastric cancer cells. **Results** The expressions of ALDH3B1 and Ki67 were significantly higher in gastric cancer tissues than in adjacent tissues ( $P<0.05$ ). In gastric cancer patients, ALDH3B1 expression was positively correlated with peripheral blood CEA and CA19-9 levels ( $P<0.01$ ). The proportion of patients with CEA  $\geq 5$   $\mu\text{g/L}$ , CA19-9  $\geq 37$   $\text{kU/L}$ , T stage of 3-4, and N stage of 2-3 was significantly greater in high ALDH3B1 expression group than in low expression group. Kaplan-Meier survival analysis showed that the 5-year survival rate was significantly lower in gastric cancer patients with high ALDH3B1 expressions ( $P<0.01$ ). Univariate and Cox multiple regression analyses identified a high expression of ALDH3B1 ( $P<0.05$ , HR=0.231, 95% CI: 0.064-0.826), CEA $\geq 5$   $\mu\text{g/L}$  ( $P<0.01$ , HR=4.478, 95% CI: 1.530-13.110), CA19-9 $\geq 37$   $\text{kU/L}$  ( $P<0.01$ , HR=3.877, 95% CI: 1.625-9.247), T stage of 3-4 ( $P<0.01$ , HR=4.953, 95% CI: 1.768-13.880), and N stage of 2-3 ( $P<0.05$ , HR=2.152, 95% CI: 1.152-4.022) as independent risk factors affecting 5-year survival after radical gastrectomy. The relative ALDH3B1 expression level, at the cut-off point of 4.66, showed a sensitivity of 76.47% and a specificity of 76% for predicting 5-year postoperative death ( $P<0.01$ ). In the cell experiment, overexpression of ALDH3B1 obviously promoted the proliferation, migration and invasion of MGC-803

cells. **Conclusion** As an independent risk factor affecting 5-year survival after radical gastrectomy, ALDH3B1 is highly expressed in gastric cancer and correlated with pathological parameters of the tumor, and a high ALDH3B1 expression may promote proliferation, invasion and metastasis of gastric cancer cells.

**Keywords:** gastric cancer; aldehyde dehydrogenase 3B1; pathology; survival analysis; risk factor analysis

收稿日期:2022-03-04

基金项目:安徽省高校协同创新项目(GXXT-2020-020);蚌埠医学院第一附属医院优秀青年科学基金(2019byfyq02);蚌埠医学院自然科学重大项目孵育计划(2020byfy003)

作者简介:李晴晴,在读硕士研究生,E-mail:liqingqing0116@163.com

通信作者:胡建国,教授,硕士生导师,E-mail:jghu9200@bbmc.edu.cn

胃癌是消化系统中常见的恶性肿瘤之一<sup>[1,2]</sup>,发病率和死亡率高<sup>[3]</sup>,目前手术治疗是胃癌根治术的首选方法<sup>[4]</sup>,但是由于胃癌发现时多属于晚期,手术疗效差,导致术后生存率较低<sup>[5]</sup>。胃癌的转移和癌细胞的恶性增殖是影响其预后的重要因素,肿瘤细胞的恶性生物学行为受多种基因调控<sup>[6-8]</sup>。近年的研究已报道多种蛋白分子在胃癌组织中异常表达与胃癌患者生存率低相关<sup>[9-12]</sup>,但是仍存在特异性较低,无法在临床中应用并推广等问题<sup>[13]</sup>。因此,寻找特异性强且预测价值高的分子标志物并应用于临床是目前亟待解决的问题。乙醛脱氢酶3B1(ALDH3B1)是乙醛脱氢酶家族的重要成员<sup>[14,15]</sup>,研究表明ALDH3B1在肺癌、结肠癌、乳腺癌和卵巢癌等癌组织中异常表达<sup>[16]</sup>,并且发现ALDH3B1在人胰腺癌中高表达与患者预后不良密切相关,可作为胰腺癌的独立预后生物标志物<sup>[17]</sup>。但是,ALDH3B1在胃癌组织中的表达、与患者远期预后的关系及其对胃癌细胞恶性行为的影响尚未见报道。本研究通过采用免疫组织化学分析ALDH3B1在胃癌组织中的表达情况,进一步分析其对手术远期预后的评估价值以及对胃癌细胞的作用,以期对胃癌的发病机制及预后评估指标提供线索,为临床诊疗提供新的视角。

## 1 资料和方法

### 1.1 资料采集方法

纳入分析2013年1月~2016年11月在我院接受胃癌根治术的患者101例。所有患者均经临床及病理检查明确诊断为原发性胃癌并成功施行D2胃癌根治术;患者术前均未接受过放疗或化疗,诊断无其他组织起源的恶性肿瘤。采集患者3种疾病相关资料,包括住院期间临床资料:通过永久保存的电子病历系统采集性别、年龄、肿瘤临床分期、手术病理诊断、术前肿瘤标志物指标癌胚抗原(CEA)及糖抗原19-9(CA19-9)等;生存资料:通过电话随访采集患者术后生存情况,确定术后5年肿瘤相关性死亡是否发生及时间;手术病理蜡块:从病理科调取癌组织及癌旁组织蜡块,并进行ALDH3B1免疫组织化学染色。本项目经蚌埠医学院第一附属医院伦理委员会审核批准(批准号:伦科批字[2021]第221号)。另于我院《消化系统肿瘤生物标本库系统》中调取15例胃癌患者癌组织和癌旁组织冰冻标本(液氮保存)用于验证ALDH3B1的基因表达(伦理批件号:2020KY022)。

### 1.2 诊断及标准

胃癌的最终诊断依据手术标本病理检查结果,临床诊断及病理学诊断标准参照美国肿瘤联合会(AJCC)及国际抗癌联盟(UICC)制定的第7版胃癌诊断及分期系统。

### 1.3 检测方法

1.3.1 肿瘤标志物检测 CA19-9及CEA采用雅培全自动化学发光分析仪及其配套试剂检测完成,CA19-9的阳性阈值为 $\geq 37$  kU/L,CEA的阳性阈值为 $\geq 5$   $\mu$ g/L。

1.3.2 ALDH3B1、Ki67免疫组织化学检测 ALDH3B1与Ki67在胃癌组织中的表达及细胞定位采用免疫组织化学法评估。胃癌和癌旁组织蜡块,制作为4  $\mu$ m厚度连续切片,60  $^{\circ}$ C烘干及脱蜡后标记ALDH3B1(兔抗人多克隆抗体;1:200;Proteintech)或Ki67(兔抗人多克隆抗体;1:400;Abcam)。采用积分光密度(IOD)对ALDH3B1和Ki67进行半定量分析。

1.3.3 荧光定量PCR检测胃癌中mRNA表达 制备样品匀浆,使用Trizol(ambion)法提取总RNA,提取的RNA使用反转录试剂盒(Takara)进行反转录,以GAPDH为内参基因,使用PCR试剂盒(Takara)在QuantStudio DX系统进行荧光定量PCR,通过计算ALDH3B1的 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 值评估其mRNA的表达。使用的引物均由上海生工公司合成,引物序列如下:GAPDH上游:5'-TGACCTCAACTACATGGTCTACA-3',下游:5'-CTTCCCATTCTCGGCCTTG-3';ALDH3B1上游:5'-GCCCTGGAAGTATCCGCTG-3',下游:5'-CGTTCTTGCTAATCTCCGATGG-3'。

1.3.4 ALDH3B1调控胃癌细胞增殖检测(CCK-8) 胃癌细胞系(MGC-803)来源于国家生物医学实验细胞资源库(资源编号:1101HUM-PUMC000660),使用含10% FBS的RPMI 1640培养基,培养于37  $^{\circ}$ C的5% CO<sub>2</sub>培养箱中。对MGC-803细胞采用慢病毒特异性干扰和过表达ALDH3B1(吉凯基因),使用过表达ALDH3B1载体和对照空载体(质粒GV358)、干扰ALDH3B1载体(siRNA:GCTGAAGCCATCGGAGATTAG)和对照空载体(质粒GV248)进行慢病毒转染MGC803细胞。将MGC803细胞接种到6孔板中,待细胞贴壁达到70%~80%后,加入含有慢病毒( $1 \times 10^7$  TU/mL)及感染增强液HitransG P的完全培养基进行感染以及嘌呤霉素筛选出稳定表达细胞株,经免疫印迹法验证基因调控效果。CCK8实验分为正常对照组(NC)、干扰组(Si-ALDH3B1)和过表达组(LV-ALDH3B1),将基因调控后的MGC-803细胞接种于96孔板中,置于37  $^{\circ}$ C的5% CO<sub>2</sub>培养箱中培养12 h,采用CCK-8试剂盒(索莱宝:CA1210)检测细胞增殖情况,测定 $A_{450nm}$ 。

1.3.5 ALDH3B1调控细胞转移和侵袭检测 将以上3组MGC-803细胞接种于Transwell小室(8  $\mu$ m孔径,Corning)中,将1 mL完全培养液加入下室,培养48 h,Transwell小室细胞经4%多聚甲醛固定30 min,1%结晶紫染色30 min,计数迁移细胞数量。对于侵袭检测,将100  $\mu$ L的基质胶均匀地分布在Transwell小室上,同样

检测侵袭的细胞数量。

#### 1.4 观察指标

采用免疫组化法和荧光定量PCR法分析ALDH3B1在胃癌及癌旁组织中的表达差异以及与Ki67表达量的相关性;分析ALDH3B1的表达量与患者术前CEA及CA19-9间的相关性;以患者癌组织中ALDH3B1表达量的中位数为界将患者分为ALDH3B1高表达组及低表达组,并比较两组术后5年生存率;纳入患者性别、年龄、肿瘤体积大小、T分期等因素,采用单因素及多因素回归模型分析ALDH3B1表达量是否为影响胃癌患者术后5年生存率的独立危险因素以及预测癌性致死的价值;细胞水平观察ALDH3B1对胃癌细胞系(MGC-803)恶性行为(增殖、转移和侵袭)的影响。

#### 1.5 统计学分析

数据分析采用SPSS Statistics 26.0软件,计量资料采用均数±标准差表示,组间差异采用 $t$ 检验分析;计数资料的组间比较采用 $\chi^2$ 检验,样本量小于5采用Fisher精确检验法;相关性分析采用Spearman检验;术后生存率采用Kaplan-Meier(K-M)曲线表示,组间比较采用Log-rank  $\chi^2$ 检验;影响胃癌术后5年生存率的多因素分

析采用Cox比例风险回归模型(Enter法);ALDH3B1预测胃癌术后5年癌性致死的诊断价值采用受试者工作曲线(ROC)分析,检验水准为 $\alpha=0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 ALDH3B1在胃癌组织及癌旁组织中的细胞定位与表达

免疫组化及荧光定量PCR结果显示胃癌组织中ALDH3B1的表达量高于癌旁组织( $P<0.05$ ),且主要表达于癌细胞胞质(图1A、C、D);IOD值分析显示胃癌组织内Ki67的表达量显著高于癌旁组织( $P<0.05$ ),且主要表达于癌细胞核(图1B、E)。

### 2.2 胃癌组织中ALDH3B1相对表达量与外周血肿瘤标志物的相关性

胃癌组织中ALDH3B1相对表达量与外周血CEA及CA19-9间均存在正相关[CEA( $r=0.714, P<0.01$ ), CA19-9( $r=0.549, P<0.01$ )],图2A、B]。

### 2.3 胃癌组织中ALDH3B1的表达量与临床及病理参数间的关系

以ALDH3B1相对表达量的中位数(4.66)为界将

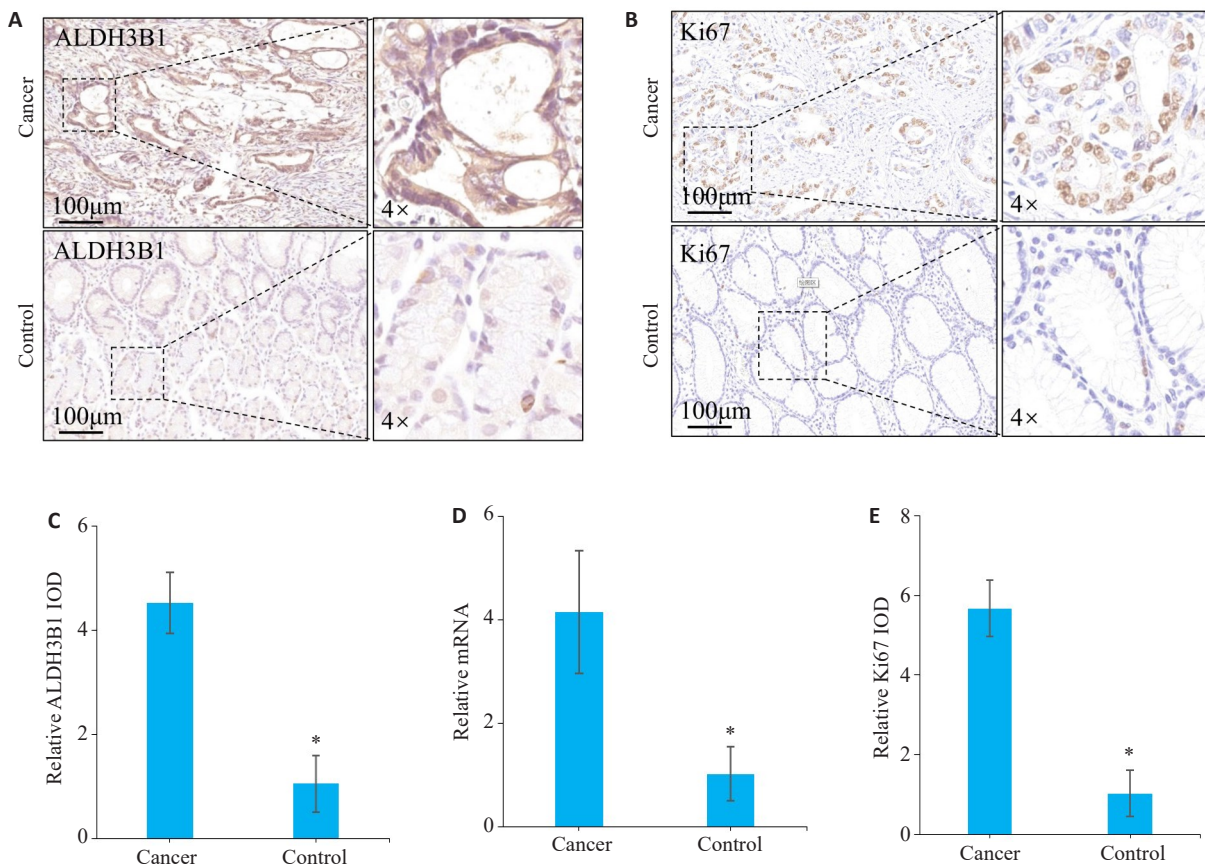


图1 ALDH3B1和Ki67在胃癌组织及癌旁组织中的细胞定位及表达

Fig.1 Localization and expression of ALDH3B1 and Ki67 in gastric cancer and adjacent tissues. A: Immunohistochemical staining of ALDH3B1. B: Immunohistochemical staining of Ki67. C, D: ALDH3B1 relative IOD value and analysis of mRNA expression. E: Relative IOD of Ki67. \* $P<0.05$  vs paracancerous tissue.

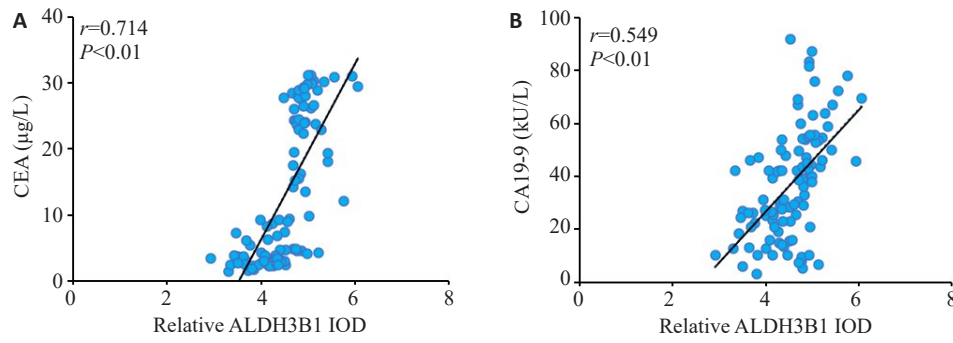


图2 胃癌组织中ALDH3B1与外周血CEA及CA19-9间的相关性分析

Fig.2 Correlation of ALDH3B1 with CEA and CA19-9 levels in peripheral blood of gastric cancer patients. A: Correlation between ALDH3B1 and CEA. B: Correlation between ALDH3B1 and CA19-9.

患者分为ALDH3B1低表达组( $n=50$ )和高表达组( $n=51$ )。两组患者性别、年龄及肿瘤大小差异无统计学意义( $P>0.05$ );ALDH3B1高表达组患者CEA $\geq 5 \mu\text{g/L}$ 、CA19-9 $\geq 37 \text{ kU/L}$ 、T分期为3~4期及N分期为2~3期的比例高于ALDH3B1低表达组( $P<0.05$ ,表1)。

2.4 胃癌组织中ALDH3B1的表达量对根治术后5年生存率的影响

K-M生存分析显示ALDH3B1高表达组患者术后

5年生存率显著低于低表达组(Log-rank  $\chi^2=22.121, P<0.01$ ,图3)。

2.5 影响胃癌根治术后5年生存期的单因素及多因素分析

单因素分析显示,ALDH3B1高表达、CEA $\geq 5 \mu\text{g/L}$ 、CA19-9 $\geq 37 \text{ kU/L}$ 、肿瘤 $\geq 5 \text{ cm}$ 、T分期为3~4期、N分期为2~3期可能是影响胃癌根治术后5年生存期的危险因素( $P$ 均 $<0.01$ )。将以上病理参数纳入Cox回归模型,最终

表1 胃癌组织中ALDH3B1的表达量与胃癌患者临床及病理参数间的关系

Tab.1 Relationship between the expression of ALDH3B1 and clinicopathological parameters of gastric cancer patients

Clinicopathological parameters	Number of cases	ALDH3B1		$\chi^2$	P
		Low expression ( $n=50$ )	High expression ( $n=51$ )		
Gender					
Female	26	12 (46.2%)	14 (53.8%)	0.157	0.821
Male	75	38 (50.7%)	37 (49.3%)		
Age (year)					
<60	41	23 (56.1%)	18 (43.9%)	1.200	0.314
$\geq 60$	60	27 (45.0%)	33 (55.0%)		
CEA ( $\mu\text{g/L}$ )					
<5	42	37 (88.1%)	5 (11.9%)	42.833	<0.01
$\geq 5$	59	13 (22.0%)	46 (78.0%)		
CA19-9 (kU/L)					
<37	50	38 (76.0%)	12 (24.0%)	27.807	<0.01
$\geq 37$	51	12 (23.5%)	39 (76.5%)		
Tumor size (cm)					
<5	55	31 (56.4%)	24 (43.6%)	2.273	0.095
$\geq 5$	46	19 (41.3%)	27 (58.7%)		
T Stage					
T1-T2	57	47 (82.5%)	10 (17.5%)	56.831	<0.01
T3-T4	44	3 (6.8%)	41 (93.2%)		
N Stage					
N0-N1	62	38 (61.3%)	24 (38.7%)	8.921	<0.01
N2-N3	39	12 (30.8%)	27 (69.2%)		

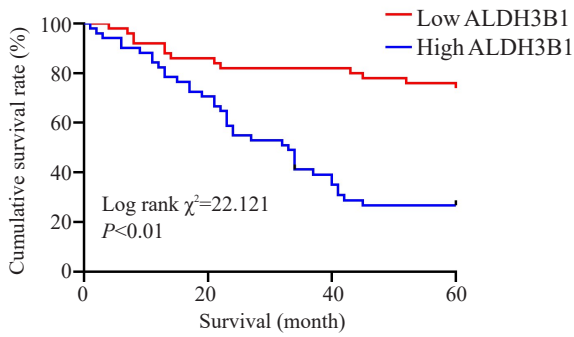


图3 K-M生存曲线分析ALDH3B1表达与胃癌根治术后5年生存率的关系

Fig.3 Kaplan-Meier survival analysis of the correlation between ALDH3B1 expression and 5-year survival rate of gastric cancer patients after radical gastrectomy.

得ALDH3B1高表达、CEA≥5 μg/L、CA19-9≥37 kU/L、T分期为3~4期、N分期为2~3期为影响胃癌根治术后5年生存期的独立危险因素(表2)。

2.6 ALDH3B1表达量对胃癌根治术后5年生存情况的预判价值

ROC曲线显示,以ALDH3B1相对表达量4.67为截点值,预判术后5年死亡的敏感性为76.47%,特异性为76.00%,曲线下面积为0.794( $P<0.01$ ,图4A),与Ki67的相对表达量的ROC曲线相比(图4B),ALDH3B1预判术后5年生存情况的预判价值较高。

2.7 ALDH3B1对胃癌细胞增殖的影响

通过Western blot验证过表达和干扰ALDH3B1的效果,结果显示ALDH3B1过表达组和干扰组与其各自对照组相比有明显效果(图5A~D);CCK-8结果显示,

表2 影响胃癌根治术后5年生存期的单因素及多因素分析

Tab.2 Univariate and multivariate analysis of 5-year survival after radical gastrectomy

Clinicopathological parameters	Univariate analysis		Multivariate analysis		
	Log-rank $\chi^2$	<i>P</i>	HR	95% <i>CI</i>	<i>P</i>
Gender (male vs female)	0.061	0.805	-	-	-
Age (<60 year vs ≥60 year)	0.649	0.421	-	-	-
ALDH3B1 expression (high vs low)	22.121	<0.01	0.231	0.064-0.826	0.024
CEA (<5 μg/L vs ≥5 μg/L)	22.109	<0.01	4.478	1.530-13.110	0.006
CA19-9 (<37 kU/L vs ≥37 kU/L)	32.916	<0.01	3.877	1.625-9.247	0.002
Tumor size (<5 cm vs ≥5 cm)	2.838	0.092	-	-	-
T Stage (T1-T2 vs T3-T4)	42.784	<0.01	4.953	1.768-13.880	0.002
N Stage (N0-N1 vs N2-N3)	14.388	<0.01	2.152	1.152-4.022	0.016

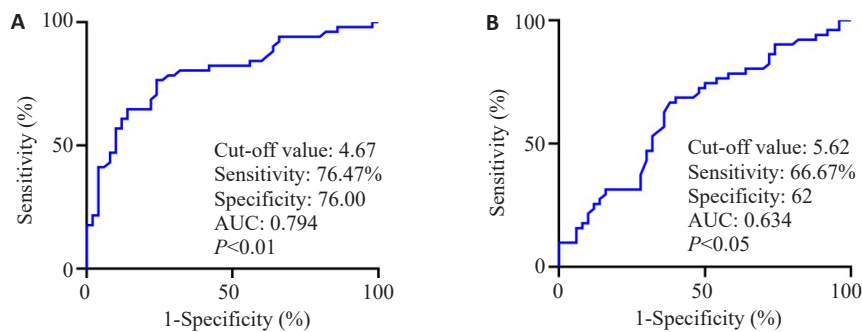


图4 ALDH3B1和Ki67表达量对胃癌根治术后5年生存情况的预判价值

Fig.4 Predictive value of ALDH3B1 (A) and Ki67 expression (B) for 5-year survival of gastric cancer patients after radical gastrectomy.

敲低ALDH3B1可显著抑制胃癌细胞(MGC-803)的增殖能力,而过表达ALDH3B1可显著增强其增殖能力( $P<0.05$ ,图5E)。

2.8 ALDH3B1对胃癌细胞迁移和侵袭能力的影响

Transwell小室结果显示,敲低ALDH3B1可显著抑制胃癌细胞(MGC-803)的迁移和侵袭能力( $P<0.05$ ,图6A~C),而过表达ALDH3B1可显著增强其迁移和侵袭能力( $P<0.05$ ,图5C)。

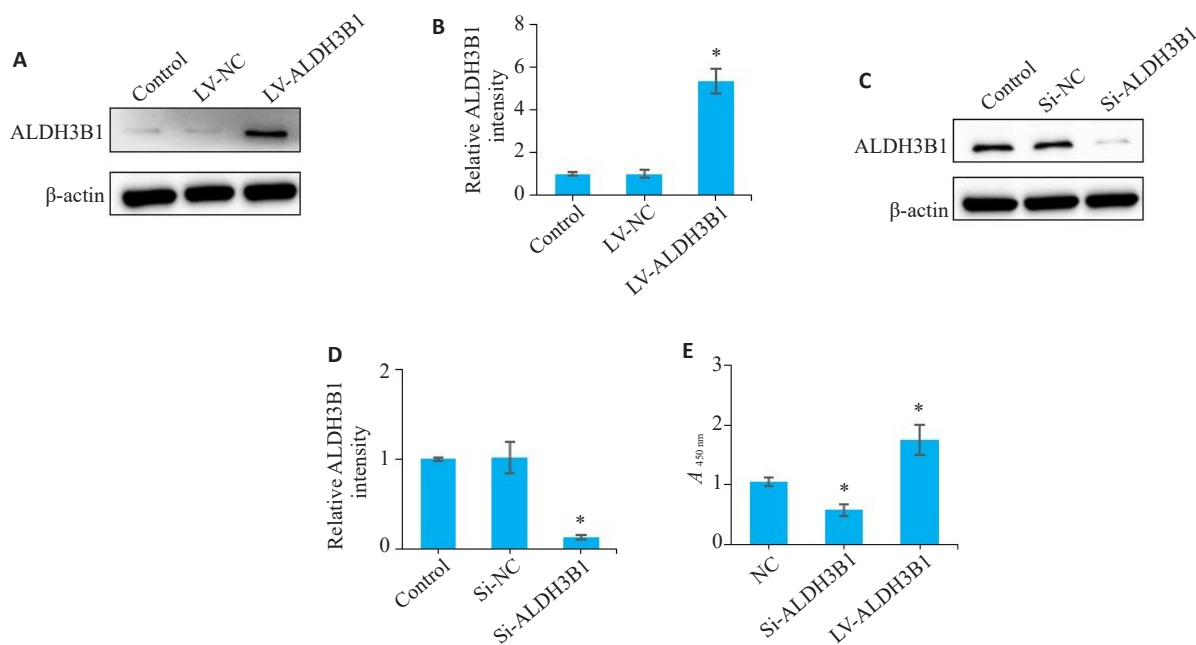


图5 ALDH3B1促进胃癌细胞增殖

Fig.5 ALDH3B1 promotes the proliferation of gastric cancer cells. A: Western blotting of LV-ALDH3B1 expressions; B: Analysis of relative LV-ALDH3B1 intensity; C: Western blotting of Si-ALDH3B1 expressions; D: Analysis of relative Si-ALDH3B1 intensity; E: A<sub>490 nm</sub> of CCK-8. NC: Normal control; Si: siRNA; LV: overexpression. \*P<0.05 vs NC.

### 3 讨论

胃癌预后评估与生存分析对于提高患者生存率,改善患者术后生存质量具有重要意义。ALDH3B1在正常组织及多种肿瘤组织中表达,但是其与肿瘤之间还没有明确的关系。有研究证实,ALDHs家族可作为多种肿瘤干细胞的标志物<sup>[18-20]</sup>,重要的是,ALDH3B1在胃癌发生发展及预后中的作用尚未见报道,因此我们拟明确ALDH3B1在胃癌组织中的表达及临床意义,并进一步探讨其对胃癌细胞的作用。

本研究,采用免疫组织化学染色及荧光定量PCR分析发现ALDH3B1在胃癌组织中表达水平显著高于癌旁组织,提示ALDH3B1可能参与了胃癌的进展。目前有关胃癌诊断及预后的肿瘤标志物研究有很多,最常用的就是血清中CA19-9和CEA的应用<sup>[21]</sup>,对于一些标记物其敏感性和特异性还有待进一步证实,因此需要研究特异性强且预测价值高的分子标志物。我们进一步将胃癌组织中ALDH3B1表达量与患者外周血CEA及CA19-9等肿瘤标志物进行相关性分析,发现ALDH3B1与CEA和CA19-9的表达量具有正相关性,我们推测,ALDH3B1能否作为胃癌的独立危险因素。接下来,我们采用单因素分析法,评估胃癌组织中ALDH3B1的表达量与患者临床病理参数间的关系,ALDH3B1高表达组与低表达组患者在性别、年龄、肿瘤大小上比较无显著性差异,而ALDH3B1高表达组患者

CEA≥5 μg/L、CA19-9≥37 kU/L、T分期为3~4期及N分期为2~3期的比例显著高于ALDH3B1低表达组,我们的结果也证实了ALDH3B1可作为胃癌的独立危险因素。ALDH3B1的基因表达水平与急性淋巴细胞白血病(ALL)预后相关,ALL患者中ALDH3B1基因表达水平降低,且表达低的患者预后不良<sup>[22]</sup>。为了探究胃癌组织中ALDH3B1的表达量是否对胃癌根治术后5年生存率产生影响,我们使用K-M生存分析方法,结果显示ALDH3B1高表达组患者术后5年生存率显著低于低表达组。文献报道,ALDH3B1可作为肺腺癌预后差的标志物<sup>[17]</sup>。我们在胃癌中采用Cox回归分析,得出ALDH3B1可作为影响胃癌根治术后5年生存期的独立危险因素,以上结果与其在肺癌中的研究相似。另外,我们采用ROC曲线分析ALDH3B1、Ki67对胃癌5年生存期的预判价值,证明ALDH3B1预判胃癌术后5年死亡的敏感性为76.47%,特异性为76.00%,曲线下面积为0.794,表明ALDH3B1对胃癌根治术后5年生存情况具有预判价值。

ALDH基因家族广泛参与体内各种脂质的代谢,可以降解细胞内有毒物质,对细胞有保护作用<sup>[23, 24]</sup>。ALDH基因家族还被证实与恶性疾病的发生密切相关<sup>[25-30]</sup>,如ALDH2与再生障碍性贫血及白血病的进展相关;我们的数据证明ALDH3B1高表达是胃癌根治术后5年生存率的独立危险因素,然而ALDH3B1影响胃

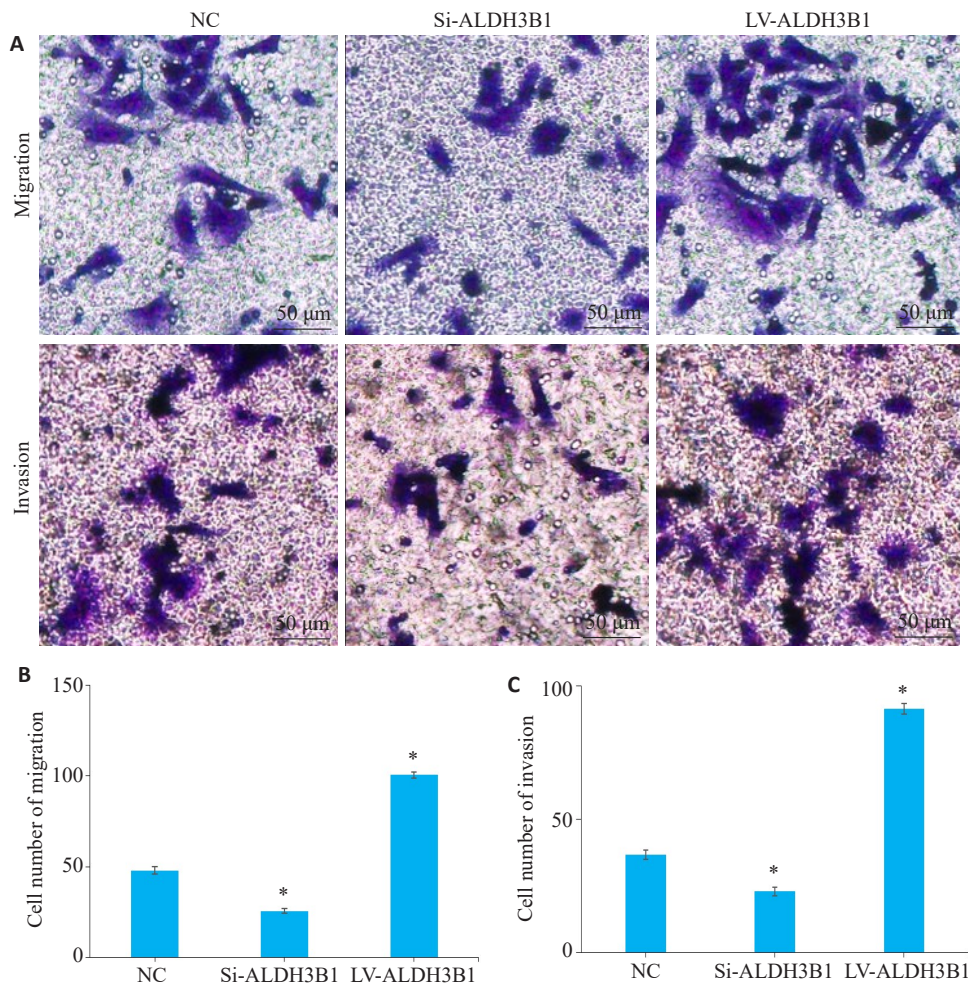


图6 ALDH3B1促进胃癌细胞迁移和侵袭

Fig.6 ALDH3B1 overexpression promotes migration and invasion of gastric cancer cells. A: Transwell. B: Cell number of migration. C: Cell number of invasion. NC: Normal control; Si: siRNA; LV: Overexpression. \*P<0.05 vs NC.

癌预后的功能学途径尚不清楚。胃癌细胞的增殖、迁移和侵袭等恶性行为是影响胃癌术后的重要病理过程<sup>[31]</sup>。因此,我们深入分析ALDH3B1对胃癌恶性行为的影响。我们采用ALDH3B1基因干预胃癌细胞系MGC-803,经CCK-8分析细胞增殖能力改变,结果显示敲低ALDH3B1可抑制胃癌细胞增殖,而过表达ALDH3B1细胞增殖能力增强;进一步Transwell小室结果显示,ALDH3B1可以显著促进胃癌细胞的转移和侵袭能力。我们的体外实验证明了ALDH3B1高表达可促进胃癌细胞的增殖、迁移及侵袭过程,此研究也是对ALDH3B1功能和临床意义的重要补充。

综上所述,我们的研究显示ALDH3B1在胃癌组织中高表达并与肿瘤进展密切相关,其可能通过促进肿瘤细胞的增殖、侵袭及转移等病理过程,影响胃癌根治术后5年生存率,对胃癌患者预后评估具有重要的临床价值。

#### 参考文献:

- [1] Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, et al. Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods[J]. Int J Cancer, 2019, 144(8): 1941-53.
- [2] Machlowska J, Baj J, Sitarz M, et al. Gastric cancer: epidemiology, risk factors, classification, genomic characteristics and treatment strategies[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(11): 4012.
- [3] Wong MCS, Huang JJ, Chan PSF, et al. Global incidence and mortality of gastric cancer, 1980-2018[J]. JAMA Netw Open, 2021, 4(7): e2118457.
- [4] Tan ZY. Recent advances in the surgical treatment of advanced gastric cancer: a review[J]. Med Sci Monit, 2019, 25: 3537-41.
- [5] Joshi SS, Badgwell BD. Current treatment and recent progress in gastric cancer[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 264-79.
- [6] Zhu Z, Gong YB, Xu HM. Clinical and pathological staging of gastric cancer: current perspectives and implications[J]. Eur J Surg Oncol, 2020, 46(10 Pt B): e14-e19.
- [7] Elia I, Haigis MC. Metabolites and the tumour microenvironment: from cellular mechanisms to systemic metabolism[J]. Nat Metab,

- 2021, 3(1): 21-32.
- [8] Zhang JL, Li S, Zhao YZ, et al. Cancer-associated fibroblasts promote the migration and invasion of gastric cancer cells *via* activating IL-17a/JAK2/STAT3 signaling[J]. *Ann Transl Med*, 2020, 8(14): 877.
- [9] 陈锦飞. 胃癌预后相关分子标志物研究进展[J]. *中国临床医生杂志*, 2021, 49(11): 1270-3.
- [10] Fattahi S, Kosari-Monfared M, Golpour M, et al. LncRNAs as potential diagnostic and prognostic biomarkers in gastric cancer: a novel approach to personalized medicine[J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(4): 3189-206.
- [11] Matsuoka T, Yashiro M. Biomarkers of gastric cancer: current topics and future perspective [J]. *World J Gastroenterol*, 2018, 24(26): 2818-32.
- [12] Zhao RL, Peng C, Song CH, et al. BICC1 as a novel prognostic biomarker in gastric cancer correlating with immune infiltrates [J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 87: 106828.
- [13] Necula L, Matei L, Dragu D, et al. Recent advances in gastric cancer early diagnosis[J]. *World J Gastroenterol*, 2019, 25(17): 2029-44.
- [14] Vasiliou V, Nebert DW. Analysis and update of the human aldehyde dehydrogenase (ALDH) gene family [J]. *Hum Genomics*, 2005, 2(2): 138-43.
- [15] 李彩霞, 吴朝霞, 王立顺. 醛脱氢酶超家族研究进展[J]. *上海交通大学学报: 医学版*, 2013, 33(6): 886-93.
- [16] Marchitti SA, Orlicky DJ, Brocker C, et al. Aldehyde dehydrogenase 3B1 (ALDH3B1): immunohistochemical tissue distribution and cellular-specific localization in normal and cancerous human tissues [J]. *J Histochem Cytochem*, 2010, 58(9): 765-83.
- [17] Sun HM, Zhang MY, Li L, et al. ALDH3B1 is an independent prognostic biomarker of lung adenocarcinoma [J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2020, 19: 1533033820946018.
- [18] Long NP, Lee WJ, Huy NT, et al. Novel biomarker candidates for colorectal cancer metastasis: a meta-analysis of *in vitro* studies [J]. *Cancer Inform*, 2016, 15(Suppl 4): 11-7.
- [19] Toledo-Guzmán ME, Hernández MI, Gómez-Gallegos ÁA, et al. ALDH as a stem cell marker in solid tumors [J]. *Curr Stem Cell Res Ther*, 2019, 14(5): 375-88.
- [20] Xu X, Chai SJ, Wang PL, et al. Aldehyde dehydrogenases and cancer stem cells [J]. *Cancer Lett*, 2015, 369(1): 50-7.
- [21] Feng F, Tian YZ, Xu GH, et al. Diagnostic and prognostic value of CEA, CA19-9, AFP and CA125 for early gastric cancer [J]. *BMC Cancer*, 2017, 17(1): 737.
- [22] 刘雨薇, 曲艺, 颜晓菁. ALDH3B1在急性淋巴细胞白血病中的表达及意义 [J]. *中国医科大学学报*, 2019, 48(10): 896-900.
- [23] Kamimura N, Goto T, Takahashi K, et al. A bacterial aromatic aldehyde dehydrogenase critical for the efficient catabolism of syringaldehyde [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 44422.
- [24] Satar NA, Fakiruddin KS, Lim MN, et al. Novel triple-positive markers identified in human non-small cell lung cancer cell line with chemotherapy-resistant and putative cancer stem cell characteristics [J]. *Oncol Rep*, 2018, 40(2): 669-81.
- [25] Niu HX, Hadwiger G, Fujiwara H, et al. Pathways of retinoid synthesis in mouse macrophages and bone marrow cells [J]. *J Leukoc Biol*, 2016, 99(6): 797-810.
- [26] Jackson BC, Thompson DC, Charkoftaki G, et al. Dead enzymes in the aldehyde dehydrogenase gene family: role in drug metabolism and toxicology [J]. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2015, 11(12): 1839-47.
- [27] Muñoz-Clares RA, González-Segura L, Murillo-Melo DS, et al. Mechanisms of protection against irreversible oxidation of the catalytic cysteine of ALDH enzymes: possible role of vicinal cysteines [J]. *Chem Biol Interact*, 2017, 276: 52-64.
- [28] Sarkar P, Basu KY, Sarkar P, et al. Correlations of aldehyde dehydrogenase-1 (ALDH1) expression with traditional prognostic parameters and different molecular subtypes of breast carcinoma [J]. *Clujul Med*, 2018, 91(2): 181-7.
- [29] Prabavathy D, Swarnalatha Y, Ramadoss N. Lung cancer stem cells-origin, characteristics and therapy [J]. *Stem Cell Investig*, 2018, 5: 6.
- [30] Liu CC, Qiang JK, Deng QD, et al. ALDH1A1 activity in tumor-initiating cells remodels myeloid-derived suppressor cells to promote breast cancer progression [J]. *Cancer Res*, 2021, 81(23): 5919-34.
- [31] Lu HM, Feng Y, Hu YL, et al. Spondin 2 promotes the proliferation, migration and invasion of gastric cancer cells [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(1): 98-113.

(编辑:余诗诗)