

孕激素相关子宫内膜蛋白在胃癌 早期诊断、预后中的作用

张保根, 杨 澍, 陈斌妮, 陈 文, 郑梓莹, 张 燕

(福建医科大学附属第二医院, 泉州 362000)

摘要: 为使用生物信息学系统分析孕激素相关子宫内膜蛋白(Progesterone-associated endometrial protein, PAEP)在胃癌中的早期诊断和预后预测性能及免疫浸润相关性,该研究构建预测模型 ROC 曲线和偏差校正曲线检验其性能准确性,并通过细胞实验进一步验证分析结果. 生信分析结果显示,与正常组织相比,胃癌组织中 PAEP 的表达较高,在早期(T1 期、N0 期、M0 期)即有统计学意义($P < 0.001$),且诊断胃癌的准确性较高(ROC 曲线下面积为 0.889);PAEP 高表达的胃癌患者预后较差($P \leq 0.001$);TNM 分期越晚,年龄越大,PAEP 表达越高,胃癌患者生存率越低,偏差校正曲线接近理想曲线(45°线),显示预测结果良好;PAEP 的表达与胃癌中的中性粒细胞、巨噬细胞的浸润水平呈正相关趋势,与 B 细胞、中央记忆型 T 细胞、T 细胞呈显著的负相关趋势. qRT-PCR 和 Western blot 结果显示,HGC-27、BGC-823、MKN-45、SGC-7901 和 AGS 细胞中 PAEP 基因转录水平和蛋白表达水平均显著高于 GES-1. 结果表明了 PAEP 蛋白可用于胃癌诊断和预后的生物标志物,并进行了实验验证,其机制与免疫有关.

关键词: 胃癌; 孕激素相关子宫内膜蛋白; TCGA; 生存分析; 免疫浸润

中图分类号: R73-3 **文献标志码:** A **DOI:** 10.19907/j.0490-6756.2024.016002

The role of Progesterone-associated endometrial protein in early diagnosis and prognosis of gastric cancer

ZHANG Bao-Gen, YANG Shu, CHEN Bin-Ni, CHEN Wen, ZHENG Zi-Ying, ZHANG Yan

(The Second Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Quanzhou 362000, China)

Abstract: To use a bioinformatics system to analyze the early diagnosis and prognosis prediction performance and immune infiltration correlation of Progesterone-associated endometrial protein (PAEP) in gastric cancer, this study constructed a predictive model ROC curve and deviation correction curve to test its performance accuracy, and further validate the analysis results through cell experiments. The results of bioinformatics analysis showed that the expression of PAEP in gastric cancer tissues was higher than that in normal tissues, which was statistically significant in the early stages (T1, N0, M0) ($P < 0.001$), and the diagnostic accuracy of gastric cancer was higher (the area under ROC curve was 0.889). The prognosis of gastric cancer patients with high expression of PAEP was poor ($P \leq 0.001$). The later the TNM stage, the older the age, the higher the expression of PAEP, and the lower the sur-

收稿日期: 2023-02-17

基金项目: 福建省中医药科研课题(2017FJZYLC502)

作者简介: 张保根(1986-), 男, 江西吉安人, 硕士研究生, 研究方向为中西医结合防治肿瘤疾病. E-mail: 395085502@qq.com

通信作者: 杨澍. E-mail: 775648951@qq.com

vival probability of gastric cancer patients, and the deviation correction curve was close to the ideal curve (45° line), indicating a good predictive result. The expression of PAEP was positively correlated with the infiltration level of neutrophils and macrophages in gastric cancer, and negatively correlated with B cells, central memory T cells and T cells. qRT-PCR and Western blot results showed that the transcriptional and protein expression levels of PAEP in HGC-27, BGC-823, MKN-45, SGC-7901 and AGS cells were significantly higher than those in GES-1 cells. The results indicate that PAEP protein can be used as a biomarker in the diagnosis and prognosis of gastric cancer, which is verified by experiments, and its mechanism is related to immunity.

Keywords: Gastric cancer; Progestagen-associated endometrial protein; TCGA; Survival analysis; Immune infiltration

1 引言

胃癌(Gastric Cancer, GC)是世界上最常见的恶性肿瘤之一,是全球死亡率排名第四的癌症^[1].我国是目前全球胃癌发病率最高的国家,且居癌症死亡原因第三位^[2,3].目前,早期诊断、治疗胃癌的手段仍存在很多不足之处,胃癌的手术治疗作为唯一能够根治的手段,常因早期诊断方法的限制、早期症状隐匿不被察觉而难以实施,多数患者一经诊断即为晚期,预后不尽人意^[4].虽然胃癌的筛查方法多种多样,但这些筛查方法仍存在着灵敏度及特异度不佳等诸多问题^[5,6],难以在临床中广泛筛选出胃癌患者.因此,提高胃癌检出率,挖掘更灵敏、更特异的胃癌潜在的诊断、免疫和预后生物标志物已经受到越来越多研究者的关注.

孕激素相关子宫内膜蛋白(Progestagen-associated endometrial protein, PAEP)是一种糖蛋白,近年人们通过研究发现 PAEP 能够促进肿瘤细胞的迁移侵袭^[7-9].有研究^[9-12]发现 PAEP 在多种恶性肿瘤中特异性表达,与癌症患者的诊断和预后密切相关,并且可以影响肿瘤免疫微环境从而导致肿瘤免疫逃脱,但目前国内外有关 PAEP 在胃癌发生发展及临床意义方面的研究相对较匮乏.

本研究将采用生物信息学方法,分析 PAEP 基因表达与胃癌的相关性,通过对肿瘤基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)数据库挖掘和分析,探讨 PAEP 在胃癌中的早期诊断和预后预测性能及免疫浸润相关性,最后通过 qRT-PCR 和 Western blot 技术进一步进行试验验证,证明 PAEP 在胃癌细胞中高表达,旨在提高对早期胃癌的检出率,尽早行之以有效的治疗,并为临床上该病的诊断提供新的思路,争取做到“早发现,早干预”,提高患者生存质量.

2 材料与方法

2.1 数据源

TCGA 数据库(<https://portal.gdc.cancer.gov/>)是一个大规模癌症研究参考数据库,目前收录了 33 种癌症的临床和病理信息.本研究的胃癌患者 RNA-Seq 的表达数据和匹配临床病理信息是来源于 TCGA 的 STAD 项目中对应的正常组织数据以及泛癌数据,因来源是同一个项目,使用的设备、采用的材料方法以及选用参数是相同的,故不需要再进行标准化处理.TCGA 数据库是开放访问和公开使用的,因此不需要得到当地伦理委员会的批准.

2.2 方法

2.2.1 表达差异分析 转换与整理数据后,运用 R 3.6.3 软件的 ggplot2 包对正常癌旁组织与胃癌组织的数据进行 PAEP 基因表达的差异分析.进一步对临床数据分析,根据不同 TNM 分期的患者进行基因表达差异性比较.同时绘制 ROC 曲线,计算曲线下面积 AUC 值以评估 PAEP 诊断胃癌的准确性.

2.2.2 生存分析 为了探究 PAEP 的表达水平是否影响胃癌患者的临床结果,本研究使用 R 3.6.3 软件的 survival 包对患者的生存资料进行统计分析,并通过 survminer 包作可视化处理,构建 Kaplan-Meier(K-M)生存曲线来比较 PAEP 高低表达患者间的生存差异.

2.2.3 单因素和多因素 Cox 回归分析 使用 R 3.6.3 软件的 survival 包进行 Cox 回归分析,进一步确定 PAEP 表达在胃癌患者中的影响.为控制混合偏倚,联合单因素与多因素 Cox 回归分析来评估与胃癌患者生存率相关的预后因素.当 P 值小于 0.05 时,该预后因素在回归分析中具有统计

学显著性。

2.2.4 预测因素 Nomogram 分析 为了提供一种预测胃癌患者预后的定量方法, 基于单因素及多因素回归模型的结果, 选择其中的预后因素建立列线图, 个性化分析 1、3、5 年的预测生存概率。运用 R 3.6.3 软件包的 RMS 包与 survival 包对独立预后因素的数据进行校准与 Nomogram 分析, 生成包含显著临床特征和校准图的列线图。校准曲线通过将列线图预测概率与观测到的概率相映射以进行图形评估, 45°线代表最佳预测值。使用一致性指数以确定列线图的区分度, 并比较列线图 and 单独预后因素的预测准确性。所有统计学检验均为双尾检验, 研究的统计学显著性水平设置为 0.05。

2.2.5 免疫浸润相关分析 利用 R 3.6.3 软件包的 GSVA 包进行免疫浸润相关分析, 具体算法为 GSVA 包的内置算法 ssGSEA, 相关性分析方法选用 Spearman 分析。

2.2.6 细胞培养 将人胃癌 HGC-27、BGC-823、MKN-45、SGC-7901 和 AGS 细胞株以及正常胃上皮细胞株 GES-1(细胞均购自中国科学院上海细胞库)接种至加有 10% 胎牛血清, 青霉素(100 U/mL)以及链霉素(100 U/mL)的 1640-DF12 培养基中培养, 置于 5% CO₂, 37 °C, 饱和湿度的培养箱中培养, 隔天更换培养基。

2.2.7 qRT-PCR 法检测 PAEP mRNA 表达 将人胃癌 HHGC-27、BGC-823、MKN-45、SGC-7901 和 AGS 细胞株以及正常胃上皮细胞株 GES-1 培养后, Trizol 试剂(货号 15596026, Thermo Fisher Scientific)用于提取各细胞株的总 mRNA, 并按照试剂盒说明进行逆转录操作, 合成 cDNA, 利用 qRT-PCR 法检测 PAEP mRNA 表达水平, 在 qRT-PCR 仪(ABI 7500 Fast Real-Time PCR System, Thermo Fisher Scientific)以 95 °C 10 s, 60 °C 30 s 进行循环, 循环 40 次。取 PCR 产物 8 μL 加 5×Loading Buffer 2 μL 2% 琼脂糖凝胶电泳 120 V, 100 mA, 30min 溴化乙锭染色, 凝胶成像仪成像并保存结果。采用 2^{-ΔΔCT} 法计算 mRNA 的相对表达量。

2.2.8 Western Blot 检测细胞中 PAEP 蛋白表达 提取细胞株总蛋白, 并使用 BCA 法进行蛋白浓度定量操作。细胞裂解液置于聚丙烯酰胺凝胶泳道中, 电泳分离并利用转膜仪转膜过夜, 将蛋白质转移到 PVDF 膜上, 利用 5% 脱脂奶粉封闭 2 h, 加入以 1:1000 稀释的一抗, 在 4 °C 温度下过夜, 内参

基因为 GAPDH。TBST 洗膜 3 次, 加入 1:1000 稀释的二抗, 室温下震荡 1 h, TBST 洗涤 3 次, 化学发光法显色、显影, 蛋白条带采用化学发光成像系统进行分析。

表 1 PAEP 与 GAPDH 的引物序列表

基因	引物序列(5'→3')
GAPDH	正向: GGAGCGAGATCCCTCCAAAAT
	反向: GGCTGTTGTCATACTTCTCATGG
PAEP	正向: GAGATCGTTTCTGCACAGATGG
	反向: CGTTCGCCACCGTATAGTTGAT

2.2.9 统计学分析 实验数据以均数±标准差($x \pm s$)表示, 利用 SPSS 25.0 进行统计学分析, 多组之间比较利用单因素方差分析, 组间两两比较利用 t 检验。差异有统计学意义的标准为 $P < 0.05$ 。

3 结果

3.1 临床特征

来自 TCGA 的 375 个胃癌样本和 32 个正常癌旁组织样本的 RNA 测序数据和详细的临床信息资料被纳入本研究中。在去除重复样本后, 表 2 总结了胃癌患者中 PAEP 高表达与低表达的临床信息, 包括 TNM 分期、病理阶段、主要治疗效果、性别、年龄、残留肿瘤、组织学分级等信息。

3.2 基因差异分析结果

图 1 中, A 为非配对样本的差异基因分析, 肿瘤组 PAEP 的表达量明显高于正常对照组, 且差异具有统计学意义($P < 0.001$)。B 为配对样本的差异基因分析, 来自同一个病人的样本同样表现出

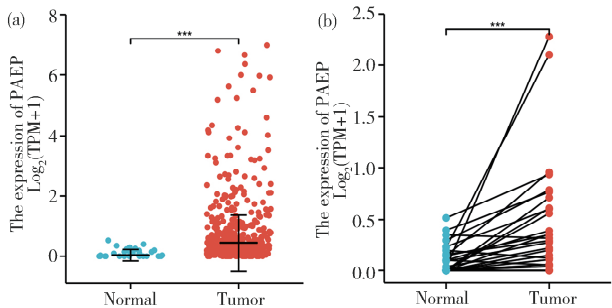


图 1 PAEP 在正常人与胃癌患者之间的表达差异分析 (a) 分析非配对样本中正常人与胃癌患者之间 PAEP 的表达; (b) 配对样本中正常人与胃癌患者 PAEP 表达分析

*** $P < 0.001$

Fig. 1 Analysis of differential expression of PAEP between normal subjects and gastric cancer patients

(a) The analysis of PAEP expression in unpaired samples; (b) The analysis of PAEP expression of paired samples

*** $P < 0.001$

PAEP 表达量胃癌组织高于正常组织,进一步能说明 PAEP 的表达与胃癌相关。图 2 的亚组分析对 TNM 不同分期的正常人与胃癌患者进行差异性分析,结果显示正常人与不同分期的胃癌患者的 PAEP 表达均有显著差异,胃癌患者的样本中 PAEP 呈高表达。在 TNM 分期的早期(T1 期、N0 期、

M0 期),PAEP 的表达量就明显高于正常对照组,提示 PAEP 可能有利于胃癌患者的早期筛查。绘制 ROC 曲线进一步评价 PAEP 诊断胃癌的准确性,曲线下面积 AUC 值为 0.889,说明 PAEP 对于胃癌诊断的准确性较高,见图 3。

表 2 PAEP 高表达组中胃癌患者的临床特征

Tab. 2 Clinical characteristics of the patients with gastric cancer in PAEP high expression group

Characteristic	Low expression of PAEP	High expression of PAEP	P	Characteristic	Low expression of PAEP	High expression of PAEP	P
n	187	188		Primary therapy outcome, n (%)			1.000
T stage, n (%)			0.289	PD	33 (10.4)	32 (10.1)	
T1	11 (3)	8 (2.2)		SD	9 (2.8)	8 (2.5)	
T2	35 (9.5)	45 (12.3)		PR	2 (0.6)	2 (0.6)	
T3	82 (22.3)	86 (23.4)		CR	116 (36.6)	115 (36.3)	
T4	57 (15.5)	43 (11.7)		Gender, n (%)			0.776
N stage, n (%)			0.617	Female	65 (17.3)	69 (18.4)	
N0	52 (14.6)	59 (16.5)		Male	122 (32.5)	119 (31.7)	
N1	48 (13.4)	49 (13.7)		Age, n (%)			0.160
N2	38 (10.6)	37 (10.4)		<=65	89 (24)	75 (20.2)	
N3	42 (11.8)	32 (9)		>65	96 (25.9)	111 (29.9)	
M stage, n (%)			1.000	Residual tumor, n (%)			0.366
M0	162 (45.6)	168 (47.3)		R0	152 (46.2)	146 (44.4)	
M1	12 (3.4)	13 (3.7)		R1	5 (1.5)	10 (3)	
Pathologic stage, n (%)			0.195	R2	9 (2.7)	7 (2.1)	
Stage I	25 (7.1)	28 (8)		Age, mean ± SD	65.06 ± 10.61	66.6 ± 10.66	0.165
Stage II	53 (15.1)	58 (16.5)					
Stage III	85 (24.1)	65 (18.5)					
Stage IV	15 (4.3)	23 (6.5)					

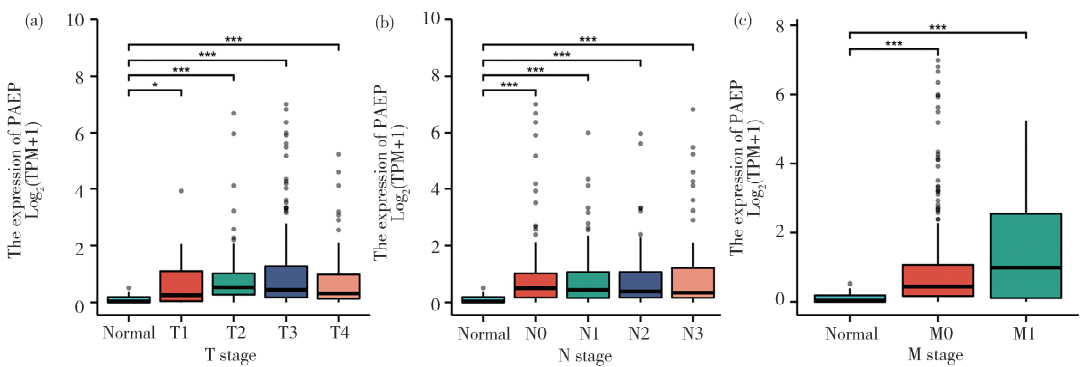


图 2 PAEP 在胃癌患者 TNM 分期中的表达差异
(a) PAEP 在 T 期的表达; (b) PAEP 在 N 期的表达; (c) PAEP 在 M 期的表达
* $P < 0.05$, *** $P < 0.001$

Fig. 2 Differential expression of PAEP in TNM staging of patients with gastric cancer

(a) The expression of PAEP in T stage; (b) The expression of PAEP in N stage; (c) The expression of PAEP in M stage
* $P < 0.05$, *** $P < 0.001$

3.3 生存分析结果

借助 K-M 生存曲线评估预测模型的预测能力,结果表明 PAEP 表达较高的胃癌患者总体生存率、疾病特异性生存率、无进展生存率均较低,预后

较差,且差异具有统计学意义($P \leq 0.001$),见图 4。

3.4 预后因素 Nomogram 分析

在基于多因素 Cox 回归分析的列线图中,将胃癌患者 TNM 期、年龄与 PAEP 表达的积分相加得

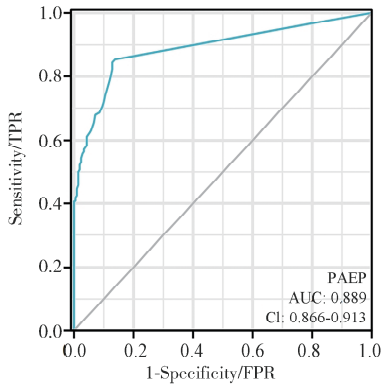


图 3 PAEP 诊断胃癌准确性 ROC 曲线

Fig. 3 ROC curve of accuracy of PAEP in diagnosis of GC

到总分,总分越高,胃癌患者在 1 年、3 年和 5 年的生存概率越低(图 5a),并通过模型拟合分析列线

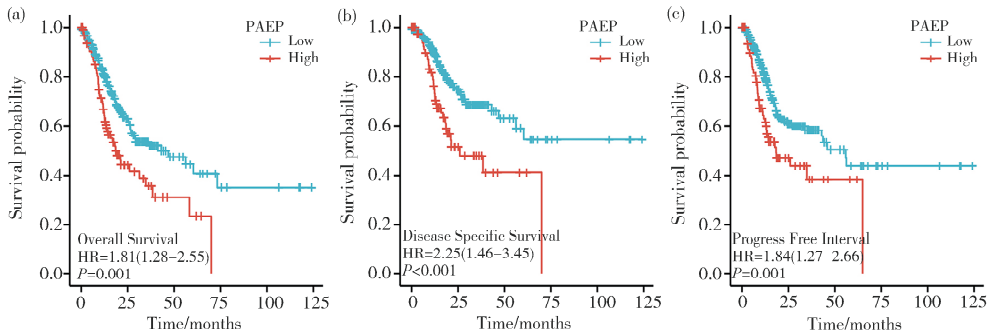


图 4 PAEP 表达水平较高的胃癌患者生存曲线

(a) PAEP 表达对 GC 患者总生存期的影响 ($P=0.001$); (b) PAEP 表达对 GC 患者疾病特异性生存的影响 ($P<0.001$); (c) PAEP 表达对 GC 患者无进展间期的影响 ($P=0.001$)

Fig. 4 Survival curve of GC patients with high expression of PAEP

(a) Impact of PAEP expression on overall survival in GC patients ($P=0.001$); (b) Impact of PAEP expression on disease specific survival in GC patients ($P<0.001$); (c) Impact of PAEP expression on progress free interval in GC patients ($P=0.001$)

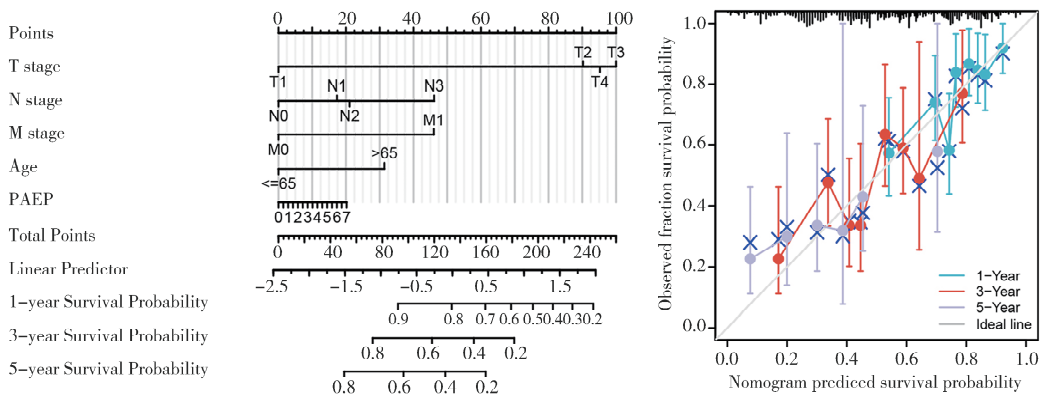


图 5 预后因素 Nomogram 分析

校准图中的偏差修正线接近理想曲线(45°线),说明预测效果良好

Fig. 5 Nomogram analysis of prognostic factors

The deviation correction line in the calibration chart is close to the ideal curve (45° line), showing that the prediction result is good

3.6 胃癌细胞中 PAEP 表达情况

qRT-PCR 结果显示,胃癌(HGC-27、BGC-823、MKN-45、SGC-7901 和 AGS)细胞 mRNA 表达比正常胃上皮(GES-1)细胞中表达高,经组间 t

图的预测效率(图 5b). 结果表明,TNM 分期越晚,年龄越大,PAEP 表达越高,胃癌患者生存概率越低. 校准图中的偏差修正线接近理想曲线(45°),显示预测结果良好,且 1 年的生存概率更接近理想情况.

3.5 基因 PAEP 与浸润性免疫细胞的相关性分析

肿瘤相关的浸润性淋巴细胞会影响肿瘤患者的生存率,本研究分析了 PAEP 的表达与 24 种浸润性免疫细胞的相关性. 结果显示 PAEP 的表达与中性粒细胞($P<0.001$)、巨噬细胞($P<0.05$)、B 细胞($P<0.001$)、中央记忆型 T 细胞($P<0.001$)、T 细胞($P<0.001$)密切相关,前二者为正关联关系,后三者为负关联关系.

检验比较得出,升高具有统计学意义($P<0.01$). Western blot 结果显示,PAEP 蛋白条带在胃癌(HGC-27、BGC-823、MKN-45、SGC-7901 和 AGS)细胞中明显,通过化学发光成像系统以及灰度统计

进行分析,发现胃癌(HGC-27、BGC-823、MKN-45、SGC-7901 和 AGS)细胞相较于正常胃上皮(GES-1)细胞 PAEP 蛋白表达明显升高($P < 0.01$),如图 8.

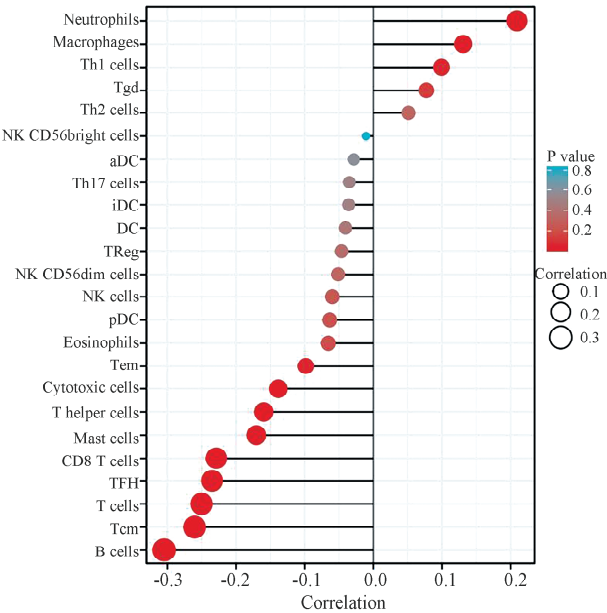


图 6 PAEP 的免疫相关分子图

中性粒细胞($P < 0.001$)、巨噬细胞($P < 0.001$)、中枢记忆 T 细胞($P < 0.001$)、T 细胞($P < 0.001$)

Fig. 6 Immune-related molecular map of PAEP

Neutrophils ($P < 0.001$), macrophages ($P < 0.001$), central memory T cells ($P < 0.001$), T cells ($P < 0.001$)

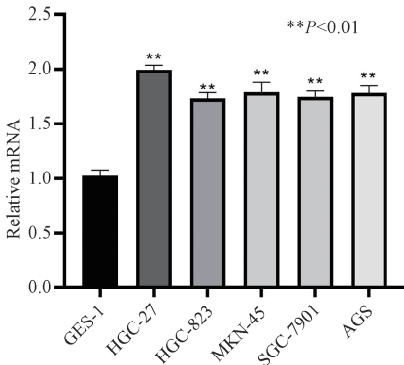


图 7 PAEP 基因 mRNA 表达结果图

Fig. 7 The mRNA expression of PAEP

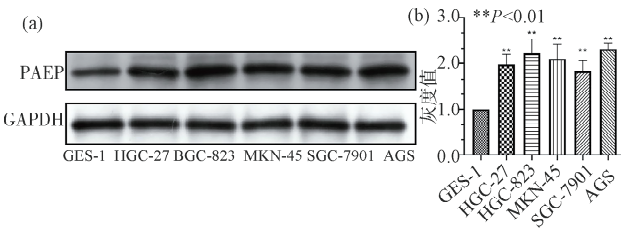


图 8 Western blot 图

A: WB 结果; B: 灰度值分析

Fig. 8 The WB result plot

A: The Wb result; B: Qunatification of gray value

4 讨论

胃癌作为我国最常见的恶性肿瘤之一,已成为困扰我国人民的一个重要公共卫生问题^[13,14]. 胃癌在世界上的发病率和死亡率也一直处于居高不下的地位,因其早期症状的隐匿性,导致很多患者错失治疗最佳时期,是危及人民生命健康,全世界关注并且急需早日解决的的重大难题^[15].

许多研究^[16-19]发现,PAEP 异常表达于多种恶性肿瘤组织,且与肿瘤的多种重要生物学行为息息相关,但其中与胃癌相关的报道较少,PAEP 在胃癌的分期、预后中的关系仍不甚明确. 胃癌一旦发生转移,治疗就将会变得十分困难. Riker 等提出在在肿瘤发展的不同阶段,一些基因会过表达而另一些则会低表达,如胃蛋白酶,骨髓增生异常白血病因子 1 相互作用蛋白等表达就与胃癌发生发展有关^[20-22]. 这为探索胃癌发展过程中的分子机制,尝试找出 PAEP 与胃癌诊断、免疫和预后的联系提供了新的线索.

本研究基于 TCGA 数据库进行生物信息学分析,对 PAEP 表达与胃癌发生发展、预后及免疫之间的关系进行探究. 结果表明,PAEP 可能是胃癌早期诊断、预后的潜在标志物,与正常对照组相比,其在胃癌组中呈高表达,且两组差异具有统计学意义($P < 0.001$). PAEP 表达与生存时间、预后相关,PAEP 表达越高,胃癌患者生存概率越低,预后越差,尤其在早期的胃癌(T1 期、N0 期、M0 期)中有较显著的预测效应. ROC 曲线是一种用于预测准确率情况的统计学模型,在医学上常用于判断某种因素对于某种疾病的诊断是否有诊断价值^[23]. ROC 曲线下面积(AUC)常用作评价预测模型优劣的定量指标,一般而言,AUC 为 0.5 时表示无预测意义,0.7 至 0.8 被认为是可接受的,0.8 至 0.9 被认为是优秀的,超过 0.9 被认为是杰出的^[24]. 本研究构建了 PAEP 诊断胃癌的预测模型,ROC 曲线下面积为 0.889,介于 0.8~0.9 之间,说明 PAEP 作为诊断早期胃癌的标志物,准确性较高.

生存分析结果表明,PAEP 高表达的胃癌患者预后较差. 在临床影响因素方面,本研究纳入了影响因素进行单因素和多因素 Cox 回归分析,结果显示年龄 > 65 岁和治疗结果中的完全缓解指标(CR)是影响 TCGA 胃癌患者预后的独立危险因素. Nomogram 分析是基于回归分析的结果预测某临床事件发生可能性的统计学方法^[25]. 本研究根

据多因素 Cox 回归分析构建了 Nomogram 模型, 并以模型拟合分析评价 Nomogram 模型, 校准图中偏差校正线接近理想曲线, 说明拟合度良好, 可对疾病进程进行预测。预测结果表明, TNM 分期越晚, 年龄越大, PAEP 表达越高, 胃癌患者生存率越低。

免疫浸润方面, 本研究发现 PAEP 的表达水平与胃癌中性粒细胞、巨噬细胞的浸润水平有显著一致的相关性, 整体呈正相关趋势, 而 B 细胞、中央记忆型 T 细胞、T 细胞则与 PAEP 的表达水平呈显著的负相关趋势。Weber 等^[26]经研究发现 PAEP 在癌症中作为预后生物标志物具有可行性并且其作为免疫系统调节剂具有潜在的作用。有研究^[27,28]表明, PAEP 的表达与巨噬细胞有强相关性, 糖蛋白 A (Glycodelin A, GdA) 属于 PAEP 亚型的一种, 其能抑制单核细胞的增殖, 并诱导单核细胞凋亡。PAEP 与 T 细胞、B 细胞的表达水平也有较强相关性, 整体呈显著的负相关趋势, 如 GdA 使 T 细胞不能对 IL-2 作出反应, 从而刺激细胞周期停滞、效应功能丧失和不同 T 细胞亚群的凋亡^[29]; GdA 能抑制 B 细胞的增殖, 但是不能诱导其凋亡^[30]。

为进一步验证 PAEP 在胃癌中的作用, 本研究利用 qRT-PCR 和 Western blot 的实验方法检测了 PAEP 基因与蛋白表达在胃癌细胞与正常胃上皮细胞中的差异, qRT-PCR 结果显示胃癌细胞中 PAEP 基因的表达明显升高, Western blot 结果显示胃癌细胞中 PAEP 蛋白的表达明显升高。

综上所述, PAEP 的高表达与胃癌的进展、预后不良以及免疫细胞浸润有关, 可作为胃癌潜在的早期诊断、预后及免疫标志物。但本研究尚待进一步的临床实验以验证预测结果。

参考文献:

[1] 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: 4012.

[2] Wang S M, Zheng R S, Zhang S W, *et al.* Analysis of the epidemic characteristics of gastric cancer in China in 2015 [J]. *Chin J Epidemiol*, 2019, 40: 1517. [王少明, 郑荣寿, 张思维, 等. 2015 年中国胃癌流行特征分析[J]. *中华流行病学杂志*, 2019, 40: 1517.]

[3] Gastric Cancer Association, China Anti-Cancer As-

sociation. Consensus of Chinese expert panel on key difficult points of diagnosis and treatment in gastric cancer (2020 edition) [J]. *Chin J Pract Surg*, 2020, 40: 869. [中国抗癌协会胃癌专业委员会. 胃癌诊治难点中国专家共识(2020 版)[J]. *中国实用外科杂志*, 2020, 40: 869.]

[4] Song Z, Wu Y, Yang J, *et al.* Progress in the treatment of advanced gastric cancer [J]. *Tumour Biol*, 2017, 39: 1010428317714626.

[5] Yamaguchi Y, Nagata Y, Hiratsuka R, *et al.* Gastric cancer screening by combined assay for Serum anti-helicobacter pylori IgG antibody and serum pepsinogen levels—the ABC method [J]. *Digestion*, 2016, 93: 13.

[6] Huang Z B, Zhou X, Xu J, *et al.* Prognostic value of preoperative serum tumor markers in gastric cancer [J]. *World J Clin Oncol*, 2014, 5: 170.

[7] Seppälä M, Taylor R N, Koistinen H, *et al.* Glycodelin: a major lipocalin protein of the reproductive axis with diverse actions in cell recognition and differentiation [J]. *Endocr Rev*, 2002, 23: 401.

[8] Ma F, Wang Z B. Research progress on embryonic development and tumor formation [J]. *Cancer Res Prev Treat*, 2006(4): 294. [马芳, 王智彪. 胚胎发育与肿瘤形成的研究进展[J]. *肿瘤防治研究*, 2006(4): 294.]

[9] Ren S, Liu S, Howell P M Jr, *et al.* Functional characterization of the progestagen-associated endometrial protein gene in human melanoma [J]. *J Cell Mol Med*, 2010, 14: 1432.

[10] Cui J, Liu Y, Wang X. The roles of glycodelin in cancer development and progression [J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 1685.

[11] Chai L N. Study on the inhibitory effect of PAEP secreted by melanoma cells on T lymphocytes in vitro [D]. Changsha: Central South University, 2013. [柴丽娜. 黑素瘤分泌的 PAEP 对体外 T 淋巴细胞免疫抑制作用的研究[D]. 长沙: 中南大学, 2013.]

[12] Weber R, Meister M, Muley T, *et al.* Pathways regulating the expression of the immunomodulatory protein glycodelin in non-small cell lung cancer [J]. *Int J Oncol*, 2019, 54: 515.

[13] Chen W, Zheng R, Baade P D, *et al.* Cancer statistics in China, 2015 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66: 115.

[14] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, *et al.* Global cancer statistics 2018; GLOBOCAN estimates of in-

- cidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68: 394.
- [15] Mattiuzzi C, Lippi G. Cancer statistics: a comparison between World Health Organization (WHO) and Global Burden of Disease (GBD) [J]. *Eur J Public Health*, 2020, 30: 1026.
- [16] Jeschke U, Kuhn C, Mylonas I, *et al.* Development and characterization of monoclonal antibodies for the immunohistochemical detection of glycodeclin A in decidual, endometrial and gynaecological tumour tissues [J]. *Histopathology*, 2006, 48: 394.
- [17] Richter C, Baetje M, Bischof A, *et al.* Expression of the glycodeclin A gene and the detection of its protein in tissues and serum of ovarian carcinoma patients [J]. *Anticancer Res*, 2007, 27(4A): 2023.
- [18] Hautala L C, Greco D, Koistinen R, *et al.* Glycodeclin expression associates with differential tumour phenotype and outcome in sporadic and familial non-BRCA1/2 breast cancer patients [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2011, 128: 85.
- [19] Chai L N, Han Y, Ren S P. Progesterone-associated endometrial protein gene and tumor [J]. *J Int Oncol*, 2013(1): 12. [柴丽娜, 韩颖, 任素萍. 孕激素相关子宫内膜蛋白基因与肿瘤[J]. *国际肿瘤学杂志*, 2013(1): 12.]
- [20] Riker A I, Enkemann S A, Fodstad O, *et al.* The gene expression profiles of primary and metastatic melanoma yields a transition point of tumor progression and metastasis [J]. *BMC Med Genomics*, 2008 (1): 13.
- [21] Wang S S, Guo Z P, Zhao X Y. Diagnostic value of serum Pepsinogen I /Pepsinogen II combined with tumor markers for Helicobacter pylori-Positive early-stage gastric cancer [J]. *J Sichuan Univ (Med Sci)*, 2023, 54: 186. [王珊珊, 郭战萍, 赵翔宇. 血清 PG I /PG II 联合肿瘤标志物对 Hp 阳性早期胃癌的诊断价值[J]. *四川大学学报(医学版)*, 2023, 54: 186.]
- [22] Yang Z, Zhang H, Xu M Y, *et al.* Prognostic value of the expression of Myeloid Leukemia Factor 1-Interacting protein in gastric cancer and its regulatory role in tumor progression [J]. *J Sichuan Univ (Med Sci)*, 2023, 54: 114. [杨子, 张浩, 徐梦宇, 等. 胃癌中 MLF1IP 表达的预后价值及其对肿瘤进展的调控作用[J]. *四川大学学报(医学版)*, 2023, 54: 114.]
- [23] Zhu Y X, Li Y, Wu S T, *et al.* Application of ROC and PR curves in the evaluation of clinical diagnostic testing [J]. *Chin J Prev Med*, 2022, 56: 1341. [朱映璇, 李杨, 吴疏桐, 等. ROC 曲线和 PR 曲线在临床诊断试验评估中的应用[J]. *中华预防医学杂志*, 2022, 56: 1341.]
- [24] Mandrekar J N. Receiver operating characteristic curve in diagnostic test assessment [J]. *J Thorac Oncol*, 2010, 5: 1315.
- [25] Gong J, Shun H C, Hu B. The application of column chart in tumor risk prediction and prognosis evaluation [J]. *Chin J Lab Med*, 2020, 43: 614. [龚娇, 孙恒昌, 胡波. 列线图在肿瘤风险预测和预后评估中的应用[J]. *中华检验医学杂志*, 2020, 43: 614.]
- [26] Weber R, Meister M, Muley T, *et al.* Pathways regulating the expression of the immunomodulatory protein glycodeclin in non-small cell lung cancer [J]. *Int J Oncol*, 2019, 54: 515.
- [27] Alok A, Mukhopadhyay D, Karande A A. Glycodeclin A, an immunomodulatory protein in the endometrium, inhibits proliferation and induces apoptosis in monocytic cells [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2009, 41: 1138.
- [28] Vijayan M, Lee C L, Wong V H H, *et al.* Decidual glycodeclin-A polarizes human monocytes into a decidual macrophage-like phenotype through Siglec-7 [J]. *J Cell Sci*, 2020, 133: jcs244400.
- [29] Soni C, Karande A A. Glycodeclin-A interferes with IL-2/IL-2R signalling to induce cell growth arrest, loss of effector functions and apoptosis in T-lymphocytes [J]. *Hum Reprod*, 2012, 27: 1005.
- [30] Alok A, Karande A A. The role of glycodeclin as an immune-modulating agent at the feto-maternal interface [J]. *J Reprod Immunol*, 2009, 83: 124.