

PDCD4 和 B7-H4 在儿童视神经胶质瘤中的表达及临床意义

刘彦彤

基金项目:陕西省教育厅基金资助(No. 2011JK0670)

作者单位:(710021)中国陕西省西安市,西安医学院基础部生物化学与分子生物学教研室

作者简介:刘彦彤,硕士,讲师,研究方向:胶质瘤线粒体比较基因组研究。

通讯作者:刘彦彤. yantongws@163.com

收稿日期:2014-04-15 修回日期:2014-07-02

Expressions and clinical significance of PDCD4 and B7-H4 in optic gliomas in children

Yan-Tong Liu

Foundation item: Education Department of Shaanxi Provincial Government(No. 2011JK0670)

Department of Biochemistry and Molecular Biology, Xi'an Medical University, Xi'an 710021, Shaanxi Province, China

Correspondence to: Yan-Tong Liu. Department of Biochemistry and Molecular Biology, Xi'an Medical University, Xi'an 710021, Shaanxi Province, China. yantongws@163.com

Received: 2014-04-15 Accepted: 2014-07-02

Abstract

• **AIM:** To study the expressions and clinical significance of PDCD4 and B7-H4 in optic gliomas in children.

• **METHODS:** We used immunohistochemistry to evaluate the expressions of PDCD4 and B7-H4 in specimens from 52 optic gliomas in children cases, and analyzed the correlation of PDCD4 and B7-H4 expression with clinicopathological factors children optic gliomas.

• **RESULTS:** PDCD4 expression reduced in optic glioma tissue; PDCD4 expression rate in 52 cases of optic glioma tissues decreasing was correlated with tumor malignancy increase ($P < 0.01$); B7-H4 positive expression increased in optic glioma tissue; B7-H4 expression rate in 52 cases of optic glioma tissues increasing was correlated with tumor malignancy increase ($P < 0.01$); PDCD4 expression was negatively correlated with B7-H4 expression in optic gliomas ($P < 0.01$).

• **CONCLUSION:** Expressions of PDCD4 and B7-H4 may be clinically relevant to tumor malignancy of optic gliomas in children and prevention of metastasis and prediction of prognosis.

• **KEYWORDS:** children; optic; gliomas; PDCD4; B7-H4

Citation: Liu YT. Expressions and clinical significance of PDCD4 and B7-H4 in optic gliomas in children. *Guoji Yanke Zazhi(Int Eye Sci)* 2014;14(8):1391-1393

摘要

目的:研究 PDCD4 和 B7-H4 在儿童视神经胶质瘤中的表达及临床意义。

方法:采用免疫组织化学法对 52 例儿童视神经胶质瘤手术切除标本中 PDCD4 和 B7-H4 的表达进行检测,评估 PDCD4 和 B7-H4 的表达与儿童视神经胶质瘤临床病理因素的关系。

结果:PDCD4 在胶质瘤组织的阳性表达降低;52 例胶质瘤组织中 PDCD4 表达阳性率随着肿瘤恶性程度增加呈降低趋势($P < 0.01$);B7-H4 在胶质瘤组织的阳性表达增高;B7-H4 在 52 例胶质瘤组织中阳性率随着肿瘤恶性程度增加显著增高($P < 0.01$);脑胶质瘤中 PDCD4 与 B7-H4 表达负相关($P < 0.01$)。

结论:PDCD4 和 B7-H4 与儿童视神经胶质瘤的恶性程度有关,对于儿童视神经胶质瘤的转移防治及预后具有一定的临床意义。

关键词:儿童;视神经;胶质瘤;PDCD4;B7-H4

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2014.08.06

引用:刘彦彤. PDCD4 和 B7-H4 在儿童视神经胶质瘤中的表达及临床意义. *国际眼科杂志* 2014;14(8):1391-1393

0 引言

胶质瘤是颅内最常见的恶性肿瘤,约占 43.73%~50%,主要特点为生长迅速,侵袭性强,发病率高,复发率高,病死率高以及治愈率低的特点^[1]。患者 1a 平均存活率小于 5%。研究发现,肿瘤的发生是正常细胞染色体多重损伤的复杂过程,其最终表现均为细胞周期调控机制紊乱,因此调控基因与肿瘤的发生密切相关^[2]。

PDCD4(Programed, cell, death 4)是近年来新发现的抑癌基因,能够通过抑制蛋白转录和翻译过程抑制肿瘤细胞的生长。研究证明,PDCD4 的表达水平可能与某些肿瘤的发生及恶性程度有关^[3]。B7-H4 分子属于免疫球蛋白超家族,其在肿瘤中的表达往往随着肿瘤的发展而发生变化,并且与患者的预后相关,高表达 B7-H4 的肿瘤往往有更高的死亡率,B7-H4 不但通过抑制中性粒细胞的生长来负性调节先天免疫,还通过多种形式限制和削弱 T 细胞的活化^[4]。

本研究采用免疫组织化学 SP 法对 52 例儿童视神经胶质瘤手术切除标本中 PDCD4、B7-H4 的表达进行了检测,研究 PDCD4、B7-H4 的表达与儿童视神经胶质瘤临床病理因素的关系,探讨 PDCD4 和 B7-H4 与儿童视神经胶质瘤发生、发展及病理分级的关系,进而揭示其临床意义。

1 材料和方法

1.1 材料 选自西安交通大学第二附属医院 2007/2012 年儿童视神经胶质瘤手术切除标本 52 例,其中男 30 例,

女22例,年龄2~16(平均10)岁。全部病例术前均未接受化疗、放疗。另选8例脑肿瘤切除同时行颅内减压手术中切除的正常脑组织标本作为正常对照。组织标本均用石蜡切片 HE 染色,按1990年WHO标准进行病理组织学检查确定诊断。本组按WHO病理分级包括:I级19例,II级13例,III级11例,IV级9例。按组织学分类包括少突胶质母细胞瘤3例,室管膜瘤3例,星形细胞瘤38例,胶质母细胞瘤8例。试剂:兔抗人PDCD4多克隆抗体、兔抗人B7-H4单克隆抗体及SP免疫组化试剂盒均购自北京中山生物技术有限公司,方法按说明书进行。每例石蜡标本制备3张4 μ m厚组织切片,其中1张行HE染色,2张行免疫组化染色。切片经微波处理以提高敏感性。以PBS代替一抗作阴性对照。

1.2 方法 标本经10%甲醛固定,梯度乙醇脱水,二甲苯透明,石蜡包埋,连续切片6张,切片厚度为4 μ m,分别行HE染色和免疫组织化学SP法染色。主要步骤:石蜡切片常规脱蜡,体积分数3g/L H₂O₂ 15min 阻断内源性过氧化酶活性。微波炉抗原热修复处理700W/18min。山羊血清封闭非特异性抗原,滴加一抗(1:50)4 $^{\circ}$ C过夜,然后滴加辣根酶标记山羊抗兔IgG,37 $^{\circ}$ C孵育30min;上述各步骤均以磷酸盐缓冲液(PBS)溶液漂洗3次,每次5min。DAB溶液显色后,苏木精复染细胞核,脱水树胶封片。

结果判定 PDCD4 细胞内棕黄色为阳性着色,根据阳性着色程度和阳性细胞百分比将 PDCD4 表达分为-(0分),+(1分),++(2分),+++ (3分),++++(4分),根据 PDCD4 阳性细胞的百分数也分为五个级别:-(<1%, 0分),+(1%~10%, 1分),++(25%~50%, 2分),+++ (50%~75%, 3分),++++(75%~100%, 4分)。综合染色程度和阳性细胞百分数,确定 PDCD4 染色的最终评分:-(总分0分),+(总分1~2分),++(总分3~4分),+++ (总分5~6分),++++(总分7~8分),见图1。B7-H4以胞浆和(或)胞膜出现棕黄色颗粒状物为阳性染色。染色结果采用免疫组化半定量判定标准:随机选择10个高倍镜视野,每个视野计数100个细胞,以阳性细胞比率(阴性为0分,<1/3为1分,1/3~2/3为2分,>2/3为3分)与细胞染色强度(无着色为0分,淡黄色为1分,棕黄色为2分,棕褐色为3分)的乘积综合判定。0~4分为阴性(-),5~7分为低表达(+),8~10分为高表达(++),见图2。

统计学分析:采用SPSS 13.0统计软件行Spearman等级相关分析、校正 χ^2 检验和 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PDCD4 在胶质瘤组织的阳性表达降低 52例胶质瘤组织中 PDCD4 表达阳性率随着肿瘤恶性程度增加呈降低趋势($P < 0.01$,表1);8例正常脑组织中均有阳性表达。

2.2 B7-H4 在胶质瘤组织的阳性表达增高 B7-H4在52例胶质瘤组织中阳性率随着肿瘤恶性程度增加显著增高($P < 0.01$,表2);8例正常脑组织中未见表达阳性。

经过 Spearman 等级相关分析,表明脑胶质瘤中 PDCD4 与 B7-H4 表达负相关(表3)。

3 讨论

本研究旨在研讨 PDCD4 与 B7-H4 在儿童视神经胶质瘤中的表达及意义,本结果表明 PDCD4 与 B7-H4 在儿童视神经胶质瘤和正常肝组织中的表达差异有统计学意义,这提示 PDCD4 与 B7-H4 均参与了儿童视神经胶质瘤临床病情进展和发病机制。

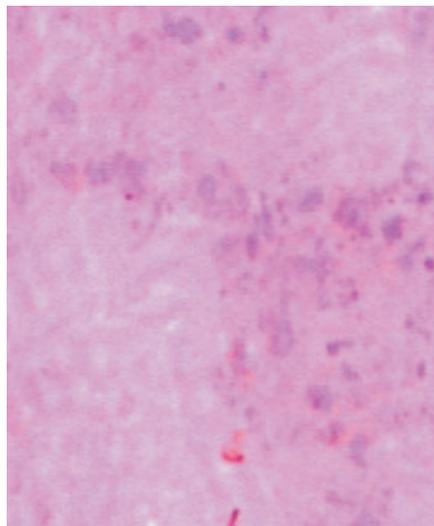


图1 PDCD4 在儿童视神经胶质瘤的表达($\times 400$)。

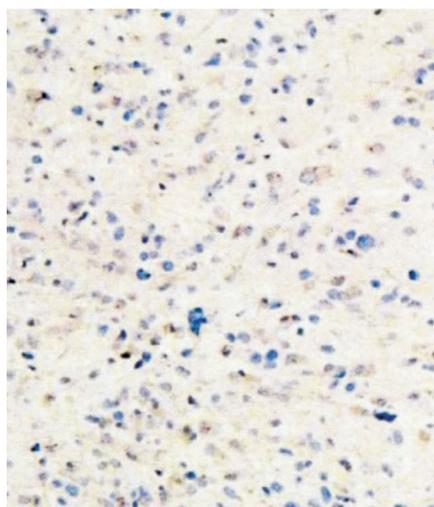


图2 B7-H4 在儿童视神经胶质瘤的表达($\times 400$)。

表1 胶质瘤患者临床病理特征与 PDCD4 蛋白表达的关系

肿瘤级别	例数	PDCD4(例)					阳性百分比 (%)
		-	+	++	+++	++++	
I	19	1	2	4	5	7	94.74
II	13	3	3	4	2	1	76.92
III	11	5	3	2	1	0	54.55
IV	9	7	1	1	0	0	22.22

表2 胶质瘤患者临床病理特征与 B7-H4 蛋白表达的关系

肿瘤级别	例数	B7-H4(例)			阳性百分比 (%)
		-	+	++	
I	19	8	6	5	57.89
II	13	5	4	4	61.54
III	11	2	4	5	81.82
IV	9	1	3	5	88.89

表3 PDCD4 与 B7-H4 表达的关系

项目		B7-H4(例)		
		-	+	++
PDCD4	-	1	1	14
	+	1	2	6
	++	3	5	3
	+++	0	4	4
	++++	0	2	6

首先,许多研究都证实,PDCD4 的表达可抑制肿瘤细胞的生长,但其机制并不清楚。比如在肺癌裸鼠模型,雾化吸入 PDCD4 后,对细胞周期蛋白 p27 有明显上调的作用^[5]。另外,对乳腺癌细胞系的研究也发现,转染 PDCD4 给 T-47D 乳腺癌细胞系后,可以诱导凋亡的发生,表明 PDCD4 在介导乳腺癌细胞系的凋亡中发挥着重要作用^[6]。除此之外,PDCD4 还能诱导肝癌细胞系 Huh7 的凋亡^[7]。有实验证明 PDCD4 mRNA 水平在胶质瘤中表达缺失,缺失率为 47%,而蛋白表达的缺失率达到了 77%,从而推断出 PDCD4 在人神经胶质瘤中的表达缺失应该比较常见^[8]。还研究发现 PDCD4 转染可以抑制 U251 细胞株的细胞增殖和克隆,并且影响到了 U251 细胞系的细胞周期,使细胞周期停留在了 S 期,从而抑制肿瘤的恶性转化^[9]。上述的研究表明,PDCD4 有可能通过细胞周期来抑制细胞增殖,但具体的作用机制还需更深的研究。

其次,B7-H4 在多种肿瘤组织中高表达,比如 95.5% 的鳞状细胞食管癌^[10],43% 的肺癌^[11]等。除了肿瘤细胞,小血管内皮细胞和肿瘤浸润巨噬细胞也持续的表达 B7-H4。研究发现 B7-H4 在肿瘤浸润调节性 T 细胞的数量与卵巢癌相关性巨噬细胞中的表达强度呈正相关,并且两者与患者的生存率呈负相关^[12]。在未予治疗的卵巢癌患者癌性腹水中,CD14⁺巨噬细胞表达 B7-H4 水平高于正常外周血单核细胞和良性腹水患者,并发现在卵巢癌组织中存在一群高表达 B7-H4 的巨噬细胞,当前认为这群细胞是一群新的肿瘤相关性巨噬细胞(TAM),可抑制肿瘤抗原特异性 T 细胞的活性^[13]。研究发现胶质瘤患者脑内免疫常有 T 细胞功能的抑制^[14]。肿瘤细胞可通过分泌表达的 B7-H4 表面或者表达的 B7-H4,与 T 细胞表面的受体结合,抑制 CD4⁺T 细胞的增殖和抗肿瘤效应性细胞因子的释放,阻滞细胞周期,并抑制 CD8⁺T 细胞活性^[15]。这有可能成为胶质瘤发生的原因之一。

因此,PDCD4 与 B7-H4 对于儿童视神经胶质瘤的发生、发展密切相关,联合检测 PDCD4 与 B7-H4 分子表达有助于儿童视神经胶质瘤的预后判断,并指导临床治疗。

参考文献

1 王忠诚. 神经外科学. 武汉:湖北科学技术出版社 2005:35

2 孟晓红,焦凤娟,孟华. Livin 阳性乳腺癌中细胞周期调控相关蛋白的变化. 临床与实验病理学杂志 2014;30(3):248-250

3 Kazuo M, Hiroshi I, Koshi M, et al. Clinicopathological and prognostic significance of PDCD4 and microRNA-21 in human gastric cancer. *Int J Oncol* 2010; 36(5):1089-1095

4 Jiang J, Zhu Y, Wu C. Tumor expression of B7-H4 predicts poor survival of patients suffering from gastric cancer. *Cancer Immunol* 2010; 59(11):1707-1714

5 Sheedy FJ, Palsson-McDermott E, Hennessy EJ. Negative regulation of TLR4 via targeting of the proinflammatory tumor suppressor PDCD4 by the microRNA miR-21. *Nat Immunol* 2010;11(2):141-147

6 Heike A. Pdc4, a colon cancer prognostic that is regulated by a microRNA. *Crit Rev Oncol Hematol* 2010; 73(3):185-191

7 Stagakis E, Bertsiias G, Verginis P, et al. Identification of novel microRNA signatures linked to human lupus disease activity and pathogenesis: miR-21 regulates aberrant T cell responses through regulation of PDCD4 expression. *Ann Rheum Dis* 2011;70(8):1496-1506

8 Gao F, Zhang P, Zhou C, et al. Frequent loss of PDCD4 expression in human glioma: possible role in the tumorigenesis of glioma. *Oncol Rep* 2007;17(1):123-128

9 张霞,王晓燕,高琪,等. PDCD4 在胶质瘤细胞系的稳定表达及其对肿瘤细胞生长的影响. 中国肿瘤生物治疗杂志 2008;15(4):347-350

10 Sumiya I. Clinical significance of the B7-H4 coregulatory molecule as a novel prognostic marker in gastric cancer. *World J Surg* 2011;35(9):2051-2057

11 Diana B. B7-H4 expression in human melanoma: its association with patients' survival and antitumor immune response. *Clin Cancer Res* May 2011;15(17):3100

12 Wu HY. B7-H4 expression associates with cancer progression and predicts patient's survival in human esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Immunol Immunother* 2011;60(7):1047-1055

13 Xue Q, Luan XY, Gu YZ, et al. The negative co-signaling molecule B7-H4 is expressed by human bone marrow-derived mesenchymal stem cells and mediates its T-cell modulatory activity. *Stem Cells Dev* 2010;19(1):27-38

14 Nagata S, Golstein P. The fas death factor. *Science* 1995; 267(5203):1449-1456

15 Mugler KC, Singh M, Tringler B, et al. B7-H4 expression in a range of breast pathology: correlation with tumor T-cell infiltration. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2007;15(4):363-370