

膀胱癌 Nucleostemin 表达的临床意义

符津山 梁培育 欧善际 周治彦 彭晓晖

摘要 目的 膀胱癌患者肿瘤组织中 Nucleostemin 基因表达的改变,并探讨其相关的临床意义。**方法** 选取海南医学院第一附属医院泌尿外科 2016 年 3 月~2017 年 4 月收治的膀胱癌 82 例,取癌旁非肿瘤组织作为对照。Nucleostemin 基因 mRNA 表达量使用 RT-PCR 荧光定量 PCR 检测。**结果** 膀胱癌组织中 Nucleostemin 的 $2^{-\Delta Ct}$ 值为 0.294 ± 0.046 ,显著高于对照膀胱组织的 0.127 ± 0.018 ($P < 0.01$)。Nucleostemin 的 $2^{-\Delta Ct}$ 值膀胱癌患者的性别和年龄无显著相关性 ($P > 0.05$)。Nucleostemin 的 $2^{-\Delta Ct}$ 值在 TNM 临床 III、IV 期患者为 0.352 ± 0.058 ,显著高于 I、II 期患者的 0.263 ± 0.037 ($P < 0.05$)。Nucleostemin 的 $2^{-\Delta Ct}$ 值在浸润深度达到肌层的患者为 0.316 ± 0.51 ,显著高于未达到肌层的 0.235 ± 0.032 ($P < 0.05$)。Nucleostemin 的 $2^{-\Delta Ct}$ 值在中、低分化患者为 0.327 ± 0.054 ,显著高于高分化的 0.262 ± 0.033 ($P < 0.05$)。Nucleostemin $2^{-\Delta Ct}$ 值在淋巴结有转移患者为 0.346 ± 0.055 ,显著高于无转移的 0.269 ± 0.038 ($P < 0.05$)。**结论** 膀胱癌组织中 Nucleostemin 基因高表达,其表达变化可能参与膀胱癌的发生、发展、侵袭和转移过程。

关键词 膀胱癌 核干细胞因子 荧光定量-PCR

中图分类号 R73

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.05.025

Nucleostemin mRNA Expression in Bladder Cancer and Its Clinical Significance. Fu Jinshan, Liang Peiyu, Ou Shanji, et al. Department of Urology Surgery, The First Affiliated Hospital of Hainan Medical College, Hainan 570102, China

Abstract Objective To detect Nucleostemin mRNA expression in bladder cancer and explore its clinical significance. **Methods** 82 patients of bladder cancer were enrolled in this study. The non cancerous tissues beside the tumor were taken as controls. Real-time PCR analysis was used to detect Nucleostemin mRNA expression. **Results** Nucleostemin mRNA expression in bladder cancer tissue was 0.294 ± 0.046 , which was higher than that of 0.127 ± 0.018 in control tissue ($P < 0.01$). Nucleostemin mRNA expression was no significant difference between different gender and age in bladder cancer ($P > 0.05$). Nucleostemin mRNA expression in III and IV stage group was 0.352 ± 0.058 , which was higher than that of 0.263 ± 0.037 in I and II stage group ($P < 0.05$). Nucleostemin mRNA expression of patients with muscular layer infiltration was 0.316 ± 0.51 , which was higher than that of 0.235 ± 0.032 in non-muscular layer infiltration patients ($P < 0.05$). Nucleostemin mRNA expression in median and low differentiation group was 0.327 ± 0.054 , which was higher than that of 0.262 ± 0.033 in well differentiation group ($P < 0.05$). Nucleostemin mRNA expression in lymph node metastasis group was 0.346 ± 0.055 , which was higher than that of 0.269 ± 0.038 in non-lymph node metastasis group ($P < 0.05$). **Conclusion** High expression of Nucleostemin mRNA was detected in bladder cancer. Which was related to clinical stages, lymph node metastasis, and tumor differentiation of bladder cancer.

Key words Bladder cancer; Nucleostemin mRNA; Real-time PCR analysis

膀胱癌(bladder cancer)是泌尿外科临床上最常见的恶性肿瘤,随着我国城镇化、工业化步伐的加快以及环境污染的加重,近年来我国膀胱癌年龄标化发生率和人口标化病死率呈缓慢上升趋势^[1]。膀胱癌早期诊断和病情判断是治疗的核心,虽然膀胱镜活检是早期诊断和预后监测的金标准,但以肿瘤标志物为中心的无创检测受到了临床工作者的关注^[2]。Nucleostemin 是一种新的 P53 结合蛋白,其定位在细胞

核,在皮层肝细胞中优势表达,因此也称为核干细胞因子,调控着干细胞的增殖,近期的研究已发现 Nucleostemin 在肿瘤细胞的增殖中也可以发挥调节作用,例如在肾癌组织和膀胱癌细胞系中已经发现了 Nucleostemin 基因的高表达^[3~5]。本研究检测了膀胱癌患者临床组织标本中 Nucleostemin 基因表达的改变,并探讨 Nucleostemin 基因表达改变在膀胱癌中的临床意义。

对象与方法

1. 研究对象:选取海南医学院第一附属医院泌尿外科 2016 年 3 月~2017 年 4 月收治的膀胱癌 82 例,

作者单位:570102 海口,海南医学院第一附属医院泌尿外科

通讯作者:符津山,电子邮箱:wangmingqiang2003@163.com

病例均经病理确诊。其中男性 57 例,女性 25 例,患者平均年龄 53.6 ± 11.7 岁,TNM 分期:I 期 24 例、II 期 32 例、III 期 16 例、IV 期 10 例;浸润深度:非肌层浸润 24 例,肌层浸润 58 例;高分化 29 例,中分化 31 例、低分化 22 例;淋巴结无转移患者 64 例、有转移患者 18 例。取癌旁非肿瘤组织作为对照。

2. 主要试剂和仪器:RNA 提取试剂盒、PCR 反应 MIX、反转录试剂盒、购自北京天跟生物科技技术有限公司,SYBR Green 荧光定量-PCR 试剂盒购自广州达安基因有限公司、Nucleostemin 基因引物由北京赛百盛基因技术有限公司设计和合成。PCR 仪为美国 ABI 公司生产的 9700 型,荧光定量 PCR 仪为美国 Bio-Rad 公司生产的 CFX96 型。

3. Nucleostemin 基因表达的检测:每例标本取 50mg 组织,移入 1.5ml EP 管中,超声匀浆破碎组织,加入等体积的 Trizol,按照用试剂盒提取组织总 RNA,使用 RT-PCR 试剂盒反转录出 cDNA 第 1 条链,-80℃ 冻存待检,引物序列为 5'-CGAATTGGGCCGATCGTTGAGGCC-3'(上游)和 5'-TTAGCTTGCCCAAGGGAATTGCC-3'(下游)。扩增条件:94℃ 4min 预变性;94℃ 变性 30s,60℃ 退火 45s,72℃ 延伸 30s,30 个循环;72℃ 延伸 5min。GAPDH 基因为内对照,根据标准溶解曲线计算目的基因的表达量,表示为 $2^{-\Delta Ct}$ 。

4. 统计学方法:资料输入 SPSS 16.0 统计学软件进行统计分析,采用 *K-S* 检验进行计量资料的正态分布检验, $P>0.05$ 符合正态分布,正态分布的计量资料采用配对 *t* 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. Nucleostemin 在膀胱癌组织中的表达:膀胱癌组织中 Nucleostemin 的 $2^{-\Delta Ct}$ 值为 0.294 ± 0.046 ,对照膀胱组织中 Nucleostemin 的 $2^{-\Delta Ct}$ 值为 0.127 ± 0.018 ,统计分析显示膀胱癌组织中 Nucleostemin $2^{-\Delta Ct}$ 值显著高于对照膀胱组织($t=9.14, P<0.01$)。

2. Nucleostemin 的 mRNA 表达变化与各临床指标的相关性分析:Nucleostemin 的 $2^{-\Delta Ct}$ 值膀胱癌患者的性别和年龄无显著相关性($P>0.05$)。Nucleostemin 的 $2^{-\Delta Ct}$ 值在 TNM 临床 III、IV 期患者为 0.352 ± 0.058 ,显著高于 I、II 期患者的 0.263 ± 0.037 ($P<0.05$)。Nucleostemin 的 $2^{-\Delta Ct}$ 值在浸润深度达到肌层的患者为 0.316 ± 0.51 ,显著高于未达到肌层的 0.235 ± 0.032 ($P<0.05$)。Nucleostemin 的 $2^{-\Delta Ct}$ 值

在中、低分化患者为 0.327 ± 0.054 ,显著高于高分化的 0.262 ± 0.033 ($P<0.05$)。Nucleostemin 的 $2^{-\Delta Ct}$ 值在淋巴结有转移患者为 0.346 ± 0.055 ,显著高于无转移的 0.269 ± 0.038 ($P<0.05$),详见表 1。

表 1 Nucleostemin 的 mRNA 表达变化与各临床指标的相关性分析

临床指标	<i>n</i>	Nucleostemin($2^{-\Delta Ct}$)	<i>t</i>	<i>P</i>
性别			0.435	0.526
男性	57	0.295 ± 0.044		
女性	25	0.291 ± 0.040		
年龄(岁)			0.441	0.513
≥50	52	0.296 ± 0.043		
<50	30	0.292 ± 0.041		
临床分期(期)			2.716	0.024
I、II	56	0.263 ± 0.037		
III、IV	26	0.352 ± 0.058		
浸润深度			2.642	0.034
非肌层浸润	24	0.235 ± 0.032		
肌层浸润	58	0.316 ± 0.51		
分化程度			2.472	0.043
中、低分化	48	0.327 ± 0.054		
高分化	34	0.262 ± 0.033		
淋巴结转移			2.634	0.036
无	64	0.269 ± 0.038		
有	18	0.346 ± 0.055		

讨 论

膀胱镜活检一直作为膀胱癌早期诊断、术后随访和预后监测的金标准,但膀胱镜为一种有创性检查,常给患者带来痛苦以及增加医源性的感染,无创的膀胱癌标志物检测自然就受到了很大的关注,基因的检测就是一种敏感度高的肿瘤早期发现标志物。Nucleostemin 在细胞核内结和 P53 蛋白,通过对凋亡通路的干预,调节着细胞的增殖^[6]。本研究的定量 PCR 分析观察到 Nucleostemin 的 $2^{-\Delta Ct}$ 值在膀胱癌组织中显著异常升高,说明了膀胱癌组织中存在 Nucleostemi 高 mRNA 表达。Nikpour 等^[7]使用基因沉默技术发现下调 Nucleostemin 基因后阻止膀胱癌 5637 和 SW1710 细胞的生长,推断 Nucleostemin 可作为膀胱癌的新分子肿瘤标志物,以上结果提示了 Nucleostemin 的高表达参与了膀胱癌的发生过程。

张昊等^[8]分析了不同病理分级和临床分期的肾癌组织中 nucleostemin mRNA 的表达情况,结果发现

其与肾癌的病理分级和临床分期密切相关,本研究也检测到了 TNM 临床Ⅲ、Ⅳ期膀胱癌患者 Nucleostemin mRNA 的表达量显著高于Ⅰ、Ⅱ期患者,病理低分级的膀胱癌患者高于高分级的患者。Wei 等^[9]使用大肠癌细胞系上调 Nucleostemin 基因表达,结果发现大肠癌细胞的侵袭能力得到了显著的增加,本研究也观察到了肿瘤浸润深度达到肌层和有淋巴结转移的患者 Nucleostemin mRNA 的表达量显著高于未浸润到肌层患者和淋巴结无转移的患者,上述的结果提示了在膀胱癌中 Nucleostemin 表达上调可能参与了肿瘤的向周围组织浸润和远处转移。

综上所述,膀胱癌组织中 Nucleostemin 基因高表达,其表达变化可能参与膀胱癌的发生、发展、侵袭和转移过程。

参考文献

- 1 温登瑰,张思维,郑荣寿,等. 中国 2009 年膀胱癌发病和死亡资料分析[J]. 中国肿瘤, 2013, 22(7):521-527
- 2 白云,熊艳杰,杨文平,等. 膀胱癌组织中线粒体融合蛋白 2 基因表达及意义[J]. 山东医药, 2016, 56(12):36-38

- 3 王娇,野娜,韩世愈. Nucleostemin 通过 p53 与非 p53 途径调控细胞增殖的研究进展[J]. 医学综述, 2015, 21(22):4057-4059
- 4 苏晓程,王健,叶纯,等. 肾癌组织中 nucleostemin 表达的研究[J]. 河北医药, 2016, 38(7):976-978
- 5 Amini S, Fathi F, Mobalegi J, *et al.* The expressions of stem cell markers: Oct4, Nanog, Sox2, nucleostemin, Bmi, Zfx, Tcf1, Tbx3, Dppa4, and Esrrb in bladder, colon, and prostate cancer, and certain cancer cell lines[J]. Anat Cell Biol, 2014, 47(1):1-11
- 6 韩崇旭,许文荣,孙艳. 干细胞及肿瘤细胞中 nucleostemin 基因的研究进展[J]. 临床检验杂志, 2013, 31(7):514-517
- 7 Nikpour P, Mowla SJ, Jafarnejad SM, *et al.* Differential effects of Nucleostemin suppression on cell cycle arrest and apoptosis in the bladder cancer cell lines 5637 and SW1710[J]. Cell Prolif, 2009, 42(6):762-769
- 8 张昊,徐卫丽,武玉东,等. 不同病理分级和临床分期的肾癌组织中 nucleostemin mRNA 的表达[J]. 郑州大学学报:医学版, 2015, 50(3):437-438
- 9 Wei B, Huang Q, Zhong X. Upregulation of nucleostemin in colorectal cancer and its effects on cell malignancy[J]. Onco Targets Ther, 2015, 21(8):1805-1814

(收稿日期:2017-09-01)

(修回日期:2017-09-18)

重组改构人肿瘤坏死因子联合治疗非小细胞肺癌的临床疗效

翁小娇 吴日平 高鑫艳 赖金火

摘 要 **目的** 探讨注射用重组改构人肿瘤坏死因子联合多西他赛加顺铂化疗治疗非小细胞肺癌(NSCLC)的临床效果。**方法** 选取 2013 年 5 月~2016 年 3 月笔者医院收治的 178 例 NSCLC 患者,根据就诊顺序随机分为对照组和研究组,每组 89 例。对照组予多西他赛联合顺铂方案治疗,研究组在上述基础上加用重组改构人肿瘤坏死因子治疗,均以 21 天为 1 个疗程,连续治疗 4 个疗程,并酌情予对症处理。检测血清肿瘤标志物变化,应用中国癌症化疗患者生活质量量表(QLQ-CCC)和卡氏功能状态量表(KPS)评估生活质量,记录毒性不良反应情况和生存情况,并比较临床效果。**结果** 与治疗前比较,两组血清肿瘤标志物癌胚抗原(CEA)、糖蛋白抗原 125(CA125)、细胞角蛋白 19 片段(Cyfra21-1)水平降低($P < 0.01$),QLQ-CCC 量表躯体、心理、社会评分及总评分均降低($P < 0.01$),KPS 评分升高($P < 0.05$);与对照组比较,研究组 CEA、CA125、Cyfra21-1 水平较低($P < 0.01$),QLQ-CCC 量表躯体、心理、社会评分及总评分均较高($P < 0.01$),KPS 评分较高($P < 0.05$),客观缓解率(ORR)较高($P < 0.05$);截止随访,对照组生存率为 35.96%(32/89)低于研究组生存率 64.04%(57/89),差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 注射用重组改构人肿瘤坏死因子联合多西他赛加顺铂治疗非小细胞肺癌疗效显著,有效提高生存率和生活质量,值得临床推广。

关键词 非小细胞肺癌 重组改构人肿瘤坏死因子 多西他赛 顺铂

中图分类号 R73

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.05.026

Clinical Effect of Recombinant Mutant Human Tumor Necrosis Factor on the Treatment of Non-small Cell Lung Cancer. Weng Xiaojiao,

作者单位:350001 福州,福建医科大学附属协和医院

通讯作者:赖金火,主任医师,电子信箱:ljh1802@sina.com