

论著 · 临床研究

骨髓瘤患者骨髓及髓外病变组织中 Twist1 的表达及临床意义

蔡正平

(武汉市第十一医院检验科, 武汉 430015)

摘要:目的 探讨骨髓瘤患者骨髓及髓外病变组织中 Twist1 的表达及临床意义。方法 选取该院收治的 30 例骨髓瘤患者作为骨髓瘤组, 并选择 25 例诊断为骨髓瘤合并髓外病变的患者作为合并组, 通过免疫组化法检测骨髓瘤患者骨髓及髓外病变组织中骨髓瘤细胞核、细胞质中的 Twist1 的阳性表达率, 比较不同肿瘤分期患者 Twist1 表达情况, 分析 Twist1 与患者临床参数(性别、年龄)等关系。结果 Twist1 在骨髓瘤患者的骨髓组织及髓外组织的细胞核、细胞质均中可表达, 且合并髓外病变者的细胞核 Twist1 高表达率均高于细胞质 ($P < 0.05$), 其细胞核、细胞质中的髓外组织高表达率均高于骨髓瘤组 ($P < 0.05$); 骨髓瘤组织细胞核的 Twist1 表达率随着分期增加而增加, 但两组间表达率比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 骨髓组织细胞核中 Twist1 表达与患者临床病理特征关系分析, 显示 Twist1 表达高低与性别、年龄不相关 ($P > 0.05$), 与临床分期有一定联系, 且与疾病分期呈正相关 ($r = 0.316, P < 0.05$)。结论 Twist1 在骨髓瘤患者骨髓中高度表达, 尤其是合并髓外病患者的髓外病变组织的细胞核中, 且 Twist1 高表达与患者病理分期有关, 临床可作为骨髓瘤患者预后不良指标之一。

关键词:骨髓瘤; 髓外病变组织; Twist1 表达

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.09.023

文章编号:1673-4130(2018)09-1102-03

中图法分类号:R733.3

文献标识码:A

Expression and clinical significance of Twist1 in bone marrow and extramedullary lesions tissues in patients with myeloma

CAI Zhengping

(Department of Clinical Laboratory, the Wuhan eleventh Hospital, Wuhan, Hubei 430015, China)

Abstract: Objective To explore the expression and clinical significance of Twist1 in bone marrow and extramedullary lesions of patients with myeloma. **Methods** 30 cases of patients diagnosed with multiple myeloma (MM) treated in our hospital were selected for the study, and other 25 cases patients with MM combined with extramedullary lesions (EMD) were selected as the combined group. The positive expression rate of Twist1 in myeloma nuclei was detected by immunohistochemistry in the MM and EMD tissues, and the expressions of Twist1 were compared in patients with different tumor stages, and the relationship between Twist1 and clinical parameters (gender, age) was analyzed. **Results** Twist1 could be expressed in the nucleus and cytoplasm of marrow tissue and extramedullary tissue among myeloma patients, and the high expression rate in patients complicated with extramedullary lesions was higher than that in the cytoplasm ($P < 0.05$), and the high expression rate in the nucleus and cytoplasm of extramedullary tissues was higher than that in the myeloma group ($P < 0.05$). The Twist1 expression rate in the nucleus of myeloma tissues was increased with the increase of the stages, but there was no significant difference in the expression rate between the two groups ($P > 0.05$). The relationship analysis of Twist1 expression in the nucleus of bone marrow tissues and the clinicopathological features showed that the high or low Twist1 expression was not significantly correlated with the gender and age ($P > 0.05$), but had a certain relationship with clinical stages, and was positively correlated with the disease stages ($r = 0.316, P < 0.05$). **Conclusion** Twist1 is highly expressed in bone marrow of patients with myeloma, especially in the nucleus of extramedullary lesions tissue of patients with combined with extramedullary disease, and the high expression of Twist1 is correlated with pathological staging, and it can be used as one of the clinical indicators for poor prognosis of patients with myeloma.

Key words:myeloma; extramedullary lesions tissues; Twist1 expression

作者简介:蔡正平,男,主管检验技师,主要从事骨髓液细胞学方面的研究。

本文引用格式:蔡正平. 骨髓瘤患者骨髓及髓外病变组织中 Twist1 的表达及临床意义[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(9):1102-1104.

骨髓瘤是起源于骨髓中 B 淋巴细胞的恶性肿瘤,也是血液系统常见恶性肿瘤之一,以单克隆浆细胞恶性增殖、大量分泌单克隆免疫球蛋白为临床特征,因骨髓瘤可发生髓外浸润,晚期可广泛转移,多好发于中青年,预后极差^[1-2]。随着医学技术的发展,患者五年生存率得有效提高,但骨髓瘤诊断手段仍较为匮乏,绝大多数骨髓瘤患者在明确诊断时已步入中晚期,缺乏早期诊断是阻碍提高患者生存质量的关键因素^[3]。分子生物学、基因学等广泛运用于临床诊断中,研究发现 Twist1 参与肿瘤病变过程中,在肿瘤微环境、转移、干细胞样细胞形成、血管新生等方面发挥重要作用^[4-5],本研究探讨了 Twist1 表达情况与骨髓瘤之间的相关性,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2013 年 4 月至 2017 年 5 月经本院确诊为骨髓瘤患者 30 例为骨髓瘤组,以及 25 例骨髓瘤合并髓外病变者为合并组,所有患者均为首次诊断,且具有完整的临床病理资料,入组前均未接受化疗、免疫或放射等抗肿瘤治疗;均符合多发性骨髓瘤诊断标准。排除合并其他恶性肿瘤者。本研究经本院伦理委员会批准,所有患者均签署相关知情同意书,且所有研究组织均以 4% 甲醛液固定,石蜡包埋。骨髓瘤组男 17 例、女 13 例,年龄 15~53 岁,中位年龄 29 岁;根据国际分期系统(ISS)标准分期: I 期 10 例, II 期 8 例, III 期 12 例。合并组男 10 例、女 15 例,年龄 17~62 岁,中位年龄 32 岁;ISS 分期: I 期 5 例, II 期 7 例, III 期 13 例。

1.2 方法

1.2.1 组织芯片制定 获取 2013 年 4 月至 2017 年 5 月于本院骨科进行精细切除的骨髓瘤患者的典型病理标本,及瘤旁组织(距瘤体 2 cm 组织),标本于离体 30 min 内使用 4% 中性甲醛固定、石蜡包埋处理后,用石蜡组织以 3 μ m 厚度连续切片,敷贴于 10% 多聚赖氨酸预先处理的载玻片上(载玻片必须使用商品化的防脱玻片),收片晾干后置入烤箱 2~3 h,待切片降至室温后将切片放入 4 °C 冰箱中备用。

1.2.2 免疫组织化学步骤 采用 Santa Cruz 公司提供的兔抗人 Twist 多克隆抗体,上海迈新生物技术有限公司提供的通用型 SP 法免疫组织化学试剂盒及 DAB 显色剂,用已知阳性标本作为阳性对照组,以磷酸盐缓冲液代替一抗作为空白对照组。

1.2.3 结果判断 采用半定量积分法进行结果判定。每张切片随机选取 10 个高倍镜视野观察,按照肿瘤细胞着色深浅进行分级评估,以细胞核出现明显的黄色或棕黄色颗粒为阳性着色,综合阳性细胞率及染色强度进行评估。不着色计 0 分,淡黄色计 1 分,棕黄色计 2 分,棕褐色计 3 分。阳性细胞率按 $<1\%$ 、 $1\% \sim 25\%$ 、 $26\% \sim 50\%$ 、 $51\% \sim 75\%$ 、 $\geq 75\%$ 分别计 0、1、2、3、4 分,两项积分之和 >2 分表示阳性表达, <6 分表示低表达, ≥ 6 分表示高表达。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件进行数据处理,计数资料以率表示,比较采用 χ^2 检验,临床分期等级资料采用秩和检验, Twist1 表达高低与临床分期采用 Spearman 相关性分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 Twist1 在骨髓瘤组与合并组表达情况比较 骨髓瘤组骨髓组织细胞核及细胞质 Twist1 高表达率显著高于髓外组织($P < 0.05$),合并组则无显著差异($P > 0.05$);两组骨髓组织细胞核 Twist1 高表达均显著高于细胞质骨髓组织 Twist1 高表达率($P < 0.05$);合并组髓外病变组织 Twist1 高表达均明显高于骨髓瘤组($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 Twist1 在骨髓瘤组与合并组表达情况比较[n(%)]

组别	n	细胞核 Twist1 高表达		细胞质 Twist1 高表达	
		骨髓组织	髓外组织	骨髓组织	髓外组织
骨髓瘤组	30	19(63.3) [#]	1(3.4) [*]	8(26.7)	0(0.0) [*]
合并组	25	16(64.0) [#]	13(52.0) ^{#△}	7(28.0)	4(16.0) [△]

注:同组内与骨髓内组织比较, * $P < 0.05$; 同组内与细胞质比较, [#] $P < 0.05$; 与骨髓瘤组比较, [△] $P < 0.05$

2.2 Twist1 在不同临床分期骨髓瘤组织细胞核中表达 Twist1 在骨髓瘤组骨髓组织中表达率 83.3% (25/30),与合并组 96.0% (24/25)比较差异均无统计学意义($P > 0.05$),且骨髓瘤组不同分期骨髓瘤组织中 Twist1 表达与合并组比较,差异均无统计学意义($Z = 0.41, P > 0.05$)。见表 2。

表 2 Twist1 在不同临床分期骨髓瘤组织细胞核中表达[n(%)]

组别	n	细胞核中表达[n(%)]		
		I 期	II 期	III 期
骨髓瘤组	30	6(60.0)	7(87.5)	12(100.0)
合并组	25	4(80.0)	7(100.0)	13(100.0)

2.3 骨髓组织细胞核中 Twist1 表达与患者临床病理特征关系比较 骨髓瘤组中,高表达 19 例,低表达 6 例;合并组中,高表达 16 例,低表达 8 例。显示 Twist1 表达高低与性别、年龄无关($P > 0.05$),与临床分期有一定联系,且与临床分期呈正相关($r = 0.316, P < 0.05$)。见表 3。

表 3 骨髓组织细胞核中 Twist1 表达与患者临床病理特征关系比较

特征	高表达组(n=35)		χ^2/Z	P
	高表达组(n=35)	低表达组(n=14)		
性别			2.112	0.146
男	17	10		
女	18	4		
年龄			0.138	0.711
<30 岁	22	8		
≥30 岁	13	6		
临床分期			7.994	0.035
I 期	4	6		
II 期	13	1		
III 期	18	7		

3 讨 论

多发性骨髓瘤占所有癌症发生率的1.1%，恶性血液疾病的13%，是第二大常见血液系统恶性肿瘤，至今无法治愈^[6]。手术及化疗虽有效提高患者五年生存率，但迄今为止，五年生存率仍未提高，经典辅助化疗已广泛运用于临床治疗，但患者对化疗敏感性差异大，目前临床大多倾向于通过药物治疗，提高药物摄取和转运转改，从分子水平上针对疾病发生病因予以靶向治疗，尽量做到早期诊断、早期治疗，因此探讨可能靶点及判断预后指标成为当前研究热点^[7]。

Twist1蛋白是一个高度保守的转录因子，属于碱性螺旋-环-螺旋蛋白家族，在胚胎生长发育中诱导细胞迁移调控中起着重要作用，除了参与胚胎发育，Twist1还参与肿瘤细胞增殖、凋亡、上皮-间质化等，而上皮间质转化是胚胎发育的基础，其中细胞间黏附的丢失，以及细胞获得迁移和侵袭的特性均与Twist1表达水平有关^[8-9]。目前已证实Twist1在乳腺癌、肝癌、前列腺癌、胃癌等多种肿瘤均可表达，且与肿瘤侵袭和转移密切相关，在癌细胞中，Twist1通过招募核小体的重塑、脱乙酰酶复合物直接抑制E-cadherin的表达，最终增强髓外病变^[10]。宋玉华等^[11]通过构建Twist1的慢病毒真核表达载体，并建立稳定表达Twist1的乳腺癌细胞株，发现Twist1的表达上调可导致癌细胞出现干细胞样特性，出现肿瘤球、肿瘤血管等，并作为胚胎发育基因参与上皮-间充质转变，证实Twist1在胃癌、乳腺癌、食管癌、成神经细胞瘤表达异常。牟雅堃等^[12]学者通过检测Twist1基因在白血病患者和造血系统恶性肿瘤细胞系中的表达情况，发现Twist1高表达于急性髓性白血病(AML)、慢性粒细胞白血病(CML)髓系白血病细胞，并促进白血病细胞的增殖、抑制其凋亡，认为Twist1基因的表达改变不仅体现在肿瘤上，还可诱发血液系统疾病。MROZIK等^[13]发现在骨髓瘤中，低氧环境可能刺激上皮-间充质转变相关蛋白的表达，并下调E-cadherin表达，从而促进骨髓瘤细胞向远处侵袭转移。本研究显示Twist1高表达多显现于肿瘤细胞核中，且骨髓组织细胞核Twist1高表达率与发生髓外转移有一定关系，合并组髓外组织Twist1高表达率显著高于骨髓瘤组，但两组不同ISS分期中Twist1表达率无明显差异，且Twist1表达高低与性别、年龄无关，与临床分期呈正相关，临床可提高重视，作为骨髓瘤合并髓外病变患者预后的影响因素之一。但本研究样本量小，缺乏遗传学、分子生物学方面资料，无法做亚组分析，不能从肿瘤血管生成、干细胞生物学特性及上皮-间充质转变等方面描述病理过程，还需大量、多中心的临床资料进一步明确Twist1高表达与骨髓瘤及髓外病变患者的预后相关性，进一步阐明Twist1在

骨髓瘤中的发病机制。

总之，Twist1在骨髓瘤及骨髓瘤合并髓外病变组织中均具有较高的阳性表达率，且骨髓瘤患者，其骨髓组织高表达率高于髓外病变，随着疾病发展，髓外组织中Twist1表达可逐渐增高。Twist1高表达与患者性别、年龄等一般资料无明显相关，与疾病分期呈正相关，下次研究可从分子生物学阐明Twist1在骨髓瘤患者发病机制及高表达率的临床意义。

参考文献

- 杨云,赵景杰,赵万红,等.沙利度胺联合低剂量地塞米松治疗多发性骨髓瘤的临床研究[J].西部医学,2016,28(10):1382-1385.
- 彭莉,卢常青,黄婷,等.46例多发性骨髓瘤首发表现及临床误诊分析[J].医学临床研究,2015,32(10):2050-2051.
- 陈蓓蕾,高静,岳小雅,等.骨髓活检在多发性骨髓瘤诊断中的临床应用[J].陕西医学杂志,2015,44(6):727-727,753.
- 蒋红果,邵杨,罗瑛.Twist1在肿瘤发生中的作用[J].中国生物化学与分子生物学报,2015,31(5):440-447.
- KHAN M A, TANIA M, WEI C, et al. Thymoquinone inhibits cancer metastasis by downregulating TWIST1 expression to reduce epithelial to mesenchymal transition [J]. Oncotarget, 2015, 6(23): 19580-19591.
- 徐思雨.多发性骨髓瘤治疗发展及近况[J].现代医药卫生,2017,33(13):1993-1995.
- 李涵,李倩,徐文贵,等.18F-FDG PET/CT对初治多发性骨髓瘤患者预后判断价值分析[J].中华肿瘤防治杂志,2017,24(2):124-129.
- 覃天.乳腺癌中转录因子Twist表达及生物学效应的研究进展[J].海南医学院学报,2016,22(5):518-520.
- 逯素梅,任瑞,马万山.转录因子Twist1和PPAR γ 在3T3-L1细胞中的作用及调控关系[J].临床检验杂志,2016,34(4):251-255.
- 钱江,韩佳,陈鹏,等.Twist与E-cadherin在结直肠癌中的表达及其意义[J].中国普外基础与临床杂志,2015,22(1):114-116.
- 宋玉华,陈灌洁,张亚楠,等.Twist1稳定表达细胞株的建立及对乳腺癌细胞上皮-间充质转变的影响[J].生物技术通讯,2016,27(1):36-39.
- 牟雅堃,王楠,郭丹,等.Twist-1基因在髓系白血病细胞中的表达及其作用[J].中国肿瘤生物治疗杂志,2016,23(2):168-174.
- MROZIK K M, CHEONG C M, HEWETT D, et al. Therapeutic targeting of N-cadherin is an effective treatment for multiple myeloma[J]. Br J Haematol, 2015, 171(3): 387-399.

(收稿日期:2017-10-25 修回日期:2018-01-13)