

• 论 著 •

X 连锁凋亡抑制蛋白表达水平对颅内肿瘤切除术预后状况的影响^{*}

杨 彪, 李柏成, 张正保, 张 彪, 覃 川[△]

(重庆医科大学附属第一医院大足医院神经外科, 重庆 402360)

摘要:目的 探讨 X 连锁凋亡抑制蛋白(XIAP)表达水平对颅内肿瘤切除术预后状况的影响。方法 选取于该院行颅内肿瘤切除术的颅内肿瘤患者 69 例为研究对象;随访患者 2 年,依据生存时间的不同将患者分为 ≤ 2 年生存时间组(短生存时间组)和 > 2 年生存时间组(长生存时间组);采用酶联免疫吸附试验、蛋白免疫印迹(Western Blot)分别测定和比较 2 组患者血清、肿瘤和癌旁组织中 XIAP 的表达水平。结果 短生存时间组患者血清中 XIAP 水平为 (82.56 ± 16.76) ng/L,显著高于长生存时间组的 (46.21 ± 8.59) ng/L,差异有统计学意义($P < 0.05$);长生存时间组患者肿瘤组织中 XIAP 蛋白表达水平显著低于短生存时间组,差异有统计学意义($P < 0.05$);2 组患者 XIAP 蛋白表达水平均显著高于癌旁组织,差异有统计学意义($P < 0.05$);2 组患者癌旁组织 XIAP 蛋白表达水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);2 组患者 XIAP 水平在不同性别、年龄、肿瘤类型之间比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$);肿瘤直径 > 5 cm 者的 XIAP 水平均高于 ≤ 5 cm 者,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 XIAP 表达水平越低的患者,颅内肿瘤切除术预后越好,患者生存时间越长。

关键词: X 连锁凋亡抑制蛋白; 颅内肿瘤切除术; 预后

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2017.08.008 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-9455(2017)08-1065-04

Effect of X-linked inhibitor of apoptosis protein expression level on prognosis after resection operation in patients with intracranial tumor^{*}

YANG Biao, LI Baicheng, ZHANG Zhengbao, ZHANG Biao, QIN Chuan[△]

(Department of Neurosurgery, Dazu Hospital of First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 402360, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effect of X-linked inhibitor of apoptosis protein(XIAP) expression on the prognosis after resection operation in the patients with intracranial tumor. **Methods** Sixty-nine cases of intracranial tumor treated with tumor resection in our hospital were selected as the research subjects; the patients were followed up for 2 years and divided into the survival time less than 2 years group(short survival time group) and survival time more than 2 years group(long survival time group) according to the survival time; the expression of XIAP in serum, tumor and adjacent tissues were measured by using enzyme-linked immunosorbent assay and Western blot and compared between the two groups. **Results** The serum XIAP level in the short survival time group was (82.56 ± 16.76) ng/L, which was significantly higher than (46.21 ± 8.59) ng/L in the long survival time group, the difference was statistically significant($P < 0.05$); the XIAP protein expression level of tumor tissue in the long survival time group was significantly lower than that in the short survival time group, the difference was statistically significant($P < 0.05$); moreover, the XIAP protein expressions level in the two groups was significantly higher than that in the adjacent tissues, the difference was statistically significant($P < 0.05$); there was no statistically significant difference in the XIAP protein expression of the adjacent tissues between the two groups($P > 0.05$); no statistically significant difference was observed in the XIAP level among different genders, ages and tumor types, the difference was statistically significant($P > 0.05$); however, the XIAP level in the patients with the tumor diameter more than 5 cm was higher than that in the patients with tumor diameter less than 5 cm ($P < 0.05$). **Conclusion** The lower the level of XIAP expression, the better the prognosis in the patients treated with intracranial tumor resection, and the longer the survival time of patients.

Key words: X-linked inhibitor of apoptosis protein; intracranial tumor resection; prognosis

颅内肿瘤是神经系统常见疾病之一,多发于中枢组织、脑膜和垂体等部位,发病率、病死率和致残率均较高,严重威胁人类生命健康^[1]。目前,颅内肿瘤的病因仍未清楚,治疗手段主要以手术为主,但却极易引发神经系统功能的再次损伤,造成疾病预后不良^[2]。X 连锁凋亡抑制蛋白(XIAP)是一种具有调节肿瘤细胞凋亡功能的蛋白,与肿瘤的发生、发展和预后均密切相关^[3-4]。然而, XIAP 是否与颅内肿瘤切除术的预后有关目前尚不清楚,且罕见报道。本研究拟以本院行颅内肿瘤切除术

的颅内肿瘤患者 69 例为研究对象,探讨 XIAP 对颅内肿瘤切除术预后的影响。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2012 年 3 月至 2014 年 7 月本院神经外科行颅内肿瘤切除术的颅内肿瘤患者 69 例为研究对象;其中男 41 例,女 28 例;年龄 41~70 岁,平均年龄 (53.56 ± 7.24) 岁。纳入标准:(1)首次确诊颅内肿瘤,有显著的神经系统阳性体征;(2)Karnofsky 评分 ≥ 70 分;(3)既往无肿瘤史,预计生存

^{*} 基金项目:重庆市卫生与计划生育委员会科研资助项目(2016MSXM17)。

作者简介:杨彪,男,医师,主要从事颅内肿瘤方面的研究。 [△] 通信作者, E-mail: 67581363@qq.com。

时间>1 年,且符合颅内肿瘤切除术指征;(4)未远处转移,心肺功能、肝肾功能检查未发现显著异常,且无手术禁忌证。研究方案经医院伦理委员会批准,所有患者及家属均签署知情同意书。随访患者 2 年,随访时间截止至 2016 年 8 月 31 日;依

据生存时间的不同将患者分为≤2 年生存时间组(短生存时间组)和>2 年生存时间组(长生存时间组);其中,短生存时间组 42 例,长生存时间组 27 例,2 组患者一般临床资料,见表 1。

表 1 2 组患者一般临床资料比较

组别	n	年龄 ($\bar{x}\pm s$,岁)	男性比例 [n(%)]	平均肿瘤直径 ($\bar{x}\pm s$,cm)	肿瘤类型(n)			
					胶质瘤	脑膜瘤	垂体腺瘤	良性肿瘤
短生存时间组	48	52.56±7.14	27(56.25)	4.89±1.30	22	17	7	2
长生存时间组	27	54.11±7.76	14(51.85)	6.02±1.87	16	8	3	1
t/ χ^2		1.492	0.135	2.049		0.921		
P		0.135	0.713	0.072		0.820		

1.2 样本收集 分别于颅内肿瘤切除术中收集新鲜肿瘤组织和癌旁 3 cm 以内正常脑组织;并在术后 24 h 内采集患者静脉血液 5 mL;均置于灭菌灭酶冻存管中保存于液氮内,用于酶联免疫吸附试验(ELISA)和蛋白免疫印迹(Western Blot)检测。

1.3 ELISA 取患者血液标本,置于 4 ℃低温离心机中 3 000 r/min 离心 10 min,将上清用于 ELISA 测定。XIAP 检测试剂盒购于美国 Ambion 公司,操作过程由专业检验技术人员严格按照试剂说明书执行。

1.4 Western Blot 法 将患者肿瘤和癌旁组织充分研磨裂解后,提取组织总蛋白,同时应用 BCA 法进行蛋白水平测定。蛋白煮沸变性后,每孔上样 50 μg,采用 SDS-PAGE 电泳法分离蛋白,分离胶电压 80 V,浓缩胶电压 100 V。切胶后,在 200 mA 条件下恒电流转膜至聚偏氟乙烯(PVDF)膜,脱脂奶粉封闭 2 h,4 ℃孵育 XIAP(1∶150,北京博奥森生物技术有限公司,货号 sc-55550)和 β-actin(1∶2 000,北京博奥森生物技术有限公司,货号 bs-0061R)一抗过夜。次日,将 PVDF 膜漂洗,辣根过氧化物酶标记的二抗孵育 1 h,ECL 化学发光后置于凝胶成像仪中成像,Quantity one 软件对蛋白表达定量,并用 β-actin 予以校正。

1.5 统计学处理 采用 SPSS18.0 软件进行数据整理和分析;计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用 Student-t 检验;计数资料以例数或率表示,组间比较采用 χ^2 检验;以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 2 组患者血清标本中 XIAP 水平比较 短生存时间组患

者血清中 XIAP 水平为(82.56±16.76)ng/L,显著高于长生存时间组的(46.21±8.59)ng/L,差异有统计学意义($t=8.136$, $P<0.05$)。

2.2 2 组患者肿瘤和癌旁组织中 XIAP 蛋白表达水平比较 长生存时间组患者肿瘤组织中 XIAP 蛋白表达水平显著低于短生存时间组,差异有统计学意义($P<0.05$);2 组患者 XIAP 蛋白表达水平均显著高于癌旁组织,差异有统计学意义($P<0.05$);2 组患者癌旁组织 XIAP 蛋白表达水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

2.3 2 组临床特征与 XIAP 水平的相关性 2 组患者 XIAP 水平在不同性别、年龄、肿瘤类型之间比较,差异均无统计学意义($P>0.05$);但 2 组患者中肿瘤直径>5 cm 者的 XIAP 水平均高于≤5 cm 者,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

表 2 2 组患者肿瘤和癌旁组织中 XIAP 蛋白表达水平比较($\bar{x}\pm s$)

组织类型	组别	n	XIAP/β-actin	t	P
肿瘤组织	短生存时间组	48	2.15±0.38 [#]	5.512	0.001
	长生存时间组	27	0.87±0.24 ^{*#}		
癌旁组织	短生存时间组	48	0.34±0.08	0.661	0.413
	长生存时间组	27	0.32±0.07		

注:与短期生存组比较,* $P<0.05$;与同组癌旁组织比较,[#] $P<0.05$ 。

表 3 2 组临床特征与 XIAP 水平的相关性($\bar{x}\pm s$)

指标	血清 XIAP 水平(ng/L)		肿瘤组织 XIAP 蛋白表达水平(XIAP/β-actin)	
	短生存时间组(n=48)	长生存时间组(n=27)	短生存时间组(n=48)	长生存时间组(n=27)
性别				
男	81.56±16.92	45.01±8.66 [*]	2.05±0.36	0.81±0.21 [*]
女	82.78±15.35	46.73±8.47 [*]	2.21±0.42	0.83±0.25 [*]
年龄(岁)				
≤50	80.78±15.73	44.24±8.15 [*]	2.21±0.41	0.89±0.20 [*]
>50	83.21±18.06	48.36±8.89 [*]	2.03±0.34	0.86±0.27 [*]
肿瘤类型				
胶质瘤	84.01±16.14	48.45±8.91 [*]	2.40±0.46	0.91±0.32 [*]
脑膜瘤	83.57±15.75	44.24±8.32 [*]	2.32±0.39	0.83±0.28 [*]
垂体腺瘤	81.28±16.42	47.36±8.58 [*]	2.03±0.31	0.86±0.21 [*]

续表 3 2 组临床特征与 XIAP 水平的相关性(̄x±s)

指标	血清 XIAP 水平(ng/L)		肿瘤组织 XIAP 蛋白表达水平(XIAP/β-actin)	
	短生存时间组(n=48)	长生存时间组(n=27)	短生存时间组(n=48)	长生存时间组(n=27)
良性肿瘤	80.39±15.73	46.58±8.21*	2.16±0.35	0.88±0.20*
肿瘤大小(cm)				
≤5	80.76±14.14*	41.22±7.49*	1.84±0.26*	0.71±0.17*
>5	91.46±18.06*#	50.41±8.63*#	3.25±0.42*#	1.09±0.28*#

注:与短生存时间组比较,*P<0.05;不同亚组间比较,#P<0.05。

3 讨 论

凋亡抑制蛋白是一类具有同源性的蛋白家族成员,可引发内源性凋亡抑制作用。目前已知的人凋亡抑制蛋白主要包括: XIAP、c-IAP1、c-IAP2 和神经凋亡抑制蛋白等^[5]。其中, XIAP 是由 3 个 N 端 BIR 结构域和 1 个 C 端 RING 结构域组成蛋白,是半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶(Caspase)的抑制物,能够特异性结合凋亡诱导因子 Caspase-3、Caspase-7 和 Caspase-9,抑制细胞凋亡,在肿瘤发生、预防和治疗中扮演重要角色^[6-7]。同时, XIAP 也是最有潜力成为肿瘤防治靶标和预后生物标志的凋亡抑制蛋白。已有研究发现, XIAP 在多种肿瘤(包括前列腺癌、胰腺癌、肺癌和肝癌等)组织中均可呈高表达^[8-10]。而且, XIAP 的表达水平与肿瘤的侵袭、转移功能也紧密相关,敲除或低表达 XIAP 能够显著降低肿瘤细胞的迁移和侵袭能力^[11]。除了凋亡调节功能外, XIAP 还参与介导细胞信号转导、能量代谢、泛素化等多种病理生理过程^[12-13]。由此可见, XIAP 表达水平具有反映肿瘤形成与进展的潜在指示作用。

本研究采集颅内肿瘤切除术后新鲜肿瘤组织和癌旁组织,利用 Western Blot 分别测定了不同生存时间患者的 XIAP 蛋白表达水平,结果显示长生存时间组患者肿瘤组织中 XIAP 蛋白表达水平显著低于短生存时间组,且 2 组患者 XIAP 蛋白表达水平均显著高于癌旁组织。该结果表明,颅内肿瘤组织的 XIAP 蛋白表达水平显著升高,这与既往报道结论基本一致^[14]。本研究结果首次显示, XIAP 蛋白表达水平直接关系到颅内肿瘤切除术的预后,即患者 XIAP 蛋白表达水平越低的患者,其生存时间越长。这一趋势在血清 XIAP 水平检测中也得到印证,即血清 XIAP 水平越低,患者的生存时间越长,笔者分析其原因可能是由于 XIAP 蛋白主要位于细胞质,在发挥凋亡抑制功能时极易进入血液循环系统^[15],故血清中测定的 XIAP 水平可与肿瘤组织基本保持一致。此外,研究结果还发现,肿瘤直径>5 cm 者的 XIAP 水平平均高于≤5 cm 者,从理论上分析,肿瘤直径越大,说明颅内肿瘤的恶性程度可能越高,临床症状可能更严重,这也从另一方面表明 XIAP 表达水平越高,颅内肿瘤的病情越可能严重,预后越差,患者的生存时间越短。

综上所述,本研究结果显示 XIAP 表达水平越低的患者,颅内肿瘤切除术预后越好,患者生存时间越长。然而,由于本研究观察的周期较短且样本数量偏少,故研究结论仍有待后续多中心临床试验加以论证。

参考文献

[1] Murphy AM,Rabkin SD. Current status of gene therapy for brain tumors[J]. Transl Res,2013,161(4):339-354.
[2] Charles NA,Holland EC,Gilbertson R,et al. The brain tumor microenvironment[J]. Glia,2011,59(8):1169-1180.
[3] Farrand L,Byun S,Kim JY,et al. Piceatannol enhances cisplatin sensitivity in ovarian cancer via modulation of

p53,X-linked inhibitor of apoptosis protein(XIAP),and mitochondrial fission[J]. J Biol Chem,2013,288(33):23740-23750.
[4] Lopez PL,Filippi-Chiela EC,Silva AO,et al. Sensitization of glioma cells by X-Linked inhibitor of apoptosis protein knockdown[J]. Oncology,2012,83(2):75-82.
[5] Varfolomeev E,Vucic D. Inhibitor of apoptosis proteins: fascinating biology leads to attractive tumor therapeutic targets[J]. Future Oncol,2011,7(5):633-648.
[6] Fulda S. Targeting inhibitor of apoptosis proteins for cancer therapy:a double-edge sword[J]. J Clin Oncol,2014,32(28):3190-3191.
[7] Zhang H,Li ZH,Wang KZ,et al. Combined treatment of XI-AP-targeting shRNA and celecoxib synergistically inhibits the tumor growth of non-small cell lung cancer cells in vitro and in vivo[J]. Oncol Rep,2015,33(3):1079-1088.
[8] Li S,Sun J,Yang J,et al. XIAP expression is associated with pancreatic carcinoma outcome[J]. Mol Clin Oncol,2013,1(2):305-308.
[9] Wu WY,Kim H,Zhang CL,et al. Clinical significance of autophagic protein LC3 levels and its correlation with XI-AP expression in hepatocellular carcinoma[J]. Med Oncol,2014,31(8):1-6.
[10] Berezovskaya O,Schimmer AD,Glinskii AB,et al. Increased expression of apoptosis inhibitor protein XIAP contributes to anoikis resistance of circulating human prostate cancer metastasis precursor cells[J]. Cancer Res,2005,65(6):2378-2386.
[11] Paschall AV,Zimmerman MA,Torres CM,et al. Ceramide targets xIAP and cIAP1 to sensitize metastatic colon and breast cancer cells to apoptosis induction to suppress tumor progression[J]. BMC Cancer,2014,14(1):1-17.
[12] Merlo P,Cecconi F. XIAP:inhibitor of two worlds[J]. EMBO J,2013,32(16):2187-2188.
[13] Ammann S,Elling R,Gyrd-Hansen M,et al. A new functional assay for the diagnosis of X-linked inhibitor of apoptosis(XIAP) deficiency[J]. Clin Exp Immunol,2014,176(3):394-400.
[14] Eisele G,Weller M. Targeting apoptosis pathways in glioblastoma[J]. Cancer Lett,2013,332(2):335-345.
[15] Kaufmann T,Strasser A,Jost PJ. Fas death receptor signalling:roles of Bid and XIAP[J]. Cell Death Differ,2012,19(1):42-50.