

PDCD5 在晚期非小细胞肺癌患者血清中的表达及与化疗药物敏感性的相关性研究

赵丹宁 李焕焕 林芷伊 李 晶 苏 帆 巩 平

摘要 目的 研究程序化细胞死亡分子 5 (PDCD5) 在晚期非小细胞肺癌 (NSCLC) 患者血清中的表达, 探讨其与化疗药物敏感性的关系。方法 收集经病理证实为晚期 NSCLC 患者 40 例作为肺癌组, 体检健康者 20 例为正常组。肺癌组给予铂类药物联合其他化疗药物进行化疗, 治疗周期为 21 d, 治疗 2 周期后进行疗效评估, 分为有效组和无效组。采用 ELISA 法分别检测肺癌组化疗前后及正常组血清中 PDCD5 蛋白的水平, 并分析其与疗效、临床特征的关系。结果 正常组血清中 PDCD5 蛋白的水平高于肺癌组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。化疗前 PDCD5 蛋白的水平有效组高于无效组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。化疗后 PDCD5 蛋白的水平有效组显著高于无效组, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。有效组化疗后 PDCD5 蛋白的水平高于化疗前, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。无效组化疗后 PDCD5 蛋白的水平低于化疗前, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。肺癌组血清中 PDCD5 蛋白的水平与有无淋巴结转移及肿瘤的分化程度有关 ($P < 0.05$), 与患者是否吸烟、性别、病理类型均无关 ($P > 0.05$)。结论 晚期 NSCLC 患者血清中 PDCD5 蛋白的水平有望成为化疗敏感性的预测因子, 其表达水平降低可能与肺癌的发生有关, 也可能为晚期 NSCLC 患者不良预后因素。

关键词 程序化细胞死亡分子 5; 晚期非小细胞肺癌; 顺铂; 化疗

中图分类号 R 734.2

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2015)05-0672-04

肺癌是我国最常见的恶性肿瘤, 其发病率和死亡率在逐年上升, 非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 约占肺癌总数的 80%^[1]。大部分患者在确诊时已是晚期, 失去手术治疗的机会, 而化疗成为其主要治疗方法。以铂类药物为主的联合化疗方案是目前国际公认的标准化疗方案, 而对化疗药物敏感性的降低^[2]是化疗失败的主要原因。肺癌的发生、发展与多种基因的失活及细胞的凋亡减少有关。程序化细胞死亡分子 5 (PDCD5) 是由北京大学人类疾病基因中心从白血病细胞株 TF-1 细胞中克隆得到并证实为一种新的凋亡正调控基因^[3]。其在人类 50 多种组织中均有表达, 参与调控细胞凋亡过程。大量体外实验^[4-5]已经证实 PDCD5 在肿瘤化疗中起协同增敏作用。其在肺癌中的研究大多局限于组织, 且方法繁琐, 操作费时, 在临床上不易推广。血清中 PDCD5 蛋白作为一个新的肿瘤生物学指标, 具有取材方便、检测迅速等优点。该实验采用 ELISA 法研究 PDCD5 在晚期 NSCLC 患者及正常人血清中的表达水平, 初步探讨 PDCD5 蛋白在肺癌患者血清中表达的临床意义及其与化疗药物敏感性的关系。

2015-01-12 接收

基金项目: 新疆兵团卫生科技计划

作者单位: 新疆石河子大学医学院第一附属医院肿瘤内科, 石河子 832000

作者简介: 赵丹宁, 女, 硕士研究生;

巩平, 女, 主任医师, 教授, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: gongp832000@163.com

chronic periodontitis patients including 122 teeth were divided into two groups in which patients were treated with periodontal basic therapy and Er,Cr:YSGG laser randomly. Probing depth (PD), sulcus bleeding index (SBI), gingival index (GI) and tooth mobility (TM) were recorded before and after 3 and 6 months following the periodontal treatment. **Results** Two kinds of methods of treatment could reduce the degree of periodontal inflammation effectively at 3 and 6 months after therapy between the groups. The changes in clinical periodontal index had significant differences statistically ($P < 0.05$). The improvement of periodontal probing depth in the experimental group was more superior than that in the control group. **Conclusion** For patients with chronic periodontitis, Er,Cr:YSGG laser treatment could replace the periodontal non-surgical treatment. It could be invasive minimally and has a good clinical effect.

Key words Er,Cr:YSGG laser; chronic periodontitis; minimally invasive medicine

1 材料与方法

1.1 病例资料 收集 2013 年 10 月~2014 年 7 月石河子大学医学院第一附属医院经病理证实为 III、IV 期 NSCLC 患者 40 例。入组标准: ① 年龄 ≥ 20 岁; ② ECOG 功能状态评分为 0~2 分; 具有可测量病灶; ③ 重要脏器功能基本正常; ④ 患者接受以顺铂为基础的化疗方案, 并能够依从研究和随访研究。排除标准: ① 缺乏肺癌病理学诊断; ② 依从性差; ③ 既往接受过放、化疗。20 例同期我院体检健康者作为正常组。40 例患者中男 22 例, 女 18 例; 年龄 30~75 岁, 平均年龄 52.5 岁; 鳞癌 17 例, 腺癌 23 例。本研究获得石河子大学医学院第一附属医院伦理委员会的批准, 并获得患者的知情同意。

1.2 主要试剂及仪器 PDCD5 检测试剂盒购自武汉优尔生公司(SEL105Hu)。MODEL450 酶标仪购自美国 Bio-RAD 公司。

1.3 ELISA 法检测 PDCD5 蛋白水平

1.3.1 血样采集 被检测者均采集清晨空腹静脉血 3 ml, 置于 EDTA 抗凝管中, 2 500 r/min 离心 10 min 分离收集血清, -80°C 冻存待测。

1.3.2 样本检测 严格按照 PDCD5 检测试剂盒内的说明书进行操作。设立空白孔、标准品孔、样本反应孔, 各孔按要求配置好, 然后按要求加样, 然后盖上封板膜, 37°C 温育 60 min, 后配置洗涤液, 洗涤, 拍干, 加入显色剂显色, 终止显色, 450 nm 波长测定各孔的光密度(optical density, OD) 值, 描绘标准曲线, 计算对应样品浓度。

1.4 顺铂联合应用其他化疗药物进行干预 40 例患者均采用以顺铂为基础的药物化疗。具体为: 按体表面积顺铂 $75\text{ mg}/\text{m}^2$ 计算总量后, 于第 1、2 天静脉滴注 21 d 为 1 个周期。

1.5 近期疗效评估 治疗 2 个周期后复查肺部 CT, 依据 RECIST1.1 实体瘤疗效评价标准评估疗效: 完全缓解(complete response, CR) 指所有靶病灶消失, 无新病灶出现, 且肿瘤标志物正常, 至少维持 4 周; 部分缓解(partial response, PR) 指靶病灶最大径之和减少 $\geq 30\%$, 至少维持 4 周; 疾病稳定(stable disease, SD) 指靶病灶最大径之和缩小未达 PR, 或增大未达 PD; 疾病进展(progression disease, PD) 指靶病灶最大径之和至少增加 $\geq 20\%$, 或出现新病灶。CR、PR 为有效, SD、PD 为无效。

1.6 统计学处理 采用 SPSS 17.0 统计软件进行分析, 所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。计量资料若数据符合正态分布, 方差齐性时, 采用两样本 t 检验; 若方差不齐时, 采用非参数检验。

2 结果

2.1 两组 PDCD5 蛋白水平比较 正常组血清中 PDCD5 蛋白的水平高于肺癌组 [(1.163 \pm 0.293) ng/ml vs (0.831 \pm 0.352) ng/ml], 差异有统计学意义 ($t = 2.685$, $P = 0.011$)。

2.2 肺癌组疗效评估及化疗前后血清中 PDCD5 表达变化与疗效的关系 40 例患者中 CR 0 例, PR 23 例, SD 7 例, PD 10 例, 故治疗有效组 23 例, 治疗无效组 17 例。有效组化疗前 PDCD5 蛋白的水平高于无效组, 差异有统计学意义 ($t = 2.292$, $P = 0.028$)。有效组化疗后 PDCD5 蛋白的水平显著高于无效组, 差异有统计学意义 ($t = 4.980$, $P = 0.000$)。有效组化疗后 PDCD5 蛋白的水平高于化疗前, 差异有统计学意义 ($t = -2.540$, $P = 0.021$)。无效组化疗后 PDCD5 蛋白的水平低于化疗前, 差异有统计学意义 ($t = 2.440$, $P = 0.027$)。见表 1。

表 1 肺癌组化疗前后血清中 PDCD5 表达变化与化疗疗效关系(ng/ml $\bar{x} \pm s$)

项目	例数(n)	化疗前	化疗后
有效组(CR+PR)	23	0.850 \pm 0.216*	1.083 \pm 0.493 ^{#Δ}
无效组(SD+PD)	17	0.668 \pm 0.287	0.572 \pm 0.142 Δ

与无效组化疗前比较: * $P < 0.05$; 与无效组化疗后比较: [#] $P < 0.05$; 与同组化疗前比较: $\Delta P < 0.05$

2.3 PDCD5 蛋白的表达与临床病理特征的关系

有淋巴结转移者 PDCD5 蛋白水平低于无淋巴结转移者, 差异有统计学意义 ($P = 0.031$)。中分化患者 PDCD5 蛋白的水平高于低分化患者, 差异有统计学意义 ($P = 0.039$)。PDCD5 蛋白在晚期 NSCLC 患者血清中的表达水平与患者是否吸烟、性别、病理类型均无相关性 ($P > 0.05$)。见表 2。

3 讨论

肺癌已成为我国乃至全世界发病率最高的恶性肿瘤, 细胞的增殖和凋亡失衡在肺癌的发生、发展中起着至关重要的作用^[6]。PDCD5 基因具有促进多种细胞凋亡和抑制增殖的效应^[7]。该基因在胃癌、

表2 PDCD5 蛋白的表达与临床病理特征的关系($\bar{x} \pm s$)

项目	n	PDCD5(ng/ml)	t 值	P 值
性别				
男	22	0.812 ± 0.352	-0.481	0.634
女	18	0.875 ± 0.361		
吸烟与否				
吸烟	22	0.809 ± 0.371	0.284	0.779
不吸烟	18	0.776 ± 0.262		
病理类型				
腺癌	23	0.773 ± 0.261	0.321	0.750
鳞癌	17	0.741 ± 0.361		
有无淋巴结转移				
有转移	16	0.659 ± 0.259	-2.260	0.031
无转移	24	0.916 ± 0.340		
肿瘤分化程度				
中	22	0.835 ± 0.172	2.179	0.039
低	18	0.643 ± 0.260		

卵巢癌、喉癌等恶性肿瘤组织中的表达明显下降。研究^[8]证实,在肺腺癌组织中 PDCD5 mRNA 表达水平比正常肺组织低 2.4 倍,且 PDCD5 阳性组中 mRNA 的相对表达量高于阴性组^[9]。本研究结果显示,晚期 NSCLC 患者血清中 PDCD5 蛋白的表达水平低于正常组。说明 PDCD5 蛋白在肺癌患者的血清中表达较低,与文献^[9]结果一致。由此提示 PDCD5 蛋白低表达可能为促进肺癌发生的重要原因之一。

体外实验表明,PDCD5 在多种肿瘤细胞系中均可促进肿瘤细胞发生凋亡,对放、化疗起协同作用^[5]。研究^[10]表明 PDCD5 联合顺铂促进肿瘤细胞凋亡的作用比单独使用顺铂明显。由此提示 PDCD5 为凋亡增强剂。本研究检测结果显示治疗有效组化疗前后血清中 PDCD5 蛋白的表达水平均高于无效组,与赵青等^[9]的研究结果一致。该结果提示 PDCD5 蛋白表达增高可能为化疗有效的促进因素,PDCD5 凋亡增强作用可能促进顺铂对肿瘤细胞的敏感性,进而推测其高表达为增进顺铂化疗药物敏感性的一个因素,表达水平降低可能是其抵抗化疗药物诱导凋亡刺激信号发生的作用机制之一。进一步分析显示,化疗有效组化疗后 PDCD5 蛋白的水平高于化疗前,而无效组 PDCD5 蛋白的水平低于化疗前,分析原因可能由于 PDCD5 在促进肿瘤细胞凋亡的同时,顺铂诱导其表达;而治疗无效组,可能由于肿瘤增大对顺铂产生耐药性,进而导致 PDCD5 蛋白的表达降低,其具体机制尚不清楚,有待进一步研究。由于 SD 患者仅有 7 例,样本量较局限,不足以

研究其治疗前后的变化趋势,还需扩大样本量进一步研究。其与顺铂相互作用的具体机制尚不清楚,据报道^[11] PDCD5 蛋白通过活化的相关线粒体凋亡通路能促进顺铂对脑胶质瘤细胞的杀伤作用,是否 PDCD5 蛋白也通过该通路促进顺铂对肺癌细胞的杀伤作用进而提高化疗药物的敏感性尚不清楚,还需进一步研究。

本研究显示患者的组织学分级均为中、低分化,无高分化。低分化组中 PDCD5 蛋白的表达低于中分化组。即患者的分化程度越低,其表达量越低,肿瘤的恶性程度越高,预后越差。这与张雪梅等^[12]的研究结果一致。进一步研究分析,有淋巴结转移的患者 PDCD5 蛋白的表达水平低于无淋巴结转移者。说明 PDCD5 蛋白的表达与淋巴结转移具有相关性,其表达水平越低,侵袭力越强,预后越差。在食管癌、肝癌等肿瘤的研究中,PDCD5 与淋巴结转移也具有一定的相关性,其具体机制尚不清楚,有待进一步研究。有报道^[13]显示在欧洲有吸烟史的人群中,程序性细胞死亡基因 5(PDCD5)与吸烟有关的肺癌发生率及预后具有关联性。本研究显示患者血清中 PDCD5 蛋白的表达水平与吸烟无关,分析原因可能由于种族、地域的差异。其与患者的性别、病理类型均无相关性,此与李海燕等^[14]的研究结果一致。

综上所述,PDCD5 可能为一种新的抑制肿瘤生长、促进细胞凋亡的基因,其表达水平可能影响肺癌患者对顺铂化疗药物的敏感性,提示可能为晚期 NSCLC 患者化疗疗效的预测因子之一,为化疗药物联合抗癌基因治疗的模式提供了新的方向。它与淋巴结转移、肿瘤的分化程度有关,表达降低提示为不良的预后因素,其具体作用机制还需要更为深入研究;其与是否吸烟、性别、病理类型无关,可能由于实验样本量有限,还需扩大样本量进一步研究其具体的相关性。

参考文献

[1] 郭其森. 非小细胞肺癌内科治疗的现状 [J]. 中华肿瘤防治杂志, 2009, 16(10): 721-5.
 [2] 崔焱, 齐大亮. 厄洛替尼耐药型肺癌治疗的现状与展望 [J]. 天津医药, 2012, 40(10): 93-6.
 [3] 马大龙. 新细胞因子及细胞凋亡基因的发现与功能研究 [J]. 北京大学学报(医学版), 2002, 34(5): 488-92.
 [4] Yin A, Jiang Y, Zhang X, et al. Transfection of PDCD5 sensitizes

- colorectal cancer cells to cisplatin-induced apoptosis in vitro and in vivo [J]. *Eur J Pharmacology*, 2010, 649(1-3): 120-6.
- [5] 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, 396(2): 224-30.
- [6] 赵俊, 胡向阳. EGFR 和 K-ras 在肺癌中的表达及其临床意义 [J]. *安徽医科大学学报*, 2012, 47(7): 824-7.
- [7] 郭妮娜, 刘竞. PDCD5 基因促进细胞凋亡机制的研究进展 [J]. *阴山学刊*, 2012, 26(1): 45-7.
- [8] Spinola M, Meyer P, Kammerer S, et al. Association of the PDCD5 locus with lung cancer risk and prognosis in smokers [J]. *J Clin Oncol*, 2006, 24(11): 1672-8.
- [9] 赵青, 张明川, 梅同华. 程序化死亡因子 5 基因表达与非小细胞肺癌患者对化疗药物敏感性的关系 [J]. *广东医学*, 2013, 34(15): 2331-3.
- [10] 刘磊玉, 赵彬佳惠, 秦炜, 等. 转染 PDCD5 基因促进顺铂诱导前列腺癌细胞的凋亡作用 [J]. *肿瘤防治研究*, 2012, 39(1): 32-5.
- [11] Li H S, Zhang X, Song X, et al. PDCD5 promotes cisplatin-induced apoptosis of glioma cells via activating mitochondrial apoptotic pathway [J]. *Cancer Biol Ther*, 2012, 13(9): 822-30.
- [12] 张雪梅, 滕林. PDCD5 与 Caspase-3 在人非小细胞肺癌中的表达 [J]. *现代肿瘤医学*, 2010, 18(8): 1533-6.
- [13] Nanba K, Toyooka S, Soh J, et al. The allelic distribution of a single nucleotide polymorphism in the PDCD5 gene locus of Japanese non-small cell lung cancer patients [J]. *Mole Med Rep*, 2008, 1(5): 667-71.
- [14] 李海燕, 刘红. PDCD5 与 P53 在非小细胞肺癌患者血清中的表达及意义 [J]. *中国老年学杂志*, 2014, 34(12): 3279-81.

The expression of PDCD5 in the serum of patients with advanced NSCLC and the correlation study of its sensitivity to chemotherapy drugs

Zhao Danning, Li Huanhuan, Lin Zhiyi, et al

(Dept of Oncology, The First Affiliated Hospital of Shihezi University Medical School, Shihezi 832002)

Abstract Objective To investigate the expression level of programmed cell death 5 (PDCD5) in advanced non-small cell lung cancer (NSCLC), and to explore the correlation study of its sensitivity to chemotherapy drugs.

Methods 40 advanced non-small cell lung cancer patients were collected and confirmed by pathological examination and designated them as lung cancer group. Another 20 persons whose physical examinations were healthy were collected as normal group. Patients in lung cancer group were given platinum drugs combined with other chemotherapy drugs. The chemotherapy cycle was 21 days and curative effect evaluation was made after 2 cycles of treatment. According to efficacy they were divided into effective group and ineffective group. ELISA was used to detect the serum PDCD5 concentration in lung cancer group and normal control group, and its relationship with curative effect and clinical significance was analysed. **Results** The serum PDCD5 protein level in the normal group was higher than the lung cancer group and the difference was statistically ($P < 0.05$). Before chemotherapy the serum PDCD5 protein concentration in effective chemotherapy group was higher than the ineffective group, and the difference was statistically ($P < 0.05$). After chemotherapy the PDCD5 protein level difference was dramatically increased between the effective group and the ineffective group, and the difference was statistically significant ($P < 0.01$). After chemotherapy effective group PDCD5 protein level was higher than before, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). After chemotherapy ineffective group PDCD5 protein level was lower than before, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). PDCD5 protein level was associated with lymph node metastasis and differentiated degree ($P < 0.05$). It was not correlated with gender, pathological type and smoking history ($P > 0.05$).

Conclusion PDCD5 protein level in serum of patients with advanced NSCLC is expected to be a predictor of chemosensitivity. The down-regulation of PDCD5 expression level may be associated with the occurrence of lung cancer and may be an adverse prognostic factor of Advanced NSCLC patients.

Key words programmed cell death 5; advanced NSCLC; platinum drugs; chemotherapy