

富含亮氨酸重复序列/Ⅲ型纤维连接蛋白4在胃癌组织中的表达及临床意义

李引, 林青雨, 钱辰, 周侦, 翟二涛*

中山大学附属第一医院 胃肠外科中心, 广东 广州 510080

【摘要】 目的 探讨富含亮氨酸重复序列/Ⅲ型纤维连接蛋白4 (leucine-rich repeat and fibronectin type III domain-containing protein 4, LRFN4)在胃癌组织中的表达情况,并分析LRFN4表达水平与胃癌患者临床病理参数和预后的关系。**方法** 收集2017年1月至12月于中山大学附属第一医院胃肠外科中心确诊并行手术治疗的胃癌患者组织标本8对(包含胃癌组织和癌旁正常组织),并选取2004年1月至2005年12月在同一中心行手术治疗的117例胃癌患者的术后组织标本制成胃癌组织芯片。分析LRFN4在癌症基因组图谱(the cancer genome atlas, TCGA)数据库胃癌数据集中的表达情况,应用蛋白质印迹法及实时荧光定量聚合酶链反应检测LRFN4在8对新鲜胃癌组织及癌旁正常组织中的表达,应用免疫组织化学检测LRFN4在胃癌组织芯片中的表达。分析不同LRFN4表达水平的胃癌患者其临床病理参数的差异。应用Kaplan-Meier法分析不同LRFN4表达水平的胃癌患者的预后情况。应用单因素和多因素Cox回归分析法分析胃癌患者预后的影响因素。**结果** LRFN4在TCGA数据库胃癌数据集的胃癌组织以及新鲜胃癌组织中呈高表达状态。LRFN4高表达的患者,表现出更大的肿瘤大小以及更为进展的T分期、N分期、M分期和TNM分期(均 $P<0.05$),其预后也较差($P<0.001$)。单因素和多因素Cox回归分析提示LRFN4在胃癌组织中的高表达是影响胃癌患者预后的独立危险因素($HR=3.898, 95\%CI 2.273-6.686, P<0.001$)。**结论** 胃癌组织中LRFN4高表达与患者较差的预后相关,可能成为预测胃癌患者预后的生物标志物之一。

【关键词】 胃癌; 富含亮氨酸重复序列/Ⅲ型纤维连接蛋白4; 癌症基因组图谱数据库; 生物标志物; 胃癌预后

The expression and clinical significance of leucine-rich repeat and fibronectin type III domain-containing protein 4 in gastric cancer tissues

Li Yin, Lin Qingyu, Qian Chen, Zhou Zhen, Zhai Ertao*

Department of Gastrointestinal Surgery, the First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, Guangdong, China

*Corresponding author: Zhai Ertao, E-mail: Tao450000@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the expression of leucine-rich repeat and fibronectin type III domain-containing protein 4 (LRFN4) in gastric cancer tissues and analyze the relationship between LRFN4 expression levels and the clinicopathological parameters as well as the prognosis of gastric cancer patients. **Method** 8 pairs of samples of gastric cancer patients were collected, including gastric cancer and adjacent normal tissue. These patients were diagnosed and underwent surgical treatment at the Department of Gastrointestinal Surgery, the First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University from January to December 2017. Postoperative tissue samples of 117 gastric cancer patients were collected between January 2004 and December 2005 from the same center to create a gastric cancer tissue microarray. The expression of LRFN4 in the gastric cancer dataset from the cancer genome atlas (TCGA) database was analyzed. Western blotting

基金项目:国家自然科学基金(82003112)

*通信作者:翟二涛, E-mail:Tao450000@163.com

and real-time quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) were applied to detect *LRFN4* expression in 8 pairs of fresh gastric cancer tissues and adjacent normal tissues. Immunohistochemistry was used to detect *LRFN4* expression in the gastric cancer tissue microarray. The differences in clinicopathological parameters of gastric cancer patients with different *LRFN4* expression levels were analyzed. The prognosis of gastric cancer patients with different *LRFN4* expression levels was analyzed using the Kaplan-Meier method. Univariate and multivariate Cox regression analyses were further conducted to identify factors affecting the prognosis of gastric cancer patients. **Result** *LRFN4* was highly expressed in gastric cancer tissues in both the TCGA dataset and fresh gastric cancer tissues. Patients with high expression of *LRFN4* exhibited larger tumor size and more advanced T stage, N stage, M stage and TNM stage (all $P < 0.05$), and had poorer prognosis ($P < 0.001$). Univariate and multivariate Cox regression analyses indicated that high *LRFN4* expression in gastric cancer tissues was an independent risk factor influencing the prognosis of gastric cancer patients ($HR = 3.898$, $95\% CI 2.273 - 6.686$, $P < 0.001$). **Conclusion** High expression of *LRFN4* in gastric cancer tissues is associated with poor prognosis in patients and may act as a novel potential biomarker for predicting the prognosis of gastric cancer patients.

【Key words】 Gastric cancer; Leucine-rich repeat and fibronectin type III domain-containing protein 4; The cancer genome atlas; Biomarker; Prognosis of gastric cancer

富含亮氨酸重复序列/Ⅲ型纤维连接蛋白4 (leucine-rich repeat and fibronectin type III domain-containing protein 4, *LRFN4*), 又名突触黏附分子3 (synaptic adhesion-like molecule, *SALM3*), 位于第11号染色体q13, 包含2个外显子。*LRFN4*作为细胞膜蛋白, 其结构主要包括由6个富含亮氨酸重复序列、1个免疫球蛋白C2样结构和1个纤维蛋白Ⅲ型结构域组成的细胞外结构、1个跨膜结构域和1个细胞内的C末端PDZ结合模体^[1-2]。早期研究指出, *LRNF4*及其家族成员在中枢神经系统组织中的表达显著高于机体其他组织, 而*LRFNs*表达增高可促进神经细胞的神经突生长和突触形成^[3-4]。*LRFN4*不仅在神经发育过程中起到重要作用, 还可影响炎症细胞的生物学功能^[5-6]。Konakahara等^[7]检测到在单核细胞向巨噬细胞的转变的过程中, *LRFN4*表达水平逐渐增高, 在此过程中*LRFN4*与14-3-3s和酪氨酸激酶衔接蛋白非催化区1 (noncatalytic region of tyrosine kinase adaptor protein 1, *NCK1*)形成蛋白复合物, 而该蛋白复合物可通过调控Ras相关C3肉毒菌毒素底物1 (Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1, *Rac1*)的表达, 进而调节肌动蛋白细胞骨架重构, 促进巨噬细胞迁移与细胞形态延长^[8]。研究还发现*LRFN4*在多种实体肿瘤细胞和白血病细胞中的表达增高^[9], 但并未对*LRFN4*与肿瘤进展的关系进行探讨。本研究着重探讨*LRFN4*在胃癌组织中的表达及临床意义, 以期为进一步探讨胃癌发生发展的分子机制奠定前期基础。

1 数据与方法

1.1 材料

1.1.1 标本

胃癌组织标本来自2017年1月至12月于中山大学附属第一医院胃肠外科中心确诊、行手术治疗并证实为胃腺癌的患者8例, 其中男5例, 女3例, 年龄35~79岁, 平均年龄61.3岁。组织标本共8对, 包含胃癌组织和癌旁正常组织(距安全切缘1cm处组织)。组织标本均在大体标本离体30min内进行切取, 置于液氮中保存, 待运输至实验室后转存至-80℃冰箱中长期保存。

另选取2004年1月至2005年12月在中山大学附属第一医院胃肠外科中心行手术治疗的胃癌患者术后组织标本(胃癌患者共117例, 其中男71例, 女46例, 年龄25~87岁, 平均年龄54.98岁), 制作成胃癌组织芯片。

所有病例的纳入标准: ①术前在本中心确诊为胃癌, 并在本中心行手术治疗的胃癌患者; ②在术前均未进行新辅助治疗; ③原发疾病为胃癌, 未合并其他恶性肿瘤。所有病例的排除标准: ①胃癌复发者; ②围手术期死亡者; ③临床病理数据不全者; ④随访数据不全者。所有胃癌标本均由病理科切取, 并进行瑞氏染色确定为胃癌。所有患者均获得书面知情同意, 并通过中山大学附属第一医院伦理审查委员会批准(伦审临2024296号)。所收集的胃癌患者手术大体组织由中山大学附属第一医院外科实验室保存。

1.1.2 试剂与耗材

RNATRIzol、结晶紫购自日本 TaKaRa 公司; SYBR Green I 试剂购自中国长沙 AG 公司; 小鼠抗人 GAPDH 单克隆抗体、兔抗人 LRFN4 单克隆抗体购自中国 abcam 公司; 辣根过氧化物酶购自美国 Millipore 公司; ECL 蛋白印迹底物购自美国 Thermo 公司。

1.2 方法

1.2.1 生物信息学分析

本课题组通过分析癌症基因组图谱 (the cancer genome atlas, TCGA) 数据库中 34 对配对胃癌和癌旁正常组织的高通量深度测序结果, 以表达差异 2 倍为节点发现差异表达基因。进一步分析了 TCGA 数据库中所有胃癌和癌旁正常组织的测序结果, 明确差异表达基因在所有胃癌组织及配对的癌旁正常组织中的表达情况。

1.2.2 蛋白质印迹检测

蛋白质印迹法利用 RIPA 细胞裂解缓冲液从组织和细胞中提取蛋白质。等量的待测蛋白样品进行十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳分离, 后转移至聚偏二氟乙烯膜, 5% 脱脂奶粉室温封闭 2 h, 加入抗 LRFN4 和 GAPDH 抗体, 4 °C 孵育过夜, TBST 清洗 3 次, 5 min/次, 加入二抗室温孵育 2 h, TBST 清洗 3 次后在 ECL 溶液中显色。GAPDH 作为内参对照。

1.2.3 实时荧光定量聚合酶链反应

使用 TRIzol 试剂从组织和细胞中提取总 RNA, 使用反转录酶将 RNA 转化为 cDNA。使用 SYBR Green I 进行实时荧光定量聚合酶链反应 (real-time quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR)。引物由中国华大基因公司合成, 采用 GAPDH 为参照。GAPDH 引物序列: 正义链 5'-AGCCACATCGCTCAGACAC-3'; 反义链 5'-GCCCAATACGACCAAATCC-3'。LRFN4 引物序列: 正义链 5'-AAATGCACTCCAGCCTCTGT-3'; 反义链 5'-TGTCGAGGAAGCTTTCAGGT-3'。反应体系 10 μ l, SYBR 5 μ l, 前后引物各 0.4 μ l, cDNA 1 μ l, 无酶水 3 μ l。反应条件: 预变性 95 °C 30 s, 变性 95 °C 5 s, 退火 60 °C 30 s, 共 40 个循环。计算 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 值为 LRFN4 基因的相对表达量。

1.2.4 免疫组织化学染色

组织用 10% 多聚甲醛固定, 石蜡包埋。经过 60 °C 烤 4 h, 二甲苯和梯度浓度的乙醇常规脱蜡,

乙二胺四乙酸缓冲液抗原修复后, 3% H₂O₂ 阻断内源性过氧化物酶, 20% 的山羊血清室温封闭 30 min, 加入 LRFN4 一抗于 4 °C 冰箱孵育过夜, 加入 Dako 二抗室温孵育 1 h, 二氨基联苯胺显色, 苏木精复染, 脱水, 封片, 然后使用正置显微镜观察拍照。

用磷酸盐缓冲液代替一抗作阴性对照, 将细胞浆或细胞核内出现棕黄色或棕褐色颗粒视为阳性细胞。观察整张切片, 结合阳性细胞百分比以及染色强度对组织中 LRFN4 的表达水平进行评分。阳性细胞百分比评分法: 0 分 (阳性细胞 \leq 10%)、1 分 (10% < 阳性细胞 \leq 50%)、2 分 (50% < 阳性细胞 \leq 75%)、3 分 (阳性细胞 > 75%)。染色强度指阳性着色强度: 无色为 0 分、淡黄色为 1 分、棕黄色为 2 分。两者计分相乘即为阳性等级, 本部分结果判定按常规方法进行。将所有行免疫组织化学检测的患者 ($n=117$) 按阳性等级分为 4 类: 0 分为阴性 (-), 1~4 分为弱阳性 (+), 5~8 分为阳性 (++)、9~12 分为强阳性 (+++)。其中, 阳性、强阳性患者归为 LRFN4 高表达组 ($n=82$), 阴性、弱阳性患者归为 LRFN4 低表达组 ($n=35$)。

1.3 统计学方法

应用卡方检验分析 LRFN4 在 TCGA 数据库胃癌数据集中的表达情况。应用卡方检验分析不同 LRFN4 表达水平的胃癌患者其临床病理参数的差异。应用 Kaplan-Meier 法分析不同 LRFN4 表达水平的胃癌患者的预后情况。应用单因素和多因素 Cox 回归分析法分析胃癌患者预后的影响因素。统计分析使用 SPSS 18.0 统计学软件, 使用 Graphpad Prism 5.0 绘图。确定双侧检验水准 $\alpha=0.05$ 具有统计学意义。

2 结果

2.1 LRFN4 在 TCGA 数据库胃癌数据集中的表达

课题组通过分析 TCGA 数据库胃癌数据集的测序结果, 发现 LRFN4 在所有胃癌组织 ($n=384$) 中的表达高于癌旁正常组织 ($n=37$), 差异有统计学意义 ($P<0.001$) (图 1A); 不仅如此, 在该数据集配对胃癌组织和癌旁正常组织的 34 对组织测序中, LRFN4 同样呈现出在胃癌组织中的高表达状态 (图 1B)。

2.2 LRFN4 在新鲜胃癌组织中呈现高表达状态

通过 TCGA 数据库测序资料分析, 我们得知

LRFN4 在胃癌组织中表达增高, 而其在新鲜胃癌组织标本中的表达情况与测序结果是否一致, 仍不明确。因此, 本课题组应用蛋白质印迹法检测 8 对包含胃癌和癌旁正常组织的新鲜标本中 *LRFN4* 的蛋白表达情况, 结果提示 *LRFN4* 在胃癌组织中表达增高(图 2A); 而 RT-qPCR 进一步检测了上述临床样本中的 *LRFN4* mRNA 水平, 结果提示在胃癌组织中的 *LRFN4* mRNA 水平高于癌旁正常组织(图 2B)。结合生物信息学分析结果, 我们确定 *LRFN4* 在胃癌组织中表达增高。

2.3 免疫组织化学染色检测 *LRFN4* 在胃癌组织中的表达情况

为了进一步探讨 *LRFN4* 表达水平与胃癌患者临床病理参数和预后的关系, 我们制作了胃癌组织芯片(图 3A)。应用免疫组织化学检测了该组织芯片中 *LRFN4* 的蛋白表达水平, 结果发现 *LRFN4* 阴性表达患者占所有患者的 11%, 弱阳性表达占 19%, 阳性表达占 36%, 强阳性表达占

34%(图 3B)。通过观察 *LRFN4* 在胃癌组织中的表达, 我们发现胃癌组织中 *LRFN4* 主要在细胞核表达(图 3C)。

2.4 *LRFN4* 表达与胃癌患者临床病理参数及预后的关系

对 *LRFN4* 高表达和低表达患者的临床病理参数进行比较, 结果如表 1 所示, *LRFN4* 高表达的患者, 表现出更大的肿瘤大小以及更为进展的 T 分期、N 分期、M 分期和 TNM 分期(均 $P < 0.05$); 而 *LRFN4* 高表达和低表达患者性别、年龄、肿瘤部位、病理类型、Borrmann 分型和分化程度的差异没有统计学意义。

两组患者的 Kaplan-Meier 生存分析结果如图 4 所示, *LRFN4* 高表达患者的预后较较低表达患者差($P < 0.001$)。

2.5 单因素和多因素 Cox 回归分析影响胃癌患者预后的因素

以患者预后情况作为因变量 (0=生存, 1=死

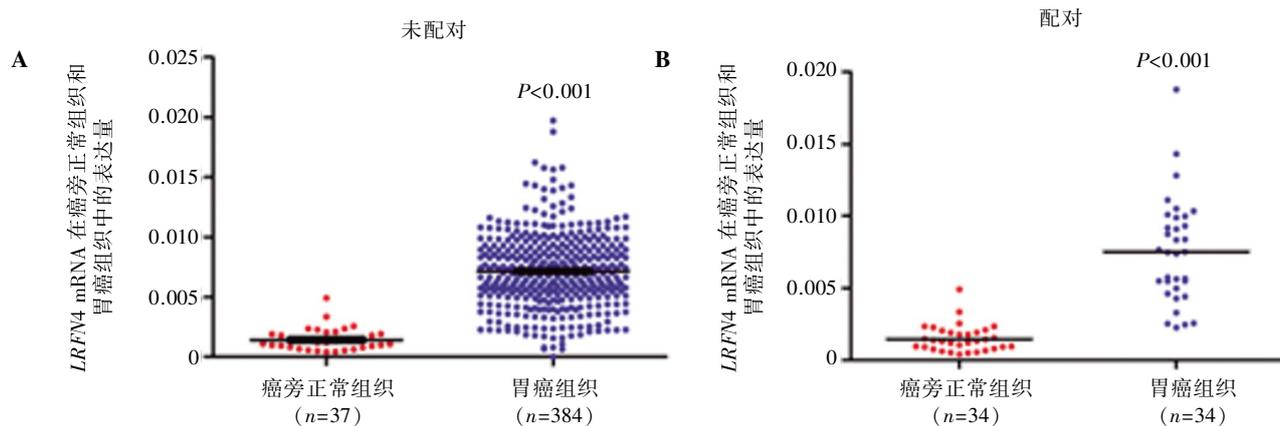


图 1 TCGA 数据库中 *LRFN4* 在胃癌和癌旁正常组织中的表达

注: A, *LRFN4* 在 TCGA 数据库所有胃癌组织和癌旁正常组织中的表达; B, *LRFN4* 在 TCGA 数据库配对胃癌组织和癌旁正常组织中的表达。

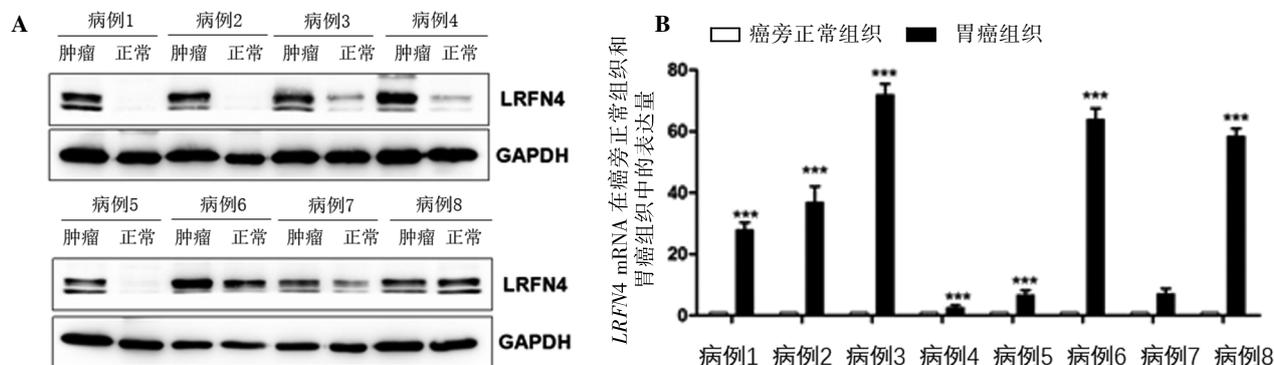


图 2 蛋白质印迹法和实时荧光定量聚合酶链反应检测 *LRFN4* 在新鲜胃癌和癌旁正常组织中的表达

注: A, 蛋白质印迹法检测 *LRFN4* 在 8 对胃癌和癌旁正常组织中的表达; B, 实时荧光定量聚合酶链反应检测 *LRFN4* 在 8 对胃癌和癌旁正常组织中的 mRNA 表达水平。*** $P < 0.001$ 。

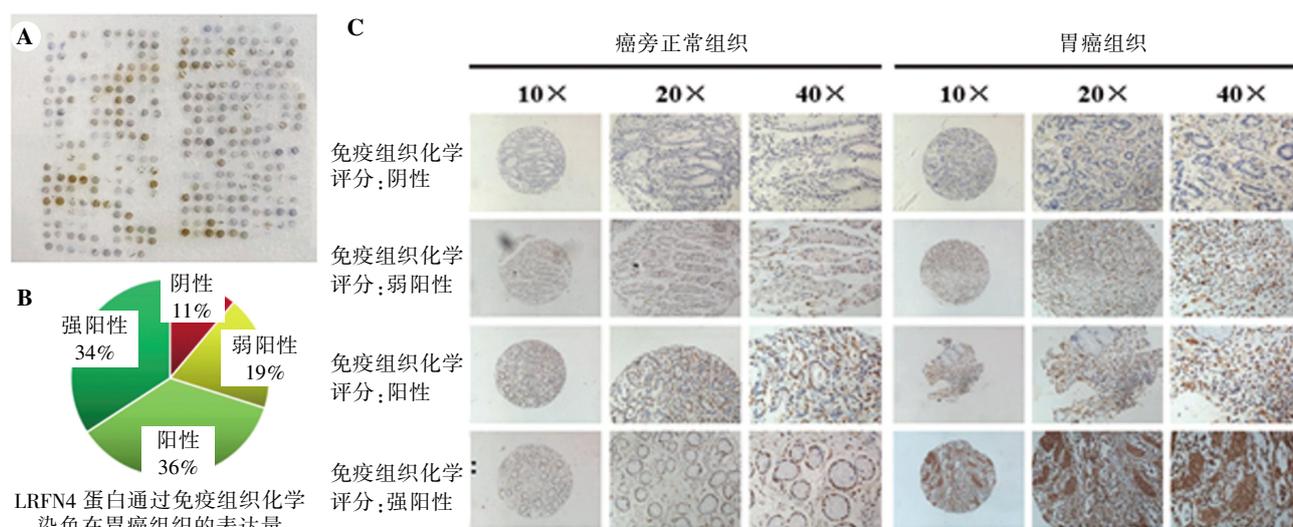


图3 免疫组织化学检测胃癌组织芯片中的LRFN4蛋白表达

注:A, LRFN4在胃癌组织中表达的组织芯片大体观;B, LRFN4不同表达强度在所有胃癌患者中所占的比例;C, 免疫组织化学检测在胃癌组织和癌旁正常组织中的LRFN4。

亡),应用Cox比例风险回归模型,分析胃癌患者预后的影响因素,各自变量的赋值情况如下:性别(1=男性,2=女性),年龄(1=<60岁,2= \geq 60岁),肿瘤部位(1=近段,2=中部,3=远段,4=累及超过2个部位),肿瘤大小(1=<5cm,2= \geq 5cm),病理类型(1=腺癌,2=其他),Borrmann分型(1=1型,2=2型,3=3型,4=4型),分化程度(1=高分化,2=中分化,3=低分化),T分期(1=T₁期,2=T₂期,3=T₃期,4=T₄期),N分期(0=N₀期,1=N₁期,2=N₂期,3=N₃期),M分期(0=M₀期,1=M₁期),TNM分期(1=I期,2=II期,3=III期,4=IV期),LRFN4表达量(1=低表达,2=高表达)。

单因素分析结果显示,Borrmann分型($HR=0.742, 95\%CI\ 0.557\sim0.988, P=0.041$)、肿瘤分化程度($HR=0.507, 95\%CI\ 0.332\sim0.775, P=0.002$)、M分期($HR=2.895, 95\%CI\ 1.575\sim5.321, P=0.001$)和LRFN4表达($HR=4.150, 95\%CI\ 2.439\sim7.060, P<0.001$)是胃癌患者预后的影响因素。进一步行多因素分析证实M分期($HR=2.033, 95\%CI\ 1.102\sim3.750, P=0.023$)和LRFN4表达量($HR=3.898, 95\%CI\ 2.273\sim6.686, P<0.001$)是胃癌患者预后的独立危险因素(表2)。

3 讨论

胃癌是常见的消化道恶性肿瘤之一,在我国其发病率和死亡率均居所有恶性肿瘤前列,严重影响公共健康^[3-4]。目前其主要治疗手段仍以外科

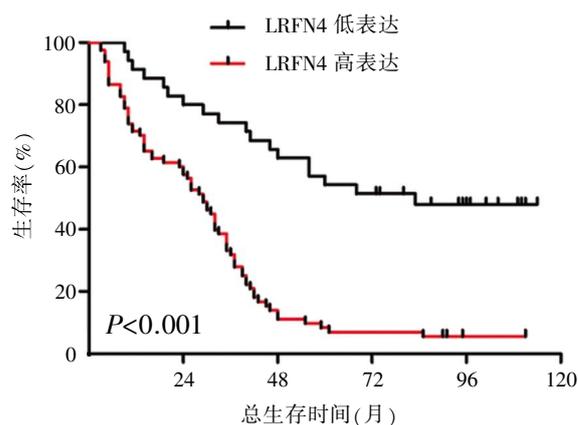


图4 不同LRFN4表达水平胃癌患者的生存曲线

根治性切除为主,细胞毒性药物、分子靶向药物和免疫治疗等治疗手段虽可一定程度上延长胃癌患者的生存期,但作用有限。目前胃癌患者的5年总生存率仍较低^[10]。因此,如何更好地治疗患者,改善其预后,仍需要从其分子机制方面进行深入研究,以便更好地开展胃癌的早诊早治,为预后判断等提供理论基础。

既往研究指出,LRFN4在中枢神经系统组织中表达增高,并在神经突触生长与分支、轴突形成的引导等生物学事件中扮演重要角色^[2-4,11]。LRFN4可能参与癫痫的发生发展。Li等^[12]研究发现,LRFN4在癫痫小鼠的脑组织中表达水平显著高于非癫痫小鼠;敲低LRFN4可抑制癫痫急性期的疾病进程,并降低锂-匹罗卡松模型癫痫慢性期的自发性反复发作;此外,敲减LRFN4表达可显著延长戊

表1 不同 LRFN4 表达水平胃癌患者的临床病理参数比较(例)

参数	例数	LRFN4 表达量		χ^2 值	P 值
		低 (n=35)	高 (n=82)		
性别				2.417	0.120
男性	71	25	46		
女性	46	10	36		
年龄				1.438	0.230
<60 岁	74	25	49		
≥60 岁	43	10	33		
肿瘤部位				3.629	0.304
近段	14	3	11		
中部	18	3	15		
远段	59	22	37		
累及超过 2 个部位	26	7	19		
肿瘤大小				4.094	0.043
<5 cm	67	25	42		
≥5 cm	50	10	40		
病理类型				0.519	0.471
腺癌	98	28	70		
其他	19	7	12		
Borrmann 分型				5.316	0.150
1 型	6	0	6		
2 型	24	10	14		
3 型	69	18	51		
4 型	18	7	11		
分化程度				3.500	0.174
高分化	26	5	21		
中分化	88	28	60		
低分化	3	2	1		
T 分期				11.201	0.011
T ₁ 期	5	1	4		
T ₂ 期	16	10	6		
T ₃ 期	74	21	53		
T ₄ 期	22	3	19		
N 分期				11.320	0.010
N ₀ 期	25	14	11		
N ₁ 期	39	11	28		
N ₂ 期	34	6	28		
N ₃ 期	19	4	15		
M 分期				6.242	0.012
M ₀ 期	104	35	69		
M ₁ 期	13	0	13		
TNM 分期				12.755	0.005
I 期	8	3	5		
II 期	43	20	23		
III 期	53	12	41		
IV 期	13	0	13		

四唑点燃癫痫模型的潜伏期。Wang 等^[13]研究结果提示, LRFN4 表达增高可能与癫痫的发生发展密切相关, 而抑制 LRFN4 可能对于癫痫的临床治疗有一定的意义。LRFN4 可诱导刺激性和抑制性神经突触的形成, 并可促进轴突和树突的形成^[1]。LRFN4 可募集突触后密度蛋白-95 或突触相关蛋白 102 到早期突触黏附位点, 从而促进突触形成^[2]。然而, LRFN4 在胃癌发生发展过程中的作用仍不明确。

为了探讨 LRFN4 在胃癌组织中表达的情况, 我们对中山大学附属第一医院胃肠外科中心行手术治疗的 117 例胃癌患者的石蜡标本进行 LRFN4 的免疫组织化学检测, 结果发现 LRFN4 阴性表达患者占有所有患者的 11%, 弱阳性表达占 19%, 阳性表达占 36%, 强阳性表达占 34%。进一步观察 LRFN4 在胃癌组织中的表达, 我们发现 LRFN4 主要在细胞核表达。既往研究指出, LRFN4 的主要结构包括由 6 个富亮氨酸重复序列、1 个免疫球蛋白 C2 样结构和 1 个纤维蛋白 III 型结构域组成的细胞外结构、1 个跨膜结构域和 1 个细胞内的 C 末端 PDZ 结合模体^[2-3]。Li 等^[12]通过免疫荧光检测获取 LRFN4 在细胞膜表达的可靠证据。然而, 我们通过免疫组织化学发现 LRFN4 主要在细胞核中表达, 这也引起我们的思考, LRFN4 在人体组织中的表达可能具有组织特异性。

为了进一步分析 LRFN4 在胃癌组织中表达的临床意义, 我们比较了不同 LRFN4 表达水平的胃癌患者其临床病理参数的差异。结果提示: LRFN4 高表达的患者, 表现出更为进展的 T 分期、N 分期、M 分期和 TNM 分期。此外, Kaplan-Meier 法分析结果提示: LRFN4 在胃癌组织的高表达预示着胃癌患者具有较差的生存结局。单因素 Cox 回归分析发现肿瘤分化程度、远处转移和 LRFN4 表达等是胃癌患者预后的影响因素; 多因素 Cox 回归分析进一步证实 LRFN4 表达是胃癌患者预后的独立影响因素。由此提示, LRFN4 是影响胃癌患者预后的独立因素, LRFN4 高表达的胃癌患者预后较差。

综上所述, 我们通过对公共数据库的生物信息学分析发现 LRFN4 在胃癌组织中的表达高于癌旁正常组织; 通过实验验证胃癌组织内 LRFN4 高表达与肿瘤大小、T 分期、N 分期、M 分期和

表2 影响胃癌患者预后的单因素和多因素 Cox 比例风险回归分析

参数	单因素分析				多因素分析			
	P 值	HR	95%CI		P 值	HR	95%CI	
			低	高			低	高
性别	0.454	0.854	0.566	1.290				
年龄	0.560	1.130	0.749	1.705				
肿瘤部位	0.073	0.816	0.654	1.019				
肿瘤大小	0.845	1.041	0.695	1.560				
Borrmann 分型	0.041	0.742	0.557	0.988	0.054	0.745	0.553	1.005
病理类型	0.086	0.808	0.633	1.031				
分化程度	0.002	0.507	0.332	0.775	0.007	0.538	0.343	0.843
T 分期	0.766	0.957	0.716	1.279				
N 分期	0.700	0.961	0.786	1.175				
M 分期	0.001	2.895	1.575	5.321	0.027	2.038	1.083	3.836
TNM 分期	0.309	1.165	0.868	1.563				
LRFN4 表达量	<0.001	4.150	2.439	7.060	<0.001	3.714	2.152	6.411

TNM 分期相关;LRFN4 高表达提示胃癌患者预后差,且是胃癌患者预后的独立影响因素。我们的结果初步说明 *LRFN4* 可能是胃癌发生发展的调控因子之一。因此,有必要对 *LRFN4* 的功能及其可能涉及的相关信号通路进行深入研究,以期进一步阐述胃癌发生发展的可能机制。

参考文献

- [1] MORIMURA N, INOUE T, KATAYAMA K, et al. Comparative analysis of structure, expression and PSD95-binding capacity of Lfn, a novel family of neuronal transmembrane proteins [J]. Gene, 2006, 380 (2): 72-83.
- [2] WANG C, CHANG K, PETRALIA RS, et al. A novel family of adhesion-like molecules that interacts with the NMDA receptor [J]. J Neurosci, 2006, 26 (8):2174-2183.
- [3] TORRE LA, BRAY F, SIEGEL RL, et al. Global cancer statistics, 2012 [J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2):87-108.
- [4] CHEN W, ZHENG R, BAADE PD, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66 (2):115-132.
- [5] LIE E, KO J, CHOI S, et al. SALM4 suppresses excitatory synapse development by cis-inhibiting trans-synaptic SALM3-LAR adhesion [J]. Nat Commun, 2016, 7: 12328.
- [6] CHOI Y, NAM J, WHITCOMB DJ, et al. SALM5 trans-synaptically interacts with LAR-RPTP signaling in a splicing-dependent manner to regulate synapse development [J]. Sci Rep, 2016, 6:26676.
- [7] KONAKAHARA S, SUZUKI Y, KAWAKAMI T, et al. A neuronal transmembrane protein LRFN4 complexes with 14-3-3s and NCK1 to induce morphological change in monocytic cells via Rac1-mediated actin cytoskeleton reorganization [J]. FEBS Lett, 2012, 586 (16): 2251-2259.
- [8] RAY K. Genetics: revealing the genomic landscape of gastric cancer [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2014, 11(7):394.
- [9] 李全营,唐红娜,秦长江,等. STIP1 调控 EGR1 表达并促进胃癌细胞 DNA 损伤修复 [J/CD]. 消化肿瘤杂志(电子版), 2022, 14(1):14-20.
- [10] SWANWICK CC, SHAPIRO ME, VICINI S, et al. Flotillin-1 mediates neurite branching induced by synaptic adhesion-like molecule 4 in hippocampal neurons [J]. Mol Cell Neurosci, 2010, 45(3): 213-225.
- [11] CANCER GENOME ATLAS RESEARCH NETWORK. Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma [J]. Nature, 2014, 513(7517): 202-209.
- [12] LI J, CHEN L, WANG N, et al. Effect of synaptic adhesion-like molecule 3 on epileptic seizures: Evidence from animal models [J]. Epilepsy Behav, 2017, 69:18-23.
- [13] WANG K, YUEN ST, XU J, et al. Whole-genome sequencing and comprehensive molecular profiling identify new driver mutations in gastric cancer [J]. NatGenet, 2014, 46(6):573-582.