

# HRP-2 和 HRP-3 在脑胶质瘤中的表达及其与预后的关系研究<sup>①</sup>

符黄德<sup>1</sup>, 黄海能<sup>1</sup>, 邓元央<sup>1</sup>, 黄华东<sup>1</sup>, 罗琨祥<sup>1</sup>,  
李传玉<sup>1</sup>, 韦传东<sup>2</sup>, 陈源红<sup>3</sup>, 罗起胜<sup>1②</sup>

(1. 右江民族医学院附属医院神经外科, 广西 百色 533000 E-mail: fuhuangde@126.com;  
2. 右江民族医学院附属医院检验科, 广西 百色 533000;  
3. 右江民族医学院基础医学院医学微生物和免疫学教研室, 广西 百色 533000)

**摘要:** **目的** 探讨肝癌衍生生长因子相关蛋白 2 (hepatoma-derived growth factor related protein-2, HRP-2) 和肝癌衍生生长因子相关蛋白 3 (HRP-3) 在脑胶质瘤中的表达及其与预后的关系。 **方法** 选取 2005 年 3 月~2012 年 8 月间我院诊治的 56 例脑胶质瘤患者为研究对象, 以同期 56 例行颅脑损伤内减压手术患者为对照组, 用实时定量聚合酶链反应 (RT-QPCR) 法测定两组患者 HRP-2 和 HRP-3 的表达水平, 并分析其与生存时间的相关性。 **结果** 胶质瘤组患者的 HRP-2 和 HRP-3 表达水平均显著高于对照组, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.01$ ); HRP-2 高表达组的生存时间与 HRP-2 低表达组比较, 差异无统计学意义 ( $\chi^2 = 0.455, P = 0.500$ ); HRP-3 高表达组的生存时间则显著低于 HRP-3 低表达组 ( $\chi^2 = 5.872, P = 0.015$ )。 **结论** HRP-2 和 HRP-3 在胶质瘤细胞中均呈现异常高表达, 且 HRP-3 的过表达与患者生存时间缩短紧密相关。

**关键词:** 脑胶质瘤; HRP-2; HRP-3; 预后

**中图分类号:** R739.41

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1001-5817(2015)06-0786-03

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2015.06.008

脑胶质瘤是颅内最常见的肿瘤之一, 约占颅内肿瘤的 50% 以上, 以间变型星形细胞瘤、胶质母细胞瘤为主, 可占全部脑胶质细胞瘤的 80%。绝大多数脑胶质瘤可呈现浸润性生长, 外科手术难以完全切除干净, 具有较高的复发率和病死率<sup>[1]</sup>。因此, 传统的手术、化疗等方式已经无法完全满足临床实践的需要, 靶向生物治疗逐步成为时下脑胶质瘤治疗研究的热点<sup>[2]</sup>。肝癌衍生生长因子相关蛋白 2 (hepatoma-derived growth factor related protein-2, HRP-2) 和肝癌衍生生长因子相关蛋白 3 (HRP-3) 基因是肝癌衍生生长因子 (hepatoma-derived growth factor, HDGF) 家族成员之一, 在正常情况下主要表达于人的睾丸、脑和心脏, 可参与肿瘤细胞的生长、增殖、分化及血管生成等诸多肿瘤病理生理过程<sup>[3-4]</sup>。本研究拟以我院诊治的 56 例脑胶质瘤患者为研究对象, 探讨 HRP-2 和 HRP-3 表达与疾病预后的相关性, 以为脑胶质瘤的诊疗提供依据。现总结报道如下。

## 1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2005 年 3 月~2012 年 8 月间我院诊治的 56 例脑胶质瘤患者为研究对象, 所有患者均经术后病理学诊断证实。其中, 男性 35 例, 女性 21 例, 年龄 18~55 岁, 平均年龄 (39.42±6.11) 岁, 中间变型性星形细胞瘤 33 例, 胶质母细胞瘤 18 例, 少枝胶

质细胞瘤 5 例; 按 WHO 标准分级 I 级 14 例, II 级 21 例, III 级 17 例, IV 级 4 例。纳入标准: ①白细胞  $\geq 4 \times 10^9/L$ , 血小板  $\geq 100 \times 10^9/L$ ; ②无显著的心、肝、肾、肺功能异常; ③无免疫、消化、神经、循环系统等其它严重疾病; ④Karnofsky 功能评分均大于 70 分; ⑤近 1 个月内未接受过任何抗肿瘤治疗, 且预计生存时间  $> 3$  个月; 同期选取 56 例行颅脑损伤内减压手术患者为对照组, 两组患者在年龄、性别、人体质量指数、Karnofsky 功能评分方面的比较差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。所有患者及家属均知情同意本项目研究, 签署知情同意书, 研究方案通过右江民族医学院附属医院伦理委员会批准。

1.2 标本采集 术后将脑质瘤患者的肿瘤组织和颅脑损伤内减压手术切除的正常脑组织样本迅速用液氮冷冻, 置于  $-80^\circ\text{C}$  冰箱保存, 用于后续的实时荧光定量 PCR (RT-QPCR) 检测。

1.3 RT-QPCR 检测 HRP-2、HRP-3 的表达

1.3.1 主要仪器和试剂 总 RNA 提取试剂盒由南京凯基生物科技发展有限公司生产; 逆转录和荧光定量 PCR 扩增试剂盒均购于大连宝生物工程公司; 荧光定量 PCR 仪为美国赛默飞公司生产, 型号 7500 Fast 型; PCR 引物的合成均由上海生工生物公司承担完成, 引物序列参考文献<sup>[5-6]</sup>, 见表 2。

① 基金项目: 2014 年广西自然科学基金项目 (2014jjBA40135); 2015 年度广西高校科学技术研究项目 (KY2015YB237)

② 通讯作者, E-mail: luoqish@126.com

表 1 两组患者一般临床资料比较

组别	n	年龄(岁)	男性比例(n, %)	体重指数(kg/m <sup>2</sup> )	Karnofsky 功能评分(分)
对照组	56	38.86±6.25	25(51.79)	23.97±1.18	73.45±10.28
胶质瘤组	56	39.13±6.01	35(62.50)	24.13±1.25	75.11±11.16
t/χ <sup>2</sup> 值		1.482	2.582	0.579	0.850
P		0.225	0.103	0.742	0.323

表 2 目的基因 HRP-2、HRP-3 和内参的引物序列

目的基因	引物序列	
	上游	下游
HRP-2	5'-CCTCCGCCGACAGCATGCCG-3'	5'-GGCTGGAGCTCAGCTGTCCT-3'
HRP-3	5'-CCCGGAAATCTCCAGGAGATG-3'	5'-GGTTCTGTCAATGACAACAAGGAC-3'
β-actin	5'-CAGCTACGAGCTGCCTGACG-3'	5'-CCTAGAAGCATTGCGGTGG-3'

1.3.2 RT-PCR 利用 Trizol 法提取总 RNA 并将其逆转录为 cDNA。行实时荧光定量 PCR,以 β-actin 作为内参对照;SYBR Green 荧光 PCR 反应参数条件为 95 °C,预变性 5 min,95 °C,变性 1 min,退火延伸 58 °C 1 min,72 °C 2 min,持续 30 个循环;选择 SYBR Green I/HRM Dye 通道,读取 Ct 值;分别计算基因的 Ct 值,采用 2<sup>-ΔΔCt</sup> 方法予以定量分析,并用 β-actin 的 Ct 值进行校正。

1.4 随访观察 追踪随访 56 例脑胶质瘤患者至 2015 年 8 月 1 日,第 1 年每 1 个月随访 1 次,之后每 3 个月随访 1 次;若患者中途死亡,则将死亡的时间设为截止日期;分析不同 HRP-2 和 HRP-3 表达水平与生存时间的相关性。

1.5 统计学方法 所有数据均采用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析。计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,两组间比较利用独立样本的 Student-t 分析;计数资料的两组间采用 χ<sup>2</sup> 检验;运用 Kaplan-Meier 法计算患者平均生存时间,两组间生存时间的差异采用 Log-rank 检验,以 P<0.05 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者 HRP-2 和 HRP-3 表达水平比较 如表 3 所示,脑胶质瘤组患者的 HRP-2 和 HRP-3 表达水平均显著高于对照组,差异具有统计学意义(P<0.01)。

表 3 两组患者 HRP-2 和 HRP-3 表达水平比较

组别	n	HRP-2	HRP-3
对照组	56	1.00±0.00	1.00±0.00
胶质瘤组	56	2.48±0.45	3.26±0.58
t		5.348	7.523
P		0.002	<0.001

2.2 HRP-2 表达与脑胶质瘤预后的关系 如图 1

所示,HRP-2 高表达组的生存时间与 HRP-2 低表达组比较,差异无统计学意义(χ<sup>2</sup> = 0.455, P = 0.500)。

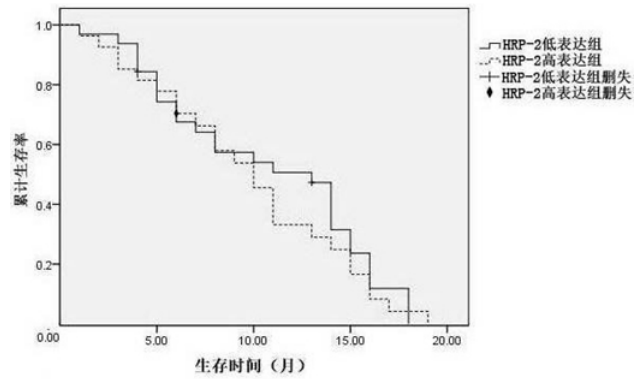


图 1 HRP-2 表达与脑胶质瘤预后的关系

2.3 HRP-3 表达与脑胶质瘤预后的关系 如图 2 所示,HRP-3 高表达组的生存时间显著低于 HRP-3 低表达组,差异具有统计学意义(χ<sup>2</sup> = 5.872, P = 0.015)。

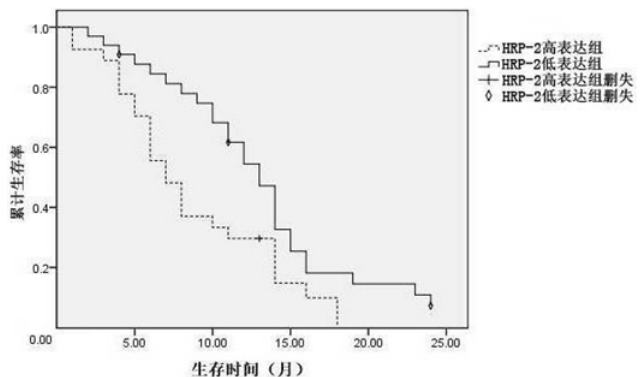


图 2 HRP-3 表达与脑胶质瘤预后的关系

### 3 讨论

尽管外科手术切除辅助术后化疗策略仍是当前脑胶质瘤治疗的主要方式,但是随着分子生物学、分子病理学等学科的迅速发展,一些创新的治疗技术如分子靶向治疗正逐步在脑胶质瘤的治疗中扮演着越来越重要的作用<sup>[7-8]</sup>。因此,寻求脑胶质瘤治疗的有效靶点及诊断分子标志亦成为临床一线工作者亟待解决的关键课题。HRP-2和HRP-3均是肝癌衍生生长因子HDGF家族成员。HRP-2和HRP-3最初是从无血清培养人类肝癌细胞株中分离纯化得到的具有高肝素亲和性的生长因子,在正常组织和肿瘤细胞均可表达<sup>[9]</sup>。HRP-2和HRP-3具有HDGF家族的共同的结构特征,N端具有一个高度保守的HATH区,C端具有双向的NLS核定位序列,其最主要的功能是促进细胞的增殖,同时也是自分泌和旁分泌的生长因子,能够显著刺激肿瘤组织细胞的增殖、分化、迁移和浸润,并促进肿瘤新生血管的形成<sup>[10]</sup>。

本研究结果发现,HRP-2和HRP-3的表达水平平均明显高于正常对照组,差异具有统计学意义,表明HRP-2和HRP-3均参与了脑胶质瘤的形成与发展过程。笔者分析HRP-2和HRP-3介导脑胶质瘤发生发展的具体机制可能有以下两个方面:一是,脑胶质瘤的形成和转移过程中伴随着多种代谢化学指标的改变,其中最为重要的因子便是血管生长相关因子<sup>[11]</sup>。因此,在脑胶质瘤中HRP-2和HRP-3的高表达实质上也是肿瘤发生发展过程中新生血管大量生成的主要原因;二是,HRP-2和HRP-3隶属于HDGF家族,该家族的众多成员均具有促进肿瘤细胞增殖、分化和侵袭的作用,这在既往的研究中也得到普遍的报道和认可,因此脑胶质瘤细胞可能通过高表达HRP-2和HRP-3的水平,进而维持肿瘤细胞长期处于快速增殖的状况。

本研究结果还显示,HRP-3高表达组患者的生存时间显著低于HRP-3低表达组,提示HRP-3可能参与了脑胶质瘤的预后,说明靶向干预HRP-3的表达水平是提高脑胶质瘤预后的潜在治疗策略,而HRP-2的过表达并不影响脑胶质瘤患者的预后。笔者认为造成这种差别的原因可能在于两个方面:一方面,在正常情况下HRP-3主要表达于人的睾丸、脑和心脏,其它组织中虽然也有表达,但表达量却很少,反之,HRP-2则在脑组织中的表达水平相对较低,造成其过表达的程度要显著低于HRP-3;另一方面,HRP

-2和HRP-3的二聚体生物学特性可能具有明显的差别,是两者功能大相径庭的潜在基础。

综上所述,本研究结果发现,HRP-2和HRP-3在脑胶质瘤细胞中均呈现异常高表达,但是仅HRP-3的过表达与患者生存时间缩短密切相关,而HRP-2可能并不直接参与影响脑胶质瘤的预后。

#### 参考文献:

- [1] 倪炜, 罗林, 左频, 等. 体外药物敏感实验为依据的恶性脑胶质瘤个体化化疗初步研究[J]. 现代生物医学进展, 2012, 12(6):1075-1077.
- [2] 戴宜武, 王振光, 秦家振. 脑胶质瘤治疗进展[J]. 中华临床医师杂志:电子版, 2013, 7(14):6225-6228.
- [3] LeBlanc M, Wang W, Guo F, et al. Hepatoma-derived growth factor related protein-3 as a novel endothelial ligand[J]. Circulation, 2014, 130(Suppl 2): 12659.
- [4] Han-En Tsai. Up-regulation of hepatoma-derived growth factor facilitates tumor progression in malignant melanoma [J]. Plos One, 2013, 8(3):e59345.
- [5] Kim YH, Lee WK, Park JY, et al. Prognostic value of hepatoma-derived growth factor-related protein 3 (HRP-3) methylation in non-small cell lung cancer [J]. Genes & Genomics, 2015, 37(5): 479-486.
- [6] Thakar K, Votteler I, Kelkar D, et al. Interaction of HRP-2 isoforms with HDGF: chromatin binding of a specific heteromer[J]. FEBS Journal, 2012, 279(5): 737-751.
- [7] 彭涛, 陈东亮, 谢庆海, 等. 脑胶质瘤的手术治疗进展[J]. 中国医药指南, 2013, 11(9): 66-67.
- [8] 李志勇, 漆松涛, 陈龙华, 等. 南方脑胶质瘤中心胶质瘤治疗路径[J]. 中国微侵袭神经外科杂志, 2011, 16(10): 433-436.
- [9] Gao K, Xu C, Jin XF, et al. HDGF-related protein-2 (HRP-2) acts as an oncogene to promote cell growth in hepatocellular carcinoma [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2015, 458(4):849-855.
- [10] Xiao Q, Qu K, Wang C, et al. HDGF-related protein-3 is required for anchorage-independent survival and chemoresistance in hepatocellular carcinomas [J]. Gut, 2013, 62(3):440-451.
- [11] 陈立坚, 杨薇. <sup>1</sup>H-MRS在颅内单发脑转移瘤诊断中的应用现状[J]. 右江民族医学院学报, 2015, 37(1): 146-147.

收稿日期:2015-09-14;修回日期:2015-11-14