

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.01.026

DcR3 蛋白在人食管鳞状细胞癌中的表达及临床意义 *

胡尔伟¹ 李庆新¹ 黄亚琼^{2Δ} 伍治强¹ 王占鹏¹

(1 兰州军区兰州总医院胸外科 甘肃 兰州 730050; 2 兰州军区兰州总医院乳腺科 甘肃 兰州 730050)

摘要 目的:探讨诱骗受体(Decoy receptor 3, DcR3)蛋白在人食管鳞状细胞癌中的表达和临床意义。**方法:**通过免疫组化的方法,在人食管鳞状细胞癌组织和正常食管粘膜组织各 112 例中检测 DcR3 蛋白的表达差异,并分析 DcR3 蛋白表达与食管鳞状细胞癌临床病理学特征间的相关性。**结果:**在组织标本中检测发现,DcR3 蛋白在食管鳞状细胞癌组织中的阳性表达为 72.3%,在正常食管粘膜组织中的阳性表达为 25.9%。卡方检验分析表明,DcR3 蛋白在食管鳞状细胞癌组织中的阳性表达与食管鳞状细胞癌的临床分级($P=0.002$)、淋巴结转移($P<0.001$)、组织学分级($P=0.01$)具有显著相关性,而与患者的年龄($P=0.673$)、性别($P=0.378$)、吸烟史($P=0.392$)、饮酒史($P=0.093$)等均无关。Spearman 相关性分析检测发现,DcR3 蛋白高表达与高临床分级($r=-0.213$, $P=0.024$)、高组织学分级($r=-0.285$, $P=0.002$)、淋巴结转移($r=-0.568$, $P<0.001$)呈正相关,而与食管鳞状细胞癌患者的年龄、性别、吸烟史、饮酒史等均无相关性($P>0.05$)。**结论:**DcR3 蛋白在食管鳞状细胞癌组织中表达更高,且与食管鳞状细胞癌疾病的进展、转移呈正相关。DcR3 蛋白表达可用于检测食管鳞状细胞癌疾病严重程度。

关键词:食管鳞状细胞癌;DcR3;免疫组化;临床意义

中图分类号:R735.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2017)01-104-04

Expression and Clinical Significance of DcR3 Protein in Oesophageal Squamous Cell Carcinoma*

HU Ga-wei¹, LI Qing-xin¹, HUANG Ya-qiong^{2Δ}, WU Zhi-qiang¹, WANG Zhan-peng¹

(1 Department of Thoracic Surgery of Lanzhou General Hospital of CPLA, Lanzhou, Gansu, 730050, China;

2 Department of Breast Surgery of Lanzhou General Hospital of CPLA, Lanzhou, Gansu, 730050, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the expression and clinical significance of DcR3 (Decoy receptor 3) protein in human oesophageal squamous cell carcinoma. **Methods:** Expression status of DcR3 was detected by immunohistochemistry in 112 cases of normal esophageal tissues and oesophageal squamous cell carcinoma tissues. Expressions, correlations and clinical significance of DcR3 protein were also analyzed. **Results:** In oesophageal squamous cell carcinoma tissues, the positive expression of DcR3 protein was 72.3% and in normal esophageal tissues the positive expression of DcR3 protein was 25.9%. The chi square test suggested that DcR3 protein expression was correlated with clinical stage ($P=0.002$), lymph node metastasis ($P<0.001$), histological differentiation ($P=0.01$), but was not correlated with age ($P=0.673$), gender ($P=0.378$), cigarette smoking ($P=0.392$), alcohol drinking ($P=0.093$). Correlation analysis suggested that DcR3 expressions were positively correlated with clinical stage ($r=-0.213$, $P=0.024$), lymph node metastasis ($r=-0.568$, $P<0.001$), histological differentiation ($r=-0.285$, $P=0.002$). However, DcR3 expressions were not positively correlated with age, gender, cigarette smoking, alcohol drinking ($P>0.093$). **Conclusion:** In oesophageal squamous cell carcinoma, expressions of DcR3 protein were overexpressed and positively correlated with tumor progression and invasion. DcR3 protein expression may serve as a candidate prognostic biomarker in oesophageal squamous cell carcinoma progression.

Key words: Oesophageal squamous cell carcinoma; DcR3; Immunohistochemistry; Prognosis

Chinese Library Classification (CLC): R735.1 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2017)01-104-04

前言

在世界范围内,食管癌是发病率第八的恶性肿瘤,死亡率排在所有肿瘤的第六位,在发展中国家,尤其是我国更为常见^[1,2]。研究报道,我国每年有约 16 万例的食管癌新发病例,占

全球发病率的近一半^[3],其中食管鳞状细胞癌是最常见的一种病理类型。随着医疗技术的提高,食管鳞状细胞癌的诊治在检测、手术和术后治疗等方面有很大提高,但是其 5 年生存率仍然仅为约 15%-24%^[4]。因此,深入理解食管鳞状细胞癌的发病机制,明确发挥重要的癌基因或抑癌基因,对食管鳞状细胞癌

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81202085)

作者简介:胡尔伟(1979-),本科,主治医师,主要研究方向:食管癌的外科治疗

Δ 通讯作者:黄亚琼(1981-),主治医师,主要研究方向:恶性肿瘤的外科治疗, E-mail: 41972447@qq.com, 电话:0931-8995227

(收稿日期:2016-04-04 接受日期:2016-05-04)

的研究和治疗将大有裨益。

诱骗受体 (Decoy receptor 3, DcR3) 基因定位于人染色体 20q13.3 区, 该基因所编码的蛋白是由 300 个氨基酸组成的肿瘤坏死因子受体超家族成员, DcR3 蛋白在机体生理和病理学状态下的细胞生物学功能方面发挥着重要功能^[5,6]。生理状态下, DcR3 在人肺、肝、脾、结肠组织中低表达。越来越多的证据显示, DcR3 可以发挥癌基因的功能, 参与到恶性肿瘤的发生发展中, 尤其是促进肿瘤细胞的增殖、远处转移^[7,8]。国内学者报道了 DcR3 蛋白在食管癌中的表达, 发现 DcR3 蛋白在食管癌组织中高表达, 与肿瘤的恶性程度相关^[9]。尽管如此, 有关 DcR3 蛋白在食管鳞状细胞癌组织中的表达相关研究还较少。有关 DcR3 蛋白的表达与食管鳞状细胞癌临床病理学特征的相关性还不清楚。本研究总共收集了在我院就诊的 112 例食管鳞状细胞癌临床组织和配对正常食管组织标本, 采用免疫组织化学法检测 DcR3 蛋白的表达情况, 并分析 DcR3 蛋白表达高低与食管鳞状细胞癌临床病理学特征之间的相关性。

1 材料与方法

1.1 标本收集

本研究共收集了 112 例配对组织标本, 这些标本来自于兰州军区兰州总医院普外科和肿瘤科 2009 年至 2013 年确诊并手术切除的人食管鳞状细胞癌组织和正常食管组织。食管鳞状细胞癌的诊断依赖于病理诊断, 由两位病理科医生独立纤维镜下观察, 其显微镜下特点表现为角质细胞样细胞之间存在细胞间桥, 或伴有角化。正常食管癌组织是指癌旁大于 2 cm 以上的

正常食管组织。统计所有患者的临床资料和病理学资料。

1.2 试剂和实验方法

采用免疫组织化学染色法检测 112 例配对组织中 DcR3 蛋白的表达。采用北京中彩生物科技有限公司的检测试剂盒, 按照说明书逐步操作。鼠抗人 DcR3 单克隆一抗、辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠二抗均购于美国 CST 公司。所有标本免疫组织化学染色的结果由两位病理科医师进行独立和双盲判读。免疫组化评分 (immunoreactivity score, IRS) 判读评分标准^[10]: ① 染色呈阳性的细胞百分率小于 5% 计 0 分, 6%-25% 计 1 分, 26%-50% 计 2 分, 51%-75% 计 3 分, 大于 76% 计 4 分; ② 染色强度为无色计 0 分、淡黄色计 1 分、黄色计 2 分、棕色计 3 分; ③ × ② 为最终评分; ≤ 最分计为表达阴性, ≥ 计分计为表达阳性。

1.3 统计学分析

统计学分析采用 SPSS17.0 软件进行。DcR3 蛋白表达高低与病理学特征的关系和相关性分别采用 Pearson's χ^2 检验和 Spearman 等级相关分析。P<0.05 定义为具有统计学差异。

2 结果

2.1 DcR3 蛋白在食管鳞状细胞癌和正常食管粘膜组织中的表达差异

首先, 在 112 例食管鳞状细胞癌和正常食管粘膜组织中检测 DcR3 蛋白表达, 研究结果发现: DcR3 蛋白在食管鳞状细胞癌组织的阳性表达率为 72.3%, 而在正常食管粘膜组织的阳性表达率为 27.9%, 两组阳性表达率比较具有统计学意义 (P<0.05, 表 1)。

表 1 DcR3 蛋白在食管鳞状细胞癌和正常食管粘膜组织中的表达差异

Table 1 Expression differences of DcR3 between oesophageal squamous cell carcinoma (ESCC) tissues and normal esophageal tissues

Tissues	Case number	DcR3 expression		Positive rate (%)	P
		Negative	Positive		
Normal esophageal tissues	112	83	29	25.9%	<0.05
ESCC	112	31	81	72.3%	

2.2 DcR3 蛋白表达与食管鳞状细胞癌临床病理学特征间的关系

为了研究 DcR3 蛋白在食管鳞状细胞癌中表达的临床意义, 在 112 例食管鳞状细胞癌组织标本中分析了 DcR3 蛋白表达与病理学特征的关系, 采用卡方检验统计分析显示: DcR3 蛋

白在食管鳞状细胞癌组织中的阳性表达与食管鳞状细胞癌的临床分级 (TNM 分级) (P=0.002)、淋巴结转移 (P<0.001)、组织学分级 (高、中、低) (P=0.010) 具有显著相关性, 而与患者的年龄 (P=0.673)、性别 (P=0.378)、抽烟史 (P=0.392)、饮酒史 (P=0.093) 等均无关 (表 2)。

表 2 DcR3 蛋白表达与食管鳞状细胞癌临床病理学特征间的关系

Table 2 Correlation of the DcR3 expression in oesophageal squamous cell carcinoma tissues with the clinicopathological characteristics of patients with oesophageal squamous cell carcinoma

Variable	Case number	DcR3 expression		P
		Positive	Negative	
Age(years)				0.673 ^a
≤ 60	59	44	15	
> 60	53	37	16	
Gender				0.378 ^a
Male	73	55	18	
Female	39	26	13	
Cigarette smoking				0.392 ^a

No	50	39	11	
Yes	62	42	20	
Alcohol drinking				0.093 ^a
No	61	40	21	
Yes	51	41	10	
Clinical stage				0.002 ^a
I	8	1	7	
IIA	18	9	9	
IIB	34	28	6	
III	38	30	8	
IV	14	13	1	
Histological differentiation				0.01 ^a
Well	33	18	15	
Moderate	41	30	11	
Poor	38	33	5	
Lymph node metastasis				<0.001 ^a
Negative	50	22	28	
Positive	62	59	3	

Note: a The Fisher's exact test was used for statistical analyses. P<0.05 were considered statistically significant.

b The Pearson's chi square test was used for statistical analyses.

2.3 DcR3 蛋白表达与食管鳞状细胞癌病理学特征的相关性分析

通过 Spearman 相关性分析结果显示,DcR3 蛋白高表达与淋巴结转移($r=-0.568$, $P<0.001$)呈正相关。DcR3 蛋白表达与食管鳞状细胞癌患者的年龄、性别、吸烟史、饮酒史等均无相关性($P>0.05$,表 3)。

高临床分级($r=-0.213$, $P=0.024$)、高组织学分级($r=-0.285$, $P=0.002$)、

表 3 DcR3 蛋白表达与食管鳞状细胞癌病理学特征间的 Spearman 等级相关分析

Table 3 Correlation of DcR3 expression with clinical histopathologic characteristics of oesophageal squamous cell carcinoma analyzed by Spearman Rank Correlation Analysis

Variable	DcR3 expression		P ^a
	Correlation coefficient (rs)		
Age(years)	0.053		0.578
Gender	0.092		0.333
Cigarette smoking	-0.165		0.082
Alcohol drinking	-0.165		0.082
Clinical stage	-0.213		0.024
Histological differentiation	-0.285		0.002
Lymph node metastasis	-0.568		<0.001

Note: a The Spearman correlation test was used for statistical analyses. P values <0.05 were considered statistically significant.

3 讨论

当今,肿瘤治疗已经进入综合治疗和个体化治疗的年代。对于食管癌患者而言,手术和化学治疗是目前治疗的主要手段。但是食管癌患者在经过正规治疗后生存期依然很低,绝大部分患者因为病变转移而死亡^[11,12]。因此,寻找食管癌疾病监测和预后的生物学指标,对临床疾病的管理有着深远的意义。食管鳞状细胞癌占食管癌的绝大多数,是临床上常见的食管恶性肿瘤。现有研究已经证实,一些肿瘤基因参与了食管鳞状细胞

癌的发生发展,并且已被临床用于食管鳞状细胞癌预后和诊断的分子指标。

人 DcR3 基因的开放阅读框编码一条由 300 个氨基酸组成的多肽链,分子质量为 40 kDa^[13,14]。研究已证实,DcR3 蛋白在人胚胎肺、脑、肝、脾、结肠等组织中低表达,而广泛表达于人类恶性肿瘤和肿瘤细胞系中,尤其是在胃癌、结直肠癌、胰腺癌、肝癌等恶性肿瘤中高表达^[15,16]。DcR3 有三个配体,分别是 FasL、LIGHT 和 TL1A,它们都是肿瘤坏死因子超家族成员,已经发现,该三种配体在抑制肿瘤生长、诱导细胞凋亡、机体免疫

调节和炎症反应中发挥重要的作用^[17,18]。而 DcR3 则通过竞争性的与 FasL、LIGHT 和 TL1A 三个配体结合,从而阻断相关信号的传递,因此促进肿瘤细胞的增殖、抑制肿瘤细胞的凋亡,参与到恶性肿瘤的进展进程之中^[19-21]。目前,有关抑制 DcR3 在肿瘤细胞中的表达,进而达到遏制肿瘤生长的研究已经相继开展,国内学者报道了 DcR3 蛋白在食管癌中的表达,发现 DcR3 蛋白在食管癌组织中高表达,与肿瘤的恶性程度相关^[9]。有关 DcR3 在食管鳞状细胞癌中的研究还较少。本研究结果发现,DcR3 在食管鳞状细胞癌组织中明显高表达,而在正常食管粘膜组织中低表达,这就说明 DcR3 高表达与食管鳞状细胞癌的发生发展相关。此外,临床病理学资料分析显示,DcR3 蛋白的高表达与食管鳞状细胞癌的高临床分期(TNM 分期)、阳性腋窝淋巴结转移、肿瘤高组织学分级均呈正相关。这就表明,DcR3 蛋白高表达与食管鳞状细胞癌的高 TNM 分期、转移侵袭相关。众所周知,吸烟、饮酒等不良生活习惯与部分恶性肿瘤的发生密切相关,并且已有研究报道吸烟、饮酒可能会增加某些人群食管鳞状细胞癌的发生风险,因此我们在研究中也分析了 DcR3 表达与患者吸烟、饮酒史的关系。但是,统计学结果显示,DcR3 的高表达与食管鳞状细胞癌患者抽烟史、饮酒史并无关系。

本研究发现,DcR3 蛋白在食管粘膜组织中低表达,在食管鳞状细胞癌组织中高表达;DcR3 蛋白高表达与食管鳞状细胞癌的高 TNM 分期和转移密切相关。这些结果提示,DcR3 可能作为食管鳞状细胞癌转移和疾病监测的一种生物学指标。

参考文献(References)

- [1] Tong L, Yuan S, Feng F, et al. Role of podoplanin expression in esophageal squamous cell carcinoma: a retrospective study [J]. Dis Esophagus, 2012, 25(1): 72-80
- [2] Hashemian M, Poustchi H, Abnet CC, et al. Dietary intake of minerals and risk of esophageal squamous cell carcinoma: results from the Golestan Cohort Study[J]. Am J Clin Nutr, 2015, 102(1): 102-108
- [3] Zheng Y, Li Y, Liu X, et al. Reevaluation of Neoadjuvant Chemotherapy for Esophageal Squamous Cell Carcinoma: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials Over the Past 20 Years [J]. Medicine (Baltimore), 2015, 94(27): e11102
- [4] Du Z, Zhang W, Zhou Y, et al. Associations of ATM Polymorphisms With Survival in Advanced Esophageal Squamous Cell Carcinoma Patients Receiving Radiation Therapy [J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2015, 93(1): 181-189
- [5] Zhou J, Song S, Li D, et al. Decoy receptor 3 (DcR3) overexpression predicts the prognosis and pN2 in pancreatic head carcinoma [J]. World J Surg Oncol, 2014, 12: 52
- [6] Wu Q, Zheng Y, Chen D, et al. Aberrant expression of decoy receptor 3 in human breast cancer: relevance to lymphangiogenesis [J]. J Surg Res, 2014, 188(2): 459-465
- [7] Ren Z, Zhu J, Gu H, et al. Decoy receptor 3 polymorphisms are not associated with the risk of esophageal cancer in a Chinese population [J]. Biomarkers, 2014, 19(4): 340-344
- [8] Zhang Y, Li D, Zhao X, et al. Decoy receptor 3 suppresses FasL-induced apoptosis via ERK1/2 activation in pancreatic cancer cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2015, 463(4): 1144-1151
- [9] 岳庆峰, 向明, 李方明, 等. 食管癌组织 DcR3、MMP-2 表达及其对生存率的影响[J]. 中国癌症杂志, 2010, 20(10): 745-750
- [10] Yue Qing-feng, Xiang Ming, Li Fang-ming, et al. Study on the expression level of DcR3 and MMP-2 in esophageal carcinoma and its impact on survival of the patients [J]. Chian Oncology, 2010, 20(10): 745-750
- [11] Chu D, Li Y, Wang W, et al. High level of Notch1 protein is associated with poor overall survival in colorectal cancer [J]. Ann Surg Oncol, 2010, 17(5): 1337-13342
- [12] Li J, Chen Z, Tian L, et al. LncRNA profile study reveals a three-lncRNA signature associated with the survival of patients with oesophageal squamous cell carcinoma [J]. Gut, 2014, 63 (11): 1700-1710
- [13] Mesteri I, Schoppmann SF, Preusser M, et al. Overexpression of CMET is associated with signal transducer and activator of transcription 3 activation and diminished prognosis in oesophageal adenocarcinoma but not in squamous cell carcinoma[J]. Eur J Cancer, 2014, 50 (7): 1354-1360
- [14] Xiong G, Guo H, Ge X, et al. Decoy receptor 3 expression in esophageal squamous cell carcinoma: correlation with tumour invasion and metastasis[J]. Biomarkers, 2011, 16(2): 155-160
- [15] Ka SM, Hsieh TT, Lin SH, et al. Decoy receptor 3 inhibits renal mononuclear leukocyte infiltration and apoptosis and prevents progression of IgA nephropathy in mice [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2011, 301(6): F1218-230
- [16] Lin WW, Hsieh SL. Decoy receptor 3: a pleiotropic immunomodulator and biomarker for inflammatory diseases, autoimmune diseases and cancer[J]. Biochem Pharmacol, 2011, 81(7): 838-847
- [17] Hou YQ, Xu P, Zhang M, et al. Serum decoy receptor 3, a potential new biomarker for sepsis [J]. Clin Chim Acta, 2012, 413 (7-8): 744-748
- [18] Wang W, Zhang M, Sun W, et al. Reduction of decoy receptor 3 enhances TRAIL-mediated apoptosis in pancreatic cancer [J]. Plos one, 2013, 8(10): e74272
- [19] Aiba Y, Harada K, Komori A, et al. Systemic and local expression levels of TNF-like ligand 1A and its decoy receptor 3 are increased in primary biliary cirrhosis[J]. Liver Int, 2014, 34(5): 679-688
- [20] Tai SK, Chang HC, Lan KL, et al. Decoy receptor 3 enhances tumor progression via induction of tumor-associated macrophages [J]. J Immunol, 2012, 188(5): 2464-2471
- [21] Chen MH, Chen WS, Tsai CY, et al. Overexpression of decoy receptor 3 in synovial tissues of inflammatory arthritis [J]. Clin Exp Rheumatol, 2012, 30(2): 171-177
- [22] Maeda T, Miura Y, Fukuda K, et al. Decoy receptor 3 regulates the expression of tryptophan hydroxylase 1 in rheumatoid synovial fibroblasts[J]. Mol Med Rep, 2015, 12(4): 5191-5196