

· 论 著 ·

胶质瘤组织 TMEM168 的表达与病人预后的关系

马 鹏 王建村 黄 杰 薛 强

【摘要】目的 探讨跨膜蛋白(TMEM)168在胶质瘤组织中的表达及其与病人预后的关系。方法 选取2014年6月至2016年9月手术切除的符合标准的脑胶质瘤140例和颅脑损伤内减压术中切取的非肿瘤脑组织50例为对照,免疫组化染色检测TMEM168的表达。胶质瘤病人随访截止2021年10月,记录总生存期(OS)及无进展生存期(PFS)。结果 胶质瘤组织TMEM168高表达率[70.71%(99/140)]明显高于对照组[22.00%(11/50); $P<0.05$]。高级别胶质瘤组织TMEM168高表达率[81.58%(62/76)]明显高于低级别胶质瘤组织[57.81%(37/64); $P<0.05$]。140例胶质瘤术后随访3~60个月,死亡46例,复发87例。多因素Cox回归分析显示,TMEM168高表达是胶质瘤病人OS和PFS不良的独立危险因素($P<0.05$)。生存曲线分析显示,TMEM168高表达胶质瘤病人中位OS、PFS较低表达病人明显缩短($P<0.05$)。结论 胶质瘤组织TMEM168呈高表达,与胶质瘤病人不良生存预后有关。

【关键词】胶质瘤;跨膜蛋白168;TMEM168;生存预后;危险因素;基因表达

【文章编号】1009-153X(2022)07-0570-04 【文献标志码】A 【中国图书资料分类号】R 739.41; Q 786

Expression of TMEM168 in glioma tissues and its relationship with glioma patients' prognosis

MA Peng, WANG Jian-cun, HUANG Jie, XUE Qiang. Department of Neurosurgery, The Third Affiliated Hospital of Naval Military Medical University, PLA, Shanghai 201800, China

【Abstract】Objective To investigate the expression of transmembrane protein (TMEM) 168 in glioma tissues and its relationship with glioma patients' prognosis. Methods The expressions of TMEM168 were detected using immunohistochemical staining in glioma tissues obtained from 140 glioma patients who underwent surgery from June 2014 to September 2016 and in non-tumor cerebral tissues obtained from 50 patients with traumatic brain injury who underwent decompression. Glioma patients were followed up until October 2021, and overall survival (OS) and progression-free survival (PFS) were recorded. Results The high expression rate of TMEM168 in glioma tissues [70.71% (99/140)] was significantly higher than that in the control group [22.00% (11/50); $P<0.05$]. The high expression rate of TMEM168 in high-grade glioma tissues [81.58% (62/76)] was significantly higher than that in low-grade glioma tissues [57.81% (37/64); $P<0.05$]. The followed up (range, 3~60 months) showed death in 46 patients and recurrence in 87 patients. Multivariate Cox regression analysis showed that high expression of TMEM168 was an independent risk factor for poor OS and PFS in glioma patients ($P<0.05$). Survival curve analysis showed that the median OS and PFS of glioma patients with high expression of TMEM168 were significantly shorter than those of glioma patients with low expression of TMEM168 ($P<0.05$). Conclusions The expression of TMEM168 in glioma tissues is up-regulated, which is related to the poor survival prognosis of glioma patients.

【Key words】Glioma; Transmembrane protein 168; Survival prognosis; Risk factor; Gene expression

胶质瘤是最常见的颅内原发性恶性肿瘤,其发病机制尚不清楚,即使采用手术联合术后放化疗等综合治疗,预后较差^[1]。跨膜蛋白(transmembrane protein, TMEM)家族参与多种病理生理过程,包括细胞信号转导、细胞趋化、粘附、凋亡和自噬^[2,3]。Xu等^[4]发现,TMEM168在胶质母细胞瘤细胞中高表达,通过Wnt/ β -Catenin信号通路促进细胞增殖和侵袭。本文探讨胶质瘤组织TMEM168表达水平及其与病

人预后的关系。

1 资料与方法

1.1 病例选择标准 纳入标准:年龄 ≥ 18 岁;临床资料完整;术后病理证实为脑胶质瘤;术前未接受放、化疗。排除标准:合并其他部位肿瘤;合并慢性感染;合并严重心肝肾等脏器疾病;合并内分泌疾病。

1.2 标本来源 选取2014年6月至2016年9月手术切除的符合标准的脑胶质瘤140例,其中男88例,女52例;年龄23~78岁,平均(53.01 \pm 8.23)岁;高级别胶质瘤76例(WHO分级Ⅲ级26例,Ⅳ级50例),低级别胶质瘤64例(WHO分级Ⅰ级12例,Ⅱ级52例)。选取颅脑损伤内减压术中切取的非肿瘤脑组织50例

为对照,其中男 29 例,女 21 例;年龄 29~65 岁,平均(54.13±5.54)岁。

1.3 免疫组化染色检测 TMEM168 的表达 组织标本石蜡包埋,制备切片(4 μm)。根据免疫组化染色试剂盒(泉州市睿信生物科技有限公司)说明书进行操作。切片脱蜡、水化后,进行抗原修复。用封闭液封闭 2 h,加入兔抗人 TMEM168 一抗(1:1 000,美国 Sigma 公司)温室孵育 2 h,PBS 洗涤 2 次,加入二抗室温孵育 30 min。用 DAB 显色、苏木精复染,最后封片显微镜下观察, TMEM168 蛋白定位于细胞质内(图 1)。每张切片随机选择 5 个高倍(×200)视野进行评分^[5]:染色评分由染色强度评分(无着色 0 分,浅棕色 1 分,中棕色 2 分,深棕色 3 分)和染色细胞百分比评分(无染色为 0 分;<25%为 1 分;25%~75%为 2 分;>75%为 3 分)相乘得出,其中 4~9 分为高表达。

1.4 随访方法 术后进行电话和门诊随访。术后第一年每 3 个月随访一次,随后每半年随访 1 次,随访时进行 MRI 检查。随访截止 2021 年 10 月,记录总生存期(overall survival, OS)及无进展生存期(progress-free survival, PFS)。OS 指术后首日至末次随访或者死亡的时间;PFS 指术后首日至首次发生疾病进展或任何原因所致死亡的时间^[6]。

1.5 统计学方法 采用 SPSS 20.0 软件分析;计数资料采用 χ^2 检验;采用多因素 Cox 比例回归风险模型分析生存预后的影响因素;生存曲线分析 TMEM168 表达水平与病人生存预后的关系; $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胶质瘤组织 TMEM168 的表达情况 胶质瘤组织 TMEM168 高表达率[70.71%(99/140)]明显高于对照组[22.00%(11/50)]; $P<0.05$ 。高级别胶质瘤组织 TMEM168 高表达率[81.58%(62/76)]明显高于低级别胶质瘤组织[57.81%(37/64)]; $P<0.05$ 。

2.2 胶质瘤的预后 术后随访 3~60 个月,死亡 46 例,复发 87 例。

2.3 胶质瘤生存预后的影响因素 多因素 Cox 回归分析显示,年龄 ≥ 55 岁、高级别胶质瘤、术前 KPS 评分<80 分、TMEM168 高表达是胶质瘤病人 OS 和 PFS 不良的独立危险因素($P<0.05$;表 1、2)。

2.4 胶质瘤 TMEM168 表达水平与病人预后的关系 生存曲线分析结果显示, TMEM168 高表达胶质瘤病人中位 OS、PFS 较低表达病人明显缩短($P<0.05$,图 2)。

3 讨论

TMEM 家族参与细胞膜结构组成,参与细胞间和细胞内的信号转导,与免疫炎症损伤和线粒体功能障碍有关^[7-9]。TMEM 家族与肿瘤的关系近年来引起重视,研究发现, TMEM 可通过影响细胞增殖、侵袭、凋亡,影响肿瘤的发生、发展^[10,11],例如 TMEM116 通过 PDK1 信号通路促进肺癌细胞的侵袭和转移,与肺癌不良生存预后有关^[12]。TMEM168 蛋白是由 697 个氨基酸残基组成,在人类和啮齿类动物中均有表达。TMEM168 高表达参与感觉门控缺陷、精神分裂症和成瘾性疾病等^[13]。TMEM168 基因突变也与家族性 Brugada 综合征有关^[14]。有研究发现, TMEM168 在胶质母细胞瘤细胞中高表达,可通过 Wnt/ β -Catenin 信号通路促进细胞增殖和侵袭^[4]。本文发现, TMEM168 在胶质瘤组织中的高表达率明显高于非肿瘤脑组织,并且高级别胶质瘤组织明显高于低级别胶质瘤组织。这提示 TMEM168 可能参与胶质瘤的发生、发展。然而, TMEM168 在胶质瘤中的具体作用机制,尚不明确,有待进一步研究。

胶质瘤病人预后的影响因素较多。本文发现年龄、高级别胶质瘤、术前 KPS 评分是 OS 及 PFS 的独立影响因素。这与文献报道一致^[5,15]。Xu 等^[4]发现 TMEM168 高表达的胶质母细胞瘤总体生存率明显降低。本文也发现, TMEM168 高表达是胶质瘤病人 OS 和 PFS 不良的独立危险因素($P<0.05$);生存曲线分析显示 TMEM168 高表达胶质瘤病人的中位 OS 及 PFS 较低表达病人明显缩短($P<0.05$)。

本文也存在一些局限性,例如未分析 TMEM168 在胶质瘤中的作用机制;未分析 TMEM168 与胶质瘤手术疗效及放化疗效果的关系。另外,未来需要开展细胞和动物学研究,分析 TMEM168 在胶质瘤病情进展中的作用及机制。

总之,胶质瘤组织 TMEM168 呈高表达,与胶质瘤病人不良生存预后有关。

【参考文献】

[1] Hicks WH, Bird CE, Pernik MN, *et al.* Large animal models of glioma: current status and future prospects [J]. Anticancer Res, 2021, 41(11): 5343-5353.
[2] Zhang N, Pan H, Liang X, *et al.* The roles of transmembrane family proteins in the regulation of store-operated Ca(2+) entry [J]. Cell Mol Life Sci, 2022, 79(2): 118.

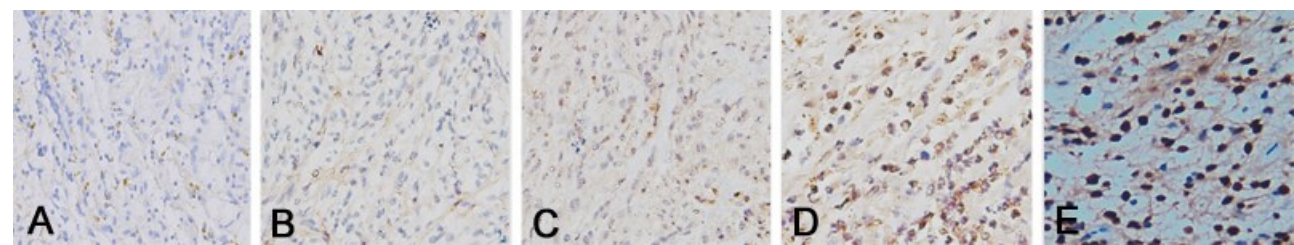


图1 免疫组化染色检测组织 TMEM168 表达(EnVision 二步法,×200)

A. 非肿瘤脑组织;B. WHO 分级Ⅰ级胶质瘤组织;C. WHO 分级Ⅱ级胶质瘤组织;D. WHO 分级Ⅲ级胶质瘤组织;E. WHO 分级Ⅳ级胶质瘤组织

表1 本文 140 例胶质瘤病人总生存期影响因素的 Cox 比例回归风险模型分析

危险因素	单因素			多因素		
	风险比	95%置信区间	P 值	风险比	95%置信区间	P 值
年龄≥55 岁	1.300	1.098~3.276	0.008	1.261	1.115~4.008	0.013
男性	1.417	0.901~1.514	0.552			
术前 KPS 评分<80 分	2.981	1.673~3.990	<0.001	2.683	1.515~3.654	<0.001
高级别胶质瘤	4.116	2.003~7.651	<0.001	3.170	2.000~6.333	<0.001
肿瘤直径>3 cm	1.231	0.547~1.672	0.513			
肿瘤未全切除	1.047	0.774~1.130	0.624			
术后未化疗	1.013	0.783~1.316	0.101			
TMEM168 高表达	3.442	1.605~7.742	<0.001	2.251	1.412~4.971	<0.001

表2 本文 140 例胶质瘤无进展生存期影响因素的 Cox 比例回归风险模型分析

危险因素	单因素			多因素		
	风险比	95%置信区间	P 值	风险比	95%置信区间	P 值
年龄≥55 岁	2.615	1.422~3.098	0.011	1.800	1.096~2.938	0.035
男性	1.004	0.564~1.123	0.574			
术前 KPS 评分<80 分	3.054	1.232~5.101	0.000	2.131	1.462~4.000	0.000
高级别胶质瘤	5.233	2.611~9.231	0.000	3.163	1.202~7.451	0.000
肿瘤直径>3 cm	1.132	0.603~1.231	0.459			
肿瘤未全切除	1.212	0.803~1.452	0.338			
TMEM168 高表达	4.100	2.314~8.142	0.000	3.100	1.323~5.282	0.000

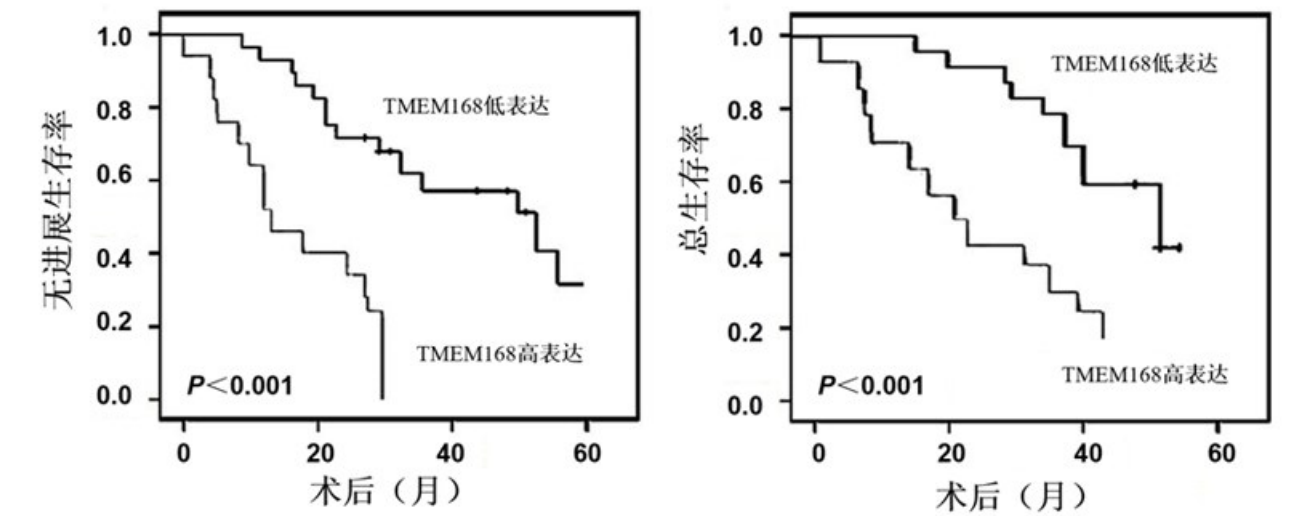


图2 生存曲线分析胶质瘤 TMEM168 表达水平与病人生存预后的关系

[3] Zhang X, He Y, Jiang Y, *et al.* TMEM229A suppresses non-small cell lung cancer progression via inactivating the ERK pathway [J]. *Oncol Rep*, 2021, 46(2): 176.

[4] Xu J, Su Z, Ding Q, *et al.* Inhibition of proliferation by knockdown of transmembrane (TMEM) 168 in glioblastoma cells via suppression of Wnt/ β -Catenin pathway [J]. *Oncol Res*, 2019, 27(7): 819–826.

[5] 田伟,李峰,张彬. STRAP在人脑胶质瘤组织中的表达及临床意义[J]. 中国临床神经外科杂志, 2020, 25(8):510–513.

[6] 徐梓珩,陈郑,崔萧,等. Polo样激酶1、真核翻译起始因子5A2在人脑胶质瘤组织的表达及其临床意义[J]. 中华实验外科杂志, 2022, 39(1):130–132.

[7] Beasley HK, Rodman TA, Collins GV, *et al.* TMEM135 is a novel regulator of mitochondrial dynamics and physiology with implications for human health conditions [J]. *Cells*, 2021, 10(7): 1750.

[8] Li C, Ou R, Chen Y, *et al.* Mutation analysis of TMEM family members for early-onset Parkinson’s disease in Chinese population [J]. *Neurobiol Aging*, 2021, 101: 299.e291–299.e296.

[9] Segelcke D, Fischer HK, Hütte M, *et al.* Tmem160 contributes to the establishment of discrete nerve injury-induced pain behaviors in male mice [J]. *Cell Rep*, 2021, 37(12): 110152.

[10] Sharma VP, Tang B, Wang Y, *et al.* Live tumor imaging shows macrophage induction and TMEM-mediated enrichment of cancer stem cells during metastatic dissemination [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 7300.

[11] Jiang XY, Wang L, Liu ZY, *et al.* TMEM48 promotes cell proliferation and invasion in cervical cancer via activation of the Wnt/ β -catenin pathway [J]. *J Recept Signal Transduct Res*, 2021, 41(4): 371–377.

[12] Zhang S, Dai H, Li W, *et al.* TMEM116 is required for lung cancer cell motility and metastasis through PDK1 signaling pathway [J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(12): 1086.

[13] Fu K, Miyamoto Y, Sumi K, *et al.* Overexpression of transmembrane protein 168 in the mouse nucleus accumbens induces anxiety and sensorimotor gating deficit [J]. *PLoS One*, 2017, 12(12): e0189006.

[14] Shimizu A, Zankov DP, Sato A, *et al.* Identification of transmembrane protein 168 mutation in familial Brugada syndrome [J]. *FASEB J*, 2020, 34(5): 6399–6417.

[15] 胡荣,赵武,张亚森,等. lncRNA-FTX与脑胶质瘤病人预后的相关性分析[J]. 中国临床神经外科杂志, 2021, 26(9):679–681.

(2022-03-25 收稿, 2022-05-13 修回)

(上接第 569 页)

[3] 冯斌,蔡明,孙印臣,等. 脑室镜腹腔镜综合辅助脑室腹腔分流术治疗脑积水的临床分析[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2011, 14(9):80–82.

[4] 宋志军,陈晓雷,唐运林,等. 脑室镜与腹腔镜在交通性脑积水脑室-腹腔分流中的联合应用[J]. 中华外科杂志, 2015, 53(10):772–775.

[5] 徐绪昌,李力,冯文献,等. 腹腔镜脑室腹腔分流术治疗脑积水的效果评价[J]. 中国当代医药, 2013, 20(11): 177–179.

[6] 方黎晓,胡少玄,徐洪飞,等. 侧脑室-腹腔分流术治疗外伤性脑积水术后并发症临床观察[J]. 中华神经创伤外科电子杂志, 2016, 2(1):23–25.

[7] Browd SR, Gottfried ON, Ragel BT, *et al.* Failure of cerebrospinal fluid shunts: PartII: overdrainage, loculation and abdominal complications [J]. *Pediatr Neurol*, 2006, 34(3): 171–176.

[8] Browd SR, Ragel BT, Gottfried ON, *et al.* Failure of cerebrospinal fluid shunts: Part I: obstruction and mechanical failure [J]. *Pediatr Neurol*, 2006, 34(2): 83–92.

[9] 徐佳,顾培元,陈云祥,等. 腹腔镜技术在治疗侧脑室-腹腔分流术后分流管腹腔端堵塞中的应用[J]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2018, 45(4):404–407.

[10] Aoki Y, Kazui H, Tanaka T, *et al.* EEG and neuronal activity topography analysis can predict effectiveness of shunt operation in idiopathic normal pressure hydrocephalus patients [J]. *Neuroimage Clin*, 2013, 3: 522–530.

[11] Bugalho P, Alves L, Ribeiro O. Normal pressure hydrocephalus: a qualitative study on outcome [J]. *Arq Neuropsiquiatr*, 2013, 71(11): 890–895.

[12] 杨振兴. 脑积水手术效果及脑室-腹腔分流管的选择探讨[J]. 中国临床神经外科杂志, 2011, 16(11):660–663.

[13] 陆业平,黄慧慧,郭一新,等. 脑室-腹腔分流治疗脑积水 60 例临床分析[J]. 中国临床神经外科杂志, 2011, 16(3): 178–180.

[14] 王汉东. 介绍几种继发性脑积水的治疗经验[J]. 中华神经外科杂志, 2015, 31(11):1081–1083.

(2020-07-24 收稿, 2020-09-09 修回)