

TRAIL 及其受体 DR4、DcR1 在大肠癌及癌旁组织中的表达

罗玉贤,王凤安,闫庆辉,刘津,张国建,蔡建辉,薛平

Expression and Significance of TRAIL and Its Receptors DR4, DcR1 in Colorectal Carcinoma and The Surrounding Tissues

LUO Yu-xian, WANG Feng-an, YAN Qing-hui, LIU Jin, ZHANG Guo-jian, CAI Jian-hui, XUE Ping
Department of Gastroenteric Surgery, The Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, China(Present: 050000 Department of General Surgery, The First Hospital of Shijiazhuang)

Abstract: Objective To study the expression and significance of TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand) DR4 and DcR1 in colorectal carcinoma and the surrounding tissues. **Methods** SP immunohistochemical technique was used to examine the expression of TRAIL and its receptors DR4, DcR1 in 42 cases of colorectal carcinoma and the surrounding tissues of 5cm distance and 25 cases of normal colorectal mucosa. **Results** The expression of TRAIL and DR4 was increased from colorectal carcinoma, surrounding tissues to normal colorectal mucosa, while DcR1 was opposite ($P < 0.05$). The expression of TRAIL and DR4 was lower in moderate and poor differentiation degree than those in high differentiation degree, while DcR1 was opposite ($P < 0.01$). There were no significant differences in the histology type, Duke's stages and lymph node metastasis or not of the expression of TRAIL, DR4 and DcR1 ($P > 0.05$). **Conclusion** TRAIL, DR4 and DcR1 may be closely correlated to the occurrence and the development of colorectal carcinoma. DR4 may play a certain role in the pathway of apoptosis induced by TRAIL. The effect of TRAIL may be partly determined by the expression of DcR1.

Key words: TRAIL; DR4; DcR1; Colorectal neoplasm; Immunohistochemistry

摘要:目的 研究人肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体(TNF-related apoptosis inducing ligand, TRAIL)及其受体DR4、DcR1在大肠癌和癌旁组织中的表达及意义。方法 采用免疫组化SP法检测42例大肠癌及其癌旁5cm组织、25例正常大肠粘膜组织中TRAIL及其受体DR4、DcR1表达水平。结果 TRAIL及DR4在大肠癌、癌旁组织及正常大肠粘膜组织中的表达呈递增趋势,而DcR1的表达则与之相反($P < 0.05$);TRAIL和DR4在中、低分化癌中的表达明显低于高分化癌中的表达,而DcR1的表达则与之相反($P < 0.01$);TRAIL、DR4、DcR1的表达与肿瘤的病理类型、Duke's分期及淋巴结转移与否等因素无关($P > 0.05$)。结论 TRAIL、DR4、DcR1可能与大肠癌的发生、发展密切相关;DR4可能在TRAIL诱导的凋亡通路中发挥一定作用,而DcR1的表达与否一定程度上决定了TRAIL能否发挥其生物效应。

关键词: TRAIL; DR4; DcR1; 结肠直肠癌; 免疫组织化学

中图分类号: R735.3⁺4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-8578(2006)01-0023-03

0 引言

肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体(TNF-related apoptosis-inducing ligand, TRAIL)是Wiley等发现的TNF家族的新成员,具有选择性诱导肿瘤细胞发生凋亡的作用。TRAIL诱导的细胞凋亡是通过其受体介导的。因此,肿瘤中TRAIL及其受体的表达状况一定程度上决定了其对TRAIL的敏感

性。为此我们采用免疫组化方法对大肠癌中TRAIL及其受体DR4、DcR1表达进行了研究,为TRAIL应用于临床提供实验基础。

1 材料与方法

1.1 材料 42例大肠癌及距肿瘤边缘5cm癌旁组织取自河北医科大学第二医院2002~2004年间经手术切除的大肠癌组织标本并经HE染色病理证实,同时以25例良性大肠组织为正常对照。鼠抗人TRAIL单克隆抗体均购于美国Santa Cruz公司;兔抗人DcR1、DR4多克隆抗体购于美国NeoMark-

收稿日期:2005-01-05;修回日期:2005-10-20

基金项目:河北省科技攻关基金资助项目(2004014)

作者单位:050000 石家庄,河北医科大学第二医院胃肠外科(现工作单位:050000 石家庄市第一医院普外二科)

ers 公司;鼠及兔 SPN 免疫组化试剂盒、DAB 试剂盒购于美国 ZYMED 公司。

1.2 方法 采用免疫组化 SP 法染色,步骤严格按试剂盒说明操作。一抗工作浓度 TRAIL 及 DR4 为 1 50, DcR1 为 1 100。以 PBS 代替一抗作为空白对照。

1.3 结果判定 根据染色反应的深度及阳性细胞的数量分别记分为 0~3 分,其中染色深度以多数细胞的呈色反应为准。浅黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分,不着色为 0 分。阳性细胞数 10% 为 0 分,11%~45% 为 1 分,46%~70% 为 2 分,>70% 为 3 分,并根据这两项指标的积分数分为 4 级,即阴性(-)为 0 分,弱阳性(+)为 2 分,阳性(++)为 3~4 分,强阳性(+++)为 5~6 分。采用 Olym-pus BX51 型光学显微镜观察并摄片。

1.4 统计学处理 采用 SPSS11.0 统计软件进行²、校正²检验及 Fisher 确切概率法检验。

2 结果

2.1 TRAIL、DR4、DcR1 在大肠癌、癌旁 5cm 组织及正常大肠组织中的表达

TRAIL、DR4、DcR1 免疫阳性产物为棕黄色,定位于胞浆或胞膜,见图 1~3。在大肠癌、癌旁组织及正常大肠粘膜组织中的表达中,TRAIL 呈明显递增趋势($P < 0.01$);DR4 在大肠癌中表达低于癌旁及正常组织并且与之差异明显($P < 0.05$);DcR1 在大肠癌中高表达并且与癌旁及正常组织差异明显($P < 0.01$),见表 1。

表 1 TRAIL、DR4 和 DcR1 在大肠癌、癌旁 5cm 组织及正常大肠组织中的表达

组别	例数	TRAIL		DR4		DcR1	
		+(%)	P	+(%)	P	+(%)	P
大肠癌组织	42	10(23.81)	0.001	20(47.62)	0.026	30(71.43)	0.000
癌旁 5cm 组织	42	25(59.52)	0.037	30(71.43)	0.436	11(26.19)	0.842
正常大肠组织	25	21(84.00)	0.000	20(80.00)	0.009	6(24.00)	0.000

2.2 TRAIL、DR4、DcR1 在大肠癌中的表达及其与临床病理因素的关系

TRAIL 及 DR4 在中、低分化癌中的表达明显低于高分化癌中的表达;而 DcR1 在中、低分化癌中的表达,显著高于高分化癌中的表达,差异显著($P < 0.01$)。TRAIL、DR4、DcR1 的表达与肿瘤的病理类型、Duke s 分期及淋巴结转移与否等因素无关, ($P > 0.05$),见表 2。

3 讨论

TRAIL 被称为继 FasL、TNF 之后第三个死亡

表 2 TRAIL、DR4 和 DcR1 在大肠癌中的表达及其与临床病理因素的关系

临床病理因素	例数	TRAIL		DR4		DcR1	
		+	P	+	P	+	P
分化程度							
高分化	22	9	0.018	16	0.001	11	0.001
中、低分化	20	1		4		19	
大体类型							
肿块型	16	3	1.000	5	0.153	10	0.919
溃疡型	14	3	0.665	8	0.951	9	0.170
浸润型	12	4	0.418	7	0.152	11	0.184
组织类型							
管状、乳头状腺癌	28	8	0.538	15	0.926	19	0.883
粘液腺癌	9	1	1.000	4	0.739	7	1.000
印戒细胞癌	5	1	1.000	1	1.000	4	1.000
淋巴结转移							
无	26	9	0.191	16	0.108	16	0.139
有	16	1		4		14	
Duke's 分期							
A+B 期	24	8	0.191	14	0.108	15	0.139
C+D 期	18	2		6		15	

因子。TRAIL 仅诱导肿瘤细胞发生凋亡而使正常细胞逃逸其杀伤作用^[1]。由于 TRAIL 独特的生物学特性,使其成为肿瘤治疗的新靶点。TRAIL 的生物学效应是通过与其靶细胞膜上相应的受体结合来实现的。目前已发现的 TRAIL 受体有两大类,一类是死亡受体 DR4 和 DR5,另一类是诱骗受体 DcR1 和 DcR2。DR4 和 DR5 具有胞浆死亡区,与 TRAIL 结合后,能够传导凋亡信号,激活 Caspase 级联反应导致细胞死亡。而 DcR1 无胞内区,DcR2 的胞内死亡区不完整。因此 DcR1 和 DcR2 不能传导凋亡信号,但能与 DR4 或 DR5 竞争性结合 TRAIL,抑制其介导的细胞凋亡^[2]。转染实验已证实这一作用^[3]。

本研究中,TRAIL 在大肠癌、癌旁组织及正常大肠粘膜组织中的表达呈递增趋势,提示大肠癌发生过程中存在 TRAIL 的丢失,可能由此造成 TRAIL 与其死亡受体结合所诱导的凋亡减少,从而促进了大肠癌的发生、发展,提示 TRAIL 与大肠癌的发生发展有关。TRAIL 在不同分化程度的癌组织中表达有差异,中、低分化癌中的表达明显低于高分化癌及的表达。这表明 TRAIL 可能是肿瘤分化差的标志,肿瘤在其进展过程中存在某种免疫逃逸机制,通过下调 TRAIL 的表达而逃避其诱导的凋亡。

TRAIL 的 5 种受体中,仅 DR4 和 DR5 可介导凋亡信号,最终诱导细胞凋亡。无论凋亡信号在细

胞内如何传递, TRAIL 要发挥诱导细胞凋亡的作用必须首先与其受体结合。因此, 细胞表面 TRAIL 受体表达水平及功能对 TRAIL 介导的细胞凋亡至关重要。Kim 等^[1]的研究发现, TRAIL 对肿瘤细胞的敏感性主要与 DR4 的表达有关, 而与 DR5 的表达无关, 而另外一些学者则得出相反结论^[4]。Sheikith 等发现, DcR1 在原发性胃肠道肿瘤中过度表达, 并认为这可能是某些肿瘤逃逸机体免疫监视的原因。我们的研究中, 通过免疫组化方法检测大肠癌中 DR4 和 DcR1 的表达后发现, DR4 在大肠癌组织中的表达较癌旁及正常组织低而 DcR1 则呈高表达; DR4 在中、低分化癌中的表达明显低于高分化癌中的表达, 而 DcR1 的表达则与之相反。这表明肿瘤在其发生、发展过程中存在某种免疫逃逸机制, 通过下调 DR4 的表达和上调 DcR1 的表达造成受体分布及表达异常, 通过 DcR1 竞争性地与 DR4 结合 TRAIL 而逃避其诱导的凋亡。DR4 在 TRAIL 诱导的凋亡通路中发挥一定作用, 而 DcR1 在肿瘤细胞上的表达与否, 一定程度上决定了 TRAIL 能否发挥其生物学效应。但是 Leverkus 等^[5]发现, 原始角质细胞与转化细胞表面 TRAIL 各类受体的表达情况类似, 但前者对 TRAIL 的敏感度却比后者低 5 倍。这说明 TRAIL 受体分布的差异性, 并非是 TRAIL 通路选择性杀伤作用的决定性因素, 除

受体调控模式外, 还应当有其他的细胞内和/或细胞外因素参与^[6]。目前, 我们正在进行相关研究, 为 TRAIL 在临床应用提供理论及实验基础。

(本文图见封 3)

参考文献:

- [1] Kim Y, Seol DW. TRAIL, a mighty apoptosis inducer [J]. *Mol Cells*. 2003, 15 (3) :283-293.
- [2] Liu XS, Zhu Y, Han WN, et al. Preparation and characterization of a set of monoclonal antibodies to TRAIL and TRAIL receptors DR4, DR5, DcR1 and DcR2 [J]. *Hybrid hybridomics*. 2003, 22 (2) :121-123.
- [3] Krieg A, Krieg T, Wenzel M, et al. TRAIL-beta and TRAIL-gamma: two novel splice variants of the human TNF-related apoptosis inducing ligand (TRAIL) without apoptosis potential [J]. *Br J Cancer*. 2003, 88 (6) :918-927.
- [4] Takeda K, Yamaguchi N, Akiba H, et al. Induction of Tumor-specific T Cell Immunity by Anti-DR5 Antibody Therapy [J]. *The Journal of Experimental Medicine*. 2004, 199 (4) : 437-448.
- [5] Leverkus M, Neumann M, Mengling T, et al. Regulation of tumor necrosis factor related apoptosis-inducing ligand sensitivity in primary and transformed human keratinocytes [J]. *Cancer Res*, 2000, 60 (3) :553-559.
- [6] Chawla-Sarkar M, Bae SI, Reu FJ, et al. Downregulation of Bcl-2, FLIP or IAPs (XIAP and survivin) by siRNAs sensitizes resistant melanoma cells to Apo-2L/ TRAIL- induced apoptosis [J]. *Cell Death Differ*, 2004, 11 (8) :915-923.

[编辑:周永红]

· 简讯 ·

“CSCO - 丽珠中医药与肿瘤姑息治疗健康行” 启动仪式在京拉开帷幕

为弘扬 CSCO 组织“团结、协作、务实”的根本宗旨, 进一步推进全国肿瘤多学科规范化治疗活动的开展, 由 CSCO 与丽珠医药集团联合举办的“CSCO - 丽珠中医药与肿瘤姑息治疗健康行”系列专题学术活动, 已于 2005 年 12 月 16 日在北京国际饭店拉开帷幕。

出席开幕式的相关专家有:孙燕院士、朴炳奎教授、吴一龙教授、于丁教授、唐平章教授等。林洪生教授和于世英教授出席启动仪式并作了精彩的专题报告。北京地区约有 200 多名医师参加了启动仪式。

此次健康行系列学术活动将以进一步推动中医药在肿瘤姑息治疗方面的研究状况、发展动态及其完整的治疗评价体系为主要内容, 就肺癌、乳腺癌、胃癌、大肠癌、肝癌等常见癌种, 展开讲学和讨论, 从而提高肿瘤医师多学科综合治疗的水平。健康行系列学术活动计划 2005 年 12 月至 2006 年 12 月期间, 在北京、哈尔滨、武汉、成都、广州、济南、上海、西安、南京、沈阳、合肥、杭州等地相继举办。

TRAIL 及其受体 DR4、DcR1 在大肠癌及 癌旁组织中的表达

(正文见 23 页)

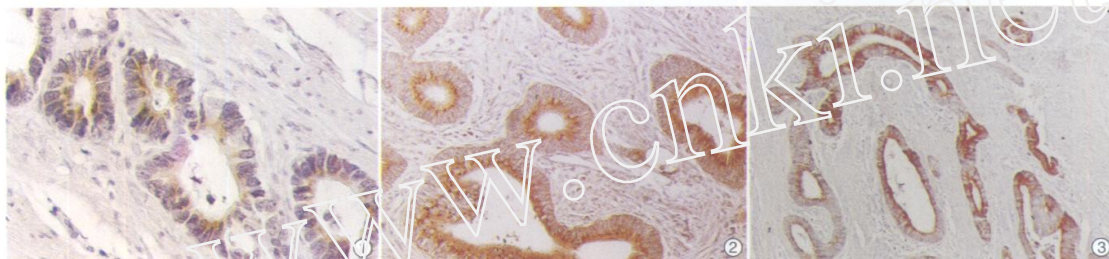


图1 TRAIL 在大肠癌中的表达 (SP × 400) 图2 DR4 在大肠癌中的表达 (SP × 400)
图3 DcR1 在大肠癌中的表达 (SP × 200)

大肠癌中 β -catenin 表达及与 COX-2、VEGF 表达的关系

(正文见 20 页)

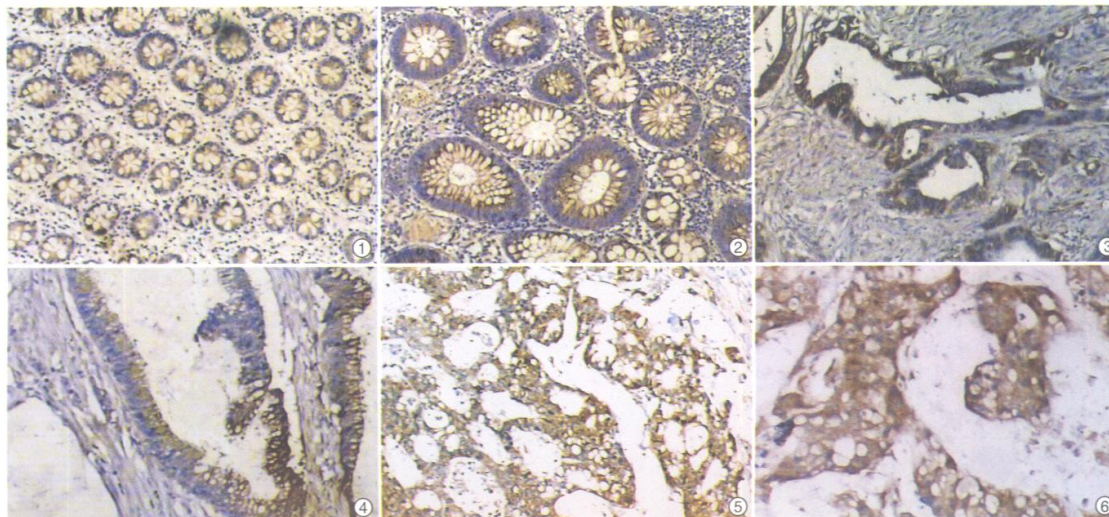


图1 β -catenin 在大肠正常粘膜组织中的表达 (SP × 100) 图2 β -catenin 在大肠正常粘膜组织中的表达 (SP × 200)
图3 COX-2 在大肠癌组织中的表达 (SP × 200) 图4 VEGF 在大肠癌组织中的表达 (SP × 200)
图5 β -catenin 在大肠癌组织中的表达 (SP × 200) 图6 β -catenin 在大肠癌组织中的表达 (SP × 400)