

· 论 著 ·

TNFRSF10B 在直肠癌中的表达及临床意义*

王明辉¹, 张朝永¹, 刘越军¹, 张 健¹, 张四新^{2△}

1. 河北省唐山市中医医院普外科, 河北唐山 063000; 2. 中国人民解放军
陆军第 82 集团军医院普外科, 河北保定 071000

摘 要:目的 探讨肿瘤坏死因子受体超家族成员(TNFRSF)10B 在直肠癌组织中的表达及临床意义, 以期
为直肠癌预后判断提供理论依据。**方法** 选取 2013 年 9 月至 2017 年 7 月在唐山市中医医院进行手术治疗的
直肠癌患者 87 例为研究对象, 采用实时荧光定量 PCR 和免疫组织化学染色法检测患者直肠癌组织及癌旁组织
中 TNFRSF10B mRNA 及蛋白的表达情况, 分析 TNFRSF10B 蛋白表达与直肠癌患者临床病理特征及预后
的关系。**结果** 癌旁组织中 TNFRSF10B mRNA 的表达水平明显低于直肠癌组织中 TNFRSF10B mRNA 的
表达水平, 差异有统计学意义($P<0.05$)。癌旁组织中 TNFRSF10B 蛋白的高表达率为 13.79%, 明显低于直
肠癌组织中 TNFRSF10B 蛋白的高表达率(54.02%), 差异有统计学意义($P<0.05$)。TNFRSF10B 蛋白表达
与直肠癌患者临床分期、肿瘤分化程度、淋巴结转移、远处转移有关($P<0.05$)。TNFRSF10B 蛋白高表达、临
床分期Ⅲ+Ⅳ期、淋巴结转移是影响直肠癌患者预后的独立危险因素($P<0.05$)。**结论** TNFRSF10B 在直肠
癌组织中高表达, 与直肠癌的发生、发展相关, 对直肠癌患者预后评估有一定的指导意义。

关键词: 直肠癌; 肿瘤坏死因子受体超家族成员 10B; 预后; 病理特征

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.12.017 **中图法分类号:**R735.34

文章编号:1673-4130(2021)12-1481-04 **文献标志码:**A

Expression and clinical significance of TNFRSF10B in rectal cancer*

WANG Minghui¹, ZHANG Chaoyong¹, LIU Yuejun¹, ZHANG Jian¹, ZHANG Sixin^{2△}

1. Department of General Surgery, Tangshan Traditional Chinese Medicine Hospital,
Tangshan, Hebei 063000, China; 2. Department of General Surgery, the 82nd Army Hospital
of the PLA, Baoding, Hebei 071000, China

Abstract: **Objective** To explore the expression and clinical significance of tumor necrosis factor receptor
superfamily member (TNFRSF) 10B in rectal cancer tissues, in order to provide a theoretical basis for the
prognosis evaluation of rectal cancer. **Methods** A total of 87 patients with rectal cancer who underwent surgi-
cal treatment in Tangshan Traditional Chinese Medicine Hospital from September 2013 to July 2017 were se-
lected as the research objects. Real-time fluorescent quantitative PCR and immunohistochemistry staining
method were used to detect the expression of TNFRSF10B mRNA and protein in rectal cancer tissues and ad-
jacent tissues of patients, and analyzed the relationship between TNFRSF10B protein expression and clinico-
pathological characteristics and prognosis of patients with rectal cancer. **Results** The expression level of TN-
FRSF10B mRNA in adjacent tissues was significantly lower than that in rectal cancer tissues, and the differ-
ence was statistically significant ($P<0.05$). The high expression rate of TNFRSF10B protein in adjacent tis-
sues was 13.79%, which was significantly lower than the high expression rate of TNFRSF10B protein in rec-
tal cancer tissues (54.02%), the difference was statistically significant ($P<0.05$). The expression of TN-
FRSF10B protein related to the clinical stage, degree of tumor differentiation, lymph node metastasis and dis-
tant metastasis in patients with rectal cancer ($P<0.05$). High expression of TNFRSF10B protein, clinical
stage Ⅲ+Ⅳ and lymph node metastasis were independent risk factors for prognosis of rectal cancer patients
($P<0.05$). **Conclusion** TNFRSF10B is highly expressed in rectal cancer tissues, which is related to the oc-
currence and development of rectal cancer, and has certain guiding significance for the prognosis evaluation of
rectal cancer patients.

Key words: rectal cancer; tumor necrosis factor receptor superfamily member 10B; prognosis; clini-

* 基金项目: 河北省医学科学研究课题计划(20191849); 河北省保定市科技计划项目(1951ZF104)。

作者简介: 王明辉, 男, 主治医师, 主要从事直肠癌诊断与治疗研究。 △ 通信作者, E-mail: zhsx0825@163.com。

本文引用格式: 王明辉, 张朝永, 刘越军, 等. TNFRSF10B 在直肠癌中的表达及临床意义[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(12): 1481-1484.

copathological characteristics

近年来,直肠癌的发病率逐年上升,患病人群越来越年轻化,成为仅次于肺癌的致命恶性肿瘤^[1-2]。调查表明,直肠癌与人群的饮食、生活方式和基因遗传性等有关^[3-4],但其具体发病机制尚不明确。从分子水平研究影响直肠癌发生、发展的相关因子,寻找新的治疗靶点有利于直肠癌的防治。肿瘤坏死因子受体超家族成员(TNFRSF)10B 属于 I 型跨膜蛋白,是肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体(TRAIL)的受体,参与多种肿瘤细胞的凋亡过程^[5]。有研究报道,TNFRSF10 可以激活肿瘤细胞中 TRAIL 凋亡途径,促进肿瘤细胞凋亡^[6]。目前,关于 TNFRSF10B 的表达与直肠癌关系的研究较少,本研究采用实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)和免疫组织化学染色法检测 TNFRSF10B 在直肠癌中的表达水平,分析其与患者临床病理特征和预后的关系,以期对直肠癌的治疗及预后评估提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2013 年 9 月至 2017 年 7 月在唐山市中医医院进行手术治疗的直肠癌患者 87 例为研究对象,其中男 50 例,女 37 例;平均年龄(54.65 ± 3.10)岁;临床分期:Ⅰ期 20 例,Ⅱ期 22 例,Ⅲ期 20 例,Ⅳ期 25 例;肿瘤分化程度:低分化 30 例,中、高分化 57 例;有淋巴结转移 43 例,无淋巴结转移 44 例;有远处转移 45 例,无远处转移 42 例。纳入标准:(1)病理检查确诊为原发性直肠癌;(2)临床及随访资料完整;(3)术前未进行放、化疗。排除标准:(1)合并心、肾、肝等重要器官功能障碍;(2)合并精神疾病;(3)合并其他部位肿瘤。本研究获得唐山市中医医院医学伦理委员会审查批准,患者均签署知情同意书。

1.2 仪器与试剂 Trizol 试剂(批号:TR118-100)购自上海素尔生物科技有限公司;PrimeScript™ RT Master Mix 反转录试剂盒(批号:RR047A)购自日本 Takara 公司;AceQ qPCR SYBR Green Master Mix RT-qPCR 试剂盒(批号:Q111-02)购自南京诺唯赞生物科技有限公司;免疫组织化学染色法检测试剂盒(批号:QN2715)、羊抗兔 IgG 二抗(批号:QN2732-PWV)均购自北京百奥莱博科技有限公司;柠檬酸抗原修复液(批号:C1031)、二氨基联苯胺(DAB)显色试剂盒(批号:DA1010)购自北京索莱宝科技有限公司;TNFRSF10B 兔抗人单克隆抗体(批号:BW5737)购自美国 Santa 公司;RT-qPCR 仪(型号:SLAN-96P)购自上海宏石医疗科技有限公司;光学显微镜(型号:DM6M LIBS)购自德国徕卡公司;RT-qPCR 所需引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

1.3 方法

1.3.1 RT-qPCR 检测直肠癌组织和癌旁组织中 TNFRSF10B mRNA 的表达 取研究对象的直肠癌组织及癌旁组织标本,按照 Trizol 试剂盒说明书,提

取组织 RNA,注意组织研磨时应在冰盒上快速进行,提取后检测其浓度,用 PrimeScript™ RT Master Mix 反转录试剂盒进行反转录。配制 RT-qPCR 反应体系 20 μ L,每个标本重复检测 3 次,以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)为内参,PCR 反应条件:预变性 95 $^{\circ}$ C 30 s,40 个循环,95 $^{\circ}$ C 10 s,60 $^{\circ}$ C 20 s,延伸 70 $^{\circ}$ C 10 s。TNFRSF10B 引物序列:上游引物 5'-CGGGCAGATCACTACACCC-3',下游引物 5'-AGTTCCTTCTGACAGGTACTG-3';GAPDH 引物序列:上游引物 5'-AGCCACATCGCTCAGACAC-3',下游引物 5'-GCCCAATACGACCAAATCC-3'。反应结束后,TNFRSF10B 相对表达水平用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 计算。

1.3.2 免疫组织化学染色法检测直肠癌组织和癌旁组织中 TNFRSF10B 蛋白的表达 将直肠癌组织及癌旁组织固定、脱水、石蜡包埋后连续切片,切片厚度约 5 μ m,免疫组织化学染色采用两步法,加兔抗人 TNFRSF10B 一抗(1:150),二甲苯脱蜡、水化,置于柠檬酸修复液中,高压修复抗原,孵育一抗、二抗,DAB 显色,苏木素复染,温水返蓝,脱水、中性树脂进行封片,观察。TNFRSF10B 染色结果从染色细胞百分比和染色强度两方面进行综合判断,(1)根据染色强度记分:无色、淡黄色、棕黄色、棕褐色分别记为 0、1、2、3 分;(2)根据阳性细胞百分比记分:<5%、5%~25%、>25%~50%、>50%~75%、>75%分别记为 0、1、2、3、4 分。染色强度和阳性细胞百分比记分相乘的值 ≤ 3 分为低表达,>3 分为高表达^[7]。

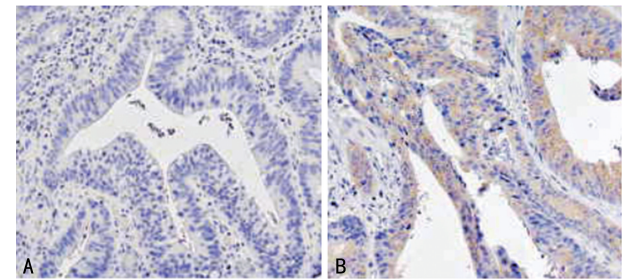
1.3.3 随访 术后对直肠癌患者均进行为期 3 年的随访,随访方式为门诊复查和电话随访,每 3 个月随访 1 次,如患者在随访期内死亡则以死亡日期作为随访截止日期。

1.4 统计学处理 采用 SPSS22.0 软件进行数据分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 t 检验;计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;采用 Cox 回归分析影响直肠癌患者预后的危险因素。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 TNFRSF10B mRNA 在癌旁组织和直肠癌组织中的表达水平比较 癌旁组织中 TNFRSF10B mRNA 的表达水平(1.30 ± 0.12)明显低于直肠癌组织中 TNFRSF10B mRNA 的表达水平(2.62 ± 0.15),差异有统计学意义($t = 64.094, P < 0.05$)。

2.2 TNFRSF10B 蛋白在癌旁组织和直肠癌组织中的高表达率比较 癌旁组织中 TNFRSF10B 蛋白的高表达率为 13.79%,明显低于直肠癌组织中 TNFRSF10B 蛋白的高表达率(54.02%),差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图 1、表 1。



注：A 为 TNFRSF10B 蛋白在癌旁组织中的表达；B 为 TNFRSF10B 蛋白在直肠癌组织中的表达。

图 1 TNFRSF10B 蛋白在癌旁组织和直肠癌组织中的表达情况(×400)

表 1 TNFRSF10B 蛋白在直肠癌组织及癌旁组织中的表达情况[n(%)]			
组别	n	低表达	高表达
癌旁组织	87	75(86.21)	12(13.79)
直肠癌组织	87	40(45.98)	47(54.02)
χ ²		31.415	
P		<0.001	

2.3 TNFRSF10B 蛋白表达与直肠癌患者临床病理特征的关系 TNFRSF10B 蛋白表达与直肠癌患者临床分期、肿瘤分化程度、淋巴结转移、远处转移有关($P<0.05$),与患者性别、年龄无关($P>0.05$)。见表 2。

2.4 TNFRSF10B 蛋白表达对直肠癌患者生存情况的影响 TNFRSF10B 蛋白高表达的直肠癌患者 3 年生存率为 57.45%(27/47),低于 TNFRSF10B 蛋白低

表达直肠癌患者的 3 年生存率[80.00%(32/40)],差异有统计学意义($P<0.05$)。

表 2 TNFRSF10B 蛋白表达与直肠癌患者临床病理特征的关系(n)

临床病理特征	n	低表达 (n=40)	高表达 (n=47)	χ ²	P
性别				1.691	0.193
男	50	20	30		
女	37	20	17		
年龄(岁)				1.628	0.202
<55	35	19	16		
≥55	52	21	31		
临床分期(期)				9.904	0.002
I+II	42	12	30		
III+IV	45	28	17		
肿瘤分化程度				4.706	0.030
低	30	9	21		
中、高	57	31	26		
淋巴结转移				17.672	<0.001
有	43	10	33		
无	44	30	14		
远处转移				10.959	0.001
有	45	13	32		
无	42	27	15		

2.5 预后影响因素分析 单因素分析结果显示, TNFRSF10B 蛋白表达情况、临床分期、肿瘤分化程度、淋巴结转移是直肠癌患者预后的影响因素($P<0.05$)。多因素分析结果显示, TNFRSF10B 蛋白高表达、临床分期 III+IV 期、淋巴结转移是影响直肠癌患者预后的独立危险因素($P<0.05$)。见表 3。

表 3 影响直肠癌患者预后的危险因素分析						
变量	单因素分析			多因素分析		
	HR	95%CI	P	HR	95%CI	P
年龄	1.380	0.928~2.053	0.114	1.239	0.834~1.840	0.286
TNFRSF10B 蛋白表达情况	2.519	1.834~3.459	<0.001	1.958	1.728~2.219	<0.001
临床分期	1.354	1.063~1.725	0.017	1.458	1.152~1.846	0.002
肿瘤分化程度	1.574	1.250~1.983	<0.001	1.265	0.998~1.603	0.052
淋巴结转移	1.987	1.572~2.511	<0.001	1.857	1.462~2.359	<0.001
远处转移	1.450	0.975~2.156	0.064	1.431	0.960~2.134	0.757

3 讨 论

直肠癌是发病率和病死率较高的恶性肿瘤之一,目前,早期直肠癌的治疗多以手术为主,中晚期直肠癌多采用放疗和化疗,然而治疗后易复发,严重影响着患者的身体健康和生命安全^[8-9]。随着生物科学技术的发展,从分子水平寻找直肠癌患者的预后预测指标已成为研究的热点。TNFRSF 有多种生物学功能,在炎症反应、肿瘤、人体免疫等方面发挥着重要作用, TNFRSF 与其受体结合后可以激活炎症反应,促进炎症信号传递,与机体炎症免疫相关^[10-11]。韩翰等^[12]研

究发现, TNFRSF10B 的表达影响乳腺癌细胞的自噬作用。大量研究表明,激活 TRAIL 及其受体 TNFRSF10B 可有效促进胃癌、宫颈癌、胰腺癌等癌细胞的凋亡^[13-15]。 TNFRSF10B 在多种肿瘤疾病中发挥着重要作用,但关于 TNFRSF10B 在直肠癌中的研究报道较少,因此研究其表达与直肠癌发生、发展的关系具有一定的必要性。本研究发现, TNFRSF10B mRNA 及蛋白在直肠癌组织中高表达,与部分研究发现的宫颈癌、乳腺癌、胰腺癌、胃癌中 TNFRSF10B 高表达的结果一致^[12-15],提示 TNFRSF10B 高表达与直

肠癌发生有关,其高表达可能与机体在肿瘤发生时的主动抗肿瘤自卫机制有关。

研究发现, TNFRSF10B 在膀胱癌组织中高表达,褪黑素能通过影响 TNFRSF10B 的表达水平,从而促进膀胱癌细胞凋亡^[16]。RASHEDUZZAMAN 等^[17]研究表明,非小细胞肺癌细胞中 TNFRSF10B 呈高表达,替米沙坦可以增强 TRAIL 的敏感性,促进肿瘤细胞凋亡。ROMAGUERA 等^[18]研究发现, TNFRSF10B 在淋巴瘤患者中高表达,且参与淋巴瘤的发生、发展过程。以上研究提示 TNFRSF10B 在肿瘤细胞凋亡过程中发挥重要作用。肿瘤患者的预后与肿瘤细胞增殖、凋亡等密切相关。本研究结果显示, TNFRSF10B 蛋白在直肠癌组织中的表达与临床分期、肿瘤分化程度、淋巴结转移、远处转移有关,提示 TNFRSF10B 的表达可能参与直肠癌的发生、发展过程,然而具体机制有待进一步研究。本研究中, TNFRSF10B 蛋白低表达的直肠癌患者 3 年生存率高于 TNFRSF10B 蛋白高表达的直肠癌患者,进一步行多因素 Cox 回归分析结果显示, TNFRSF10B 蛋白高表达、临床分期Ⅲ+Ⅳ期、淋巴结转移是影响直肠癌患者预后的独立危险因素,提示应加强对 TNFRSF10B 高表达、临床分期Ⅲ+Ⅳ期、有淋巴结转移的直肠癌患者的随访,关注其病情变化,并及时给予治疗,从而改善患者预后。

综上所述, TNFRSF10B 在直肠癌组织中高表达,与直肠癌的发生、发展相关,对直肠癌患者预后评估有一定的指导意义。

参考文献

- [1] WELLS S M, BOOTHE D, AGER B J, et al. Analysis of nonsurgical treatment options for metastatic rectal cancer [J]. Clin Colorectal Cancer, 2020, 19(2): 91-99.
- [2] SLUIS F J, COUWENBERG A M, BOCK G H, et al. Population-based study of morbidity risk associated with pathological complete response after chemoradiotherapy for rectal cancer [J]. Br J Surg, 2020, 107(1): 131-139.
- [3] SUN V, WENDEL C S, DEMARK-WAHNEFRIED W, et al. Diet and behavior modifications by long-term rectal cancer survivors to manage bowel dysfunction-associated symptoms [J]. Nutr Cancer, 2019, 71(1): 89-99.
- [4] ZHANG Z Y, YAO Q Z, LIU H Y, et al. Metabolic reprogramming-associated genes predict overall survival for rectal cancer [J]. J Cell Mol Med, 2020, 24(10): 5842-5849.
- [5] WANG Y, GUO S, LI D, et al. YIPF2 promotes chemotherapeutic agent-mediated apoptosis via enhancing TNFRSF10B recycling to plasma membrane in non-small cell

- lung cancer cells [J]. Cell Death Dis, 2020, 11(23): 2892-2911.
- [6] MEDLER J, NELKE J, WEISENBERGER D, et al. TNFRSF receptor-specific antibody fusion proteins with targeting controlled fcγr-independent agonistic activity [J]. Cell Death Dis, 2019, 10(3): 224-235.
- [7] 王晓林, 邓建松, 冯茂辉. 自噬蛋白 Parkin 和 P62 在结直肠癌中的表达 [J]. 中国临床研究, 2019, 8(5): 577-580.
- [8] MORIDIKIA A, MIRZAEI H, SAHEBKAR A, et al. MicroRNAs: potential candidates for diagnosis and treatment of colorectal cancer [J]. J Cell Physiol, 2018, 233(2): 901-913.
- [9] NAKAMURA T, SATO T, HAYAKAWA K, et al. Strategy to avoid local recurrence in patients with locally advanced rectal cancer [J]. Radiat Oncol, 2019, 14(1): 53-66.
- [10] QU Y, LIAO Z, WANG X, et al. EFLDO sensitizes liver cancer cells to TNFSF10-induced apoptosis in a p53-dependent manner [J]. Mol Med Rep, 2019, 19(5): 3799-3806.
- [11] KIM K H, CHOI H, KIM H J, et al. TNFSF14 inhibits melanogenesis via NF-κB signaling in melanocytes [J]. Cytokine, 2018, 110(1): 126-130.
- [12] 韩翰, 周慧, 孙玮璐, 等. 敲低 TRAIL-DR5 抑制辛二酰苯胺异羟肟酸 (SAHA) 诱导的 MCF-7 乳腺癌细胞自噬 [J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2017, 33(11): 1504-1510.
- [13] 李晓兰, 谢环, 刘云. 宫颈癌细胞凋亡逃逸与肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体及其受体的表达 [J]. 中国妇幼保健, 2016, 31(13): 2729-2733.
- [14] 朱颖, 汤玉茗, 黄佳, 等. 肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体对胰腺癌细胞凋亡的影响 [J]. 中华胰腺病杂志, 2019, 19(3): 198-201.
- [15] 孙佳玮, 魏思思, 董佩, 等. 香加皮杠柳苷联用 TRAIL 对胃癌 SGC-7901 和 MGC-803 细胞的作用及其机制 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2017, 24(10): 1076-1080.
- [16] LIU S, LIANG B, JIA H, et al. Evaluation of cell death pathways initiated by antitumor drugs melatonin and valproic acid in bladder cancer cells [J]. FEBS Open Bio, 2017, 7(6): 798-810.
- [17] RASHEDUZZAMAN M, MOON J H, LEE J H, et al. Telmisartan generates ROS-dependent upregulation of death receptor 5 to sensitize TRAIL in lung cancer via inhibition of autophagy flux [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2018, 102: 20-30.
- [18] ROMAGUERA J E, LEE H J, TARAPORE R, et al. Integrated stress response and immune cell infiltration in an ibrutinib-refractory mantle cell lymphoma patient following ONC201 treatment [J]. Br J Haematol, 2019, 185(1): 133-136.