

DOI: 10.19338/j.issn.1672-2019.2024.07.005

· 论 著 ·

食管鳞状细胞癌患者癌组织和癌旁正常组织中 RELT mRNA 含量与其预后的关系*

胡文坛¹, 刘红春², 徐进¹, 戎庭军¹

(1.信阳市中心医院 检验科, 河南 信阳 464100; 2.郑州大学第一附属医院 检验科, 河南 郑州 450000)

摘要: **目的** 探究食管癌鳞状细胞癌 (ESCC) 患者癌组织与癌旁正常组织中表达于淋巴样组织的受体 (RELT) mRNA 含量与其预后的关系。**方法** 收集 2019 年 1 月至 2021 年 1 月在信阳市中心医院行手术切除的 100 例 ESCC 组织标本作为观察组, 选择对应癌旁的正常组织 (距癌组织 5 cm 以上) 作为对照组, 比较两组组织 RELT mRNA 相对表达量的差异。依据 RELT mRNA 相对表达量中位数将 ESCC 患者分为低表达 (45 例) 和高表达 (55 例) 两组, 比较两组患者临床资料, 对 ESCC 患者随访 24 个月, 绘制 Kaplan-Meier 曲线比较两组患者的生存时间, COX 回归模型分析患者预后的相关危险因素。**结果** 观察组 RELT mRNA 相对表达量及 RELT 蛋白相对表达量分别为 8.03 ± 2.31 、 0.87 ± 0.08 , 均高于对照组 (3.05 ± 0.71 、 0.63 ± 0.07) ($P < 0.05$)。以 RELT mRNA 相对表达量中位数 8.05 作为分界值, 将 100 例 ESCC 患者分为高表达组 (≥ 8.05) 和低表达组 (< 8.05), 高表达组 ESCC 患者年龄 < 60 岁、肿瘤浸润深度 T3+T4、TNM 分期 II B ~ III 期、淋巴结转移及脉管侵犯发生率均高于低表达组 ESCC 患者 ($P < 0.05$)。随访 24 个月, 高表达组 ESCC 患者生存时间为 (15.85 ± 1.02) 个月, 低表达组 ESCC 患者生存时间为 (19.71 ± 0.84) 个月, 高表达组 ESCC 患者生存时间短于低表达组 (Log-rank 检验 $\chi^2 = 6.371$, $P = 0.012$)。经 COX 回归模型分析, TNM 分期 II B ~ III 期 ($OR = 1.377$, 95%CI: 1.032~1.837)、RELT mRNA 相对表达量 ≥ 8.05 ($OR = 1.420$, 95%CI: 1.057~1.910) 为 ESCC 预后不良的危险因素 ($P < 0.05$)。**结论** RELT mRNA 在 ESCC 癌组织中表达升高, 与患者的不良预后有关, 可作为临床 ESCC 预后预测以及治疗的潜在靶点。

关键词: 食管癌鳞状细胞癌; 表达于淋巴样组织的受体; 预后; 危险因素

中图分类号: R735.1

Relationship between RELT mRNA levels and prognosis in cancer tissues and adjacent normal tissues of patients with esophageal squamous cell carcinoma*

HU Wentan¹, LIU Hongchun², XU Jin¹, RONG Tingjun¹

(1. Laboratory Department, Xinyang Central Hospital, Xinyang, Henan 464100, China; 2. Laboratory Department, The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan 450000, China)

Abstract: **[Objective]** To investigate the relationship between receptor expressed in lymphoid tissue (RELT) mRNA content and prognosis in cancer tissues and adjacent normal tissues of patients with esophageal squamous cell carcinoma (ESCC). **[Methods]** A hundred ESCC tissue samples surgically removed in Xinyang Central Hospital from January 2019 to January 2021 were collected as the observation group, and the corresponding normal tissues adjacent to cancer (larger than 5 cm away from cancer tissues) were selected as the control group, and the relative expression levels of RELT mRNA in the two groups were compared. According to the median RELT mRNA expression, ESCC patients were divided into 2 groups with low expression (45 cases) and high expression (55 cases). The difference of clinical data between the two groups was compared. The patients with ESCC were followed up for 24 months, and the survival time of the two groups was compared by drawing Kaplan-Meier curve. Multivariate COX proportional hazard regression model was used to analyze the risk factors of poor prognosis in ESCC patients. **[Results]** The

收稿日期: 2023-10-18

[通信作者] 刘红春, E-mail: xingyunerliu@163.com; Tel: 13523035763

relative expression levels of RELT mRNA and RELT protein in ESCC patients in observation group were 8.03 ± 2.31 and 0.87 ± 0.08 , which were higher than those in control group (3.05 ± 0.71 and 0.63 ± 0.07) ($P < 0.05$). Using the median RELT mRNA expression of 8.05 as the cut-off value, 100 ESCC patients were divided into high expression group (≥ 8.05) and low expression group (< 8.05). The incidence of age < 60 years old, tumor invasion depth T3+T4, TNM stage IIB-III, lymph node metastasis and vascular invasion in ESCC patients in high expression group were higher than those in low expression group ($P < 0.05$). After 24 months of follow-up, the survival time of ESCC patients in the high RELT mRNA expression group was 15.85 ± 1.02 months, and the survival time of ESCC patients in the low RELT mRNA expression group was 19.71 ± 0.84 months. The survival time of ESCC patients in the high RELT mRNA expression group was shorter than that in the low RELT mRNA expression group (log-rank test $\chi^2 = 6.371$, $P = 0.012 < 0.05$). TNM stages IIB to III ($\hat{OR} = 1.377$, 95%CI: 1.032 - 1.837) and RELT mRNA relative expression ≥ 8.05 ($\hat{OR} = 1.420$, 95%CI: 1.057 - 1.910) were risk factors for poor prognosis of ESCC ($P < 0.05$). **【Conclusion】** The increased expression of RELT mRNA in ESCC cancer tissues is associated with poor prognosis of patients, and can be used as a potential target for prognosis prediction and treatment of ESCC.

Keywords: esophageal squamous cell carcinoma; receptor expressed in lymphoid tissue; prognosis; risk factor

食管癌发病率和病死率均位居世界恶性肿瘤的前列^[1-2]。我国是食管癌的高发区,发病以及死亡人数约占全球的 1/2^[3],而且 90% 以上为食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)^[4],由于缺少可靠的早期诊断标志物以及抑制肿瘤转移的治疗靶标,中、晚期患者的 5 年生存率较低,调查发现仅为 15%~25%^[5]。近年来分子靶向治疗已成为临床各类肿瘤治疗的热门疗法^[6-7],但已知的靶向药物治疗食管癌的整体效果目前还缺少较为统一的定论,因此需要挖掘、识别新的分子生物标志物来阐述 ESCC 的病机,进而改善该肿瘤患者的预后。当前公认肿瘤的发生是由细胞的过度增生所引起,细胞的过度增长意味着调控细胞生长的基因表达水平增加,同时其调控细胞凋亡的水平下降,使得细胞无法程序化死亡,造成局部细胞数目增加的局面,引发肿瘤^[8-9]。表达于淋巴样组织的受体(receptor expressed in lymphoid tissue, RELT)为肿瘤坏死因子受体(tumor necrosis factor receptor, TNFR)家族的一个成员,其主要分布于淋巴组织中,RELT 家族成员过表达可诱导上皮细胞凋亡,被认为在肿瘤病变中具有一定的作用^[10]。基于此,本研究特对 ESCC 患者癌组织与癌旁正常组织中 RELT 的水平进行检测对比,意在分析 RELT mRNA 含量与患者预后的关系,以期为临床后续 ESCC 的治疗方案提供新思路。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2019 年 1 月至 2021 年 1 月在信阳市中心医院行手术治疗的 ESCC 患者 100 例。纳入标

准:①均为首发病例;②均行食管癌根治性手术;③病例资料完整,随访可靠;④均知情同意。排除标准:①合并其他恶性肿瘤;②术后病检诊断为混合性癌;③术前有放化疗史;④手术合并严重并发症。纳入的患者女 40 例,男 60 例;年龄 36~74 岁,平均(58.25 ± 6.14)岁;肿瘤直径 2.00~8.85 cm,平均(5.00 ± 1.25)cm;分化类型:高分化 42 例,中低分化 58 例;TNM 分期:I~II A 期 40 例,II B~III 期 60 例;淋巴结转移:有 44 例,无 56 例。将 100 例 ESCC 组织标本作为观察组,选择对应癌旁的正常组织(距癌组织 5 cm 以上)作为对照组。本研究已经医院伦理委员会审批。

1.2 方法

1.2.1 基线资料 依据病历收集患者的年龄、性别、分化程度、浸润情况、肿瘤直径、TNM 分期、淋巴结转移等情况。

1.2.2 RELT mRNA 相对表达量 采用 TRIzol™试剂(美国赛默飞世尔科技公司)分别提取 ESCC 癌组织和癌旁正常组织 RNA,反转录合成 cDNA,采用实时荧光定量聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)法进行操作,SYBR™ Green PCR 预混液来自美国赛默飞世尔科技公司。

1.2.3 分组 以 ECSS 癌组织 RELT mRNA 相对表达量中位数为分界值,将 ≥ 8.05 的 ESCC 患者划分为高表达组,将 < 8.05 的 ESCC 患者划分至低表达组。

1.3 统计学方法

使用 SPSS 20.0 软件分析数据。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,行 t 检验;计数资料以百分率(%)表示,行 χ^2 检验;绘制 Kaplan-Meier 生存曲线比较生存时间差异;Cox 回归模型分析患

者预后的相关危险因素。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ESCC 患者癌组织与癌旁正常组织 RELT mRNA 相对表达量及 RELT 蛋白相对表达量比较

观察组 RELT mRNA 相对表达量及 RELT 蛋白相对表达量均高于对照组，差异有统计学意义 ($P<0.05$)。见表 1。

2.2 RELT mRNA 不同相对表达量 ESCC 患者临床资料比较

高表达组 ESCC 患者年龄 <60 岁、肿瘤浸润深度 T3+T4、TNM 分期 II B~III 期、淋巴结转移及脉管侵犯发生率均高于低表达组 ESCC 患者，差异有统计学意义 ($P<0.05$)。见表 2。

表 1 ESCC 患者癌组织与癌旁正常组织 RELT mRNA 相对表达量及 RELT 蛋白相对表达量比较 ($n=100, \bar{x} \pm s$)

组别	RELT mRNA 相对表达量	RELT 蛋白相对表达量
观察组	8.03±2.31	0.87±0.08
对照组	3.05±0.71	0.63±0.07
<i>t</i>	20.607	22.577
<i>P</i>	<0.001	<0.001

2.3 RELT mRNA 相对表达量与 ESCC 患者预后的关系

随访 24 个月，发现 RELT mRNA 高表达组 ESCC 患者生存时间为 (15.85 ± 1.02) 个月，低表达组 ESCC 患者生存时间为 (19.71 ± 0.84) 个月，RELT mRNA 高表达组 ESCC 患者生存时间短于低表达组，差异有统计学意义 (Log-rank 检验 $\chi^2=6.371, P=0.012$)。见图 1。

表 2 RELT mRNA 不同相对表达量 ESCC 患者临床资料比较 [$n(\%)$]

指标	<i>n</i>	高表达($n=55$)	低表达($n=45$)	χ^2	<i>P</i>
性别					
女	40	24(43.64)	16(35.56)	0.673	0.412
男	60	31(56.36)	29(64.44)		
年龄				8.668	0.003
<60 岁	54	37(67.27)	17(37.78)		
≥ 60 岁	46	18(32.73)	28(62.22)		
肿瘤直径				0.756	0.384
<3 cm	62	32(58.18)	30(66.67)		
≥ 3 cm	38	23(41.82)	15(33.33)		
分化程度				2.465	0.116
中低分化	58	40(72.73)	26(57.78)		
高分化	42	15(27.27)	19(42.22)		
肿瘤浸润深度				10.703	0.001
T1+T2	38	13(23.64)	25(55.56)		
T3+T4	62	42(76.36)	20(44.44)		
肿瘤部位				0.086	0.958
上段	19	11(20.00)	8(17.78)		
中段	42	23(41.82)	19(42.22)		
下段	39	21(38.18)	18(40.00)		
TNM 分期				6.061	0.014
I~II A 期	40	16(29.09)	24(53.33)		
II B~III 期	60	39(70.91)	21(46.67)		
淋巴结转移				9.976	0.002
有	44	32(58.18)	12(26.67)		
无	56	23(41.82)	33(73.33)		
脉管侵犯				11.972	0.001
有	48	35(63.64)	13(28.89)		
无	52	20(36.36)	32(71.11)		
神经侵犯				0.331	0.565
有	18	11(20.00)	7(15.56)		
无	82	44(80.00)	38(84.44)		

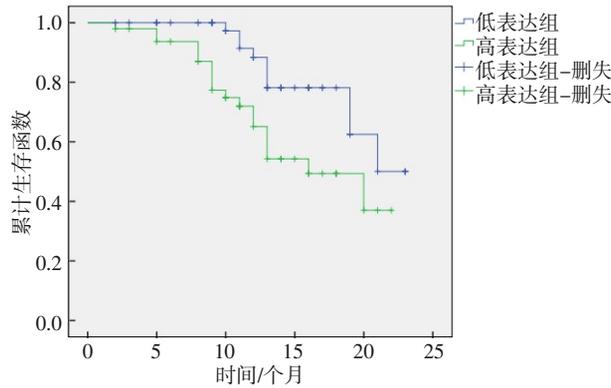


图 1 RELT mRNA 高表达组与低表达组 ESCC 患者 Kaplan-Meier 生存曲线图

2.4 ESCC 患者预后不良危险因素分析

以表 2 中 $P < 0.05$ 的指标 (年龄 < 60 岁、肿瘤浸润深度 T3+T4、TNM 分期 II B~III 期、淋巴结转移以及脉管侵犯)、RELT mRNA 相对表达量 ≥ 8.05

作为自变量, 将有无预后不良作为因变量, 行 COX 回归模型分析, 发现 TNM 分期 II B~III 期、RELT mRNA 相对表达量 ≥ 8.05 为 ESCC 预后不良的危险因素 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 ESCC 患者预后不良危险因素分析

指标	β	S.E.	Wald χ^2	OR	95%CI	P
年龄 < 60 岁	0.153	0.269	0.324	1.165	0.688~1.974	0.570
肿瘤浸润深度 T3+T4	0.258	0.161	2.568	1.294	0.944~1.775	0.110
TNM 分期 II B~III 期	0.320	0.147	4.739	1.377	1.032~1.837	0.030
淋巴结转移	0.305	0.209	2.192	1.357	0.906~2.031	0.139
脉管侵犯	0.177	0.132	1.798	1.194	0.922~1.546	0.181
RELT mRNA 相对表达量 ≥ 8.05	0.351	0.151	5.403	1.420	1.057~1.910	0.021

3 讨论

数据显示, 我国为食管癌的高发地区, 尽管近年来其发病率、死亡率有所降低, 但死亡与发病比仍高达 0.71~0.76^[11]。ESCC 早期症状不明显, 当患者出现症状时大多已属于晚期, 预后较差^[12]。现阶段分子靶向治疗药物是临床治疗肿瘤疾患的热点^[13], 但对于 ESCC 仍旧缺少灵敏度、特异度均较佳的肿瘤标志物, 故而分析 ESCC 的发生发展对该类疾患的防治以及后续临床治疗均较为关键。

TNFR 超家族成员是跨膜蛋白, 其受体与配体数量分别为 29 个和 19 个, TNFR 在细胞发育、生长、凋亡以及炎症中均发挥着较为重要的作用^[14]。RELT 为 TNFR 家族成员之一, 近年来随着临床研究的深入挖掘, 有学者在体外实验中发现 RELT 在恶性肿瘤细胞中表达上调, 推测 RELT 可促进肿瘤的发生与发展^[15]。RELT 当前已有两个已经鉴定的同源结合伙伴 RELL1 和 RELL2, 前者在脑胶质瘤中水平上调, 且与患者的不良预后存在密切的联系^[16], 因此可视作致癌基因; 后者在乳腺

癌细胞的迁移与侵袭中起抑制作用^[17]。本研究发现, 与正常癌旁组织相比, ESCC 患者癌组织中 RELT mRNA 相对表达量以及 RELT 蛋白相对表达量均较高 ($P < 0.05$), 说明 RELT mRNA 在 ESCC 癌组织中表达升高, 推测高表达 RELT 极有可能在 ESCC 的疾病进展中发挥作用。以 RELT mRNA 相对表达量中位数 8.05 作为分界值, 进一步将 ESCC 患者划分为高表达与低表达两组, 发现高表达组 ESCC 患者年龄 < 60 岁、肿瘤浸润深度 T3+T4、TNM 分期 II B~III 期、淋巴结转移以及脉管侵犯发生率均高于低表达组 ESCC 患者 ($P < 0.05$), 提示 RELT mRNA 相对表达量可能与年龄、肿瘤浸润深度、TNM 分期、淋巴结转移以及脉管侵犯情况等存在关联, 分析 RELT 可能通过促进细胞增殖、加速细胞周期过程、抑制细胞凋亡等途径来提高 ESCC 中致癌基因的活性, 参与癌症的病变过程。本研究由生存结果分析可知, RELT mRNA 高表达 ESCC 患者的生存时间为 (15.85 ± 1.02) 个月, 明显低于 RELT mRNA 低表达 ESCC 患者的 (19.71 ± 0.84) 个月 ($P < 0.05$), 说明低表达 RELT

mRNA 的 ESCC 患者其生存情况更好, 提示 RELT mRNA 高表达在 ESCC 的恶变进程中发挥着重要的促进作用, 推测 RELT mRNA 可作为判断晚期 ESCC 患者预后的一个独立指标, 同时推测 RELT mRNA 可能是 ESCC 患者预后的潜在标志物以及临床治疗的靶点。而 COX 回归模型分析发现, TNM 分期 II B ~ III 期、RELT mRNA 相对表达量 ≥ 8.05 为 ESCC 预后不良的危险因素 ($P < 0.05$), 提示检测 ESCC 患者癌组织 RELT 表达可有效评估患者的病情, 预测其预后情况, 与李赛赛等^[18]学者的观点较为吻合。既往研究证实, TNFR 超家族与核转录因子- κ B 通路存在较为密切的联系, 其中诸多成员已被证实能够激活核转录因子- κ B 通路^[19-20], 本研究基于此推断 RELT 在 ESCC 中亦存在着相同或者类似的信号转导通路, 促进肿瘤的发生、侵袭以及转移, 但关于 RELT 在 ESCC 中调节核转录因子- κ B 通路的具体机制则还需要后续进一步的深入研究以明确。

综上所述, 在 ESCC 患者癌组织中 RELT 表达异常升高, 其高表达与不良预后存在较为密切的关联, 特异性地敲低 RELT mRNA 基因表达, 可抑制 ESCC 癌细胞的增殖以及侵袭能力, RELT mRNA 在 ESCC 病程进展以及恶性进程中均发挥着一定的促进作用。RELT mRNA 可作为预判 ESCC 患者预后的一种有潜力的标志物, 为 ESCC 的生物治疗提供新的潜在靶点, 但关于 RELT mRNA 在 ESCC 中的具体发生机制后续仍需进一步的研究论证。

参 考 文 献

[1] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424.

[2] 程晔, 胡巧珍, 陈淑勤, 等. MiR-581 在食管鳞癌中的表达及其对食管鳞癌 K30 细胞增殖、迁移与侵袭的影响[J]. 福建医科大学学报, 2020, 54(4): 209-212.

[3] 韩娜, 张彦彦, 张中冕, 等. 食管鳞状细胞癌组织中 miR-206 的表达及与预后的关系[J]. 郑州大学学报(医学版), 2021, 56(6): 758-761.

[4] 黄滨, 王丽萍, 林宝泉. 食管鳞状细胞癌中 SFRP4 表达水平及临床意义[J]. 中国医药导报, 2022, 19(12): 13-16, 29.

[5] HE YT, LI DJ, SHAN BE, et al. Incidence and mortality of esophagus cancer in China, 2008-2012[J]. Chung Kuo Yen Cheng

Yen Chiu, 2019, 31(3): 426-434.

[6] 齐冉, 杜桂平, 刘旭婷, 等. 帕博利珠单抗联合化疗一线治疗晚期或转移性食管癌的成本-效用分析[J]. 中国药房, 2022, 33(12): 1466-1473.

[7] 王新, 王铮, 卢万里, 等. 食管鳞状细胞癌预后不良的影响因素及炎症反应指标对食管鳞状细胞癌术后复发的预测价值[J]. 中华肿瘤杂志, 2023, 45(2): 160-164.

[8] CUSICK JK, XU LG, BIN LH, et al. Identification of RELT homologues that associate with RELT and are phosphorylated by OSR1[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2006, 340(2): 535-543.

[9] GAUTAM LK, YADAV M, RATHORE JS. Functional annotation of a novel toxin-antitoxin system Xn-RelT of *Xenorhabdus nematophila*; a combined in silico and in vitro approach[J]. J Mol Model, 2017, 23(6): 189.

[10] CUSICK JK, MUSTIAN A, GOLDBERG K, et al. RELT induces cellular death in HEK 293 epithelial cells[J]. Cell Immunol, 2010, 261(1): 1-8.

[11] 王庆锋, 冯瑞庆, 王海兵. 经胸腹腔镜辅助小切口食管癌切除联合喉返神经旁淋巴结清扫术治疗食管鳞状细胞癌的疗效[J]. 实用癌症杂志, 2022, 37(6): 936-939.

[12] 李超, 徐小玲, 厉娟, 等. Periostin 蛋白在食管鳞状细胞癌组织中表达及其与患者临床病理特征的相关性[J]. 医学临床研究, 2022, 39(11): 1622-1625.

[13] 尹瑞华, 王庆华, 郑红娟, 等. 晚期食管鳞状细胞癌一线多种 PD-1 抑制剂免疫治疗策略的成本-效用分析[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2023, 30(2): 150-155.

[14] BODMER JL, SCHNEIDER P, TSCHOPP J. The molecular architecture of the TNF superfamily[J]. Trends Biochem Sci, 2002, 27(1): 19-26.

[15] CHOI BK, KIM SH, KIM YH, et al. RELT negatively regulates the early phase of the T-cell response in mice[J]. Eur J Immunol, 2018, 48(10): 1739-1749.

[16] JIN XH, XIE HW, LIU XM, et al. RELL1, a novel oncogene, accelerates tumor progression and regulates immune infiltrates in glioma[J]. Int Immunopharmacol, 2020, 87: 106707.

[17] WANG PW, YANG QB, DU XY, et al. Targeted regulation of Rell2 by microRNA-18a is implicated in the anti-metastatic effect of polyphyllin VI in breast cancer cells[J]. Eur J Pharmacol, 2019, 851: 161-173.

[18] 李赛赛, 姚文健, 王建军, 等. 淋巴组织表达受体在食管鳞状细胞癌中表达水平与临床病理参数及预后的关系[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2021, 35(2): 167-171.

[19] MEI Q, YE LJ, LIN H, et al. CUL4A promotes the invasion of cervical cancer cells by regulating NF- κ B signaling pathway[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020, 24(20): 10403-10409.

[20] SHI JH, SUN SC. Tumor necrosis factor receptor-associated factor regulation of nuclear factor κ B and mitogen-activated protein kinase pathways[J]. Front Immunol, 2018, 9: 1849.

(张咏 编辑)