



·论著·

富含脯氨酸蛋白11在胶质瘤组织中的表达及临床意义

张权^{1,2}, 白吉林¹, 张志龙², 孙强¹, 薛正淳¹, 张墨轩², 张健²

1. 潍坊医学院, 山东 潍坊 261053

2. 临沂市人民医院神经外科, 山东 临沂 276000

摘要:目的 探究富含脯氨酸蛋白11(PRR11)在脑胶质瘤组织中的表达情况,以及PRR11与临床病理和预后的关系。方法 在TCGA数据库中比较PRR11在胶质瘤组织和正常脑组织中表达差异及临床预后等生物学信息。收集58例在临沂市人民医院行脑胶质瘤手术患者的临床资料和胶质瘤组织标本以及20例脑外伤患者颅内减压后的脑组织标本。以减压后脑组织作为对照,利用免疫组织化学等方法检测脑胶质瘤组织中PRR11蛋白表达情况,分析PRR11表达水平与临床病理参数之间的相关性,通过生存曲线比较PRR11表达与患者预后之间的关系。结果 PRR11在胶质瘤组织高表达率为37.9%(22/58),减压后脑组织PRR11高表达率为5.0%(1/20),两者相比,差异具有统计学意义($P=0.027$)。脑胶质瘤组织中PRR11表达情况与患者WHO分级、Ki-67、p53基因型有关($P<0.05$),而与患者年龄、性别、肿瘤位置、肿瘤大小、KPS评分均无关($P>0.05$)。PRR11低表达的胶质瘤患者生存时间高于高表达的患者生存时间,两者差异有统计学意义($P=0.0023$)。结论 PRR11在胶质瘤组织中表达增高,且PRR11表达与胶质瘤病理分级及患者生存期密切相关。

[国际神经病学神经外科学杂志, 2021, 48(4): 349-353.]

关键词:胶质瘤;富含脯氨酸11;临床病理;预后

中图分类号:R739.41

DOI:10.16636/j.cnki.jinn.1673-2642.2021.04.006

Expression and clinical significance of proline-rich protein 11 in glioma tissues

ZHANG Quan^{1,2}, BAI Ji-Lin¹, ZHANG Zhi-Long², SUN Qiang¹, XUN Zheng-Chun¹, ZHANG Mo-Xuan², ZHANG Jian²

1. Weifang Medical University, Weifang, Shandong 261053, China

2. Department of Neurosurgery, Linyi People's Hospital, Linyi, Shandong 276000, China

Corresponding author: ZHANG Jian, Email: doctor_zhang001@163.com

Abstract: **Objective** To investigate the expression of proline-rich protein 11 (PRR11) in glioma and its relationship with clinicopathological parameters. **Methods** The expression of PRR11 in gliomas and normal brain tissues and clinical prognosis were compared in TCGA database. 58 patients with gliomas were selected randomly after neurosurgical resection. At the same time, 20 cases of normal brain tissue resected with severe craniocerebral trauma. The expression of PRR11 in glioma was detected by immunohistochemistry. The correlation between PRR11 expression level and clinicopathological parameters was studied by statistical method. The prognosis difference between high expression and low expression patients was compared by the drawing of survival curve. **Results** The high expression rate of PRR11 was 37.9% (22/58) in glioma tissues and 5.0% (1/20) in brain tissues after decompression. There was significant difference between the two groups ($P=0.027$). The expression of PRR11 was correlated with WHO grade, Ki-67 and p53 genotype ($P<0.05$), but not with age, gender, tumor location, tumor size and KPS score ($P>0.05$). The survival time of patients with low expression of PRR11 was significantly higher than that of patients with high expression of PRR11 ($P=0.0023$). **Conclusion** The expression of

基金项目:山东省自然科学基金(ZR2015HL044)

收稿日期:2021-05-25;修回日期:2021-07-07

作者简介:张权(1995—),男,潍坊医学院硕士研究生,住院医师,从事脑肿瘤、颅脑损伤的临床与基础研究。

通信作者:张健(1966—),男,硕士生导师,主任医师,教授,职务:科主任,主要研究方向:脑肿瘤微创与功能的临床与基础研究;Email: doctor_zhang001@163.com。

PRR11 in glioma tissue was increased, and the expression of PRR11 was related to the pathological grade and survival time.

[Journal of International Neurology and Neurosurgery, 2021, 48(4): 349–353.]

Keywords: proline rich protein 11; glioma; pathological grade; prognosis

脑胶质瘤是颅内常见神经上皮肿瘤,发病率占颅内肿瘤的50%以上。尽管近些年来在疾病的诊断和治疗等领域上取得了进展,但由于脑胶质瘤具有增殖速度快、侵袭能力强、术后易复发的特点,胶质瘤的预后生存情况仍然欠佳^[1]。富含脯氨酸蛋白11基因(proline-rich protein 11, PRR11)定位在染色体17q22,是由360个氨基酸编码的蛋白,能够在细胞周期S期到G₂/M期进程中发挥调节作用^[2]。既往研究结果表明,PRR11与肺癌、乳腺癌、胃癌、肝癌、食管癌、卵巢癌等肿瘤的增殖、侵袭以及预后等均有关^[3-8],但PRR11在脑胶质瘤的表达及其临床意义尚未阐明,本研究旨在探讨PRR11在脑胶质瘤组织中的表达及其临床意义。

1 资料与方法

1.1 临床资料

收集2008年7月—2014年7月在临沂市人民医院行胶质瘤切除术的病理标本58例(男性31例、女性27例)和颅脑外伤减压手术中正常脑组织标本20例。组织获取后用磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗,存于-80℃冰箱保存。患者病理信息、随访和预后等临床数据均从病例记录和电话随访获得。纳入标准:①所有病例术前患者未进行放疗、免疫治疗等;②所有病例均具有手术指征,且自愿手术;③所有病例均经术后病理证实为脑胶质瘤。排除标准:①既往或合并其他部位恶性肿瘤或者二次手术的患者;②病例资料缺失。本研究已获得医院医学伦理委员会的准许,获得了患者或家属的书面知情同意书。

1.2 免疫组织化学检测

将组织标本进行石蜡包埋,以4~5 μm厚度切片,70℃烤箱烘烤40 min,常规二甲苯脱蜡6 min,并用不同浓度乙醇水化,蒸馏水冲洗1 min,水化后的玻片浸泡在柠檬酸修复液中,微波加热15 min进行抗原修复,修复后冷却至室温滴加内源性过氧化物酶,避光孵育10 min, PBS冲洗,滴加一抗(PRR11, 1:100; SAB, USA), 37℃孵育2 h, PBS冲洗3次。滴加反应增强液和抗鼠/兔IgG二抗(北京中杉金桥)在室温下孵育30 min,加入少量二甲苯胺显色5 min,流动水冲洗,苏木素复染,氨水返蓝,酒精脱水,二甲苯固定,石蜡封片。在显微镜下进行观察。

1.3 观察及判定标准

免疫组织化学病理结果由2名资深病理科医生双盲独立阅片判定,通过每个视野中阳性细胞的占比和染色强度的水平对切片进行评分。①染色强度评分分为4级,以出现棕黄色颗粒为标准,组织无棕黄色颗粒为0分;浅

黄色染色为1分;棕黄色染色为2分;强烈弥散的棕黄色为3分。②以阳性细胞占视野中所有细胞的百分率进行分级,视野中无阳性为0分,低于10%记为1分,10%~50%为2分,大于50%为3分。以①与②之乘积来判断:低表达为评分小于等于4分;高表达为评分大于4分。

1.4 Western blotting检测PRR11蛋白的表达水平

组织液氮研磨混匀后提取总蛋白,二喹啉甲酸试剂盒(BCA)在酶标仪下测定蛋白浓度。配置10% PAGE胶,蛋白样品上样,常规电泳,转膜1 h,脱脂牛奶封闭后加入PRR11一抗抗体(1:1 000; SAB, USA),放置4℃过夜孵育, PBST洗膜,加入抗兔酶标记二抗(1:2 000; Cell signaling, USA),摇床孵育1 h, PBST洗膜3次,吸取ECL超灵敏型检测试剂均匀滴于PVDF膜上进行化学发光显影,计算PRR11蛋白的表达水平。

1.5 生物信息学分析

TCGA (<https://cancergenome.nih.gov/>) 数据库中下载胶质瘤转录组数据及临床信息,使用GEPIA、STRING等在线数据处理工具,对差异表达基因进行分析,并用Cyto-scape工具对结果进行可视化处理。

1.6 统计学方法

统计分析使用SPSS 23.0统计软件包,计数资料采用例(%)表示,比较采用 χ^2 检验或Fisher精确概率法;采用Kaplan-Meier法绘制总体生存曲线,影响因素分析应用多因素COX回归分析,以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

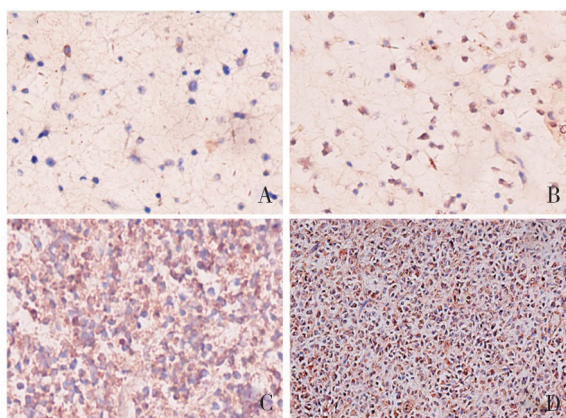
2.1 PRR11在脑胶质瘤组织和正常脑组织中的表达

PRR11主要在细胞质中染色(见图1),在脑胶质瘤中高表达率为37.9%(22/58),而正常脑组织PRR11表达率为5.0%(1/20),两者差异有统计学意义($\chi^2=6.254$, $P=0.012$)。低级别胶质瘤(LGG)的表达率为16.7%(5/30),高级别胶质瘤(HGG)的表达率为60.7%(17/28),两者差异有统计学意义($\chi^2=10.935$, $P=0.000$),PRR11在HGG中的表达高于LGG。

PRR11在胶质瘤组织中的表达高于正常脑组织(见表1),并且PRR11的表达随着胶质瘤WHO分级的升高而增加。此结果与TCGA数据库中的生物信息学表达相一致(图2)。

2.2 PRR11表达与脑胶质瘤患者临床病理特征之间的关系

PRR11的高表达与脑胶质瘤患者的WHO分级、p53表达以及Ki-67表达相关,且随着WHO分级升高,PRR11高表达所占比例也呈上升趋势;而与年龄、性别、肿瘤大



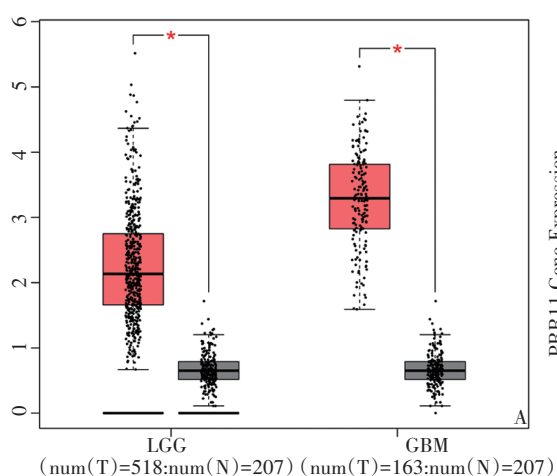
A: WHO I 级胶质瘤; B: WHO II 级胶质瘤; C: WHO III 级胶质瘤; D: WHO IV 级胶质瘤

图1 PRR11与不同级别的胶质瘤的表达情况(免疫组化,×200)

表1 PRR11在正常脑组织和WHO I~IV级胶质瘤组织中的表达情况

组别	PRR11/GAPDH
正常脑组织	0.2438±0.015
WHO I、II	0.4107±0.085 ^① 0.5289±0.021 ^① 0.5156±0.049 ^a
WHO III、IV	1.1205±0.1106 ^{①②} 1.5678±0.064 ^{①②} 2.1771±0.1297 ^{①②} 1.6159±0.090 ^{①②}
F 值	252.200
P 值	0.000

注:①与正常脑组织比较, $P<0.05$; ②与 WHO I、II 组比较, $P<0.05$ 。



(num(T)=518:num(N)=207) (num(T)=163:num(N)=207)

A: PRR11 在 LGG 和 GBM 间的表达差异; B: PRR11 在 WHO II-IV 基因表达情况

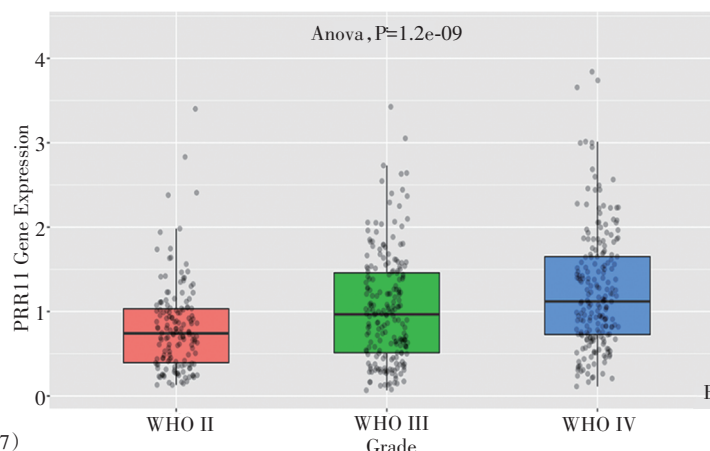


图2 生物信息学 PRR11 在 TCGA 胶质瘤中表达情况

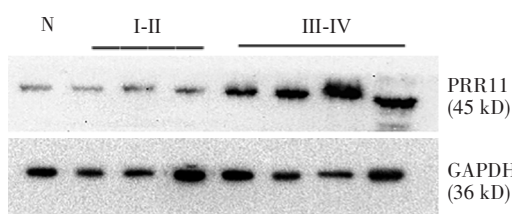


图3 PRR11在正常脑组织和胶质瘤组织中的表达

小、肿瘤位置、KPS 评分(均 $P>0.05$)无相关性。见表2。

2.3 PRR11 的表达与胶质瘤患者预后之间的关系

对 58 例胶质瘤患者进行了 120 个月的跟踪随访,根据 PRR11 表达高低与患者预后情况绘制 Kaplan-Meier 生存曲线(图4),可以看出 PRR11 低表达患者总体生存期延长。与 PRR11 在 TCGA 数据库中胶质瘤患者的生存曲线趋势一致(图5),从图中看出 PRR11 低表达生存时间

为 (90 ± 7.95) 个月, PRR11 高表达生存时间仅为 (53 ± 10.49) 个月,两者生存时间比较,差异有统计学意义($P=0.002$)。胶质瘤患者单因素生存分析显示 WHO 分级、PRR11 表达、P53 表达和 Ki-67 表达均具有统计学意义。多因素 COX 回归分析结果显示 WHO 分级、PRR11 表达和 Ki-67 表达是胶质瘤患者预后不良的风险因子。

3 讨论

PRR11 基因是美国全基因组项目研究中发现的蛋白编码基因,该基因由二联核定位信号、脯氨酸富集区域和锌指结构域构成。其脯氨酸富集基序通过与 SH3 域的连接作用影响细胞之间信号转导,从而影响肿瘤的发生和发展;此外锌指结构域通过与双链 DNA 结合,调节基因的转录^[9]。目前研究表明 PRR11 基因在影响细胞周期进程,恶性肿瘤发生、增殖、迁移等发挥着重要的作用^[10]。SUN 等^[11]发现在非小细胞肺癌中 PRR11 和 SKA2 基因构

表2 PRR11与胶质瘤患者临床病理参数的相关性 例(%)

临床特点	例数	PRR11 低表达	PRR11 高表达	χ^2 值	P值
性别					
男	31(53.4)	20(64.5)	11(35.5)	0.169	0.681
女	27(46.6)	16(59.3)	11(40.7)		
年龄					
<42岁	28(48.3)	18(64.3)	10(35.7)	0.113	0.737
≥42岁	30(51.7)	18(60.0)	12(40.0)		
肿瘤直径					
<4 cm	16(27.6)	12(75.0)	4(25.0)	1.569	0.210
≥4 cm	42(72.4)	24(57.1)	18(42.9)		
肿瘤位置					
额叶	29(50.0)	21(72.4)	8(27.6)	2.751	0.253
颞叶	22(37.9)	11(50.0)	11(50.0)		
其他	7(12.1)	4(57.1)	3(42.9)		
KPS评分					
<80分	35(60.3)	23(65.7)	12(34.3)	0.498	0.480
≥80分	23(39.7)	13(56.5)	10(43.5)		
WHO分级					
I、II级	30(51.7)	25(83.3)	5(16.7)	11.935	0.001
III、IV级	28(48.3)	11(39.3)	17(60.7)		
P53表达					
野生型	37(63.8)	27(73.0)	10(27.0)	5.161	0.023
突变型	21(36.2)	9(42.9)	12(57.1)		
Ki-67表达					
低表达	39(67.2)	28(71.8)	11(28.2)	4.783	0.029
高表达	19(32.8)	8(42.1)	11(57.9)		

表3 胶质瘤患者总生存时间(OS)的单因素生存分析 例(%)

临床指标	存活组(n=35)	死亡组(n=23)	χ^2 值	P值
性别				
男	21(67.7)	10(32.3)	1.523	0.217
女	14(51.9)	13(48.1)		
年龄				
<42岁	20(71.4)	8(28.6)	2.779	0.095
≥42岁	15(50.0)	15(50.0)		
肿瘤直径				
<4 cm	15(75.0)	5(25.0)	2.740	0.098
≥4 cm	20(52.6)	18(47.4)		
WHO分级				
I-II	27(90.0)	3(10.0)	22.838	0.000
III-IV	8(28.6)	20(71.4)		
PRR11表达				
高表达	8(36.4)	14(63.6)	8.518	0.004
低表达	27(75.0)	9(25.0)		
P53表达				
野生型	27(71.1)	11(28.9)	5.280	0.022
突变型	8(40.0)	12(60.0)		
Ki-67表达				
高表达	4(20.0)	16(80.0)	20.764	0.000
低表达	31(81.6)	7(18.4)		

表4 胶质瘤患者OS的多因素COX回归分析

参数	b	Sb	Wald χ^2	P	OR	95.0%CI	
性别	0.440	0.476	0.853	0.356	1.552	0.511	3.945
年龄	0.517	0.534	0.939	0.333	1.677	0.589	4.773
肿瘤直径	-1.425	0.809	3.104	0.078	0.241	0.049	1.174
WHO分级	1.861	0.771	5.823	0.016	6.432	1.418	29.166
PRR11分级	1.940	0.849	5.224	0.022	6.961	1.318	36.753
P53	0.638	0.561	1.294	0.255	1.892	0.631	5.678
Ki-67	1.855	0.656	7.996	0.005	6.390	1.767	23.113

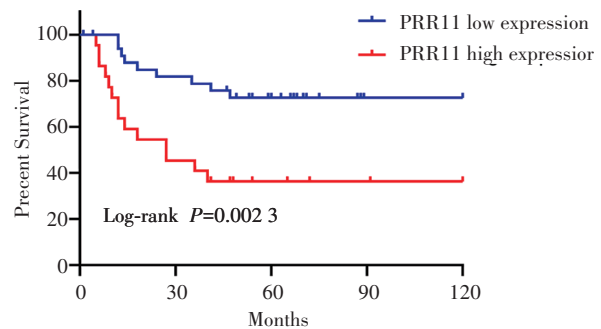


图4 不同表达胶质瘤患者的Kaplan - Meier生存曲线

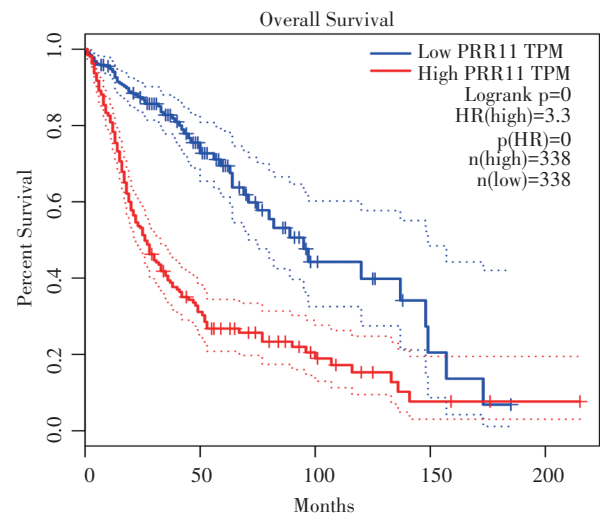


图5 在TCGA数据库中不同表达胶质瘤患者的生存曲线

成双向启动子驱动的头对头基因对,通过GLI 1/2介导抑制了肺癌中Hh途径从而促进了非小细胞肺癌的进展。ZHAN等^[12]在卵巢癌中发现PRR11过表达的OS低于PRR11阴性患者,沉默PRR11的表达能够在体外抑制肿瘤细胞的增殖和细胞的迁移。此外,还发现PRR11基因下调与N-钙黏着蛋白的减少以及EGR1表达下调相结合。CHEN等^[4]也发现在食管癌中PRR11和SKA2基因的表达水平上调,敲低基因能够抑制食管癌中癌细胞的增殖、迁移及侵袭能力。

PRR11作为新发现的一种参与细胞周期调控和恶性肿瘤发生、发展的新基因,目前已经在肺癌、胰腺癌、胃

癌、结直肠、卵巢癌等多种恶性肿瘤组织中表达异常,笔者猜测PRR11在脑胶质瘤的发生和进展过程中可能也有重要的促进作用,会影响患者预后。本研究发现肿瘤组织中的PRR11的表达量高于正常组织,这与笔者猜想的结果一致,同时发现PRR11的表达与肿瘤增殖指标Ki-67及突变型P53等临床病理参数密切相关,进一步论证了PRR11在胶质瘤中促进肿瘤进展的作用。本研究还发现,WHO分级III、IV期患者PRR11表达阳性率高于I、II期患者,p53突变型患者中PRR11表达阳性率高于野生型,以及Ki-67高表达的患者PRR11表达阳性率高Ki-67低表达的患者,验证了PRR11的表达与脑胶质瘤肿瘤增殖指标有关,且在恶性程度较高的患者中表达水平偏高。最后Kaplan-Meier生存曲线证明了PRR11高表达的患者较PRR11低表达的患者OS缩短($P<0.05$),该结果与之前的实验结果相吻合。

本研究结果证明PRR11的表达与胶质瘤的发生发展密切相关,目前关于该基因的功能及通路的研究仍需进一步研究探索,但PRR11的发现和研究表明为胶质瘤的治疗提供了新的靶点。

参 考 文 献

- [1] 潘景臻,王帅,张健,等. 细胞外基质对胶质瘤侵袭性影响的研究进展[J]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2019, 46(5): 554-557.
- [2] ZHANG CD, ZHANG Y, LI Y, et al. PRR11 regulates late-S to G2/M phase progression and induces premature chromatin condensation (PCC)[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2015, 458(3): 501-508.
- [3] WANG YT, ZHANG CX, MAI L, et al. PRR11 and SKA2 gene pair is overexpressed and regulated by p53 in breast cancer[J]. BMB Rep, 2019, 52(2): 157-162.
- [4] CHEN J, YANG HM, ZHOU HC, et al. PRR11 and SKA2 promote the proliferation, migration and invasion of esophageal carcinoma cells[J]. Oncol Lett, 2020, 20(1): 639-646.
- [5] TAN S, JIANG ZH, HOU AH, et al. Expression of PRR11 protein and its correlation with pancreatic cancer and effect on survival[J]. Oncol Lett, 2017, 13(6): 4117-4122.
- [6] ZHANG L, LEI YL, ZHANG Y, et al. Silencing of PRR11 suppresses cell proliferation and induces autophagy in NSCLC cells[J]. Genes Dis, 2018, 5(2): 158-166.
- [7] ZHU J, HU H, WANG J, et al. PRR11 overexpression facilitates ovarian carcinoma cell proliferation, migration, and invasion through activation of the PI3K/AKT/ β -catenin pathway[J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 49(2): 696-705.
- [8] SONG ZC, LIU WY, XIAO Y, et al. PRR11 is a prognostic marker and potential oncogene in patients with gastric cancer[J]. PLoS One, 2015, 10(8): e0128943.
- [9] QUÉRO L, GUILLERM S, HENNEQUIN C. Neoadjuvant or adjuvant therapy for gastric cancer[J]. World J Gastrointest Oncol, 2015, 7(8): 102-110.
- [10] 冯勇杰,顾朝辉,陈龙,等. 富含脯氨酸蛋白11在膀胱癌组织的表达及其临床意义[J]. 中华实验外科杂志, 2021, 38(1): 172-174.
- [11] SUN YY, XU DD, ZHANG CD, et al. HEDGEHOG/GLI modulates the PRR11-SKA2 bidirectional transcription unit in lung squamous cell carcinomas[J]. Genes (Basel), 2021, 12(1): 120.
- [12] ZHAN Y, WU XY, ZHENG G, et al. Proline-rich protein 11 overexpression is associated with a more aggressive phenotype and poor overall survival in ovarian cancer patients[J]. World J Surg Oncol, 2020, 18(1): 318.

责任编辑:王荣兵