

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2020.11.005

文章编号: 1005-8982 (2020) 11-0022-04

临床研究·论著

## MRN 复合体在口腔鳞状细胞癌中的表达及意义\*

林丹<sup>1</sup>, 王代友<sup>2</sup>

(广西医科大学附属口腔医院 1. 综合一门诊, 2. 口腔颌面外科, 广西 南宁 530021)

**摘要:** **目的** 分析 MRN 复合体的 MRE11、RAD50 和 NBS1 3 种蛋白表达与口腔鳞状细胞癌 (OSCC) 临床病理特征的关系。**方法** 选取 2016 年 1 月—2017 年 6 月广西医科大学附属口腔医院行 OSCC 根治术切除的癌组织标本作为观察组 (50 例), 癌旁组织及良性病变组织作为对照组 (50 例)。采用免疫组织化学 SP 法检测 MRE11、RAD50 和 NBS1 的表达。**结果** 观察组 MRE11、RAD50 和 NBS1 阳性表达率分别为 34%、38% 和 60%, 对照组分别为 56%、60% 和 32%, 两组比较, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 观察组 MRE11、RAD50 阳性表达率低于对照组, 观察组 NBS1 的阳性表达率高于对照组 ( $P < 0.05$ ); 观察组 NBS1 的表达率在 OSCC 不同组织学分型、淋巴结有无转移和临床分期中比较, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), NBS1 在低、中分化组的阳性表达率高于高分化组 ( $P < 0.05$ ), NBS1 在有淋巴结转移患者的阳性表达率高于无淋巴结转移者 ( $P < 0.05$ ), NBS1 在Ⅲ、Ⅳ期患者的阳性表达率高于Ⅰ、Ⅱ期患者; 观察组 MRE11 和 RAD50 的阳性表达率在 OSCC 不同分化程度和临床分期等临床特征中比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。**结论** MRE11、RAD50 和 NBS1 阳性表达率在 OSCC 组织中存在异常, NBS1 与 OSCC 的分化程度、淋巴结转移和临床分期有关。

**关键词:** 口腔鳞状细胞癌; MRN 复合体; 表达

**中图分类号:** R780.2

**文献标识码:** A

## Expression of MRN complex in oral squamous cell carcinoma\*

Dan Lin<sup>1</sup>, Dai-You Wang<sup>2</sup>

(1. Department of Comprehensive Clinic, 2. Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Collage of Stomatology, Guangxi Medical University, Nanning, Guangxi 530021, China)

**Abstract:** **Objective** To detect the expression of MRN complex in oral squamous cell carcinoma and analyze its correlation with the pathological features. **Methods** Fifty patients with oral cancer radical surgery at the Affiliated Stomatological Hospital of Guangxi Medical University (from January 2016 to June 2017) were enrolled as observation group, and the control group consisted of 50 cases of paracancerous or benign diseases. The expression of MRE11, RAD50 and NBS1 was detected by immunohistochemistry. **Results** The positive expression rates of MRE11, RAD50 and NBS1 in the observation group were 34%, 38% and 60%, respectively. The control group was 56%, 60% and 32% respectively. The difference between the two groups was statistically significantly ( $P < 0.05$ ). The positive rates of Mre11 and Rad50 in the observation group were lower than those in the control group, and the positive expression rate of NBS1 in the observation group was significantly higher than that in the control group ( $P < 0.05$ ). The positive expression rate of NBS1 in different OSCC tissue, lymphnode metastasis or not and clinical TNM stages was significantly different ( $P < 0.05$ ). The positive expression rate of NBS1 in low differentiation group and middle differentiation group was higher than that in high differentiation group ( $P < 0.05$ ); the positive expression

收稿日期: 2019-12-13

\* 基金项目: 国家自然科学基金 (No: 81560187); 广西教育厅科学技术研究项目 (No: LX038)

[通信作者] 王代友, E-mail: wangdaiyou@sina.com; Tel: 0771-5358295

rate of NBS1 in patients with lymph node metastasis was higher than that in patients without metastasis ( $P < 0.05$ ); the positive expression rate of NBS1 in clinical stage III and IV was higher than that in stage I and II ( $P < 0.05$ ). There was no significant difference between Mre11 and Rad50 in different OSCC and TNM stages ( $P > 0.05$ ).

**Conclusions** The positive expression rates of MRE11, RAD50 and NBS1 were different in OSCC and control tissues. NBS1 is related to the degree of OSCC differentiation, lymphnode metastasis and clinical TNM stage.

**Keywords:** oral squamous cell carcinoma; MRN complex; expression

口腔癌是一种常见的恶性肿瘤,其发病率约占全身恶性肿瘤的 3%。口腔鳞状细胞癌(oral squamous cell carcinoma, OSCC)占口腔癌的 90%,其病死率排世界癌症病死率的第 6 位<sup>[1]</sup>,早发现、早诊断、早治疗是提高 OSCC 患者疗效最有效的手段。目前针对 OSCC 的诊治,通过采用基因组学、蛋白质组学等分子生物学技术筛选出了大量生物标志物,已经有上市的以生物标志物的为靶点的靶向治疗药物,以及潜在作为治疗靶点的生物标志物研究方兴未艾<sup>[2]</sup>。

MRN 复合体包括 MRE11、RAD50、NBS1 3 种蛋白质,其在 DNA 复制、细胞周期调控、DNA 损伤信号感应、维持基因组稳定等过程中有关键的作用。近来研究证实:MRN 复合体与肿瘤的恶性生物学行为有关<sup>[3]</sup>,可能参与肿瘤的发生、发展,甚至与放射治疗的反应性有关<sup>[4]</sup>。作为 OSCC 潜在生物标志物,目前研究主要集中在抑制 MRN 对肿瘤细胞放射敏感性的影响上<sup>[5]</sup>。但 MRN 复合体的 MRE11、RAD50、NBS1 3 种蛋白质在 OSCC 中的表达未见系统报道。本实验主要研究 MRN 复合体各亚基单位与 OSCC 临床病理特征的关系,进而为 OSCC 的治疗提供参考。

## 1 资料与方法

### 1.1 临床资料

选取 2016 年 1 月—2017 年 6 月广西医科大学附属口腔医院住院治疗的 OSCC 患者 50 例为观察组。所有患者行手术治疗,并经常规病理切片确诊,术前未接受放化疗。获取患者临床资料,包括年龄、性别、民族、家族病史、治疗用药情况、病理分级和转移情况。其中,男性 28 例,女性 22 例;年龄 38 ~ 67 岁,平均  $(58.8 \pm 6.7)$  岁;另选择 50 例同期本院口腔疾病患者作为对照组,其组织来源于术中距离肿瘤边缘  $>2$  cm 的口腔黏膜组织,以及因良性疾病(口腔扁平苔藓、口腔白斑病、口腔溃疡、盘状红斑)行病理检查的口腔黏膜组织。其中,男性 26 例,女性 24 例;平均年龄  $(57.4 \pm 7.5)$  岁。两组的性别构成比、年龄比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。本研究经医院

医学伦理委员会批准,所有受试对象签署知情同意书。

### 1.2 研究方法

采用免疫组织化学 SP 法检测组织中 MRE11、RAD50、NBS1 3 种蛋白的表达。严格按照试剂盒配套说明书进行操作,经脱蜡-修复(兔抗人 MRE11、RAD50、NBS1 多克隆抗体购自北京博奥森生物技术有限公司),阴性对照使用 PBS 缓冲液。结果判定采用双评分半定量法评价<sup>[6]</sup>,分为着色强度评分(0 分:未着色,1 分:淡黄色,2 分:棕黄色,3 分:棕褐色)和染色评分[400 倍显微镜下随机选取 5 个视野,计数阳性细胞所占比例(阳性率)。1 分: $\leq 25\%$ , 2 分: $> 25\% \sim 50\%$ , 3 分: $> 50\% \sim 75\%$ , 4 分: $> 75\% \sim 100\%$ ],最终评分取着色强度评分  $\times$  染色评分, $\geq 6$  分为阳性, $< 6$  分为阴性。

### 1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 22.0 统计软件,计量资料以均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,比较用  $t$  检验;计数资料以例(%)表示,比较用  $\chi^2$  检验, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 MRE11、RAD50 及 NBS1 免疫组织化学染色结果

MRE11、RAD50 和 NBS1 阳性表达呈棕黄色,主要位于细胞核内,部分位于胞浆,在正常黏膜组织中呈弱阳性反应。见图 1。

### 2.2 两组 MRE11、RAD50 及 NBS1 表达比较

两组 MRE11、RAD50 及 NBS1 阳性表达率比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),观察组 MRE11、RAD50 阳性表达率低于对照组;观察组 NBS1 阳性表达率高于对照组。见表 1。

### 2.3 MRE11、RAD50 和 NBS1 的表达与 OSCC 患者临床病理特征的关系

观察组 NBS1 的阳性表达率在不同 OSCC 的组织分型、有无淋巴结转移和临床分期中比较,差异有统

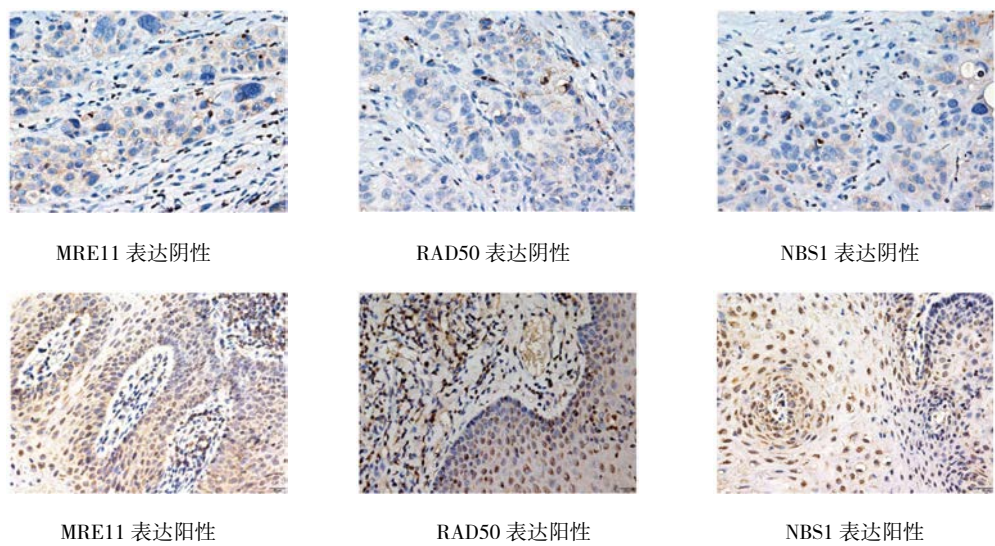


图 1 MRE11、RAD50、NBS1 在组织中的表达 (SP 法 × 400)

表 1 两组患者 MRE11、RAD50 及 NBS1 阳性表达率的比较 [n = 50, 例 (%) ]

| 组别         | MRE11       | RAD50       | NBS1        |
|------------|-------------|-------------|-------------|
| 对照组        | 28 ( 56.0 ) | 30 ( 60.0 ) | 16 ( 32.0 ) |
| 观察组        | 17 ( 34.0 ) | 19 ( 38.0 ) | 30 ( 60.0 ) |
| $\chi^2$ 值 | 4.889       | 4.842       | 7.890       |
| P 值        | 0.027       | 0.028       | 0.005       |

计学意义 ( $P < 0.05$ )。NBS1 在低分化组 (76.2%)、中分化组 (64.7%) 的阳性表达率高于高分化组 (25.0%) ( $P < 0.05$ ) ; NBS1 在有淋巴结转移患者的阳性表达率高于无淋巴结转移患者 ( $P < 0.05$ )。NBS1 在Ⅲ、Ⅳ期 (81.8%) 的患者的阳性表达率高于Ⅰ、Ⅱ期患者 (42.9%) ( $P < 0.05$ )。MRE11 和 RAD50 的阳性表达率在性别、年龄、分化程度、临床分期、肿瘤大小及淋巴结转移间比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 2。

表 2 观察组不同临床特征间 MRE11、RAD50 和 NBS1 的阳性表达率比较 例 (%)

| 临床特征     | <i>n</i> | MRE11       | χ <sup>2</sup> 值 | <i>P</i> 值 | RAD50       | χ <sup>2</sup> 值 | <i>P</i> 值 | NBS1        | χ <sup>2</sup> 值 | <i>P</i> 值 |
|----------|----------|-------------|------------------|------------|-------------|------------------|------------|-------------|------------------|------------|
| 性别       |          |             |                  |            |             |                  |            |             |                  |            |
| 男        | 28       | 10 ( 35.7 ) | 0.083            | 0.773      | 11 ( 39.3 ) | 0.045            | 0.833      | 16 ( 57.1 ) | 0.216            | 0.642      |
| 女        | 22       | 7 ( 31.8 )  |                  |            | 8 ( 36.4 )  |                  |            | 14 ( 63.6 ) |                  |            |
| 年龄       |          |             |                  |            |             |                  |            |             |                  |            |
| <60 岁    | 29       | 11 ( 37.9 ) | 0.112            | 0.738      | 9 ( 31.0 )  | 1.422            | 0.233      | 15 ( 51.7 ) | 1.970            | 0.160      |
| ≥ 60 岁   | 21       | 7 ( 33.3 )  |                  |            | 10 ( 47.6 ) |                  |            | 15 ( 71.4 ) |                  |            |
| 分化程度     |          |             |                  |            |             |                  |            |             |                  |            |
| 低        | 21       | 8 ( 38.1 )  | 0.319            | 0.853      | 7 ( 33.3 )  | 0.897            | 0.639      | 16 ( 76.2 ) | 6.221            | 0.045      |
| 中        | 17       | 5 ( 29.4 )  |                  |            | 8 ( 47.1 )  |                  |            | 11 ( 64.7 ) |                  |            |
| 高        | 12       | 4 ( 33.3 )  |                  |            | 4 ( 33.3 )  |                  |            | 3 ( 25.0 )  |                  |            |
| 临床分期     |          |             |                  |            |             |                  |            |             |                  |            |
| I 、 II   | 28       | 10 ( 35.7 ) | 0.083            | 0.773      | 12 ( 42.9 ) | 0.637            | 0.425      | 12 ( 42.9 ) | 7.792            | 0.005      |
| III 、 IV | 22       | 7 ( 31.8 )  |                  |            | 7 ( 31.8 )  |                  |            | 18 ( 81.8 ) |                  |            |

续表 2

| 临床特征                           | <i>n</i> | MRE11       | χ <sup>2</sup> 值 | <i>P</i> 值 | RAD50       | χ <sup>2</sup> 值 | <i>P</i> 值 | NBS1        | χ <sup>2</sup> 值 | <i>P</i> 值 |
|--------------------------------|----------|-------------|------------------|------------|-------------|------------------|------------|-------------|------------------|------------|
| 肿瘤大小                           |          |             |                  |            |             |                  |            |             |                  |            |
| T <sub>1</sub> 、T <sub>2</sub> | 41       | 13 ( 31.7 ) | 0.534            | 0.465      | 17 ( 41.5 ) | 1.160            | 0.282      | 24 ( 58.5 ) | 0.203            | 0.652      |
| T <sub>3</sub> 、T <sub>4</sub> | 9        | 4 ( 44.4 )  |                  |            | 2 ( 22.2 )  |                  |            | 6 ( 66.7 )  |                  |            |
| 淋巴结转移                          |          |             |                  |            |             |                  |            |             |                  |            |
| 无转移                            | 29       | 11 ( 37.9 ) | 0.475            | 0.490      | 13 ( 44.8 ) | 1.366            | 0.242      | 12 ( 41.4 ) | 9.975            | 0.002      |
| 转移                             | 21       | 6 ( 28.6 )  |                  |            | 6 ( 28.6 )  |                  |            | 18 ( 85.7 ) |                  |            |

3 讨论

有研究表明 NBS1 蛋白水平的降低和升高均可引起癌变<sup>[7]</sup>。在肿瘤患者中, NBS1 的 70 kD C 端片段的数量与癌症发生相关, 与 70 kD NBS1 表达水平高的患者比较, 70 kD NBS1 表达水平低的患者 C 端片段的数量增加, 并且类淋巴母细胞系易发展成癌细胞<sup>[8]</sup>。一项研究筛选 29 例非小细胞肺癌, 13 例肝细胞癌和 18 例非小细胞肺癌及 10 个食管癌样品, 显示 NBS1 的表达与相应的正常组织比较升高<sup>[9]</sup>。NBS1 在某些类型肿瘤中的过度表达是晚期恶性肿瘤预后差的标志物。在高 NBS1 表达患者标本中观察到细胞质染色随着 NBS1 水平的升高而加深<sup>[10]</sup>。本研究在 OSCC 中检测到 NBS1 阳性表达率高于对照组, 也提示 NBS1 可能与肿瘤的发生有关。且发现 NBS1 的阳性表达率与肿瘤的临床分期、淋巴结转移和分化程度有关, 表明 NBS1 的表达可能与较差的临床预后有关。

与 NBS1 相反, RAD50 过表达导致肿瘤细胞坏死和凋亡。研究结果显示, 有 RAD50 基因表达的肿瘤血管更少, 因此 RAD50 被认为是抑制肿瘤生长的重要靶点<sup>[11]</sup>。而 MRE11 在肿瘤细胞中的表达研究较少, 但与 RAD50 类似, MRE11 在肿瘤中(卵巢癌)的表达较正常组织减少<sup>[12]</sup>。本研究发现, 在 OSCC 中 RAD50 与 MRE11 阳性表达率低于对照组, 提示 RAD50 与 MRE11 可能对 OSCC 的发生起抑制作用。但本研究未发现 RAD50 与 MRE11 表达与肿瘤临床分期及分化程度等临床特征有关。

综上所述, MRE11、RAD50 和 NBS1 表达在 OSCC 组织中存在异常。NBS1 与 OSCC 分化程度、淋巴结转移和临床分期有关。

参 考 文 献:

[1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2017[J].

CA Cancer J Clin, 2017, 67(1): 7-30.

[2] 钟来平, 据梧桐. 生物标志物在口腔鳞癌治疗中的转化研究进展 [J]. 口腔疾病防治, 2018, 26(10): 621-626.

[3] BRANDT S, SAMARTZIS E P, ZIMMERMANN A K, et al. Lack of MRE11-RAD50-NBS1 (MRN) complex detection occurs frequently in low-grade epithelial ovarian cancer[J]. BMC Cancer, 2017, 17(1): 44.

[4] 王庆, 黄铄, 董洁, 等. 抑制 MRN 复合体功能对喉鳞状细胞癌放射敏感性的影响 [J]. 武汉大学学报 (医学版), 2017, 38(3): 413-416.

[5] HO V, CHUNG L, SINGH A, et al. Overexpression of the MRE11-RAD50-NBS1 (MRN) complex in rectal cancer correlates with poor response to neoadjuvant radiotherapy and prognosis[J]. BMC Cancer, 2018, 18(1): 869.

[6] 王文辉, 齐元玲, 徐谦. 肿瘤转移抑制基因 KISS-1 蛋白、基质金属蛋白酶-2 和血管内皮生长因子在结肠癌组织中的表达及临床意义 [J]. 中华流行病学杂志, 2016, 37(3): 415-417.

[7] DZIKIEWICZ-KRAWCZYK A. The importance of making ends meet: mutations in genes and altered expression of proteins of the MRN complex and cancer[J]. Mutat Res, 2008, 659(3): 262-273.

[8] KRÜGER L, DEMUTH I, NEITZEL H, et al. Cancer incidence in Nijmegen breakage syndrome is modulated by the amount of a variant NBS protein[J]. Carcinogenesis, 2007, 28(1): 107-111.

[9] CHEN Y C, SU Y N, CHOU P C, et al. Overexpression of NBS1 contributes to transformation through the activation of phosphatidylinositol 3-kinase/Akt[J]. J Biol Chem, 2005, 280(37): 32505-32511.

[10] YANG M H, CHIANG W C, CHOU T Y, et al. Increased NBS1 expression is a marker of aggressive head and neck cancer and overexpression of NBS1 contributes to transformation[J]. Clin Cancer Res, 2006, 12(2): 507-515.

[11] SHIN B A, AHN K Y, KOOK H, et al. Overexpressed human RAD50 exhibits cell death in a p21WAF1/CIP1- dependent manner: its potential utility in local gene therapy of tumor[J]. Cell Growth Differ, 2001, 12(5): 243-254.

[12] ALI FEHMI R, CHATTERJEE M, IONAN A, et al. Analysis of the expression of human tumor antigens in ovarian cancer tissues[J]. Cancer Biomark, 2010, 6(1): 33-48.

(王荣兵 编辑)

本文引用格式: 林丹, 王代友. MRN 复合体在口腔鳞状细胞癌中的表达及意义 [J]. 中国现代医学杂志, 2020, 30(11): 22-25.