

PDCD4、PDCD5 及 MCL-1 蛋白在结直肠癌组织中的表达*

何胜悦**，何 常***

(贵州医科大学附院 病理科, 贵州 贵阳 550004)

[摘要] 目的: 探讨程序性死亡因子 4 (PDCD4)、5 (PDCD5) 及髓样细胞白血病-1 (MCL-1) 在结直肠癌 (CRC) 中表达及意义。方法: 应用免疫组化检测 PDCD4、PDCD5 与 MCL-1 在 CRC (50 例)、结直肠腺瘤 (20 例) 和结直肠黏膜慢性炎症 (20 例) 中的表达, 同时分析 PDCD4、PDCD5 及 MCL-1 蛋白的表达与 CRC 患者淋巴结转移、生存期及 TNM 分期的关系, 采用 *spearman's* 方法分析结直肠组织中 MCL-1、PDCD4 及 PDCD5 蛋白表达的相关性。结果: PDCD4、PDCD5 及 MCL-1 在 CRC、结直肠腺瘤、结直肠黏膜慢性炎症中的阳性表达率分别比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); CRC 患者标本中, MCL-1 与 PDCD4 ($r = -0.401, P < 0.05$)、PDCD5 ($r = -0.445, P < 0.05$) 表达呈负相关, 而 PDCD4 与 PDCD5 的表达呈正相关 ($r = 0.510, P < 0.05$); PDCD4 及 MCL-1 在 CRC 组织中的表达与 TNM 分期、淋巴结转移及 5 年生存期有关 ($P < 0.05$)。结论: CRC 发生及发展与 PDCD4、PDCD5 及 MCL-1 的蛋白表达有关。

[关键词] 结直肠肿瘤; 程序性细胞死亡因子; 髓样细胞白血病-1; 免疫组织化学

[中图分类号] R735.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2016)08-0927-04

DOI: 10.19367/j.cnki.1000-2707.2016.08.015

Expression of PDCD4, PDCD5 and MCL-1 in Colorectal Carcinoma

HE Shengyue, HE Chang

(Department of Pathology, the Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou, China)

[Abstract] Objective: To explore the expression and clinical significance of PDCD4, PDCD5 and MCL-1 in colorectal cancer (CRC). **Methods:** The immunohistochemistry was adopted to detect protein levels of PDCD4, PDCD5 and MCL-1 in 50 cases of colorectal cancer, 20 cases of colorectal adenoma and 20 cases of colorectal inflammation. At the same time, the correlation between the expression of PDCD4, PDCD5 and MCL-1 and lymph node metastasis, survival length and TNM staging in patients with colorectal carcinoma was analyzed, and Spearman's method was adopted to analyze the correlation between expression of PDCD4, PDCD5 and MCL-1. **Results:** There were statistically significant differences in PDCD4, PDCD5 and MCL-1 positive expression rate in the CRC, colorectal adenoma and colorectal inflammation ($P < 0.05$). In CRC patient specimens, MCL-1 expression was negatively correlated with PDCD4 expression ($r = -0.401, P < 0.05$) and PDCD5 ($r = -0.445, P < 0.05$) while PDCD4 expression was positively correlated with PDCD5 expression ($r = 0.510, P < 0.05$). PDCD4 and MCL-1 expressions in CRC tissues were associated with TNM staging, lymph node metastasis and 5 years survival ($P < 0.05$). **Conclusion:** The occurrence and development of CRC is correlated with the expression of PDCD4, PDCD5 and MCL-1.

[Key words] colorectal cancer; programmed cell death factor; myeloid cell leukemia-1; immunohistochemistry

* [基金项目] 贵州省科技厅基金 (E2010-4)

** 贵州医科大学病理科 2013 级硕士研究生

*** 通信作者 E-mail: 2077166911@qq.com

网络出版时间: 2016-08-23 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20160823.1343.066.html>

近年来,结直肠癌(colorectal cancer, CRC)的发病率与死亡率都呈明显的上升趋势,其机制尚不清楚^[1]。有研究认为,CRC的发生、发展和转归与结直肠组织细胞增殖与凋亡的失衡密切相关^[2]。程序性细胞死亡因子4(programmed cell death4, PDCD4)、PDCD 5与髓样细胞白血病-1(myeloid cell leukemia-1, MCL-1)作为凋亡调控分子,影响着细胞周期及凋亡,PDCD表达产物通过抑制相关基因的转录和翻译抑制肿瘤生成,在多种人肿瘤组织细胞中表达缺失或低表达,MCL-1则参与了多种细胞系的凋亡、分化和细胞周期的调控^[3-5]。本研究通过检测PDCD4、PDCD 5及MCL-1蛋白的表达,探讨这些细胞因子在CRC中表达的意义。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

选取2003年1月~2006年12月行CRC手术,术前未进行化(放)疗的同一组织学类型(管状腺瘤Ⅱ级)病例50例,23~81岁,平均52岁;男24例,女26例。选取其中20例远癌处结直肠黏膜慢性炎症组织作为黏膜慢性炎症标本,23岁~48岁,平均39岁;男11例,女9例。结直肠腺瘤病例20例,25岁~53岁,平均39岁;男13例,女7例。所取CRC、结直肠腺瘤及黏膜慢性炎症标本均经10%中性福尔马林固定,石蜡包埋,切片厚4 μm。PDCD4、PDCD5兔抗人多克隆抗体购自北京博奥森,MCL-1兔抗人多克隆抗体购自武汉博士德,DAB显色试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司。显微镜使用OLYMPUS BX53型。

1.2 方法

采用免疫组织化学染色法测定PDCD4、PDCD5及MCL-1蛋白的表达。PBS代替一抗作为阴性对照。PDCD4、PDCD5以细胞浆有棕黄色显色为阳性,MCL-1以细胞质和(或)细胞核中有棕黄色显色为阳性。所有切片经2名病理医师在不了解患者资料的情况下进行评估,每张切片至少观察5个高倍视野,分别将切片的阳性细胞百分率与阳性细胞的着色强度进行计分。阳性细胞<25%为1分,25%~49%为2分,50%~75%为3分,>75%为4分。染色强度无着色计1分,浅黄色计2分,棕黄色计3分,棕褐色计4分。用阳性细胞得分与着色得分相加,≤4分为低表达,>4分为高表达。

1.3 观察指标

比较PDCD4、PDCD5及MCL-1在CRC组织、结直肠腺瘤组织及结直肠黏膜慢性炎症组织中的表达,采用Spearman法分析CRC患者PDCD4、PDCD5及MCL-1蛋白表达的相关性;同时分析PDCD4、PDCD5及MCL-1蛋白表达与CRC患者年龄、性别、淋巴转移、生存期及TNM分期的关系。

1.4 统计学方法

数据采用软件SPSS 19.0处理,计数资料用率(%)表示,数据采用 χ^2 检验;采用Spearman等级相关进行相关性分析;检验水准取 $\alpha = 0.05, P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PDCD4、PDCD5及MCL-1蛋白表达

PDCD4、PDCD5及MCL-1在3种结直肠组织中均有表达,两两比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1和图1。

表1 PDCD4、PDCD5及MCL-1蛋白在3种结直肠组织中的表达

Tab.1 The positive expression rate of PDCD4, PDCD5 and MCL-1 in 3 groups of colorectal tissues

组织类型	n	结直肠组织(n, %)		
		PDCD4	PDCD5	MCL-1
CRC	50	20 (40.0)	22(44.0)	38(76.0)
结直肠腺瘤	20	14 (70.0) ⁽¹⁾	15(75.0) ⁽¹⁾	10(50.0) ⁽¹⁾
结直肠黏膜慢性炎症	20	20(100.0) ⁽¹⁾⁽²⁾	19(95.0) ⁽¹⁾⁽²⁾	8(40.0) ⁽¹⁾⁽²⁾

⁽¹⁾与CRC比较, $P < 0.05$; ⁽²⁾与结直肠腺瘤比较, $P < 0.05$

2.2 MCL-1、PDCD4、PDCD5蛋白表达在CRC组织中的相关性分析

Spearman's相关分析显示,在CRC组织中,MCL-1与PDCD4($r = -0.401, P < 0.05$)、PDCD5($r = -0.445, P < 0.05$)表达呈负相关,PDCD4与PDCD5的表达呈正相关($r = 0.510, P < 0.05$)。

2.3 PDCD4、PDCD5及MCL-1蛋白表达与淋巴转移、生存期及TNM分期的关系

PDCD4及MCL-1在CRC组织中的表达与患者的年龄、性别无关($P > 0.05$),与TNM分期、淋巴转移及5年生存期有关($P < 0.05$);PDCD5与患者的年龄、性别、淋巴转移、TNM分期及5年生存期均无关($P > 0.05$)。见表2。

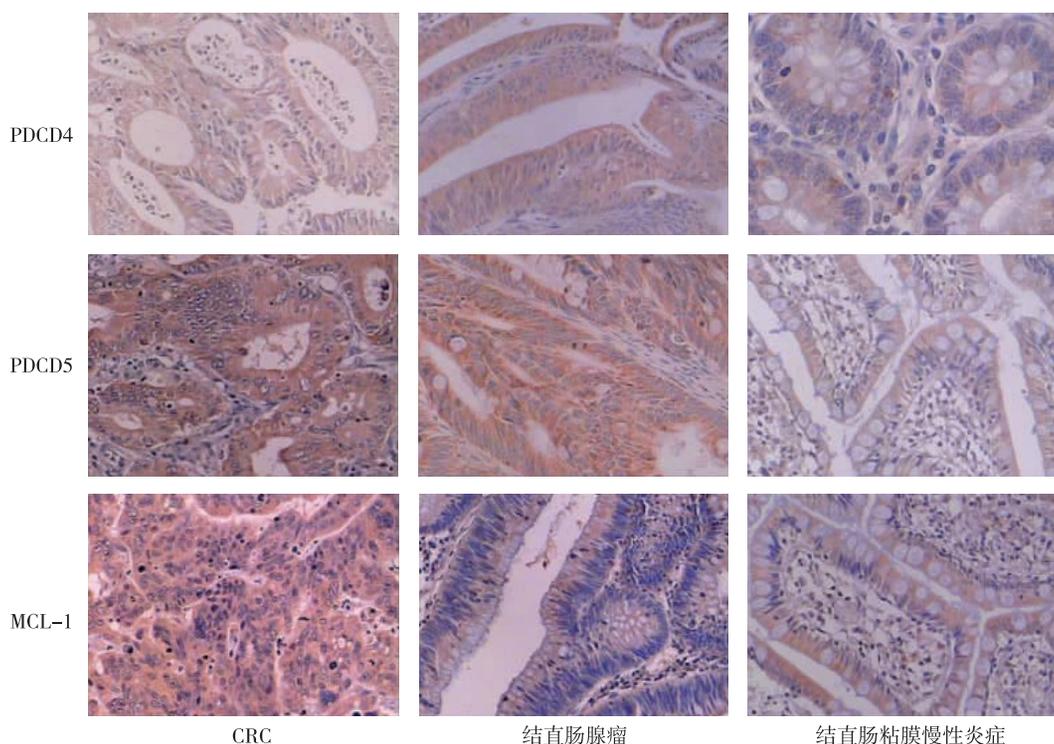


图 1 PDCD4、PDCD5 及 MCL-1 蛋白在 3 种结直肠组织中的表达 (Envision, $\times 200$)

Fig. 1 The positive expression of PDCD4, PDCD5 and MCL-1 protein in 3 groups of colorectal tissues

表 2 PDCD4、PDCD5 及 MCL-1 蛋白的表达与 CRC 淋巴结转移、生存期及 TNM 分期的关系 ($n, \%$)

Tab. 2 The correlation between the expression of PDCD4, PDCD5 and MCL-1 in patients with colorectal carcinoma and lymph node metastasis, survival and TNM staging

观察指标	n	PDCD4 ($n, \%$)		PDCD5		MCL-1	
		+	-	+	-	+	-
年龄							
>60	31	15(48.3)	16(51.7)	12(38.7)	19(61.3)	24(77.4)	7(22.6)
≤ 60	19	5(26.3)	14(72.7)	10(52.6)	9(47.4)	14(73.7)	5(26.3)
性别							
男	24	12(50.0)	12(50.0)	11(45.8)	13(54.2)	17(70.8)	7(29.2)
女	26	8(30.7)	18(69.3)	11(42.3)	15(57.7)	21(80.8)	5(19.2)
淋巴转移							
有	18	3(16.7)	15(83.3) ⁽¹⁾	10(55.6)	8(44.4)	17(94.4)	1(5.6) ⁽¹⁾
无	32	17(53.1)	15(46.9) ⁽¹⁾	12(37.5)	20(62.5)	21(65.6)	11(34.4) ⁽¹⁾
生存期							
≥ 5 年	19	11(57.9)	8(42.1) ⁽¹⁾	11(57.9)	8(42.1)	9(47.4)	10(52.6) ⁽¹⁾
<5 年	31	9(29.0)	22(71.0) ⁽¹⁾	11(35.5)	20(64.5)	29(93.5)	2(6.5) ⁽¹⁾
TNM 分期							
I + II	16	12(75.0)	4(25.0) ⁽¹⁾	10(62.5)	6(37.5)	5(31.3)	11(68.7) ⁽¹⁾
III + IV	34	8(23.5)	26(76.5) ⁽¹⁾	12(35.3)	22(64.7)	33(97.1)	1(2.9) ⁽¹⁾

⁽¹⁾ 与同一指标阳性比较, $P < 0.05$

3 讨论

CRC 早期临床症状并不明显, 易被忽视, 而在

症状明显就诊时患者多已经进入晚期, 目前治疗 CRC, 仍以手术切除为主, 术后配合化疗、放疗等辅助综合治疗。治疗效果并不理想^[1-2]。因此探讨如何早期发现并诊断 CRC, 为患者提供积极有效

的治疗措施就显得甚为重要。PDCD4 共编码 185 个氨基酸,位于人类染色体 10q24,PDCD4 主要是通过促进肿瘤细胞的凋亡进而抑制了肿瘤的生长^[2]。其编码蛋白具有多个磷酸化位点,可与蛋白激酶 C、脯氨酸激酶及酪氨酸激酶相结合,其促凋亡机制可能是通过抑制核糖体复合物的形成以及蛋白质的翻译进而诱发了细胞的凋亡^[3]。Fassan M 等^[6]发现 PDCD4 在食道癌的发生中起重要作用。在众多恶性肿瘤中都发现该基因 mRNA 及蛋白表达减少乃至缺失,亦与肿瘤病理的分期和预后有着密切的关系,并一定程度上影响了细胞的生长、凋亡与肿瘤抑制^[7]。与本研究结果 PDCD4 在结直肠腺瘤与结直肠粘膜慢性炎症的阳性表达率要高于 CRC 的阳性表达率一致。在其与临床病理关系的分析中发现,PDCD4 在 CRC 中的表达与 TNM 分期、淋巴结转移及 5 年生存期有关($P < 0.05$),提示 PDCD4 的表达对 CRC 的发病及预后存在这一定的关系。PDCD5 可结合活化的 caspase-3,延长活化的 caspase-3 的体外半衰期,促进细胞凋亡;还可通过线粒体膜的通透性转运孔的开放以及细胞色素 C 等凋亡相关因子的释放,引起膜电位降低,促进凋亡的发生^[4]。PDCD5 还可以直接与 p53 作用,增加 p53 依赖的下游凋亡相关分子表达^[8],进而诱导细胞凋亡。本研究结果显示 PDCD5 在结直肠粘膜炎症与结直肠腺瘤的阳性表达率高于 CRC 的阳性表达率,但 PDCD5 在 CRC 中的表达与患者的年龄、性别、淋巴结转移、TNM 分期及生存期均无关($P > 0.05$)。从一方面表明,PDCD5 可能在不同程度上影响了细胞从癌前病变至癌的进程,并在癌症的早期有较为明显的表达,为 CRC 的早期诊断和治疗上提供了一种新的可能性。结合对软骨肉瘤、慢性粒细胞性白血病患者可采用重组 PDCD5 的联合疗法,说明 PDCD5 能增加肿瘤细胞的化学敏感性。也为 CRC 的治疗提供了新的依据^[9-10]。MCL-1 作为一个重要的抗凋亡基因,该基因定位于人类染色体的 19q12-q13,包含了 6 个外显子和 5 个内含子,而且其外显子 6 可能是编码与促凋亡活动相关的结构域。在有关鼻 NK 细胞淋巴瘤的研究中,发现 STAT3 高频激活与 MCL-1 的表达存在密切的关系,而且通过抑制 STAT3 的活性也可降低 MCL-1 的表达并诱导凋亡的发生^[5]。本研究发现 MCL-1 在 CRC 中高表达,并且 MCL-1 的表达也与 CRC 的 TNM 分期、淋巴结转移及 5 年生存期有关($P < 0.05$),与 MCL-1 蛋白

在多发性骨髓瘤组织中的表达升高一致^[11]。

综上,CRC 的发生及发展与 PDCD4、PDCD5 及 MCL-1 的表达有关,与此同时,本研究中对 PDCD4、PDCD5 与 MCL-1 表达的相关性分析显示 3 者在 CRC 发生发展中存在着一定的相互作用,提示联合检测分析 PDCD4、PDCD5 与 MCL-1 的表达也为 CRC 的诊断与治疗提供了新的可能性。

4 参考文献

- [1] 宋晓昕. Fascin、 β -catenin、E-cadherin 在大肠管状腺瘤癌变过程中的表达及意义[J]. 河北医药, 2010(16): 2178-2180.
- [2] Itani S, Kunisada T, Morimoto Y, et al. MicroRNA-21 correlates with tumorigenesis in malignant peripheral nerve sheath tumor (MPNST) via programmed cell death protein 4 (PDCD4) [J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2012(9): 1501-1509.
- [3] Wedeken L, Singh P, Klempnauer KH. Tumor suppressor protein Pdc4 inhibits translation of p53 mRNA[J]. J Biol Chem, 2011(50): 42855-42862.
- [4] Wang L, Wang C, Su B, et al. Recombinant human PDCD5 protein enhances chemosensitivity of breast cancer in vitro and in vivo[J]. Biochem Cell Biol, 2013(6): 526-531.
- [5] Tsutsui M, Yasuda H, Suto H, et al. Frequent STAT3 activation is associated with Mcl-1 expression in nasal NK-cell lymphoma [J]. Int J Lab Hematol, 2010(4): 419-426.
- [6] Fassan M, Pizzi M, Battaqlia G, et al. Programmed cell death 4 (PDCD4) expression during multistep Barrett's carcinogenesis[J]. J Clin Pathol, 2011(3): 274.
- [7] Wang W, Zhao J, Wang H, et al. Programmed cell death 4 (PDCD4) mediates the sensitivity of gastric cancer cells to TRAIL-induced apoptosis by down regulation of FLIP expression[J]. Exp Cell Res, 2010(15): 2456-2464.
- [8] Xu L, Hu J, Zhao Y, et al. PDCD5 interacts with p53 and functions as a positive regulator in the p53 pathway [J]. Apoptosis, 2012(11): 1235-1245.
- [9] Chen C, Zhou H, Xu L, et al. Recombinant human PDCD5 sensitizes chondrosarcomas to cisplatin chemotherapy in vitro and in vivo[J]. Apoptosis, 2010(7): 805-813.
- [10] Shi L, Song Q, Zhang Y, et al. Potent antitumor activities of recombinant human PDCD5 protein in combination with chemotherapy drugs in K562 cells [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010(2): 224-230.
- [11] 王孟昌,张斌. 髓样细胞白血病-1 基因在多发性骨髓瘤发病中的分子机制[J]. 西安交通大学学报: 医学版, 2011(4): 429-432.

(2016-03-15 收稿, 2016-05-26 修回)

中文编辑: 吴昌学; 英文编辑: 刘 华