

RRM2表达与宫颈鳞癌相关病理因素及预后关系的研究

汤琳 李梅 邬俊 金闺秀 杨海涛 赵玲军 钟惠珍

[摘要] 目的 探讨核糖核苷酸还原酶M2(RRM2)在宫颈鳞癌中的表达及其与临床病理因素的关系及对预后的影响。方法 采用免疫组化法检测68例宫颈鳞癌组织中的RRM2的表达,分析RRM2与宫颈鳞癌患者其他临床病理因素间的关系,并采用Kaplan-Meier法计算生存率。单因素Log-rank分析和多因素COX回归模型评估RRM2与宫颈鳞癌的预后关系。结果 RRM2阳性表达率在年龄大、组织分化程度低、FIGO分期晚的患者中明显增高(χ^2 分别=7.35、8.29、6.10, P 均 <0.05)。Log-rank分析结果显示RRM2阳性表达的患者5年生存率低于RRM2阴性患者($\chi^2=5.14$, $P<0.05$)。COX回归分析显示RRM2并非影响宫颈鳞癌预后的危险因素($HR=7.44$, $P>0.05$),肿瘤直径 ≥ 4 cm、病理分级为低分化、脉管浸润阳性、淋巴结转移阳性、FIGO分期晚是影响宫颈鳞癌术后预后的危险因素(HR 分别=3.72、13.08、19.69、4.17、5.06, P 均 <0.05)。结论 RRM2对宫颈鳞癌的预后评价有一定的参考价值,但尚未有足够证据证明RRM2是影响宫颈鳞癌预后的危险因素。

[关键词] 核糖核苷酸还原酶M2; 宫颈鳞癌; 预后

Relationship between RRM2 expression and clinicopathological factors and prognosis of cervical squamous carcinoma TANG Lin, LI Mei, WU Jun, et al. Department of Gynaecology and Obstetrics, Ningbo Women & Children's Hospital, Ningbo 315012, China.

[Abstract] **Objective** To investigate the expression of ribonucleotide reductase M2 (RRM2) in cervical squamous carcinoma and its correlation with clinicopathological factors and prognosis. **Methods** Immunohistochemistry was used to detect the expression of RRM2 in 68 specimens of cervical squamous carcinoma. The relationship between RRM2 and clinicopathological factors in patients with cervical squamous carcinoma was analyzed. The survival rate was calculated by the Kaplan Meier method. Log-rank test and COX risk regression model were used to analyze the relationship between RRM2 and the prognosis of cervical squamous carcinoma. **Results** The positive rate of RRM2 was significantly increased in patients with older age, poor tissue differentiation, advanced disease ($\chi^2=7.35, 8.29, 6.10, P<0.05$). Log-rank analysis results showed that the 5-year survival rate was significantly lower in patients with RRM2 positive expression than with negative expression ($\chi^2=5.14, P<0.05$). COX regression analysis results showed that RRM2 was not an independent risk factor for the prognosis ($HR=7.44, P>0.05$), tumor diameter ≥ 4 cm, poor histologic grade, lymphatic vascular invasion, lymph node metastasis, and late FIGO stage were risk factors for the prognosis of cervical squamous carcinoma ($HR=3.72, 13.08, 19.69, 4.17, 5.06, P<0.05$). **Conclusion** RRM2 had certain reference value for the prognosis evaluation of cervical squamous carcinoma, but there is not enough evidence to confirm that RRM2 is a risk

factor for the prognosis of cervical squamous cell carcinoma.

[Key words] ribonucleotide reductase M2; cervical squamous carcinoma; prognosis

DOI:10.13558/j.cnki.issn1672-3686.2019.010.003

基金项目:浙江省医药卫生一般研究计划(2014KYB241)

作者单位:315012 浙江宁波,宁波市妇女儿童医院妇产科(汤琳、邬俊、赵玲军、钟惠珍);台州市第一人民医院妇产科(金闺秀);宁波市临床病理诊断中心(杨海涛);宁波大学医学院附属医院妇科(李梅)

通讯作者:钟惠珍, Email: nbfeyz@163.com

核糖核苷酸还原酶(ribonucleotide reductase, RR)是生物体细胞内唯一能够催化核糖核苷酸转化

为脱氧核糖核苷酸的酶,RR的酶活性和表达水平增高与肿瘤的发生发展密切相关,且其表达水平与肿瘤预后及化疗敏感性具有一定的相关性^[1]。RR由两个大的RRM1亚基和两个小亚基RRM2和/或p53R2组成^[2]。RRM2在许多肿瘤中的高表达往往意味着不良的预后,如膀胱癌、胃癌、非小细胞肺癌、乳腺癌等^[3-5]。本次研究的目的是探讨RRM2在宫颈鳞癌中的表达及其与临床病理因素的关系及对预后的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集2010年2月至2012年9月宁波市妇女儿童医院收治的ⅠA~ⅡB期(FIGO2009年推荐分期标准)宫颈鳞癌标本68例。标本采集前均无放化疗史和免疫治疗史。所有患者均经广泛性子官切除术+盆腔淋巴结清扫术治疗,根据患者情况确定是否需要辅助放化疗。对全部病例进行随访,随访方式为电访、医院门诊复查。生存时间以患者术后第一日至随访结束时间(2018年12月31日)或该病例因宫颈癌死亡之日(时间按月)计算。至研究截止日期共失访9例。59例宫颈鳞癌患者年龄31~67岁,平均年龄(44.90±8.75)岁。

1.2 RRM2表达检测 采用链霉菌抗生物蛋白-过氧化物酶免疫组化法和加热抗原修复法检测RRM2表达,以磷酸缓冲液做阴性对照,已知阳性的宫颈鳞癌组织切片作阳性对照,标本经苏木精-伊红染色后由高年资病理医师判定结果。免疫组化结果判定参照相关文献标准:每张切片随机观察10个高倍视野,每个视野计数100个细胞。因RRM2蛋白主要在细胞质中表达,以细胞质中出现明显棕黄色颗粒为阳性细胞,阳性细胞占总细胞数的百分比≥10%为RRM2阳性,<10%为RRM2阴性^[6]。

1.3 统计学方法 采用SPSS 22.0、Graphpad Prism8.0统计软件进行统计分析。计数资料采用 χ^2 检验或Fisher确切概率法。采用Kaplan-Meier法计算平均生存时间和5年生存率,绘制生存曲线。采用Log-rank法和多因素COX回归模型评估各临床病理因素的预测价值。设 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 宫颈鳞癌组织中RRM2表达与一般临床特征及病理因素关系见表1

由表1可见,RRM2在不同年龄、组织分化程

度、FIGO分期方面差异均有统计学意义(χ^2 分别=7.35、8.29、6.10, P 均<0.05)。RRM2阳性表达率在年龄大、疾病分期晚、细胞分化差患者中更高。RRM2在不同肿瘤大小、肿瘤浸润深度、有无淋巴结转移、脉管浸润及血清鳞状细胞癌抗原阳性及阴性中的表达,差异均无统计学意义(χ^2 分别=0.10、0.01、0.09、0.22、2.23, P 均>0.05)。

表1 宫颈癌鳞癌患者RRM2与一般临床特征及病理因素的关系/例

临床病理因素		RRM2 阳性	RRM2 阴性
年龄	≤40岁	15	9
	>40岁	32	3
FIGO分期	I期	30	12
	II期	17	0
肿瘤直径	<4cm	29	8
	≥4cm	18	4
病理分级	高分化	11	8
	中分化	30	3
	低分化	6	1
脉管浸润	阴性	32	9
	阳性	15	3
淋巴结转移	阴性	39	11
	阳性	8	1
浸润深度	<1/2宫颈管	23	6
	≥1/2宫颈管	24	6
血清鳞状细胞癌抗原*	阴性	20	8
	阳性	27	4

注: *:血清鳞状细胞癌抗原为患者入院常规抽血检测所得,阳性:≥1.5 ng/ml;阴性:<1.5 ng/ml。

2.2 RRM2及临床病理因素与宫颈鳞癌预后的关系 59例宫颈鳞癌患者术后总体5年生存率为77.97%,生存时间12~106个月,中位生存时间80.00个月。随访至2018年12月31日,共有22名患者死亡。RRM2及临床病理因素与宫颈鳞癌预后的关系见表2。

由表2可见,RRM2阳性的宫颈鳞癌患者的5年生存率低于RRM2阴性的宫颈鳞癌患者($\chi^2=5.14$, $P<0.05$)。年龄大、FIGO分期晚、肿瘤直径大、病理组织分化差、有脉管浸润、淋巴结转移、浸润深度深、血清血清鳞状细胞癌抗原阳性患者的5年生存率更低(χ^2 分别=6.23、8.43、10.70、10.98、11.60、

41.83、13.81、5.82, P 均 <0.05)。

表2 RRM2和临床病理因素与生存率的相关性

因素	<i>n</i>	平均生存时间/月	5年生存率/%
年龄			
≤40岁	24	93.17 ± 5.44	83.33
>40岁	35	77.00 ± 5.37	74.29
FIGO分期			
I期	42	90.20 ± 4.45	85.71
II期	17	60.88 ± 5.38	58.82
肿瘤直径			
<4 cm	37	93.14 ± 4.27	86.49
≥4 cm	22	65.96 ± 6.31	63.64
病理分级			
高、中分化	52	87.83 ± 4.09	82.69
低分化	7	53.29 ± 8.78	42.86
脉管浸润			
阴性	41	92.67 ± 3.92	85.37
阳性	18	61.67 ± 7.28	61.11
淋巴结转移			
阴性	50	92.07 ± 3.61	88.00
阳性	9	39.00 ± 6.27	22.22
手术切缘			
阴性	57	84.69 ± 4.02	78.95
阳性	2	50.00 ± 19.80	50.00
浸润深度			
<1/2 宫颈管	29	97.95 ± 4.05	93.10
≥1/2 宫颈管	30	68.03 ± 5.48	63.33
RRM2			
阴性	12	103.17 ± 2.71	100.00
阳性	47	72.49 ± 3.99	72.34
血清鳞状细胞癌抗原			
阴性	28	94.02 ± 4.74	89.30
阳性	31	72.00 ± 5.45	67.74

2.3 各临床病理因素与宫颈鳞癌预后的关系的COX回归分析见表3

由表3可见,RRM2不是影响宫颈癌预后的危险因素($P>0.05$)。肿瘤直径 ≥ 4 cm、病理分级为低分化、脉管浸润阳性、淋巴结转移阳性、FIGO分期晚是影响宫颈鳞癌术后预后的危险因素(P 均 <0.05)。

表3 各临床病理因素与宫颈鳞癌预后的关系的COX回归分析

因素	<i>B</i>	<i>SE</i>	<i>P</i>	<i>HR</i>	95% <i>CI</i>
年龄	0.23	0.68	>0.05	1.29	0.33 ~ 4.75
肿瘤直径	1.32	0.56	<0.05	3.72	1.25 ~ 11.11
病理分级	2.57	0.79	<0.05	13.08	2.77 ~ 61.74
FIGO分期	1.62	0.60	<0.05	5.06	1.57 ~ 16.34
脉管浸润	2.98	0.80	<0.05	19.69	4.09 ~ 94.71
淋巴结转移	1.43	0.68	<0.05	4.17	1.10 ~ 15.78
RRM2	2.01	1.22	>0.05	7.44	0.68 ~ 80.97
浸润深度	-0.13	0.70	>0.05	0.88	0.22 ~ 3.48
血清鳞状细胞癌抗原	0.50	0.68	>0.05	1.65	0.43 ~ 6.26

3 讨论

RRM2过表达促进了肿瘤的生长^[7],诱导细胞增殖和侵袭^[2,3,8]。在某些类型的癌症中,RRM2表达与肿瘤分级和分期呈正相关^[4,9,10]。本次研究标本中RRM2染色在年龄大、疾病分期晚、细胞分化差患者中更为强烈,提示RRM2有可能参与了宫颈鳞癌的发生发展过程。国内外研究报道,在某些肿瘤上,RRM2高表达是肿瘤早期复发、死亡的预测因子^[11],与较差的存活率相关^[12,13]。本研究单因素分析显示RRM2阳性表达的患者5年生存率明显低于RRM2阴性患者。此结果与相关文献研究结果一致,分析其原因可能与RRM2与较差的临床病理特征相关。多因素分析发现肿瘤直径 ≥ 4 cm、病理分级为低分化、脉管浸润阳性、淋巴结转移阳性、FIGO分期晚是影响宫颈鳞癌术后预后的危险因素,这与目前国内大多数文献一致^[14-17]。这提示临床医师对于有此高危因素的宫颈癌患者术后应辅以放、化疗或其他联合治疗,争取最大程度延长患者的期望寿命。已有研究报道表明在鼻咽癌、乳腺癌中,RRM2是影响预后的独立预后因素^[18],但本次研究显示,RRM2并非是影响宫颈鳞癌预后的独立危险因素,分析可能原因是研究的样本量少,研究对象仅限宫颈鳞癌患者,FIGO分期仅限I期及II期,统计分析意义有一定的局限性。因此,尚需进一步扩大样本量以研究鉴定RRM2作为宫颈鳞癌监测标志物和预后风险因子的确切价值。

综上所述,RRM2的表达与宫颈鳞癌患者的年龄、临床分期、组织分化密切相关,RRM2阳性表达的患者生存率明显低于RRM2阴性患者。RRM2对宫颈鳞癌的预后评价有一定的参考价值。今后仍需加大样本量的收集,必要时可以联合多家医院开展

多中心研究进一步探索 RRM2 与宫颈鳞癌预后的相关性。

参考文献

- 1 Shao J, Zhou B, Chu B, et al. Ribonucleotide reductase inhibitors and future drug design[J]. Curr Cancer Drug Targets, 2006, 6(5): 409-431.
- 2 Zhang H, Liu X, Warden CD, et al. Prognostic and therapeutic significance of ribonucleotide reductase small subunit M2 in estrogen-negative breast cancers[J]. BMC Cancer, 2014, 14: 664.
- 3 Huang Y, Liu X, Wang YH, et al. The prognostic value of ribonucleotide reductase small subunit M2 in predicting recurrence for prostate cancers [J]. Urol Oncol, 2014, 32(1): 51.e9-51.e19.
- 4 Kang W, Tong JH, Chan AW, et al. Targeting ribonucleotide reductase M2 subunit by small interfering RNA exerts anti-oncogenic effects in gastric adenocarcinoma[J]. Oncol Rep, 2014, 31(6): 2579-2586.
- 5 Grossi F, Dal Bello MG, Salvi S, et al. Expression of ribonucleotide reductase subunit-2 and thymidylate synthase correlates with poor prognosis in patients with resected stages I ~ III non-small cell lung cancer[J]. Dis Markers, 2015, 2015: 302649.
- 6 Morikawa T, Hino R, Uozaki H, et al. Expression of ribonucleotide reductase M2 subunit in gastric cancer and effects of RRM2 inhibition in vitro[J]. Hum Pathol, 2010, 41(12): 1742-1748.
- 7 Hsieh YY, Chou CJ, Lo HL, et al. Repositioning of a cyclin-dependent kinase inhibitor GW8510 as a ribonucleotide reductase M2 inhibitor to treat human colorectal cancer[J]. Cell Death Discov, 2016, 2: 16027.
- 8 Zhong Z, Cao Y, Yang S, et al. Overexpression of RRM2 in gastric cancer cell promotes their invasiveness via AKT/NF- κ B signaling pathway[J]. Pharmazie, 2016, 71(5): 280-284.
- 9 Aird KM, Li H, Xin F, et al. Identification of ribonucleotide reductase M2 as a potential target for pro-senescence therapy in epithelial ovarian cancer[J]. Cell Cycle, 2014, 13(2): 199-207.
- 10 Li J, Pang J, Liu Y, et al. Suppression of RRM2 inhibits cell proliferation, causes cell cycle arrest and promotes the apoptosis of human neuroblastoma cells and in human neuroblastoma RRM2 is suppressed following chemotherapy[J]. Oncol Rep, 2018, 40(1): 355-360.
- 11 Lee B, Ha SY, Song DH, et al. High expression of ribonucleotide reductase subunit M2 correlates with poor prognosis of hepatocellular carcinoma [J]. Gut Liver, 2014, 8(6): 662-668.
- 12 Vei Mah, Mohammad Alavi, Diana C, et al. Ribonucleotide reductase subunit M2 predicts survival in subgroups of patients with non-small cell lung carcinoma: effects of gender and smoking status[J]. PLoS One, 2015, 10(5): e0127600.
- 13 Kolberg M, Bruun J, Murumägi A, et al. Drug sensitivity and resistance testing identifies PLK1 inhibitors and gemcitabine as potent drugs for malignant peripheral nerve sheath tumors[J]. Mol Oncol, 2017, 11(9): 1156-1171.
- 14 Chang C, Chen J, Chang WY, et al. Tumor Size Has a Time-Varying Effect on Recurrence in Cervical Cancer [J]. Low Genit Tract Dis, 2016 Oct, 20(4): 317-20.
- 15 Graves S, Seagle BL, Strohl AE, et al. Survival after pelvic exenteration for cervical cancer: A National Cancer Database Study[J]. Gynecol Cancer, 2017, 27(2): 390-395.
- 16 Kwon J, Eom KY, Kim YS, et al. The prognostic impact of the number of metastatic lymph nodes and a new prognostic scoring system for recurrence in early-stage cervical cancer with high risk factors: A Multicenter Cohort Study (KROG 15-04) [J]. Cancer Res Treat, 2018, 50(3): 964-974.
- 17 Obrzut B, Semczuk A, Naróg M, et al. Prognostic parameters for patients with cervical cancer FIGO stages IA2-IIB: a long-term follow-up[J]. Oncology, 2017, 93(2): 106-114.
- 18 Han P, Lin ZR, Xu LH, et al. Ribonucleotide reductase M2 subunit expression and prognostic value in nasopharyngeal carcinoma[J]. Mol Med Rep, 2015, 12(1): 401-409.

(收稿日期 2019-07-26)

(本文编辑 蔡华波)