

## • 短篇论著 •

# NSCLC 癌组织中 DCLK1、Caspase-3 和 GLI3 蛋白表达情况与淋巴结转移和预后的相关性

冯海玲<sup>1</sup>, 范长玲<sup>1</sup>, 潘中军<sup>1</sup>, 何圣科<sup>1</sup>, 张 敏<sup>2</sup>

海南省儋州市人民医院:1. 病理科;2. 检验科, 海南儋州 571700

**摘要:**目的 研究非小细胞肺癌(NSCLC)癌组织中双肾上腺素样激酶 1(DCLK1)、半胱氨酸蛋白酶-3(Caspase-3)和 GLI 家族锌指蛋白 3(GLI3)表达情况与其淋巴结转移和预后的相关性。方法 以 2016 年 2 月至 2017 年 3 月该院诊治的 NSCLC 患者 60 例作为研究对象, 均予以安罗替尼靶向治疗 3 个月后随访 3 年, 根据患者是否死亡将其分为死亡组和生存组, 所有患者均进行肺部活检, 取患者的癌组织以及癌旁组织, 比较癌组织以及癌旁组织 DCLK1、Caspase-3 和 GLI3 蛋白表达情况的差异; 比较不同病理状态、不同预后的患者癌组织 DCLK1、Caspase-3 和 GLI3 蛋白表达情况的差异, 分析不良预后以及肿瘤淋巴结转移与癌组织中 DCLK1、Caspase-3 和 GLI3 蛋白表达的相关性。结果 癌组织的 Caspase-3 和 GLI3 蛋白高表达比例显著高于癌旁组织, DCLK1 蛋白的高表达比例显著低于癌旁组织, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ); 不同性别、年龄、TNM 分期患者癌组织中 DCLK1、Caspase-3 和 GLI3 蛋白表达情况的差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ); 腺癌患者癌组织中的 Caspase-3 和 GLI3 蛋白高表达比例显著高于鳞癌患者, DCLK1 蛋白高表达比例显著低于鳞癌患者, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ); 有淋巴结转移的患者癌组织中的 Caspase-3 和 GLI3 蛋白高表达比例显著高于无淋巴结转移的患者, DCLK1 蛋白高表达比例显著低于无淋巴结转移的患者, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ); 相关性分析显示, NSCLC 的淋巴结转移以及不良预后分别与癌组织中 Caspase-3( $r = 0.459, 0.767, P < 0.05$ ) 和 GLI3 蛋白表达( $r = 0.334, 0.456, P < 0.05$ ) 呈正相关, 与 DCLK1 蛋白表达呈负相关( $r = -0.553, -0.877, P < 0.05$ )。结论 NSCLC 的淋巴结转移以及不良预后分别与癌组织中 Caspase-3 和 GLI3 蛋白表达呈正相关, 与 DCLK1 蛋白表达呈负相关, 可指导 NSCLC 的临床诊断。

**关键词:**非小细胞肺癌; GLI 家族锌指蛋白; 半胱氨酸蛋白酶-3; 双肾上腺素样激酶 1

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2021.21.025

**文章编号:**1673-4130(2021)21-2672-04

**中图法分类号:**R446.1

**文献标志码:**A

非小细胞肺癌(NSCLC)是临床较为常见的恶性肿瘤之一, 流行病学调查显示, NSCLC 约占肺癌总数的 80%<sup>[1]</sup>。NSCLC 发病早期均无明显的症状, 大多数患者发病时已为晚期, 丧失了手术治疗的绝佳时机<sup>[2]</sup>。所以, 在临床治疗中, 通过对患者临床标志物的分析进行临床辅助诊断已经成为目前研究的热点。双肾上腺素样激酶 1(DCLK1)是神经元细胞有丝分裂的重要微管相关激酶<sup>[3]</sup>, 有研究显示, DCLK1 可通过对 NSCLC 患者的微小 RNA(miRNA)-144 水平的显著性抑制, 进一步促进肿瘤细胞的上皮间质化, 对肿瘤的进展具有重要作用<sup>[4]</sup>。GLI 家族锌指蛋白 3(GLI3)可通过对 NSCLC 癌细胞的增殖以及凋亡的调控, 进而促进肿瘤细胞的转移<sup>[5]</sup>。半胱氨酸蛋白酶-3(Caspase-3)是肿瘤细胞凋亡途径中最为重要的执行因子, 通过对上游信号的显著性激活, 引发局部级联反应, 进一步引起细胞凋亡<sup>[6]</sup>。本研究主要通过对 NSCLC 癌组织中 DCLK1、Caspase-3 和 GLI3 蛋白表达情况与其淋巴结转移和预后的相关性分析, 为 NSCLC 的临床诊断以及预后评价提供科学依据。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取 2016 年 2 月至 2017 年 3 月本院诊断的 NSCLC 患者 60 例作为研究对象, 其中男

36 例, 女 24 例; 年龄 59~77 岁, 平均(64.24±2.09)岁; 平均体质量指数(BMI)为(24.66±2.11)kg/m<sup>2</sup>; 病程 4~11 年, 平均(6.44±2.39)年; TNM 分期: ⅢA 期 11 例、ⅢB 期 37 例、Ⅳ 期 12 例; 病理类型: 腺癌 32 例, 鳞癌 28 例; 肿瘤位置: 中央型 32 例, 周围型 28 例; 有淋巴结转移 33 例, 无淋巴结转移 27 例。纳入标准:(1)所有患者均符合 NSCLC 诊断标准<sup>[7]</sup>;(2)预计生存时间>6 个月;(3)心电图无异常;(4)肿瘤大小均可经 CT 进行测量;(5)患者卡氏评分≥70 分, 身体可耐受化疗。排除标准:(1)诊断或合并小细胞肺癌者;(2)治疗过程中出现严重中性粒细胞降低、神经毒性以及外周神经炎患者;(3)有严重精神障碍无法配合者;(4)有严重心脏、肝、肾功能障碍的患者;(5)对本研究药物过敏或者不耐受患者。本研究经医院伦理委员会批准, 所有患者均签署知情同意书。

**1.2 方法** 所有患者均进行肺部活检, 取患者的癌组织以及癌旁组织, 采用石蜡包埋后进行连续切片, 切片的厚度设定为 4 μm, 采用 pH6.0 的柠檬酸修复液对石蜡切片进行脱蜡以及脱水, 采用高压加热法对抗原进行修复。分别采用 1:100 的 DCLK1、Caspase-3 和 GLI3 抗体进行滴加, 在 4 ℃ 下孵育过夜, 采用多聚物酶标二抗进行滴加后, 在 37 ℃ 下继续

孵育 45 min, 采用二氨基联苯胺(DAB)进行显色, 苏木精进行复染。细胞质内出现棕黄色或棕褐色颗粒物即为 DCLK1、Caspase-3 和 GLI3 阳性。采用染色强度以及阳性细胞的二级计数法对 DCLK1、Caspase-3 和 GLI3 进行评分, 无染色为 0 分, 淡黄色为 1 分, 黄褐色为 2 分, 深褐色为 3 分。阳性细胞比例<10% 为 0 分, 10%~25% 为 1 分, >25%~50% 为 2 分, >50%~100% 为 3 分。将染色强度以及染色比例的评分乘积作为以上蛋白表达程度的评价依据, 6 分以下为低表达, 6 分及 6 分以上为高表达<sup>[8]</sup>。比较癌组织以及癌旁组织 DCLK1、Caspase-3 和 GLI3 蛋白表达情况的差异; 比较不同病理状态、不同预后的患者癌组织 DCLK1、Caspase-3 和 GLI3 蛋白表达情况的差异。分别对癌组织的 DCLK1、Caspase-3 和 GLI3 蛋白表达情况与肿瘤的淋巴结转移、预后之间的相关性进行分析。所有患者均进行安罗替尼靶向治疗 3 个月, 且对所有患者展开为期 3 年的随访, 以死亡作为终点事件, 将其分为死亡组和生存组。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS22.0 统计软件进行数据分析, 计数资料以例数或百分率表示, 组间比较采

用  $\chi^2$  检验, 采用 Spearman 相关进行相关性分析。以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 癌组织及癌旁组织的 DCLK1、Caspase-3 和 GLI3 蛋白表达情况比较** 癌组织的 Caspase-3 和 GLI3 蛋白高表达比例显著高于癌旁组织, DCLK1 蛋白的高表达比例显著低于癌旁组织, 差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 1。

**2.2 不同临床特征患者癌组织中的 DCLK1、Caspase-3 和 GLI3 蛋白表达情况比较** 不同性别、年龄、TNM 分期患者癌组织中 DCLK1、Caspase-3 和 GLI3 蛋白表达情况之间差异均无统计学意义( $P>0.05$ ); 腺癌患者癌组织中的 Caspase-3 和 GLI3 蛋白高表达比例显著高于鳞癌患者, DCLK1 蛋白高表达比例显著低于鳞癌患者, 差异均有统计学意义( $P<0.05$ ); 有淋巴结转移的患者癌组织中的 Caspase-3 和 GLI3 蛋白高表达比例显著高于无淋巴结转移的患者, DCLK1 蛋白高表达比例显著低于无淋巴结转移的患者, 差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 2。

表 1 癌组织以及癌旁组织中的 DCLK1、Caspase-3 和 GLI3 蛋白表达情况比较[n(%)]

组别	n	GLI3		Caspase-3		DCLK1	
		高表达	低表达	高表达	低表达	高表达	低表达
癌组织	60	53(88.33)	7(11.67)	47(78.33)	13(21.67)	8(13.33)	52(86.67)
癌旁组织	60	22(36.67)	38(63.33)	35(58.33)	25(41.67)	17(28.33)	43(71.67)
$\chi^2$		34.172		5.554		4.090	
P		<0.001		0.019		0.043	

表 2 不同临床特征患者癌组织中的 DCLK1、Caspase-3 和 GLI3 蛋白表达情况比较[n(%)]

临床特征	n	GLI3		Caspase-3		DCLK1	
		高表达	低表达	高表达	低表达	高表达	低表达
性别							
男	36	33(91.67)	3(8.33)	26(72.22)	10(27.78)	4(11.11)	32(88.89)
女	24	20(83.33)	4(16.67)	21(87.50)	3(12.50)	4(16.67)	20(83.33)
$\chi^2$		0.972		1.981		0.381	
P		0.325		0.159		0.535	
年龄							
>60 岁	38	33(86.84)	5(13.16)	30(78.95)	8(21.05)	3(7.89)	35(92.11)
≤60 岁	22	20(90.91)	2(9.09)	17(77.27)	5(22.73)	5(22.73)	17(77.27)
$\chi^2$		0.221		0.023		2.651	
P		0.636		0.879		0.103	
TNM 分期							
Ⅲ A~Ⅲ B 期	48	41(85.42)	7(14.58)	5(10.42)	43(89.58)	5(10.42)	43(89.58)
Ⅳ 期	12	12(100.00)	0(0.00)	3(25.00)	9(75.00)	3(25.00)	9(75.00)
$\chi^2$		1.981		1.571		1.771	
P		0.159		0.210		0.184	
病理类型							
鳞癌	28	22(78.57)	6(21.43)	17(60.71)	11(39.29)	8(28.57)	20(71.43)
腺癌	32	31(96.88)	1(3.12)	30(93.75)	2(6.25)	0(0.00)	32(100.00)
$\chi^2$		4.851		9.602		8.222	
P		0.028		0.002		0.004	
淋巴结转移							
有	33	26(78.79)	7(21.21)	22(66.67)	11(33.33)	1(3.03)	32(96.97)
无	27	27(100.00)	0(0.00)	25(92.59)	2(7.41)	7(25.93)	20(74.07)
$\chi^2$		4.851		5.881		6.741	
P		0.028		0.015		0.009	

**2.3 不同预后患者癌组织中的 DCLK1、Caspase-3 和 GLI3 蛋白表达情况比较** 至随访结束,死亡组 20 例,生存组 40 例。死亡组癌患者癌组织中的 Caspase-3 和 GLI3 蛋白高表达比例显著高于生存组,DCLK1 蛋白高表达比例显著低于生存组,差异均有

统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 3。

**2.4 相关性分析** NSCLC 的淋巴结转移以及不良预后分别与癌组织中 Caspase-3 和 GLI3 蛋白表达情况呈正相关( $P < 0.05$ ),与 DCLK1 蛋白表达情况呈负相关( $P < 0.05$ ),见表 4。

表 3 不同预后患者癌组织的 DCLK1、Caspase-3 和 GLI3 蛋白表达情况比较[n(%)]

组别	n	GLI3		Caspase-3		DCLK1	
		高表达	低表达	高表达	低表达	高表达	低表达
生存组	40	33(82.50)	7(17.50)	28(70.00)	12(30.00)	8(20.00)	32(80.00)
死亡组	20	20(100.00)	0(0.00)	19(95.00)	1(5.00)	0(0.00)	20(100.00)
$\chi^2$		3.961			4.912		4.621
P		0.047			0.027		0.032

表 4 相关性分析

指标	GLI3	Caspase-3	DCLK1
淋巴结转移			
$r$	0.334	0.459	-0.553
P	<0.001	<0.001	<0.001
不良预后			
$r$	0.456	0.767	-0.877
P	<0.001	<0.001	<0.001

### 3 讨 论

NSCLC 是临床发病率较高的恶性肿瘤之一<sup>[9]</sup>,疾病的早期临床症状不明显,加之早期诊断能力有限,多数患者在确诊时已处于晚期,丧失了手术治疗的最佳时机。所以在疾病的早期,通过对 NSCLC 患者生化指标的分析来进行临床辅助诊断对于疾病的诊治具有重要意义<sup>[10]</sup>。

在早期的研究中,DCLK1 主要参与神经元细胞的逆行运输以及迁移,同时在一定程度上还参与了神经元细胞的凋亡。有研究报道,在细胞有丝分裂过程中,DCLK1 可通过与微管细胞的显著性结合作用<sup>[11]</sup>,共同形成细胞骨架,同时在细胞的细胞周期以及分化过程中发挥重要作用。目前已经证实,DCLK1 在胃癌、胰腺癌、结肠癌以及肝癌中呈显著高表达<sup>[12]</sup>。本研究对不同预后以及淋巴结转移情况患者的 DCLK1 蛋白表达情况分析发现,随着患者淋巴结转移的发生以及不良预后的发展,患者的 DCLK1 水平显著下降。周美玲等<sup>[13]</sup>的研究报道,DCLK1 与 NSCLC 肿瘤细胞的淋巴结转移显著相关。随着疾病的进展,由于肿瘤细胞对正常细胞的破坏能力增强,正常细胞的骨架被显著破坏,因此患者的 DCLK1 水平显著下降。

GLI3 蛋白是通路转录因子蛋白中的重要分子,在 Hh 信号通路中具有重要作用。在 Hh 信号通路中,GLI3 蛋白通过对 NSCLC 肿瘤细胞增殖、凋亡以及耐药情况的介导,进而促进肿瘤进展。在动物实验中已经证实,通过对实验小鼠进行氯化钾抑制糖原合成酶激酶的作用,进一步促进 GLI3 蛋白的加工合成

能力,在一定程度上促进了直肠癌的进展<sup>[14]</sup>。陈盈盈等<sup>[15]</sup>通过对 NSCLC 患者 GLI3 蛋白水平的分析发现,随着患者的疾病进展,患者的 GLI3 蛋白水平显著升高,提示在淋巴结转移过程中,GLI3 蛋白还可通过血行播散等方式促进肿瘤的进展。

在 NSCLC 的病程中,由于肿瘤细胞对正常细胞的显著性破坏作用,局部组织的炎性反应加重,而 Caspase-3 主要在 Nod 样受体家族 pyrin 结构域蛋白 3(NLRP3)的 C 末端进行胱天蛋白募集以及在热蛋白结构域的作用下形成,在此形成过程中,由于炎性反应被显著激活,局部炎性反应水平呈级联式增长,进一步造成正常细胞的凋亡。肖丽娜等<sup>[16]</sup>在对 NSCLC 患者 Caspase-3 表达水平与肿瘤细胞凋亡情况的分析中发现,患者的 Caspase-3 水平与肿瘤细胞的凋亡呈正相关。

综上所述,NSCLC 的淋巴结转移以及不良预后分别与癌组织中 Caspase-3 和 GLI3 蛋白表达情况呈正相关,与 DCLK1 蛋白表达情况呈负相关,可为日后临床诊断提供依据。但本研究也存在一定的局限性,如样本量较小,所选取的患者均为中晚期患者等,有待后续进一步研究。

### 参考文献

- [1] 黄谦,李代强.吉非替尼治疗晚期非小细胞肺癌耐药前后患者血清 miRNAs 的表达差异[J].中南大学学报(医学版),2018,43(12):1288-1293.
- [2] 董雯婷,陈娴,范艳妮,等.2005—2015 年非小细胞肺癌住院病例特征分析及趋势预测[J].中国病案,2018,19(5):44-47.
- [3] 陈贤真,乔建瓯.血清中 DCLK1 在非小细胞肺癌中的表达及应用价值[J].中国实验诊断学,2019,23(11):1924-1928.
- [4] 周美玲,A20 和 DCLK1 蛋白在非小细胞肺癌中的表达及意义[D].吉首:吉首大学,2018.
- [5] 达丽隽,李华,张献全.沉默 Gli1 基因对人非小细胞肺癌 A549/DDP 顺铂耐药性的影响[J].中国免疫学杂志,2019,35(10):1031-1035.

- 2014, 30(8):1064-1068.
- [6] 杨丽, 张祖艳, 柴大敏. 周围型肺癌 CT 征象与 PCNA 和 Bcl-2 及 Caspase-3 蛋白表达关联研究[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2020, 27(8):605-611.
- [7] 吴一龙, 张绪超, 王洁. 非小细胞肺癌血液 EGFR 基因突变检测中国专家共识[J]. 中华医学杂志, 2015, 95(46): 3721-3726.
- [8] WANG J, CHRISTOPHER P, DEBORAH C, et al. Design and in vivo characterization of kidney-targeting multimodal micelles for renal drug delivery[J]. Nano Research, 2018, 11(10):5584-5595.
- [9] SHIN J W, KWON S B, BAK Y, et al. BCI induces apoptosis via generation of reactive oxygen species and activation of intrinsic mitochondrial pathway in H1299 lung cancer cells[J]. Sci China Life Sci, 2018, 61(10): 1243-1253.
- [10] ZHANG L M, LI Y, CHEN Q H, et al. The construction of drug-resistant cancer cell lines by CRISPR/Cas9 system for drug screening[J]. Sci Bull, 2018, 63(21): 1411-1419.
- [11] ZHANG X, LIU Y, HUANG W C, et al. MiR-125b-1-3p

• 短篇论著 •

## 中孕期母血产前筛查的室内质控结果室间比对分析

张 颖, 段红蕾, 李照侠, 朱雨捷, 李 洁<sup>△</sup>

南京大学医学院附属鼓楼医院产前诊断中心, 江苏南京 210008

**摘要:** 目的 分析母血产前筛查实验室的室内质量控制数据实验室间比对。方法 在江苏省产前筛查质控数据平台上, 收集 2018 年 9 月至 2019 年 8 月 33 家运用时间分辨荧光法检测的同批号、3 个水平质控品的甲胎蛋白(AFP)和游离人绒毛膜促性腺激素(Free $\beta$ -hCG)实验室质控数据 9 632 个, 统计分析其精密度及一致性。结果 纳入数据 9 494 个, 其中 33 家实验室检测 AFP 和 Free $\beta$ -hCG 的精密度合格率分别 97.0%(32/33) 和 78.8%(26/33), 33 家实验室检测 AFP 和 Free $\beta$ -hCG 结果的一致性合格率为 100.0%。结论 室内质量控制数据实验室间比对可发现同一检验平台中检测结果的不一致性, 有利于提升检验结果的可比性和提高检验质量。

**关键词:** 中孕期母血筛查; 室内质量控制; 室间比对; 可比性

**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2021.21.026

**文章编号:** 1673-4130(2021)21-2675-05

中孕期母血清学筛查主要通过检测母血清中甲胎蛋白(AFP)、游离人绒毛膜促性腺激素(Free $\beta$ -hCG)水平, 同时结合孕妇年龄、体质、采血孕周等妊娠相关信息, 评估胎儿 21-三体、18-三体、开放性神经管畸形的患病风险<sup>[1-2]</sup>。实验室对 AFP、Free $\beta$ -hCG 指标检测的准确性, 将直接影响筛查结论及后续的临床处理, 严格的室内质量控制(简称质控)管理和室间质评是高质量产前筛查工作中的重要环节<sup>[3]</sup>。为更

好评估实验室检测的精密度和准确度, 在已有室内质控和室间质评的基础上, 江苏省在全省范围内开展孕中期母血清学筛查数据室内质控室间比对工作。

- 1 资料与方法
- 1.1 数据采集 在江苏省产前筛查质控数据平台上, 收集 2018 年 9 月至 2019 年 8 月 33 家检测单位上报的中孕期母血清学产前筛查的 AFP、Free $\beta$ -hCG 质控数据 9 632 个。
- [12] LIU S, CHEN P, LIU Y W, et al. Role of recursive partitioning analysis and graded prognostic assessment on identifying non-small cell lung cancer patients with brain metastases who may benefit from postradiation systemic therapy[J]. Chin Med J, 2018, 131(10): 1206-1213.
- [13] 周美玲, 贺兼斌, 向明钧, 等. DCLK1 和 A20 在非小细胞肺癌中的表达及意义[J]. 临床肺科杂志, 2018, 23(8): 1464-1467.
- [14] 李霞, 徐美林, 耿华, 等. Gli-1 与 EMT 相关蛋白在非小细胞肺癌中的表达及临床意义[J]. 中国肿瘤临床, 2017, 44(24): 1232-1237.
- [15] 陈盈盈, 李晓琴, 刘春玲. 非小细胞肺癌组织中 GLI3 蛋白的表达变化及其意义[J]. 山东医药, 2019, 59(18): 36-39.
- [16] 肖丽娜, 周先荣, 张青华. Caspase-3 蛋白在非小细胞肺癌中的表达及其与肿瘤细胞凋亡的关系[J]. 检验医学与临床, 2019, 16(14): 2034-2036.

(收稿日期: 2021-03-12 修回日期: 2021-06-17)

<sup>△</sup> 通信作者, E-mail: jie1967@126.com。

本文引用格式: 张颖, 段红蕾, 李照侠, 等. 中孕期母血产前筛查的室内质控结果室间比对分析[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(21): 2675-2679.