

引用本文:陈浩舟,武隽斌.肺癌组织中磷脂酰肌醇3激酶、Notch-1水平与预后关系[J].安徽医药,2021,25(9): 1843-1846.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2021.09.034.



◇临床医学◇

肺癌组织中磷脂酰肌醇3激酶、Notch-1水平与预后关系

陈浩舟,武隽斌

作者单位:商洛市中心医院胸外科,陕西 商洛 726000

摘要: **目的** 探讨肺癌病人组织中磷脂酰肌醇3激酶(PI3K)、Notch-1水平与预后的关系。**方法** 选取2012年5月至2014年5月于商洛市中心医院行全胸腔镜肺叶切除术治疗的肺癌病人60例为研究对象,取其癌组织及癌旁组织,采用免疫组化法检测癌组织及癌旁组织中PI3K、Notch-1蛋白阳性表达水平,通过单因素和多因素分析比较PI3K、Notch-1水平与病人各临床病理特征及预后的关系。**结果** 癌组织与癌旁组织PI3K蛋白表达阳性率分别为81.67%和5.00%,Notch-1蛋白表达阳性率分别为65.00%和8.33%,两者在癌组织中的表达均显著高于癌旁组织($P<0.05$);且PI3K、Notch-1蛋白表达水平与临床TNM分期、分化程度、淋巴结转移有关($P<0.05$),而与病人的性别、年龄、吸烟、饮酒及病理分型情况无关($P>0.05$);Kaplan-Meier分析结果表明:PI3K、Notch-1蛋白高表达者中位生存时间短于低表达者($P<0.05$);logistic多因素分析显示影响肺癌病人术后预后的独立危险因素为TNM分期和PI3K。**结论** 肺癌病人组织中PI3K、Notch-1蛋白高表达,TNM分期和PI3K可影响病人预后。

关键词: 肺肿瘤; 磷脂酰肌醇3激酶; Notch-1; 病理状态,体征和症状; 预后

Relationships between phosphatidylinositol 3-kinase, Notch-1 levels and prognosis in patients with lung cancer

CHEN Haozhou, WU Subin

Author Affiliation: Department of Thoracic Surgery, Shangluo Central Hospital, Shangluo, Shaanxi 726000, China

Abstract: **Objective** To investigate the relationships between phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K), Notch-1 levels and prognosis in patients with lung cancer. **Methods** Sixty patients with lung cancer who underwent total thoracoscopic lobectomy in Shangluo Central Hospital from May 2012 to May 2014 were selected as the study subjects. The cancer tissues and adjacent tissues were taken, the expressions of PI3K and Notch-1 proteins in cancer tissues and adjacent tissues were detected by immunohistochemistry, and the relationships between PI3K, Notch-1 levels and clinicopathological features, prognosis were compared by univariate and multivariate analysis. **Results** The positive rates of PI3K protein expression in cancer tissues and adjacent tissues were 81.67% and 5.00%, respectively, the positive rates of Notch-1 protein expression were 65.00% and 8.33% respectively, both of them were significantly higher in cancer tissues than in adjacent tissues ($P < 0.05$); the expression levels of PI3K and Notch-1 proteins were correlated with clinical TNM stage, differentiation degree and lymph node metastasis ($P < 0.05$), but not with gender, age, smoking, drinking and pathological classification ($P > 0.05$); Kaplan-Meier analysis showed that the median survival time of PI3K and Notch-1 proteins high expression was shorter than that of low expression ($P < 0.05$); logistic multivariate analysis showed that TNM stage and PI3K were independent risk factors affecting the prognosis of lung cancer patients. **Conclusion** The expressions of PI3K and Notch-1 proteins are highly expression in lung cancer patients, TNM stage and PI3K can affect the prognosis of patients.

Key words: Lung neoplasms; Phosphatidylinositol 3-kinase; Notch-1; Pathological conditions, signs and symptoms; Prognosis

肺癌是临床常见的恶性肿瘤,主要症状表现为咳嗽、痰中带血或咯血、胸痛、气急等,其病死率在恶性肿瘤中占据首位,对病人的生命健康安全造成严重威胁。目前临床治疗该疾病的方式有很多,其中全胸腔镜肺叶切除术作为肺癌根治术应用广泛,但大多肺癌病人在确诊时已属晚期,癌细胞发生转移,虽然手术治疗可延长病人的生存时间,但病人术后5年生存率依然很低^[1-3]。肺癌的发生和发展是由多种基因共同调控的。磷脂酰肌醇3激酶(PI3K)

是细胞内的信号传导分子,有调控细胞增殖和凋亡的作用。有研究报道,PI3K与肿瘤的发生、发展及预后有密切联系^[4-5]。Notch-1是Notch家族的一员,其编码的蛋白是一种高度保守的细胞表面受体,Notch信号的紊乱可直接或间接诱导肿瘤发生,已有研究发现Notch-1与乳腺癌、胃癌、宫颈癌等的发生有关^[6]。但至今关于PI3K、Notch-1两者表达水平与肺癌病人预后的关系研究较少,因此本研究对肺癌病人组织中PI3K、Notch-1水平与预后的关系进

行探讨,旨在为临床更准确预测肺癌病人的预后提供新的指标和充足的依据。现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2012年5月至2014年5月于商洛市中心医院行全胸腔镜肺叶切除术治疗的肺癌病人60例为研究对象,其中男40例,女20例;年龄(60.46 ± 5.37)岁,范围为38~75岁。以该60例肺癌病人的癌旁组织为对照。

1.2 选取标准 纳入标准:①经临床病理学确诊为非小细胞肺癌病人;②病人临床病理资料完整;③行切除术前未进行任何放化疗;④配合本次研究,并签署知情同意书。排除标准:①有其他影响病人生存期的疾病;②病理资料缺失病人;③不配合本次研究者;④精神病病人。本研究符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》相关要求。

1.3 免疫组化法检测肺癌病人组织中PI3K和Notch-1蛋白阳性表达 免疫组化法具体操作步骤如下:(1)对石蜡包埋的组织进行切片(厚度约为 $4.0 \mu\text{m}$),每个组织切5片,于 60°C 下烘干2 h后采用二甲苯脱蜡,然后依次用不同浓度的乙醇溶液进行洗脱(顺序依次为:75%乙醇、85%乙醇、95%乙醇、无水乙醇),磷酸缓冲盐溶液(PBS)清洗3次;(2)加入过氧化氢酶阻断溶液孵育10 min, PBS冲洗;(3)加入非免疫动物血清孵育1 h,向每张切片滴加 $50 \mu\text{L}$ 一抗,于 4°C 下过夜孵育, PBS清洗;(4)加生物素标记的二抗,孵育10 min, PBS清洗;(5)滴加适量链霉抗生物素-过氧化物酶溶液,孵育10 min, PBS清洗;(6)DAB显色和苏木素复染,用中性树胶封固并于显微镜下观察细胞形态。用已知阳性的病理切片作阳性对照,其中PBS代替一抗作阴性对照。

1.4 结果判定 实验结果采用半定量法进行描述,即通过所取样品的阳性染色强度和阳性细胞所占百分比来共同判定。每个实验结果由3位专业人员独立判断评定,具体评分标准如下,PI3K阳性表达为细胞质中出现棕黄色颗粒,Notch-1阳性表达为细胞质或细胞膜中出现棕黄色颗粒。阳性强度评分:样品无染色0分,样品呈浅黄色1分,样品为黄色2分,样品为棕黄色3分。在显微镜下,每张切片随机选择3个高倍视野,按照阳性细胞所占百分比进行评分,标准为:阳性细胞率 $<10\%$ 为0分;阳性细胞率在 $10\% \sim 50\%$ 之间为1分;阳性细胞率在 $>50\% \sim 75\%$ 之间为2分;阳性细胞率 $>75\%$ 为3分。根据染色指数(即染色强度与阳性细胞所占比例的评分乘积)大小将免疫组化结果进行等级划分:0~3分为阴性,4~9分为阳性。其中阴性表示低表达,阳性表示高表达。

1.5 随访 对所有肺癌病人进行随访,随访截至2019年5月,死亡病人以死亡日期作为随访截止时间,观察并统计肺癌病人5年生存时间。该研究随访率为100%。

1.6 统计学方法 采用SPSS 18.0进行分析,以例(%)表示计数资料,行 χ^2 检验;采用Kaplan-Meier对病人5年生存时间绘制生存曲线, long-rank 比较生存差异, logistic 多元回归判断影响肺癌病人预后的独立危险因素。 $P < 0.05$ 代表差异有统计学意义。

2 结果

2.1 免疫组化检测PI3K和Notch-1蛋白表达情况 PI3K在癌组织中蛋白阳性表达率81.67%(49/60)显著高于癌旁组织5.00%(3/60), Notch-1在癌组织中蛋白阳性表达率65.00%(39/60)也明显高于癌旁组织8.33%(5/60)($P < 0.05$)。

2.2 PI3K和Notch-1表达情况与病人临床病理特征的关系 PI3K和Notch-1表达阳性与病人的性别、年龄、吸烟、饮酒及病理分型情况无关($P > 0.05$);而与病人的TNM分期、分化程度及淋巴结转移有关($P < 0.05$)。详见表1。

2.3 PI3K和Notch-1表达与病人预后的关系 PI3K蛋白阳性和阴性表达的5年生存率分别为8.0%、28.6%($P < 0.05$);且PI3K阳性病人中位生存时间为30.26个月,阴性病人中位生存时间为42.60个月($P < 0.05$);Notch-1蛋白阳性和阴性表达的5年生存率分别为16.0%、31.4%($P < 0.05$);Notch-1阴性病人中位生存时间为45.88个月,阳性病人中位生存时间为33.66个月($P < 0.05$)。

2.4 影响肺癌病人预后危险因素的logistic多元回归分析 以随访5年肺癌病人的生存结局为因变量(0=存活,1=死亡),TNM分期、分化程度、淋巴结转移、PI3K及Notch-1表达水平为自变量, logistic 回归分析结果显示:TNM分期、PI3K表达水平是影响肺癌病人预后的危险因素($P < 0.05$)。见表2。

3 讨论

肺癌是一种起源于肺部支气管黏膜或腺体的恶性肿瘤,具有发病率、病死率增长快的特点。肺癌按组织学亚型主要被分为非小细胞肺癌和小细胞肺癌,其中非小细胞肺癌较为常见,约占肺癌的85%。相关报道称,近年来肺癌的发病率呈逐渐上升趋势。有研究显示,全球每年新确诊的肺癌人数高达160万左右,且其病死率很高,预后极差,严重威胁病人的身体健康和生命安全,同时也给国家和社会带来沉重的经济负担^[7-8]。因此,寻找能够有效提高预测肺癌病人预后的分子指标具有很重要的临床意义。

表1 磷脂酰肌醇3激酶(PI3K)和Notch-1表达情况与60例肺癌病人临床病理特征的关系

项目	例数	PI3K		Notch-1	
		阳性/例(%)	χ^2, P 值	阳性/例(%)	χ^2, P 值
性别			0.891, 0.345		0.330, 0.566
男	40	34(85.00)		25(62.50)	
女	20	15(75.00)		14(70.00)	
年龄			0.260, 0.610		0.031, 0.859
38~60岁	18	14(77.78)		12(66.67)	
>60~75岁	42	35(83.33)		27(64.29)	
吸烟			0.022, 0.882		1.178, 0.278
无	23	19(82.61)		13(56.52)	
有	37	30(81.08)		26(70.27)	
饮酒			1.002, 0.317		0.073, 0.787
无	30	26(86.67)		19(63.33)	
有	30	23(76.67)		20(66.67)	
TNM分期			21.775, 0.000		11.957, 0.008
I	5	1(20.00)		1(20.00)	
II	13	8(61.54)		5(38.46)	
III	26	24(92.31)		20(76.92)	
IV	16	16(100.00)		13(81.25)	
淋巴结转移			10.774, 0.001		7.594, 0.006
无	23	14(60.87)		10(43.48)	
有	37	35(94.59)		29(78.38)	
分化程度			16.463, 0.000		10.155, 0.006
低	27	16(59.26)		12(44.44)	
中	20	20(100.00)		15(75.00)	
高	13	13(100.00)		12(92.31)	
病理分型			0.056, 0.813		0.330, 0.566
鳞癌	20	16(80.00)		14(70.00)	
腺癌	40	33(82.50)		25(62.50)	

表2 影响肺癌病人预后危险因素的logistic多元回归分析结果

自变量	回归系数	标准误	OR值	95%CI	P值	Wald χ^2 值
TNM分期	0.894	0.143	2.444	1.784~3.348	0.003	39.084
分化程度	0.068	0.206	1.071	0.789~1.453	0.314	0.226
淋巴结转移	-0.088	0.314	0.916	0.479~1.751	0.127	0.1823
PI3K	0.825	0.102	2.281	1.365~3.812	0.005	6.903
Notch-1	-0.122	0.147	0.885	0.479~1.635	0.067	1.431

注:PI3K为磷脂酰肌醇3激酶。

PI3K由Class I、Class II和Class III三部分组成,是一种胞内磷脂酰肌醇激酶^[9]。PI3K通路属于细胞内重要信号传输通道之一,广泛参与细胞的生长、增殖及分化等,并在多种肿瘤中呈现异常活化^[10-11]。有研究显示,PI3K在非小细胞肺癌中的异常活化率大约为50%~70%,目前已成为临床肺癌研究的焦点问题^[9,12]。而PI3K蛋白是PI3K通路的枢纽,其蛋白和基因的表达水平与肺癌的发生、发展及预后有关^[13-14]。姜霞等^[15]研究了RACK1、PI3K及Akt蛋白在非小细胞肺癌中的表达及意义,结果表明,PI3K蛋白表达在不同肿瘤分化程度、淋巴结

转移及TNM分期间有显著差异,且其在肺癌组织中呈高表达,在肺癌的发生发展过程中发挥了一定的作用。张大勇^[16]研究了PTEN基因、PI3K和Survivin基因在非小细胞肺癌病人肿瘤组织中的表达水平,并对其表达水平与非小细胞肺癌病人的临床病理特征及预后的相关性进行了探讨,结果显示,PI3K和Survivin在非小细胞肺癌病人癌组织中呈高表达,PTEN为低表达,且三者作为预后独立预测的因素,对于临床评估非小细胞肺癌病人预后效果具有重要价值。本研究中,PI3K在肺癌组织中蛋白表达阳性率明显高于癌旁组织,呈高表达,其表达水平

与临床TNM分期、分化程度、淋巴结转移有关,而与病人的性别、年龄、吸烟、饮酒及病理分型情况无关;且Kaplan-Meier分析表明PI3K高表达者中位生存时间短于低表达者,多因素logistic分析显示PI3K是影响肺癌病人预后的独立危险因素。

Notch通路是一种重要的细胞间信号传递通道,其主要有Notch配体及Notch受体组成。Notch-1属于Notch受体的一种,可结合Notch-1蛋白细胞膜表面配体来激活Notch通路,从而调控细胞的增殖、分化及凋亡等^[17-18]。有研究发现,Notch通路在多种肿瘤中呈现异常激活,与肿瘤的发生发展密切相关^[19-20]。Wang等^[21]探讨了c-met和Notch-1共表达与非小细胞肺癌预后不良的关系,研究发现,两种受体同时表达的病人预后明显低于未表达的病人,说明两种受体的表达与非小细胞肺癌病人预后不良相关。肖维华等^[22]研究了Notch-1抗体在小细胞肺癌中表达的临床意义,并对其预后的影响进行了分析,结果发现,Notch-1抗体与小细胞肺癌临床分期、淋巴结转移及预后有关,Notch-1表达在小细胞肺癌的诊断及预后评估方面具有较好的应用价值。本研究中,Notch-1在肺癌组织中呈高表达,且其表达水平与临床TNM分期、分化程度、淋巴结转移有关,Notch-1高表达者中位生存时间短于低表达者。

综上所述,PI3K、Notch-1在肺癌病人组织中呈高表达,严重影响病人预后,且PI3K、TNM分期是肺癌病人预后独立危险因素。本研究因纳入样本量较少,结果可能存在偏差,为提高研究的准确性,需要进一步扩大样本量进行研究。

参考文献

- [1] 张永信. 电视胸腔镜辅助下肺癌手术与常规开胸手术治疗肺癌的效果对比评价[J]. 中国冶金工业医学杂志, 2019, 36(1): 115-116.
- [2] 丁志丹, 王跃斌, 方泽民. 全胸腔镜肺叶切除术治疗老年原发性肺癌的临床疗效[J]. 中华老年医学杂志, 2019, 38(4): 419-422.
- [3] SUNDAR R, SOONG R, CHO BC, et al. Immunotherapy in the treatment of non-small cell lung cancer[J]. Lung Cancer, 2014, 85(2): 101-109.
- [4] THORPE LM, YUZUGULLU H, ZHAO JJ. PI3K in cancer: divergent roles of isoforms, modes of activation and therapeutic targeting[J]. Nat Rev Cancer, 2015, 15(1): 7-24.
- [5] JIANG W, JI M. Receptor tyrosine kinases in PI3K signaling: the therapeutic targets in cancer[J]. Semin Cancer Biol, 2019, 59: 3-22.
- [6] MYONG NH. Altered expressions of Notch-1 signaling proteins and beta-catenin in progression of carcinoma in situ into squamous carcinoma of uterine cervix[J]. Indian J Pathol Microbiol, 2017, 60(1): 21-26.
- [7] 杜风华, 闵旭红, 梅晓冬. 肺腺癌靶向治疗药物的应用及耐药机制[J]. 临床肺科杂志, 2018, 23(1): 168-172.
- [8] JÄNNE PA, YANG JC, KIM DW, et al. AZD9291 in EGFR inhibitor-resistant non-small-cell lung cancer[J]. N Engl J Med, 2015, 372(18): 1689-1699.
- [9] 熊焰, 曲琳琳, 李东, 等. 非小细胞肺癌PI3Kp110 β 高表达的临床意义及机制[J]. 中国肺癌杂志, 2017, 20(12): 808-816.
- [10] SOBRAL-LEITE M, SALOMON I, OPDAM M, et al. Cancer-immune interactions in ER-positive breast cancers: PI3K pathway alterations and tumor-infiltrating lymphocytes[J]. Breast Cancer Res, 2019, 21(1): 90.
- [11] NOOROLYAI S, SHAJARI N, BAGHBANI E, et al. The relation between PI3K/AKT signalling pathway and cancer[J]. Gene, 2019, 698: 120-128.
- [12] ROTHCHILD SI. Targeted therapies in non-small cell lung cancer-beyond EGFR and ALK[J]. Cancers (Basel), 2015, 7(2): 930-949.
- [13] ZHAO R, CHEN M, JIANG Z, et al. Platycodin-D induced autophagy in non-small cell lung cancer cells via PI3K/Akt/mTOR and MAPK signaling pathways[J]. J Cancer, 2015, 6(7): 623-631.
- [14] WANG B, LIN S, SUN X, et al. Production of CCL20 from lung cancer cells induces the cell migration and proliferation through PI3K pathway[J]. J Cell Mol Med, 2016, 20(5): 920-929.
- [15] 姜霞, 米小芳, 郑绘霞, 等. RACK1、PI3K、Akt蛋白在非小细胞肺癌中的表达及意义[J]. 山西医科大学学报, 2017, 48(5): 454-457.
- [16] 张大勇. PTEN、PI3K、Survivin在非小细胞肺癌中的表达及临床意义[J]. 航空航天医学杂志, 2016, 27(10): 1270-1272.
- [17] 陈楠, 张莹, 李高峰, 等. γ -促分泌酶抑制剂对Notch1蛋白表达阳性的原代非小细胞肺癌细胞生长的抑制作用及其机制[J]. 广西医学, 2018, 40(23): 2816-2819.
- [18] LEFORT K, OSTANO P, MELLO-GRAND M, et al. Dual tumor suppressing and promoting function of Notch1 signaling in human prostate cancer[J]. Oncotarget, 2016, 7(30): 48011-48026.
- [19] YANG L, DONG Y, LI Y, et al. IL-10 derived from M2 macrophage promotes cancer stemness via JAK1/STAT1/NF- κ B/Notch1 pathway in non-small cell lung cancer[J]. Int J Cancer, 2019, 145(4): 1099-1110.
- [20] SU Q, XIN L. Notch signaling in prostate cancer: refining a therapeutic opportunity[J]. Histol Histopathol, 2016, 31(2): 149-157.
- [21] WANG X, SONG N, ZHANG Y, et al. Coexpression of c-Met and Notch-1 correlates with poor prognosis in resected non-small-cell lung cancer[J]. Tumour Biol, 2015, 36(9): 7053-7059.
- [22] 肖维华, 马海芬, 李君强, 等. 小细胞肺癌Notch-1表达相关性及其预后分析[J]. 中国综合临床, 2011, 27(10): 1100-1103.

(收稿日期: 2019-10-15, 修回日期: 2019-12-23)