

- [15] ZHANG CX, CAI L, SHAO K, et al. Serum IP-10 is useful for identifying renal and overall disease activity in pediatric systemic lupus erythematosus[J]. *Pediatr Nephrol*, 2018, 33(5):837-845.
- [16] NIWA A, OSUKA K, NAKURA T, et al. Interleukin-6, MCP-1, IP-10, and MIG are sequentially expressed in cerebrospinal fluid after subarachnoid hemorrhage[J]. *J Neuroinflammation*, 2016, 13(1):217-223.
- [17] 郭文斐, 黄晶, 雷连成. 脑膜炎性病原菌破坏血脑屏障机制的研究进展[J]. *山东医药*, 2018, 58(10):95-98.
- [18] WANG K, WANG H, LOU W, et al. IP-10 Promotes blood-brain barrier damage by inducing tumor necrosis factor alpha production in Japanese encephalitis[J]. *Front Immunol*, 2018, 9(5):1148-1156.
- [19] 陈小君, 游世伦, 冯茹. 慢性心力衰竭患者血清趋化因子 RANTES, MIP-1 α , IP-10 水平检测的价值研究[J]. *中国医药科学*, 2019, 9(15):139-141, 145.
- [20] DI BATTISTA AP, RHIND SG, HUTCHISON MG, et al. Inflammatory cytokine and chemokine profiles are associated with patient outcome and the hyperadrenergic state following acute brain injury[J]. *J Neuroinflammation*, 2016, 13:40.
- (收稿日期:2020-10-30,修回日期:2021-01-13)

引用本文:刘法,郝静,陈志杰.沉默信息调节因子1、信号转导与转录激活因子3在眼睑基底细胞癌组织中的表达及其临床意义[J].*安徽医药*, 2023, 27(1):144-147.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2023.01.032.

◇临床医学◇



沉默信息调节因子1、信号转导与转录激活因子3在眼睑基底细胞癌组织中的表达及其临床意义

刘法,郝静,陈志杰

作者单位:二四二医院眼科,黑龙江 哈尔滨 150066

摘要: **目的** 探讨沉默信息调节因子1(SIRT1)和信号转导与转录激活因子3(STAT3)在眼睑基底细胞癌组织中的表达情况及其与临床病理分类的关系。**方法** 选取二四二医院2014年2月至2017年8月经病理证实为眼睑基底细胞癌且经手术切除保留的癌组织蜡块93例作为观察组,皮肤基底细胞乳头状瘤组织60例作为对照组。采用免疫组化法检测各组组织中SIRT1、STAT3蛋白阳性表达率;Spearman法分析SIRT1和STAT3蛋白表达相关性; χ^2 检验分析SIRT1和STAT3蛋白表达与眼睑基底细胞癌临床病理指标的联系。**结果** 眼睑基底细胞癌组织中SIRT1和STAT3阳性表达率分别为79.57%(74/93)和76.34%(71/93),均显著高于皮肤基底细胞乳头状瘤组织($P<0.05$);Spearman法分析眼睑基底细胞癌组织中SIRT1和STAT3蛋白表达具有正相关性($r=0.72, P<0.05$);SIRT1、STAT3蛋白在眼睑基底细胞癌组织中的表达与病人年龄、增殖细胞核抗原(PCNA)增殖指数、肿瘤长径和肿瘤病理分型有关($P<0.05$)。**结论** SIRT1和STAT3在眼睑基底细胞癌病人癌组织中均高表达,且呈正相关,与病人年龄、PCNA增殖指数、肿瘤长径和病理分型分类有关,可能是鉴别眼睑基底细胞癌恶性程度的潜在生物标志物。

关键词: 眼睑肿瘤; 癌,基底细胞; 沉默信息调节因子1; 信号转导与转录激活因子3; 增殖细胞核抗原; 临床病理分类

Expression and clinical significance of SIRT1 and STAT3 in eyelid basal cell carcinoma

LIU Fa,HAO Jing,CHEN Zhijie

Author Affiliation:Department of Ophthalmology, 242 Hospital, Harbin, Heilongjiang 150066, China

Abstract: **Objective** To explore the expressions of silent mating-type information regulation 2 homolog 1 (SIRT1) and signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) in eyelid basal cell carcinoma and their relationship with clinicopathological classification. **Methods** Ninety-three cases of eyelid basal cell carcinoma wax, confirmed by pathology and preserved by surgery in Harbin 242 Hospital of Aviation Industry Corporation of China from February 2014 to August 2017, were selected as observation group, and 60 cases of skin basal cell papilloma tissues were selected as control group. Immunohistochemical method was used to detect the positive expression rates of SIRT1 and STAT3 protein; Spearman method was used to analyze the correlation between SIRT1 and STAT3 protein expressions; chi-square test was used to analyze the relationship between SIRT1 and STAT3 protein expressions and the clinicopathological parameters of eyelid basal cell carcinoma. **Results** The positive expression rates of SIRT1 and STAT3 in eyelid basal cell carcinoma were 79.57% (74/93) and 76.34% (71/93), respectively, which were significantly higher than those in basal cell papilloma ($P<0.05$). Spearman's correlation analysis showed that there was a positive correlation between SIRT1 and STAT3 protein expressions in eyelid basal cell carcinoma ($r=0.72, P<0.05$). The expressions of SIRT1 and STAT3 in eyelid basal cell carcinoma were correlated with patients' age, proliferative index of proliferating cell nuclear antigen (PCNA), tumor size and tumor pathological type ($P<0.05$). **Conclusions** SIRT1 and STAT3 are highly expressed in eyelid basal cell carcinoma and are positively correlated. They are related to age, proliferative index of PCNA, tumor size

and pathological type, which may be potential biomarkers to identify the malignant degree of eyelid basal cell carcinoma.

Key words: Eyelid neoplasms; Carcinoma, basal cell; Silent mating-type information regulation 2 homolog 1; Signal transducer and activator of transcription 3; Proliferating cell nuclear antigen; Clinicopathological classification

基底细胞癌是全球常见的恶性肿瘤之一,但其极易发生漏诊和误诊^[1]。基底细胞癌的发病部位主要位于眼睑和眼周皮肤,其中晚期眼周基底细胞癌可能会导致眼球丧失,严重影响病人的生活质量^[2-3]。另有报道显示,眼睑基底细胞癌死亡率相对较低,但诊治不及时将严重破坏局部组织,为后期治疗带来挑战^[4],因此寻找新的有效分子靶标可能有助于预防眼睑基底细胞癌的预防和治疗。信号转导与转录激活因子3(STAT3)是一种转录激活子,能够在多种癌症类型中被激活,参与肿瘤发生发展^[5]。沉默信息调节因子1(SIRT1)能够通过去乙酰化调控基因表达,促进或抑制肿瘤进展^[6-7]。此外,SIRT1和STAT3蛋白表达异常与肿瘤的生物特性紧密相关,可能是肿瘤预防和治疗的潜在靶点^[8]。目前,SIRT1和STAT3蛋白表达在眼睑基底细胞癌病人癌组织的表达情况尚不清楚,本研究拟观察眼睑基底细胞癌及皮肤基底细胞乳头状瘤组织中SIRT1和STAT3蛋白表达变化,分析其与眼睑基底细胞癌病人的临床病理关系,以期临床改善眼睑基底细胞癌的预防和治疗提供新思路。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取二四二医院2014年2月至2017年8月经病理证实为眼睑基底细胞癌且经手术切除保留的癌组织蜡块93例作为观察组,男性48例,女性45例;年龄范围42~85岁,年龄(58.97±9.07)岁,肿瘤长径为(3.16±0.13)cm;另选取60例皮肤基底细胞乳头状瘤组织作为对照组,其中男性28例,女性32例;年龄范围45~88岁,年龄(60.37±7.86)岁,两组具有可比性。纳入标准:①符合WHO肿瘤病理学和遗传学诊断标准;②病人无严重精神疾病;③本研究符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》相关要求,病人或其近亲属对研究方案签署知情同意书。排除标准:资料不完整者。

1.2 主要试剂 小鼠抗人SIRT1(MA5-15677)和STAT3(MA1-13042)单克隆抗体、山羊抗小鼠IgG(H+L)二级抗体购自美国ThermoFisher Scientific公司;SP检测试剂盒(SP0041)购自北京Solarbio公司。

1.3 免疫组织化学法 采用免疫组化SP法检测两组组织中SIRT1和STAT3蛋白表达情况。将保存的各组织标本制备成4 μm厚度切片,60℃烘箱中烤1 h,经脱蜡,无水乙醇、体积分数为95%、85%和70%乙醇水化后,滴加过氧化氢阻断过氧化氢酶,PBS清洗后,封闭

液封闭,然后分别滴加一抗SIRT1和STAT3,4℃过夜,清洗后,加入二抗孵育45 min,DAB显色后,经10%苏木素复染,乙醇脱水后,再经二甲苯透明和封片,显微镜下观察。阴性对照组用PBS替代一抗实现。

1.4 结果判定 选取3名病理医生对染色片独立评分,以细胞核或细胞质呈棕黄色颗粒为阳性表达,分歧通过协商解决。SIRT1和STAT3的阳性表达通过染色指数(staining index, SI)(染色强度与阳性细胞百分比评分乘积)进行评估,其中染色强度评分标准:无染色,0分;浅黄色,1分;棕黄色,2分;棕褐色,3分;阳性细胞百分比评估标准:阴性,0分;阳性细胞比例≤10%,1分;10%~50%,2分;51%~75%,3分;76%~100%,4分。SI<3分为阴性(-);SI=3为弱阳性(+);3<SI<6为中等阳性(++);SI≥6为强阳性(+++)。其中阴性和弱阳性表示低表达,中等阳性和强阳性表示高表达。

1.5 随访 对术后病人进行复查或电话随访,随访病人均有完整随访资料,随访时间范围3~24个月,末次随访时间截至2019年8月31日。

1.6 统计学方法 运用统计学软件SPSS 19.0对数据进行处理。计数资料以例(%)表示,采用 χ^2 检验;计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验,Spearman法分析SIRT1和STAT3蛋白表达相关性。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组组织中SIRT1和STAT3蛋白表达情况 在眼睑基底细胞癌组织中SIRT1和STAT3阳性表达率分别为79.57%(74/93)和76.34%(71/93),均显著高于皮肤基底细胞乳头状瘤组织($P<0.05$),Spearman法分析眼睑基底细胞癌组织中SIRT1和STAT3蛋白表达具有正相关性($r=0.72, P<0.05$),见图1,表1。

2.2 SIRT1、STAT3蛋白表达与眼睑基底细胞癌病人年龄和性别的关系 SIRT1、STAT3蛋白在眼睑基底细胞癌组织中的表达与病人的年龄有关($P<0.05$),与病人性别无关($P>0.05$),见表2。

2.3 SIRT1、STAT3蛋白表达与眼睑基底细胞癌病人病理指标的关系 SIRT1、STAT3蛋白在眼睑基底细胞癌组织中的表达与病人增殖细胞核抗原(PCNA)增殖指数、肿瘤长径和组织病理分类有关($P<0.05$),见表3。

2.4 SIRT1、STAT3蛋白表达与眼睑基底细胞癌复发的关系 在眼睑基底细胞癌组织中SIRT1、STAT3蛋白高表达病人复发率分别为66.67%(6/9)

表1 不同组别中SIRT1和STAT3蛋白表达情况/例(%)											
组别	例数	SIRT1					STAT3				
		—	+	++	+++	阳性	—	+	++	+++	阳性
皮肤基底细胞乳头状瘤组织	60	51(85.00)	8(13.33)	1(1.67)	0(0.00)	9(15.0)	50(83.33)	10(16.67)	0(0.00)	0(0.00)	10(16.67)
眼睑基底细胞癌组织	93	19(20.43)	7(7.53)	8(8.60)	59(63.44)	74(79.57)	22(23.66)	7(7.53)	13(13.98)	51(54.84)	71(76.34)

注:SIRT1为沉默信息调节因子1,STAT3为沉默信息调节因子1。

表2 SIRT1、STAT3蛋白表达与眼睑基底细胞癌病人年龄和性别的关系/例(%)							
病理特征	例数	SIRT1		χ^2, P 值	STAT3		χ^2, P 值
		低表达(<i>n</i> =26)	高表达(<i>n</i> =67)		低表达(<i>n</i> =29)	高表达(<i>n</i> =64)	
年龄				4.85, 0.028			5.26, 0.022
≥59岁	42	7(16.67)	35(83.33)		8(19.04)	34(80.95)	
<59岁	51	19(37.25)	32(62.75)		21(41.18)	30(58.82)	
性别				0.04, 0.846			0.19, 0.665
男	48	13(27.08)	35(72.92)		14(29.17)	34(70.83)	
女	45	13(28.89)	32(71.11)		15(33.33)	30(66.67)	

注:SIRT1为沉默信息调节因子1,STAT3为沉默信息调节因子1。

表3 SIRT1、STAT3蛋白表达与眼睑基底细胞癌病人临床病理指标的关系/例(%)							
病理特征	例数	SIRT1		χ^2, P 值	STAT3		χ^2, P 值
		低表达(<i>n</i> =26)	高表达(<i>n</i> =67)		低表达(<i>n</i> =29)	高表达(<i>n</i> =64)	
PCNA 增殖指数				4.46, 0.035			5.53, 0.019
≥25%	52	10(19.23)	42(80.77)		11(21.15)	41(78.85)	
<25%	41	16(39.02)	25(60.98)		18(43.90)	23(56.10)	
肿瘤长径				5.32, 0.021			6.30, 0.012
≥3 cm	50	9(18.00)	41(82.00)		10(20.00)	40(80.00)	
<3 cm	43	17(39.53)	26(60.47)		19(44.19)	24(55.81)	
病理分型				11.59, 0.009			10.83, 0.013
结节型基底细胞癌	31	13(41.94)	18(58.06)		12(38.71)	19(61.29)	
溃疡型基底细胞癌	18	8(44.44)	10(55.56)		10(55.56)	8(44.44)	
浸润型基底细胞癌	42	5(11.90)	37(88.10)		7(16.67)	35(83.33)	
硬斑病样型基底细胞癌	2	0(0.00)	2(100.00)		0(0.00)	2(100.00)	

注:SIRT1为沉默信息调节因子1,STAT3为沉默信息调节因子1,PCNA为增殖细胞核抗原。

和44.44%(4/9),SIRT1、STAT3蛋白低表达病人复发率分别为33.33%(3/9)和55.56%(5/9);SIRT1、STAT3蛋白在眼睑基底细胞癌组织中的表达与病人是否复发无关($\chi^2=0.14,2.76,P>0.05$)。

3 讨论

目前,用于眼睑基底细胞癌治疗的常规手段包括手术治疗、激光治疗和光动力疗法等,但手术切除是眼睑基底细胞癌治疗的首选方案^[9-10]。然而,临床上对眼睑基底细胞癌的治疗需要考虑肿瘤大小、解剖位置和生长方式等,这为具体实施时的治疗策略制定增加了挑战,而手术中的不完全切除更会导致较高的复发率,严重影响病人的眼部功能恢复^[11],因此,迫切需要开发新的治疗策略用于改善其临床治疗效果。

STAT3是信号转导和转录激活子转录因子家族的七成员之一,能够调节细胞增殖、分化、血管生成、炎症和免疫反应,其异常激活可以通过调控基因表达

影响肿瘤微环境,导致肿瘤恶化^[12]。在肺鳞状细胞癌中,阻断STAT3活性能够抑制小鼠体内脂肪酸诱导的肿瘤球的形成及高脂饮食诱导的肿瘤发生^[13]。张少娟等^[14]研究发现,STAT3在宫颈癌组织中高表达,与癌症的形成和恶性进展相关。此外,STAT3在肝癌组织中阳性表达率显著高于癌旁组织,且能够增加肝癌细胞的凋亡^[15]。本研究结果显示,眼睑基底细胞癌组织中STAT3阳性表达率(76.34%)显著高于皮肤基底细胞乳头状瘤组织,提示STAT3在眼睑基底细胞癌组织中高表达,可能与眼睑基底细胞癌病人的病情发展有关。SIRT1是包括代谢调节剂在内的多个靶标的赖氨酸脱乙酰基酶,在膀胱癌组织中过表达,对癌细胞增殖和葡萄糖摄取具有促进作用^[16]。Choupani等^[17]报道显示,SIRT1可能通过促进上皮间质化作为癌症转移的关键调节剂。另一方面,SIRT1的激活在维持急性髓细胞性白血病和慢性粒细胞性白血病发展进

程中至关重要,可能提供了一种潜在的治疗靶标^[18]。本研究发现,SIRT1在眼睑基底细胞癌组织中SIRT1表达率为79.57%,显著高于皮肤基底细胞乳头状瘤组织,提示眼睑基底细胞癌的发展可能与癌组织中SIRT1阳性表达相关。

Zhang等^[8]研究发现,SIRT1和STAT3在胃癌肿瘤组织中协同高表达,预示晚期胃癌病人总体生存率较差,提供了胃癌早期诊断的潜在指标。本研究进一步Spearman法分析发现,眼睑基底细胞癌组织中SIRT1和STAT3蛋白表达具有正相关性,提示SIRT1可能与STAT3共同作用参与眼睑基底细胞癌病情发展,可能揭示了眼睑基底细胞癌预防和诊断的潜在生物标志物。在鼻咽癌组织中,STAT3高表达与肿瘤TNM分期有关^[19]。黄雷等^[20]发现,STAT3活化水平与胃癌病人的肿瘤浸润、组织分化程度、临床分期、肿瘤长径和淋巴结转移等临床病理情况密切相关。而SIRT1在大肠癌组织中高表达,且表达水平与肿瘤浸润程度、分化程度、肿瘤大小、组织类型、分期和病人年龄等临床病理有关^[21]。此外,SIRT1阳性表达与结直肠癌肿瘤分化程度和淋巴结转移有相关性,为结直肠癌的个性化治疗提供参考^[22]。本研究结果显示,SIRT1和STAT3蛋白在眼睑基底细胞癌组织中的表达与病人的年龄、PCNA增殖指数、肿瘤长径和肿瘤病理分型有关,提示SIRT1和STAT3蛋白表达水平与眼睑基底细胞癌的恶性发展密切相关,推测SIRT1和STAT3可能是眼睑基底细胞癌诊断和治疗的潜在有效参照指标。

综上所述,SIRT1和STAT3蛋白在眼睑基底细胞癌组织中高表达,二者呈正相关,与病人年龄、PCNA增殖指数、肿瘤长径和肿瘤病理分型有关,表明SIRT1和STAT3蛋白可能成为眼睑基底细胞癌病人诊断和治疗的临床指标。然而,基底细胞癌病人的发生率会根据易感的种族和遗传疾病(例如白化病,戈林综合征和色皮病)发生变化,发病机制复杂,因此SIRT1和STAT3蛋白参与眼睑基底细胞癌进程的机制尚待更深入的探索。

(本文图1见插图1-6)

参考文献

- [1] 孙振燕,秦晓明,章婧,等. 51例基底细胞癌初诊误诊分析[J]. 安徽医药, 2019, 23(3):520-523.
- [2] MONTEIRO AF, RATO M, TRIGO M, et al. Aggressive inferior eyelid basal cell carcinoma: advantage of neoadjuvant vismodegib. Carcinoma basocelular agresivo del párpado inferior: ventaja del vismodegib neoadyuvante [J]. Actas Dermosifiliogr, 2019, 110(10):863-865.
- [3] SAGIV O, NAGARAJAN P, FERRAROTTO R, et al. Ocular preservation with neoadjuvant vismodegib in patients with locally advanced periocular basal cell carcinoma [J]. Br J Ophthalmol, 2019, 103(6):775-780.
- [4] WOHAIB MAL, AHMADI RAL, ESSA DAL, et al. Characteristics and factors related to eyelid basal cell carcinoma in Saudi Arabia [J]. Middle East Afr J Ophthalmol, 2018, 25(2):96-102.
- [5] BANERJEE K, RESAT H. Constitutive activation of STAT3 in breast cancer cells: a review [J]. Int J Cancer, 2016, 138(11):2570-2578.
- [6] LIMAGNE E, THIBAUDIN M, EUVRARD R, et al. Sirtuin-1 activation controls tumor growth by impeding Th17 differentiation via STAT3 deacetylation [J]. Cell Rep, 2017, 19(4):746-759.
- [7] 栾明月,金燕,朴成钢. 沉默信息调节因子1在消化系统肿瘤中的作用[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2018, 34(6):617-621.
- [8] ZHANG S, HUANG S, DENG C, et al. Co-ordinated overexpression of SIRT1 and STAT3 is associated with poor survival outcome in gastric cancer patients [J]. Oncotarget, 2017, 8(12):18848-18860.
- [9] 王宁,刘又言,徐小凤,等. 眼周基底细胞癌治疗方法研究进展[J]. 眼科新进展, 2019, 39(1):89-93.
- [10] QIN V, PARIDAENS D. Excision of nodular basal cell carcinoma involving the lower eyelid tarsal skin using a grey line-splitting, posterior lamella-sparing technique [J]. Orbit, 2019, 38(3):205-209.
- [11] POIGNET B, GARDRAT S, DENDALE R, et al. Basal cell carcinomas of the eyelid: results of an initial surgical management [J]. J Fr Ophtalmol, 2019, 42(10):1094-1099.
- [12] LEE H, JEONG AJ, YE SK. Highlighted STAT3 as a potential drug target for cancer therapy [J]. BMB Rep, 2019, 52(7):415-423.
- [13] NIU J, SUN Y, CHEN B, et al. Fatty acids and cancer-amplified ZDHHC19 promote STAT3 activation through S-palmitoylation [J]. Nature, 2019, 573(7772):139-143.
- [14] 张少娟,严莉,曲洪滨. 宫颈癌组织 miR-135 a-5 p, GATA3, STAT3表达变化及其临床意义 [J]. 山东医药, 2019, 59(31):61-63, 67.
- [15] 范奕红. STAT3和 β -catenin在肝癌组织高表达并增加肝癌细胞凋亡 [J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2018, 34(1):65-69.
- [16] CHEN J, CAO L, LI Z, et al. SIRT1 promotes GLUT1 expression and bladder cancer progression via regulation of glucose uptake [J]. Hum Cell, 2019, 32(2):193-201.
- [17] CHOUPANI J, MANSOORI DERA KSHAN S, BAYAT S, et al. Narrower insight to SIRT1 role in cancer: a potential therapeutic target to control epithelial-mesenchymal transition in cancer cells [J]. J Cell Physiol, 2018, 233(6):4443-4457.
- [18] HUANG FT, SUN J, ZHANG L, et al. Role of SIRT1 in hematologic malignancies [J]. J Zhejiang Univ Sci B, 2019, 20(5):391-398.
- [19] 庄妍,谢小缺,章超. 鼻咽癌组织 JAK2, STAT3表达变化及其临床意义 [J]. 山东医药, 2020, 60(10):32-36.
- [20] 黄雷,殷涛,崔殿生. 胃癌癌组织 p-STAT3, survivin, Mcl-1 蛋白表达变化及意义 [J]. 山东医药, 2018, 58(48):53-56.
- [21] YU DF, JIANG SJ, PAN ZP, et al. Expression and clinical significance of Sirt1 in colorectal cancer [J]. Oncol Lett, 2016, 11:1167-1172.
- [22] 刘远航,吴淑华,许晓阳,等. 结直肠癌中 HSF1、SIRT1 与 MDR1 蛋白表达的相关性及其临床病理意义 [J]. 临床与实验病理学杂志, 2019, 35(10):1135-1141.

(收稿日期:2020-09-16,修回日期:2020-10-29)