

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2013.03.017

## 人脑胶质瘤组织中 CPEB4 和 Bcl-xl 蛋白的表达及其临床意义

### Expression of CPEB4 and Bcl-xl proteins in human glioma tissues and its clinical significance

梁博,王新军,周少龙(郑州大学第五附属医院 神经外科,河南 郑州 450052)

**[摘要]** **目的:**探讨人脑胶质瘤组织中胞质多聚腺苷酸化成分结合蛋白 4( cytoplasmic polyadenylation element-binding protein 4, CPEB4)和 B 细胞淋巴瘤-XL( B-cell lymphoma-extra large, Bcl-xl)蛋白的表达及其临床意义。**方法:**收集郑州大学第五附属医院 2010 年 1 月至 2012 年 3 月手术切除且经病理证实的 65 例人脑胶质瘤存档蜡块( WHO I 级 8 例、II 级 19 例、III 级 21 例、IV 级 17 例)和 10 例正常脑组织,采用免疫组织化学 SP 法检测 CPEB4 和 Bcl-xl 蛋白的表达,分析 CPEB4 和 Bcl-xl 与脑胶质瘤临床病理特征间的相关性。**结果:**人脑胶质瘤组织中 CPEB4 和 Bcl-xl 蛋白的阳性表达率均显著高于正常脑组织( 63.10% vs 0.00%, 70.77% vs 20.00%; 均  $P < 0.01$  )。CPEB4 和 Bcl-xl 蛋白的阳性表达率与患者的年龄、性别及家族史均无明显相关性(  $P > 0.05$  ),但与肿瘤的恶性程度呈正相关(  $P < 0.05$  )。人脑胶质瘤组织中 CPEB4 和 Bcl-xl 蛋白的表达呈正相关关系(  $r = 0.419, P = 0.001$  )。**结论:**CPEB4 和 Bcl-xl 在人脑胶质瘤组织中的阳性表达率明显增高,且与肿瘤恶性程度呈正相关,提示 CPEB4 可能与 Bcl-xl 蛋白相互作用,在人脑胶质瘤的发生、发展中起重要作用。

**[关键词]** 胞质多聚腺苷酸化成分结合蛋白 4; Bcl-xl; 胶质瘤

**[中图分类号]** R739.41; R730.2

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-385X(2013)03-0352-04

脑胶质瘤是人体中枢神经系统最常见的肿瘤,预后较差,其发生是多因素参与的结果,其中既有原癌基因的激活,又有抑癌基因的失活<sup>[1]</sup>。已有研究<sup>[2]</sup>报道,胞质多聚腺苷酸化成分结合蛋白 4( cytoplasmic polyadenylation element-binding protein 4, CPEB4)在脑胶质瘤中呈阳性表达,但对于其阳性率与肿瘤恶性程度的相互关系国内外尚未见相关报道。B 细胞淋巴瘤-XL( B-cell lymphoma-extra large, Bcl-xl)蛋白在多种肿瘤组织,如髓母细胞瘤<sup>[3]</sup>、乳腺癌<sup>[4]</sup>、小细胞肺癌<sup>[5]</sup>等肿瘤组织中均高表达,其过表达可抑制肿瘤细胞凋亡,与肿瘤的发生、发展、转移、侵袭甚至耐药性密切相关。本研究主要检测人脑胶质瘤中 CPEB4 和 Bcl-xl 蛋白的表达,以及它们与人脑胶质瘤临床病理特征之间的关系,探讨它们在人脑胶质瘤发生、发展过程中的作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 临床资料

收集郑州大学第五附属医院 2010 年 1 月至 2012 年 3 月手术切除且经病理证实的 65 例人脑胶质瘤的存档蜡块,其中男性 39 例、女性 26 例,年龄 12 ~ 78 岁,平均( 43.9 ± 2.4 )岁。所有病例术前均未经任何放疗或化疗。另外,随机选取 10 例同期颅脑损伤患者手术获得的无神经系统肿瘤的正常脑组织标本作正常对照,其中男性 6 例、女性 4 例,年龄 15 ~ 67 岁,

平均( 46.2 ± 2.9 )岁。在 65 例人脑胶质瘤标本中,WHO 标准分级 I 级 8 例, II 级 19 例, III 级 21 例, IV 级 17 例。年龄 > 45 岁 43 例, ≤ 45 岁 22 例;有家族史 21 例;无家族史 44 例。实验中涉及到人脑胶质瘤标本及临床资料的收集均与患者签署知情同意书,全部研究方案和程序报医院伦理委员会审查并获批准。

### 1.2 主要材料

兔抗人 CPEB4 多克隆抗体购自美国 Sigma 公司、兔抗人 Bcl-xl 多克隆抗体购自武汉博士德生物工程公司,即用型 SP 超敏免疫组化试剂盒、DAB 显色试剂盒购自福州迈新生物有限公司。

### 1.3 免疫组织化学检测 CPEB4 和 Bcl-xl 蛋白的表达

采用免疫组织化学 SP 法,参照免疫组化试剂盒说明书进行操作。CPEB4 和 Bcl-xl 一抗均按 1:200 稀释,标本经脱蜡、柠檬酸钠抗原修复后进行免疫组化染色,苏木精复染,脱水、封片后显微镜下观察。PBS 液代替一抗做阴性对照,已知阳性的胰腺癌组织切片做阳性对照。

采用双盲法观察每张切片, CPEB4、Bcl-xl 蛋白表达均以肿瘤细胞胞质着色为棕黄色作为染色阳性。每个切片随机选取 5 个高倍视野( × 400 ),每

**[作者简介]** 梁博( 1987 - ),男,河南省平顶山市人,硕士生,主要从事脑肿瘤基础与临床方面的研究。E-mail: liangbo1026@163.com

**[通信作者]** 王新军( Wang Xinjun ),E-mail: wangxj@zzu.edu.cn

个视野计数 100 个细胞,分别计算其阳性细胞率。采用 Ortiz-Zapater 等<sup>[2]</sup>提出的染色标准,对 CPEB4 蛋白检测结果进行判断:(1)按阳性细胞数百分比计分: $\leq 10\%$  为 1 分; $10\% \sim 50\%$  为 2 分; $> 50\%$  为 3 分。(2)按阳性细胞着色深浅计分:无着色为 0 分;淡黄色为 1 分;棕黄色为 2 分。两部分相加为最后得分。0 分表示阴性; $\leq 2$  分为阳性低表达; $> 2$  分为阳性高表达。采用 Karczmarek-Borowska 等<sup>[5]</sup>提出的染色标准对 Bcl-xl 蛋白检测结果进行判断:阳性细胞率 $\leq 10\%$  为阴性,阳性细胞率 $> 10\%$  为阳性。

#### 1.4 统计学处理

采用 SPSS17.0 统计软件,组间比较采用  $\chi^2$  检验,采用列联系数评价关联性。以  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 人脑胶质瘤组织和正常脑组织中 CPEB4 和 Bcl-xl 蛋白的表达

免疫组织化学检测结果(图 1)显示,人脑胶质瘤组织中 CPEB4 蛋白的阳性表达率为 63.10% (41/65),显著高于正常脑组织的 0 (0/10) ( $P = 0.000$ )。人脑胶质瘤组织中 Bcl-xl 蛋白的阳性表达率为 70.77% (46/65),高于正常脑组织的 20.00% (2/10) ( $P = 0.002$ )。提示 CPEB4 和 Bcl-xl

蛋白可能在胶质瘤的发生、发展过程中起到重要的作用。

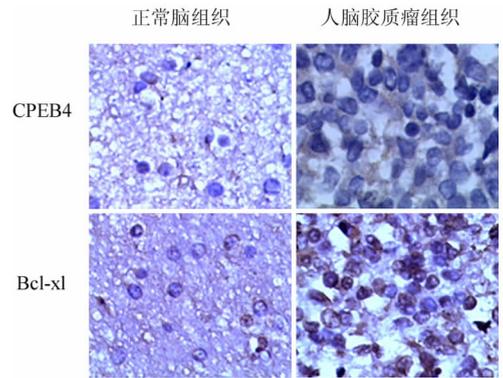


图 1 免疫组化法检测人脑胶质瘤组织中 CPEB4 和 Bcl-xl 蛋白的表达 (SP,  $\times 400$ )

### 2.2 人脑胶质瘤组织中 CPEB4 和 Bcl-xl 蛋白的表达与临床病理特征的关系

CPEB4 和 Bcl-xl 蛋白的表达与患者的性别、年龄及是否有家族史均无关 ( $P > 0.05$ ),但随着肿瘤病理级别的增加,上述 CPEB4 和 Bcl-xl 蛋白的表达率也开始增加 ( $P < 0.05$ ,表 1)。提示 CPEB4 和 Bcl-xl 蛋白的表达率与胶质瘤的恶性程度有明显相关性,即恶性程度越高,表达率越高,而表达率与性别、年龄及家族史没有相关性。

表 1 人脑胶质瘤组织中 CPEB4 及 Bcl-xl 蛋白的表达与临床病理特征的关系

病理特征	n	CPEB4			Bcl-xl		
		阳性[ n(%) ]	$\chi^2$	P	阳性[ n(%) ]	$\chi^2$	P
级别			23.055	0.000		11.457	0.007
I	8	2(25.00)			3(37.50)		
II	19	7(36.84)			10(52.63)		
III	21	15(71.43)			18(85.71)		
IV	17	17(100.0)			15(88.24)		
性别			1.585	0.208		1.785	0.182
男	39	27(69.23)			30(76.92)		
女	26	14(53.85)			16(61.54)		
年龄(t/a)			2.442	0.118		0.818	0.366
>45	43	30(69.77)			32(74.42)		
$\leq 45$	22	11(50.00)			14(63.64)		
家族史			0.929	0.335		0.441	0.507
有	21	15(71.43)			16(76.19)		
无	44	26(59.09)			30(68.18)		

### 2.3 人脑胶质瘤组织中 CPEB4 和 Bcl-xl 蛋白表达呈正关联

关联性分析结果(表2)表明,胶质瘤组织中, CPEB4 与 Bcl-xl 的蛋白表达呈正关联( $r = 0.419$ ,  $P = 0.001$ )。提示 CPEB4 和 Bcl-xl 蛋白共表达可能与胶质瘤恶性进展及预后密切相关,联合检测 CPEB4 和 Bcl-xl 蛋白在胶质瘤组织中的表达可能更准确地评价胶质瘤的侵袭、增殖能力及预后。

表2 脑胶质瘤组织中 CPEB4 和 Bcl-xl 表达的关联性( $n$ )

CPEB4	Bcl-xl		合计	$r$	$P$
	阳性	阴性			
阳性	35	6	41	0.419	0.001
阴性	11	13	24		
合计	46	19	65		

### 3 讨论

CPEB 家族是一组高度保守的介导 mRNA 多聚腺苷酸化和翻译的 RNA 结合蛋白,能促进多聚腺苷酸诱导的翻译过程,并介导干细胞发育、细胞分化、细胞衰老及突触可塑性等过程<sup>[6-7]</sup>。在脊椎动物体内, CPEB 家族蛋白包括 CPEB1~4, 有着各自独特的分子功能及表现型<sup>[8-9]</sup>。CPEB4 基因位于染色体的 5q35.2, 长约 72 000 bp, 其编码蛋白含有 729 个氨基酸, 相对分子质量为 80 200。CPEB4 是神经细胞的一种细胞存活蛋白<sup>[10-11]</sup>, 并且可以调控细胞的减数分裂, 且其在大多数实体肿瘤细胞中异常高表达<sup>[12]</sup>, 可促进肿瘤生长、血管生成和侵袭。CPEB4 过表达存在于许多类型的肿瘤中, 例如胰腺癌、皮肤癌、结直肠癌、肾癌及子宫内膜癌等<sup>[12]</sup>, 表明 CPEB4 蛋白的过表达是癌症发生过程中的普遍机制, 同时也可能成为一种新的治疗靶点。但 CPEB4 在不同亚型细胞分化、衰老等方面的功能不尽相同, CPEB4 在不同肿瘤细胞中的表达也有一定的差异。Ortiz-Zapater 等<sup>[2]</sup>研究表明, CPEB4 还与与肿瘤的生长和血管生成相关, 通过对小鼠肿瘤模型的研究发现, 敲除 CPEB4 基因的肿瘤细胞其侵袭性和恶性转移能力明显减弱, 且肿瘤的生长和增殖能力也显著降低, 肿瘤血管生成明显减少, 小鼠存活率明显增高。然而 Tian 等<sup>[13]</sup>在近期研究中发现, 在肝癌组织中, CPEB4 mRNA 及蛋白水平都出现明显下调, 这种与之前研究矛盾的现象可能与肿瘤的特异性有关, 也可能因为在不同的细胞中, CPEB4 通过结合不同基

因 3'-UTR 区的 CPE 序列来调节靶基因的表达。

Bcl-xl 蛋白是 Bcl-2 蛋白家族中的重要成员, 在细胞凋亡的过程中发挥重要作用<sup>[14]</sup>。Bcl-xl 蛋白含有 241 个氨基酸, 属于 Bcl-2 家族中抗凋亡成员。众所周知, 细胞凋亡是机体清除受损或突变细胞的一种方式, 而凋亡不足则直接导致肿瘤细胞不能得到及时清除, 在不同基因的协同作用下, 将导致细胞恶变并发展成为肿瘤。研究<sup>[15-17]</sup>表明, Bcl-xl 蛋白在多种恶性肿瘤, 如膀胱癌、肝癌及口咽癌等组织中表达上调, 其基因的高表达也提高了肿瘤细胞的耐药性及浸润能力, 进一步提示, Bcl-xl 高表达与肿瘤的恶性进展关系密切。很多学者针对 Bcl-xl 在胶质瘤的基因治疗方面做了大量研究, 发现下调胶质瘤细胞中 Bcl-xl 水平可以促进肿瘤细胞的凋亡<sup>[18]</sup>; 提高机体免疫细胞中 Bcl-xl 的水平, 可以增强机体的抗肿瘤免疫<sup>[19]</sup>; 还可利用 Bcl-xl 调节 CXCL8 的表达水平, 从而影响肿瘤组织血管的生长, 抑制胶质瘤的生长<sup>[20]</sup>。

本研究结果表明, CPEB4 和 Bcl-xl 蛋白在人脑胶质瘤组织中的表达明显高于正常脑组织, 且其阳性表达率与肿瘤的恶性程度呈正相关关系, 与患者年龄、性别、家族史等因素无关, 提示 CPEB4 和 Bcl-xl 蛋白可能在胶质瘤的发生、发展过程中起到重要的作用。另外, 本研究还发现 CPEB4 和 Bcl-xl 蛋白在人脑胶质瘤组织中的表达呈正关联, 说明 CPEB4 和 Bcl-xl 蛋白的共表达可能与胶质瘤恶性进展及预后密切相关, 联合检测 CPEB4 和 Bcl-xl 蛋白在胶质瘤组织中的表达可能更准确地评价胶质瘤的侵袭、增殖能力及患者预后。本研究为 CPEB4 和 Bcl-xl 蛋白作为脑胶质瘤诊断及分级的指标应用于临床的可行性提供了依据, 为胶质瘤发病机制、靶向治疗等的研究提供了新的思路。

### [参考文献]

- [1] 马林, 徐国本, 宋来君, 等. 人脑星形细胞瘤组织中 Survivin 与 P53 的表达 [J]. 郑州大学学报: 医学版, 2006, 41(1): 142-144.
- [2] Ortiz-Zapater E, Pineda D, Martínez-Bosch N, et al. Key contribution of CPEB4-mediated translational control to cancer progression [J]. Nat Med, 2012, 18(1): 83-90.
- [3] 王新军, 赵忠伟, 寿纪新, 等. 髓母细胞瘤组织 Bcl-xl mRNA 和蛋白表达及临床意义 [J]. 实用儿科临床杂志, 2006, 21(23): 1615-1631.
- [4] 李靖若, 李孟圆, 冯宗刚, 等. 乳腺癌组织中 BI-1、Bcl-2 和 Bcl-xl 蛋白的表达 [J]. 郑州大学学报: 医学版, 2008, 43(5): 936-938.
- [5] Karczmarek-Borowska B, Filip A, Wojcierowski J, et al. Estima-

- tion of prognostic value of Bcl-xl gene expression in non-small cell lung cancer [ J ]. Lung Cancer, 2006, 51( 1 ): 61-69.
- [ 6 ] Richter JD. CPEB: A life in translation [ J ]. Trends Biochem Sci, 2007, 32( 6 ): 279-284.
- [ 7 ] Silvera D, Formenti SC, Schneider RJ. Translational control in cancer [ J ]. Nat Rev Cancer, 2010, 10( 4 ), 254-266.
- [ 8 ] Mendez R, Richter JD. Translational control by CPEB: A means to the end [ J ]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2001, 2( 7 ): 521-529.
- [ 9 ] Wang XP, Cooper NG. Comparative in silico analyses of CPEB1-4 with functional predictions [ J ]. Bioinform Biol Insights, 2010, 4, 61-83.
- [ 10 ] Kan MC, Oruganty-Das A, Cooper-Morgan A, et al. CPEB4 is a cell survival protein retained in the nucleus upon ischemia or endoplasmic reticulum calcium depletion [ J ]. Mol Cell Biol, 2010, 30( 24 ): 5658-5671.
- [ 11 ] Igea A, Méndez R. Meiosis requires a translational positive loop where CPEB1 ensues its replacement by CPEB4 [ J ]. EMBO J, 2010, 29( 13 ): 2182-2193.
- [ 12 ] Fernández-Miranda G, Méndez R. The CPEB-family of proteins, translational control in senescence and cancer [ J ]. Ageing Res Rev, 2012, 11( 4 ): 460-472.
- [ 13 ] Tian Q, Liang L, Ding J. et al. MicroRNA-550a acts as a prometastatic gene and directly targets cytoplasmic polyadenylation element-binding protein 4 in hepatocellular carcinoma [ J ]. PLoS One, 2012, 7( 11 ): e48958-e48966.
- [ 14 ] 刘建, 杨建明, 赵俊. Bcl-xl 蛋白与肿瘤 [ J ]. 国际呼吸杂志, 2008, 28( 18 ): 1124-1127.
- [ 15 ] Wang GY, Zhang JW, Liu LY, et al. Quercetin potentiates doxorubicin mediated antitumor effects against liver cancer through p53/Bcl-xl [ J ]. PLoS One, 2012, 7( 12 ): e51764-e51775.
- [ 16 ] Kumar B, Cordell KG, Lee JS, et al. EGFR, p16, HPV Titer, Bcl-xl and p53, sex, and smoking as indicators of response to therapy and survival in oropharyngeal cancer [ J ]. J Clin Oncol, 2008, 26( 19 ): 3128-3137.
- [ 17 ] 陈兵海, 杨建军, 姚茂银. 凋亡蛋白 Bcl-xl 和 Bcl-2 在膀胱肿瘤中的表达研究 [ J ]. 山东医药, 2009, 49( 48 ): 75-76.
- [ 18 ] Lytle RA, Jiang Z, Zheng X, et al. BCNU down-regulates anti-apoptotic Bcl-xl and Bcl-2 in association with cell death in oligodendroglioma-derived cells [ J ]. J Neurooncol, 2004, 68( 3 ): 233-241.
- [ 19 ] Kim JH, Chen J, Majumder N, et al. Sival gene Bcl-xl potentiates DNA-raised antitumor immunity [ J ]. Gene Ther, 2005, 12( 20 ): 1517-1525.
- [ 20 ] Giorgini S, Trisciuglio D, Gabellini C, et al. Modulation of Bcl-xl in tumor cells regulates angiogenesis through CXCL8 expression [ J ]. Mol Cancer Res, 2007, 5( 8 ): 761-771.
- [ 收稿日期 ] 2013 - 02 - 02 [ 修回日期 ] 2013 - 04 - 28
- [ 本文编辑 ] 周玲琳

· 读者 · 作者 · 编者 ·

## 《中国肿瘤生物治疗杂志》“转化医学”栏目征稿启事

转化医学( translational medicine )是近年国际医学领域出现的新热潮,是实验研究与临床研究双向转化( bench to bedside and bedside to bench )的研究体系,转化医学为基础研究和临床医疗之间架起了桥梁,从而把基础医学研究的最新成果快速、有效地转化为临床疾病诊治的药物、技术和手段,有力地推动医学科学的发展。

为了顺应转化医学的发展热潮,为我国广大肿瘤防治工作者提供有关“转化医学”信息传播和学术交流的平台,促进转化医学在肿瘤学领域的发展,本刊特开辟“转化医学”新栏目,并向广大肿瘤防治工作者征集“转化医学”相关稿件。

本刊“转化医学”栏目文稿内容包括以下几个方面:

- ( 1 )宣传“转化医学”的观念、理论、研究体系、研究模式和方法、发展趋势等;
- ( 2 )讨论我国肿瘤学领域深入开展“转化医学”研究的策略和措施;
- ( 3 )介绍国外肿瘤学领域“转化医学”发展的新闻、成功案例和发展动向;
- ( 4 )我国作者肿瘤学领域“转化医学”的研究成果和经验体会;
- ( 5 )与“转化医学”有关的在肿瘤学领域有发表价值的其他文稿。

“转化医学”文稿的写作格式要求,如果是( 4 )类中的原创性研究成果文稿,格式同本刊论著( 基础研究和临床研究 );如果是( 1 )、( 2 )、( 3 )和( 5 )类的文稿,格式类似于本刊的综述,篇幅在 5 000 字以内,附中文摘要( 报道式、非结构式 ),文内图表用中文表达,参考文献应精选最主要的 20 篇左右。文稿的文字力求简洁明了、通顺流畅、层次清楚、重点突出。如文稿有新颖性,可进入本刊快速发表通道,在 3 个月左右发表。

( 本刊编辑部 )