

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2016.16.010

文章编号: 1005-8982(2016)16-0049-03

论著

程序性细胞死亡因子 4 在甲状腺乳头状癌组织中的表达及意义*

谢茂云, 黄耀, 彭家桃, 王新根, 余利娃
(广东医学院附属福田医院, 广东 深圳 518033)

摘要: **目的** 研究程序性细胞死亡因子 4(PDCD4)蛋白在甲状腺乳头状癌组织中的表达及临床意义。**方法** 应用免疫组织化学 SP 法检测 PDCD4 蛋白在 62 例甲状腺乳头状癌、20 例癌旁正常组织及 28 例甲状腺良性肿瘤中的阳性表达,并结合临床资料进行统计学分析。**结果** 甲状腺乳头状癌组织中 PDCD4 蛋白的阳性表达率明显低于癌旁正常组织及甲状腺良性肿瘤($P < 0.05$)。随着 PDCD4 表达水平的降低,甲状腺乳头状癌恶性程度可能也随之增加($P < 0.05$)。PDCD4 蛋白表达与甲状腺乳头状癌淋巴结转移有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** PDCD4 蛋白在甲状腺乳头状癌中低表达,与甲状腺乳头状癌的发生发展有密切联系。

关键词: 甲状腺乳头状癌;程序性细胞死亡因子 4;免疫组织化学

中图分类号: R736.1

文献标识码: A

Expression and significance of PDCD4 in thyroid papillary cancer (TPC)*

Mao-yun Xie, Yao Huang, Jia-tao Peng, Xin-gen Wang, Li-wa Yu
(Affiliated Futian Hospital of Guangdong Medical College, Shenzhen
Guangdong 518033, China)

Abstract: **Objective** To investigate the expression and significance of PDCD4 in thyroid papillary cancer (TPC). **Methods** PDCD4 immunohistochemical expression was investigated in 62 cases of TPC, 20 cases of paracarcinomatous normal tissue and 28 cases of benign thyroid tumor. Their relationship with clinical data was analyzed. **Result** The positive rate of PDCD4 protein was significantly lower in TPC than that in paracarcinomatous normal tissue and benign thyroid tumor ($P < 0.05$). And with the decreasing of PDCD4 protein expression level, the malignant degree of TPC increased, which had statistically significant difference among groups ($P < 0.05$). But the expression of PDCD4 protein had no relationship to lymph node metastasis ($P > 0.05$). **Conclusions** The down-regulated expression of PDCD4 protein is correlated with the pathogenesis and development in TPC.

Keywords: thyroid papillary cancer; PDCD4; immunohistochemistry

程序性细胞死亡因子 4(programmed cell death 4, PDCD4)是新近发现的与细胞凋亡相关的基因,已被证实为是一种肿瘤抑制基因。已有不少研究表明, PDCD4 在肾癌、前列腺癌、肝细胞癌、胃癌、口腔唾液腺癌、卵巢癌等人类恶性肿瘤中表达低下或缺失^[1-5],但有关 PDCD4 在甲状腺癌组织中的表达研

究在国内尚未见报道。甲状腺癌多起病隐匿,常以无痛性甲状腺结节为最初临床表现,具体机制不是十分明确,本研究利用免疫组织化学法,探讨 PDCD4 在甲状腺乳头状癌发生发展中的可能机制以及与肿瘤临床病理分期、淋巴结转移的关系,检测 PDCD4 在甲状腺乳头状癌的表达并探讨其临床意义。

收稿日期:2016-01-28

* 基金项目:深圳福田区公益性科研项目(No:FTWS2014010)

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2012 年 5 月 -2015 年 7 月于广东医学院附属福田医院甲乳外科收治的住院患者。经病理诊断明确为甲状腺乳头状癌 62 例,作为甲状腺乳头状癌组(有淋巴结转移者 21 例,无淋巴结转移者 41 例),20 例癌旁正常组织及 28 例甲状腺良性肿瘤作为对照组。所有患者术前都未作放疗、化疗及其他针对肿瘤的治疗。

1.2 主要试剂及仪器

鼠抗人 PDCD4 抗体(美国 Ray Biotech 公司),SP 免疫组织化学试剂盒及 DAB 显色试剂盒(福州迈新生物技术开发有限公司)。

1.3 免疫组织化学法检测 PDCD4 的阳性表达

免疫组织化学主要步骤参照免疫组织化学 SP 检测试剂盒说明书进行操作,主要操作步骤为:标本用 10% 甲醛固定,脱水,石蜡包埋,5 μ m 石蜡连续切片,切片厚度 2 μ m,二甲苯脱蜡,梯度酒精水化,抗原修复,血清封闭,一抗稀释至 1:200,滴加一抗,体积分数 1% 过氧化氢 H_2O_2 封闭内源性过氧化物酶,滴加二抗及链霉亲和素-过氧化物酶复合物,DAB 显色,苏木精复染。

1.4 PDCD4 阳性表达判定标准

PDCD4 主要在核周、细胞浆阳性表达,以棕黄色或黄褐色颗粒为阳性细胞,在高倍视野下($\times 100$),选取 5 个不重复阳性视野进行计数,根据染色强度和阳性细胞所占百分比进行评分判定。①按染色强弱:阴性为 0 分,染色弱但明显强于阴性对照者为 1 分,染色较强者为 2 分;染色强者为 3 分。②阳性细胞比例:阳性细胞比例 $\leq 10\%$ 为 1 分,11%~30%为 2 分,31%~60%为 3 分,>60%为 4 分;上述两种分值相加 ≥ 3 分为阳性。

1.5 统计学方法

采用 SPSS 17.0 统计软件进行数据分析,PDCD4 各组间阳性表达率用 χ^2 检验(必要时采用校正 χ^2 检验或 Fisher 精确检验), $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PDCD4 蛋白在不同组织中的表达率

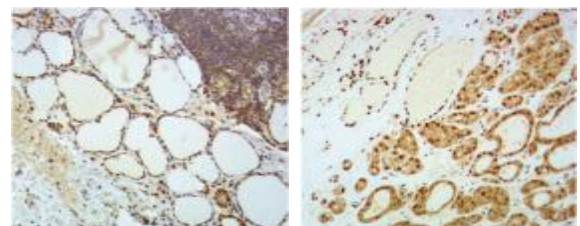
在癌旁正常组织及甲状腺良性肿瘤中 PDCD4 阳性颗粒以核周、细胞浆表达为主,呈棕黄色或黄褐色颗粒(见图 1,A 为癌旁正常组织,B 为甲状腺腺瘤),在甲状腺乳头状癌组织中 PDCD4 阳性颗粒表

达以细胞浆为主(见图 2,A 为 PDCD4 阳性表达,B 为阴性表达)。PDCD4 在甲状腺乳头状癌组织中的阳性表达率为 27.4%(17/62),在癌旁正常组织及甲状腺良性肿瘤中的阳性表达率分别为 100.0%(20/20)、89.3%(25/28),组间比较差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。

2.2 PDCD4 蛋白表达与甲状腺乳头状癌恶性程度及淋巴结转移的关系

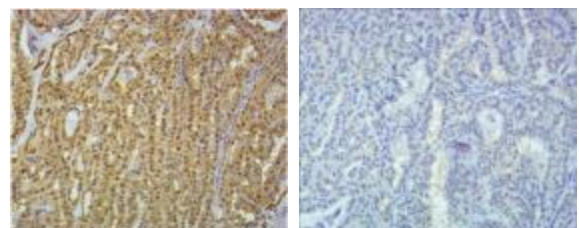
PDCD4 的阳性表达率随甲状腺乳头状癌临床病理分期的增高而降低,I、II 期的癌组织 PDCD4 阳性表达率高于 III、IV 期的癌组织,组间比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。淋巴结转移组的 PDCD4 阳性表达率低于无淋巴结转移组,组间比较差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 2。

3 组间比较差异有统计学意义, $P < 0.05$ 。其中甲状腺乳头状癌与癌旁正常组织比较, $\chi^2 = 32.171$, $P = 0.000$;甲状腺乳头状癌与甲状腺良性肿瘤相比较, $\chi^2 = 29.663$, $P = 0.000$ 。



A: 癌旁正常组织; B: 甲状腺腺瘤

图 1 癌旁正常组织及甲状腺良性肿瘤中 PDCD4 蛋白表达 (SP $\times 100$)



A: 阳性表达; B: 阴性表达

图 2 甲状腺乳头状癌组织中 PDCD4 蛋白表达 (SP $\times 100$)

表 1 PDCD4 蛋白在不同组织中的表达率

组别	PDCD4 例(%)		χ^2 值	P 值
	+	-		
癌旁正常组织($n=20$)	20(100.0)	0(0.0)		
甲状腺良性肿瘤($n=28$)	25(89.3)	3(10.7)	48.942	0.000
甲状腺乳头状癌($n=62$)	17(27.4)	45(72.6)		

表 2 PDCD4 蛋白表达与甲状腺乳头状癌恶性程度及淋巴结转移的关系

临床病理学参数	PDCD4 例(%)		χ^2 值	P 值
	+	-		
临床病理分期				
I、II 期(<i>n</i> =46)	16(34.8)	30(65.2)	4.856	0.027
III、IV 期(<i>n</i> =16)	1(6.3)	15(93.7)		
淋巴结转移				
有(<i>n</i> =21)	2(9.5)	19(90.5)	5.110	0.024
无(<i>n</i> =41)	15(36.6)	26(63.4)		

3 讨论

甲状腺癌是最常见的内分泌肿瘤,近年来发病率呈逐年上升的趋势,而甲状腺癌中以甲状腺乳头状癌为最多见。早期容易出现区域淋巴结转移,晚期可发生远处转移,其分化程度越差,恶性程度越高。虽然甲状腺癌的治疗取得了长足的进展,尤其是在外科治疗方面的发展取得较好的效果。但仍有少部分患者出现术后癌灶复发和转移情况,临床上对甲状腺癌的发病机制尚不十分明确,关于甲状腺癌的发病原因至今仍未完全探明,目前认为其为环境因素和个体遗传因素共同作用的结果。

PDCD4 是一种新的肿瘤抑制因子,PDCD4 的蛋白序列编码 469 个氨基酸,在蛋白序列的 164-275 区和 329-440 区两个区域各含有一个保守的 α 螺旋结构区—MA3。MA3 同样也存在于真核翻译起始因子 eIF4G I 和 eIF4G II 中,因此 PDCD4 可以通过 MA3 的结构域竞争性的结合到 eIF4A 上。eIF4A 是一种依赖 ATP 的 RNA 解旋酶,其能够展开 mRNA,使核糖体移行到 3' 位,定位到启动密码子 AUG 上,从而启动基因的翻译。PDCD4 通过阻止 eIF4A 和 eIF4G 的结合来抑制解螺旋酶活性,从而抑制翻译的进行^[6-7]。也有研究发现 PDCD4 本身可以抑制自噬的发生,通过对 LPS 诱导自噬的几个通路进行分析,进一步探索发现 LPS 可以诱导磷酸化 P38 MAPK 的表达,并且在 PDCD4^{-/-} 小鼠的巨噬细胞中,这种诱导作用更加明显,磷酸化 P38 MAPK 的表达明显高于 c57 小鼠,因此 P38 MAPK 通路可能是 PDCD4 调控自噬发生的主要通路。

本研究结果表明,PDCD4 蛋白在癌旁正常组织全部阳性表达,在甲状腺良性肿瘤绝大多数呈阳性表达,而在甲状腺乳头状癌中的表达明显降低甚至缺失,并随着癌组织临床病理分期越差,PDCD4 表

达程度越低。这提示 PDCD4 可能与甲状腺乳头状癌的发生、发展与恶性程度密切相关。可能是因为 PDCD4 的表达下调,失去对真核翻译起始因子的抑制从而发挥类似癌基因的作用,同时低表达的 PDCD4 丧失其抑制癌细胞生长及抑制自噬发生的作用。有研究表明 PDCD4 可以作为结直肠癌新辅助化疗疗效及判断预后的客观指标^[8]。对于肾癌、卵巢癌、乳腺癌患者,PDCD4 缺失提示组织学分级较低,并且容易发生远处和淋巴结转移,可作为评估预后的一个指标^[1,4,9]。结合本研究结果,PDCD4 也可能成为甲状腺乳头状癌恶性程度、淋巴结转移及预后判断的一个因子。随着研究不断深入,PDCD4 靶基因治疗或许也会成为甲状腺乳头状癌患者一个新的治疗途径。

参 考 文 献:

[1] LI X, XIN S, YANG D, et al. Down regulation of PDCD4 expression is an independent predictor of poor prognosis in human renal cell carcinoma patients[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2012, 138(3): 529.

[2] CAO Z, YOON J H, NAM S W, et al. PDCD4 expression inversely correlated with miR-21 levels in gastric cancers[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2012, 138(4): 611.

[3] JIANG L H, GE M H, HOU X X, et al. miR-21 regulates tumor progression through the miR-21-PDCD4-Stat3 pathway in human salivary adenoid cystic carcinoma[J]. Lab Invest, 2015, 95(12): 1398-1408.

[4] WANG Y Q, GUO R D, GUO R M, et al. MicroRNA-182 promotes cell growth, invasion, and chemoresistance by targeting programmed cell death 4 (PDCD4) in human ovarian carcinomas[J]. J Cell Biochem, 2013, 114(7): 1464-1473.

[5] QIU X, DONG S, QIAO F, et al. HBx-mediated miR-21 upregulation represses tumor-suppressor function of PDCD4 in hepatocellular carcinoma[J]. Oncogene, 2013, 32: 3296-3305.

[6] DENNIS M D, JEFFERSON L S, KIMBALL S R, et al. Role of p70S6K1-mediated phosphorylation of eIF4B and PDCD4 proteins in the regulation of protein synthesis[J]. J Biol Chem, 2012, 287(51): 890-899.

[7] WATERS L C, STRONG S L, FERLEMANN E, et al. Structure of the tandem MA-3 region of Pdc4 protein and characterization of its interactions with eIF4A and eIF4G: molecular mechanisms of a tumor suppressor[J]. J Biol Chem, 2011, 286(19): 270-280.

[8] XUE D, REN B W, XIANG J M, et al. PDCD4 as a predictor of sensitivity to neoadjuvant chemoradiotherapy in locally advanced rectal cancer patients[J]. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 2014, 15(2): 825-830.

[9] 唐炜, 叶熹罡, 高进, 等. miR21 及 PDCD4 在乳腺癌的表达及预后的关系[J]. 广州医学院学报, 2013, 41(2): 33-37.

(张蕾 编辑)