

SOX2 在脑胶质瘤组织中的表达及其临床意义

刘 湘

【摘要】 目的 分析 SOX2 在脑胶质瘤组织中的表达及其临床意义。方法 收集安康市人民医院神经外科 2012 年 1 月—2015 年 1 月收治的 65 例脑胶质瘤患者的脑组织标本及 13 例因颅脑损伤行颅内减压术患者的脑组织标本，采用免疫组化法检测 SOX2 蛋白表达情况，采用反转录聚合酶链式反应（RT-PCR）检测 SOX2 mRNA 表达情况，分析 SOX2 蛋白表达与脑胶质瘤患者临床特征的关系。**结果** I 级脑胶质瘤组织中 SOX2 蛋白阳性表达率高于正常脑组织，II 级脑胶质瘤组织中 SOX2 蛋白阳性表达率高于 I 级脑胶质瘤组织及正常脑组织，III 级脑胶质瘤组织中 SOX2 蛋白阳性表达率高于 I 级、II 级脑胶质瘤组织及正常脑组织，IV 级脑胶质瘤组织中 SOX2 蛋白阳性表达率高于 I 级、II 级、III 级脑胶质瘤组织及正常脑组织（ $P < 0.05$ ）。不同性别、年龄脑胶质瘤患者脑胶质瘤组织中 SOX2 蛋白表达情况比较，差异无统计学意义（ $P > 0.05$ ）；不同肿瘤直径、病理分级脑胶质瘤患者脑胶质瘤组织中 SOX2 蛋白表达情况比较，差异有统计学意义（ $P < 0.05$ ）。I 级脑胶质瘤组织中 SOX2 mRNA 相对表达量高于正常脑组织，II 级脑胶质瘤组织中 SOX2 mRNA 相对表达量高于 I 级脑胶质瘤组织及正常脑组织，III 级脑胶质瘤组织中 SOX2 mRNA 相对表达量高于 I 级、II 级脑胶质瘤组织及正常脑组织，IV 级脑胶质瘤组织中 SOX2 mRNA 相对表达量高于 I 级、II 级、III 级脑胶质瘤组织及正常脑组织（ $P < 0.05$ ）。**结论** SOX2 在脑胶质瘤组织内呈高表达，且其表达水平随着肿瘤恶性程度的加重而升高，提示 SOX2 在脑胶质瘤的发生和发展过程中起重要作用。

【关键词】 神经胶质瘤；SOX2；疾病特征

【中图分类号】 R 730.264 **【文献标识码】** A doi: 10.3969/j.issn.1008-5971.2016.02.011

刘湘. SOX2 在脑胶质瘤组织中的表达及其临床意义 [J]. 实用心脑血管病杂志, 2016, 24 (2): 40-43. [www.syxnf.net]

Liu X. Expression of SOX2 in glioma tissue and its clinical significance [J]. Practical Journal of Cardiac Cerebral Pneumal and Vascular Disease, 2016, 24 (2): 40-43.

Expression of SOX2 in Glioma Tissue and Its Clinical Significance LIU Xiang. Department of Neurosurgery, the People's Hospital of Ankang, Ankang 725000, China

【Abstract】 Objective To analyze the expression of SOX2 in glioma tissue and its clinical significance. **Methods** From January 2012 to January 2015 in the Department of Neurosurgery, the People's Hospital of Ankang, a total of 65 patients with glioma and 13 patients undergoing intracranial decompression caused by craniocerebral injury were selected, and their brain tissue specimens were collected. Immunohistochemistry method was used to detect the protein expression of SOX2, while mRNA expression of SOX2 was detected by RT-PCR, relationship between protein expression of SOX2 and clinical features of patients with glioma was analyzed. **Results** The positive rate of protein expression of SOX2 of I - grade glioma tissue was statistically significantly higher than that of normal brain tissue, that of II - grade glioma tissue was statistically significantly higher than that of I - grade glioma tissue and normal brain tissue, respectively, that of III - grade glioma tissue was statistically significantly higher than that of II - grade, I - grade glioma tissue and normal brain tissue, respectively, that of IV - grade glioma tissue was statistically significantly higher than that of III - grade, II - grade, I - grade glioma tissue and normal brain tissue, respectively ($P < 0.05$). No statistically significant differences of protein expression of SOX2 was found in glioma patients with different gender or age ($P > 0.05$); while there were statistically significant differences of protein expression of SOX2 in glioma patients with different diameters of tumor and pathological grading ($P < 0.05$). The mRNA relative expression quantity of SOX2 of I - grade glioma tissue was statistically significantly higher than that of normal brain tissue, that of II - grade glioma tissue was statistically significantly higher than that of I - grade glioma tissue and normal brain tissue, respectively, that of III - grade glioma tissue was statistically significantly higher than that of II - grade, I - grade glioma tissue and normal brain tissue,

基金项目：陕西省科技厅自然科学基金项目（2015JC2-21586）

作者单位：725000 陕西省安康市人民医院神经外科

respectively, that of IV - grade glioma tissue was statistically significantly higher than that of III - grade, II - grade, I - grade glioma tissue and normal brain tissue, respectively ($P < 0.05$). **Conclusion** SOX2 is highly expressed in glioma tissue, and its expression level increased as the tumor malignant degree exacerbated, SOX2 plays an important role in the occurrence and development of glioma.

【Key words】 Glioma; SOX2; Disease attributes

脑胶质瘤属于常见的原发性脑肿瘤,其主要是由人脑神经外胚叶衍化而来的胶质细胞发生的肿瘤^[1]。脑胶质瘤病灶范围广,发病率较高,已成为临床中最主要的原发性脑肿瘤之一。脑胶质瘤致病因素多、发生机制复杂,且多数情况下表现为恶性肿瘤,临床治疗难度大^[2]。目前,针对脑胶质瘤的治疗方式已经从单纯的开颅肿瘤切除术转变为手术结合放化疗的综合治疗,但迄今为止,恶性脑胶质瘤患者治疗成功率仍较低,且预后较差,中位生存时间常 ≤ 18 个月,5年存活率 $\leq 5\%$ ^[3],因此,常规抗肿瘤治疗的临床效果已难有突破。随着分子生物学抗肿瘤研究的发展,已将治疗恶性脑胶质瘤的靶点转向人体干细胞内基因及蛋白因子。SOX2是从诱导性潜能干细胞(iPSCs)分离获取的核心转录因子之一,其能介导细胞基因重编和激活并维持细胞潜在的干细胞功能,使机体发挥自身抗炎及抗癌特性^[4]。本研究旨在分析SOX2在脑胶质瘤组织中的表达及其临床意义,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 采集安康市人民医院神经外科2012年1月—2015年1月收治的65例脑胶质瘤患者的脑组织标本作为脑胶质瘤标本,均由手术获得并经病理确诊,其中男34例,女31例;年龄28~74岁,平均年龄 (41.2 ± 2.4) 岁。参照“世界卫生组织中枢神经系统肿瘤分类(2007年)”中相关标准进行病理分级,其中I级11例、II级21例、III级19例、IV级14例。同时采集13例因颅脑损伤行颅内减压术患者的脑组织标本作为正常脑组织标本。将所有标本均分为2份,一份置于10%中性缓冲甲醛溶液中待病理切片后进行免疫组化染色,另一份置于液氮罐 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存进行反转录聚合酶链方式反应(RT-PCR)。

1.2 实验方法

1.2.1 SOX2 蛋白检测方法

1.2.1.1 实验试剂及仪器 SOX2兔抗人多克隆抗体购于北京博奥森生物技术有限公司,SP-9000免疫组化试剂盒购自福州迈新生物技术开发有限公司,DAB显色试剂盒购自美国SIGMA公司。普通光学显微镜购自日本Olympus公司,石蜡切片机、石蜡包埋机购自德国Leica公司,Nikon4500显微照相设备购自日本Nikon

公司。

1.2.1.2 操作步骤 采用链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶联结法(SP法)进行染色:二甲苯脱蜡,乙醇水化,EDTA缓冲液(pH 值=9.0)加热修复,一抗、二抗孵育,DAB显色及苏木素复染,脱水干燥后,中性树脂封片。阳性对照:供应商提供已知阳性切片;阴性空白对照:缓冲液代替一抗。每张切片至少观察3个高倍视野。

SOX2蛋白表达采用染色强度评分与染色范围评分之和进行评估,具体如下:0分为(-),1~2分为(+),3~4分为(++),5~7分为(+++)。染色强度评分具体为0分:与非实质细胞的染色背景相同;1分:浅黄色;2分:棕黄色;3分:棕褐色。染色范围评分具体为0分:阳性染色细胞占总细胞 $< 5\%$;1分:阳性染色细胞占总细胞的 $5\% \sim 25\%$;2分:阳性染色细胞占总细胞的 $26\% \sim 50\%$;3分:阳性染色细胞占总细胞的 $51\% \sim 75\%$;4分:阳性染色细胞占总细胞的 $76\% \sim 100\%$ 。无论染色强度如何,如阳性染色细胞占总细胞数 $< 5\%$,最终为0分(-)。

1.2.2 SOX2 mRNA 检测方法

1.2.2.1 实验试剂及仪器 SOX2(319 bp)引物:下游 $5' - \text{TAC AGT CTA AAA CTTTTC CCC TT} - 3'$ 和上游 $5' - \text{GCT AGT CTCAA GCG ACG AA} - 3'$;内参 β -actin(417 bp)引物:下游 $5' - \text{TGG GTC ATCTTC TCG CGG TTG G} - 3'$ 和上游 $5' - \text{ACAGAG CCT CGC CTT TGC CGATC} - 3'$ 均自上海Invitrogen公司。Trizol反转录试剂盒和总RNA抽提试剂盒购自TaKaRa公司。

1.2.2.2 反应条件 采用 $25\text{ }\mu\text{l}$ 反应体系:上下游引物各 $1\text{ }\mu\text{l}$,cDNA $1\text{ }\mu\text{l}$, $2 \times \text{Mix}$ $12.5\text{ }\mu\text{l}$,加入RNase-free water至 $25\text{ }\mu\text{l}$ 。反应条件:50 $^{\circ}\text{C}$ 下温育2 min,95 $^{\circ}\text{C}$ 下预变性3 min,95 $^{\circ}\text{C}$ 下变性30 s、60 $^{\circ}\text{C}$ 下1 min,共40个循环。 ΔCT 值为各样本中目的基因的CT值与管家基因GAPDH的CT值之差,计算SOX2 mRNA的相对表达量。

1.3 统计学方法 采用SPSS 19.0统计学软件进行数据处理,计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 q 检验;计数资料采用 χ^2 检验;等级资料采用秩和检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统

计学意义。

2 结果

2.1 SOX2 蛋白在正常脑组织和脑胶质瘤组织中的阳性表达情况 正常脑组织中 SOX2 蛋白阳性表达率为 (2.25 ± 0.73)%，I 级脑胶质瘤组织为 (4.08 ± 1.16)%，II 级脑胶质瘤组织为 (19.27 ± 3.09)%，III 级脑胶质瘤组织为 (28.74 ± 5.53)%，IV 级脑胶质瘤组织为 (59.92 ± 11.70)%；正常脑组织与不同病理分级脑胶质瘤组织中 SOX2 蛋白阳性表达率比较，差异有统计学意义 ($F=211.70, P<0.01$)；其中 I 级脑胶质瘤组织中 SOX2 蛋白阳性表达率高于正常脑组织，II 级脑胶质瘤组织中 SOX2 蛋白阳性表达率高于 I 级脑胶质瘤组织及正常脑组织，III 级脑胶质瘤组织中 SOX2 蛋白阳性表达率高于 I 级、II 级脑胶质瘤组织及正常脑组织，IV 级脑胶质瘤组织中 SOX2 蛋白阳性表达率高于 I 级、II 级、III 级脑胶质瘤组织及正常脑组织，差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。

2.2 SOX2 蛋白表达与脑胶质瘤患者临床特征的关系 不同性别、年龄脑胶质瘤患者脑胶质瘤组织中 SOX2 蛋白表达情况比较，差异无统计学意义 ($P>0.05$)；不同肿瘤直径、病理分级脑胶质瘤患者脑胶质瘤组织中 SOX2 蛋白表达情况比较，差异有统计学意义 ($P<0.05$ ，见表 1)。

表 1 SOX2 蛋白表达与脑胶质瘤患者临床特征的关系 (例, $n=65$)
Table 1 Relationship between protein expression of SOX2 and clinical features of patients with glioma

临床特征	例数	SOX2 蛋白表达			χ^2 值	P 值
		-	+	++		
性别					0.338	0.844
男	34	2	15	17		
女	31	1	13	17		
年龄(岁)					2.868	0.238
≤50	37	3	14	20		
>50	28	0	14	14		
肿瘤直径 (cm)					20.003	0.000
<2	22	0	16	6		
2~5	33	1	12	20		
>5	10	2	0	8		
病理分级 (级)					26.375	0.000
I~II	32	1	24	7		
III~IV	33	2	4	27		

2.3 SOX2 mRNA 在正常脑组织和胶质瘤组织中的相对表达量 正常脑组织中 SOX2 mRNA 相对表达量为 (2.09 ± 0.24)，I 级脑胶质瘤组织为 (2.58 ± 0.31)，II 级脑胶质瘤组织为 (3.05 ± 0.40)，III 级脑胶质瘤组

织为 (3.82 ± 0.38)，IV 级脑胶质瘤组织为 (4.49 ± 0.52)；正常脑组织与不同病理分级脑胶质瘤组织中 SOX2 mRNA 相对表达量比较，差异有统计学意义 ($F=84.77, P<0.01$)；其中 I 级脑胶质瘤组织中 SOX2 mRNA 相对表达量高于正常脑组织，II 级脑胶质瘤组织中 SOX2 mRNA 相对表达量高于 I 级脑胶质瘤组织及正常脑组织，III 级脑胶质瘤组织中 SOX2 mRNA 相对表达量高于 I 级、II 级脑胶质瘤组织及正常脑组织，IV 级脑胶质瘤组织中 SOX2 mRNA 相对表达量高于 I 级、II 级、III 级脑胶质瘤组织及正常脑组织，差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。

3 讨论

脑胶质瘤属于高度异质性肿瘤，患者肿瘤分期相似、肿瘤组织形态学特征相同^[5]，但各类脑胶质瘤细胞的生物学行为及其对免疫应答、抗肿瘤药物的敏感性不同，导致无法使用相同的治疗方式进行统一治疗。有临床研究显示，脑胶质瘤细胞的产生及远期发展、浸润和转移的作用机制十分复杂，导致该肿瘤对药物及放疗治疗的耐受性较高，因此必须采取肿瘤切除手术进行治疗^[6]，但该类患者术后复发率较高、远期预后较差。随着医疗技术的发展，临床医生开始在脑胶质瘤术后给予一定周期的放疗进行综合干预^[7]，虽然部分患者临床疗效较理想，但仍存在相当数量的患者远期预后不理想。流行病学统计数据显示，恶性胶质瘤患者中位生存时间 < 15 个月，且 5 年生存率 ≤ 5%^[8]。目前，脑胶质瘤尤其是恶性肿瘤的治疗仍处于不断探索阶段，各类临床治疗方式争先涌现并不断革新，但仍无最佳治疗方式，脑胶质瘤患者的总体预后尚未获得质的改变。

肿瘤干细胞致病说是现代医学的研究热点之一，既往研究显示，各类组织及脏器肿瘤常包含多种不同分化期的细胞，其中包含数量不多但可诱发肿瘤产生和维持肿瘤生长的“干细胞”^[9]。有研究通过对胶质瘤组织生物分子学分析及其细胞浸润、转移机制进行研究，认为胶质瘤组织中存在胶质瘤干细胞 (glioma stem cells, GSCs)，其能促使胶质瘤产生及维持生长，并介导该肿瘤细胞 DNA 修复，调控其对放疗的耐受性^[10]，同时 GSCs 也能促使治疗后胶质瘤复发。由于 GSCs 具有自我更新及合成、分泌促细胞特化因子的能力，使得其可以不断增殖，并诱导肿瘤细胞不完全分化，导致肿瘤迅速无限制增殖及恶化。

有研究者利用医学生物分子技术分析 GSCs 生理结构后发现，其内部存在多种重要标记因子，能辅助区分肿瘤干细胞和正常细胞，其中包括表达转录因子 SOX2。SOX2 能诱导和刺激生物体细胞增殖能力增强，并参与

整个细胞周期。SOX2 作为 SOX 基因 B 组亚群成员, 其 DNA 结构域高度保守^[11], 但其蛋白于人胚胎干细胞和神经干细胞、祖细胞内广泛表达, 具有调控胚胎发育期重要基因复制及功能运作的作用, 同时也可抑制干细胞分化, 且与人中枢神经系统结构产生及完善具有极其重要的相关性。既往研究显示, SOX2 蛋白于人正常脑组织内表达较低, 但在星形细胞瘤、少突胶质瘤和室管瘤等恶性脑肿瘤组织内呈高表达, 且绝大部分脑胶质瘤组织中 SOX2 蛋白表达阳性较高, 而肿瘤增殖活性越高, 其表达水平也越高^[12]。在本研究中, 脑胶质瘤组织中 SOX2 蛋白的阳性表达率高于正常脑组织, 表明肿瘤组织中 SOX2 蛋白表达呈上调现象, 和诸多研究结果相一致。有研究结果显示, 脑胶质瘤组织中 SOX2 蛋白表达水平和肿瘤分级具有相关性, 肿瘤病理分级越高, SOX2 蛋白表达水平越高^[7]。本研究中病理分级越高的脑胶质瘤组织 SOX2 蛋白阳性表达率越高, 分析原因可能为肿瘤病理分级越高, 其 GSCs 增殖及分化过程越活跃, 而 SOX2 能促进干细胞分化, 导致其表达水平相应升高。有临床研究通过将 SOX2 表达沉默, 促使脑胶质母细胞瘤启动因子细胞停止复制、增殖, 从而隔断其致癌功能, 本研究的不足为未对 SOX2 蛋白低表达后的抗癌作用进行研究。

本研究结果显示, 肿瘤直径 > 5 cm 患者的脑胶质瘤组织中 SOX2 蛋白表达高于肿瘤直径 2 ~ 5 cm 和肿瘤直径 ≤ 2 cm 患者, 表明 SOX2 蛋白具有促进胶质瘤细胞增殖与分化的功能, 而肿瘤细胞数量上升会导致肿瘤体积快速增大; 病理分级 III ~ IV 级患者的脑胶质瘤组织中 SOX2 蛋白表达高于病理分级 I ~ II 级患者, 进一步验证 SOX2 蛋白表达水平和肿瘤分级存在一定相关性。本研究结果显示, 脑胶质瘤组织中 SOX2 mRNA 相对表达量高于正常脑组织, 且病理分级越高的脑胶质瘤组织中 SOX2 mRNA 相对表达量越高, 表明在脑胶质瘤细胞内, SOX2 调节作用是通过其基因和表观遗传水平实现的。人体肿瘤基因启动因子出现去甲基化后可直接诱导 SOX2 表达异常, 而肿瘤干细胞染色体突变可致 SOX2 mRNA 去甲基化, 可形成不断增殖的恶性 GSCs, 导致 SOX2 基因表达显著上升。

综上所述, SOX2 在脑胶质瘤组织内呈高表达, 且其表达水平随着肿瘤恶性程度的加重而升高, 提示 SOX2 在脑胶质瘤的发生和发展过程中发挥着重要作用, 可为脑胶质瘤的临床治疗提供一定参考。

【知识窗】

脑胶质瘤是由于大脑和脊髓胶质细胞癌变所产生、最常见的原发性颅内肿瘤, 年发病率为 3 ~ 8 人/10 万人口。如同其他肿瘤 (疾病) 一样, 脑胶质瘤也是由于先天的遗传高危因素和环境的致癌因素相互作用所导致的。一些已知的遗传疾病, 例如神经纤维瘤 (I 型) 以及结核性硬化疾病等为脑胶质瘤的遗传易感因素。

本文无利益冲突。

参考文献

- [1] 刘定阳. 干细胞相关基因 MSI 在人脑胶质瘤中的表达及功能研究 [D]. 长沙: 中南大学, 2013.
- [2] 张磊, 涂艳阳, 张鹏幸, 等. 转录因子 SOX9 基因对脑胶质瘤干细胞干性维持的相关性研究 [J]. 现代生物医学进展, 2015, 15 (18): 3430 - 3434.
- [3] 李远. 杂合型重编程 Oct4 联合多能干细胞因子表观重编程人脑胶质瘤细胞的研究 [D]. 郑州: 郑州大学, 2013.
- [4] 边玲, 赵天书, 王策, 等. 胶质瘤中 SOX2 和 Cyclin D1 的表达及意义 [J]. 牡丹江医学院学报, 2015, 36 (4): 7 - 9.
- [5] 柴昌, 宋来君, 韩双印, 等. SOX2 和 miR - 200b 对胶质瘤临床病理和预后的影响及其相互关系 [J]. 中华神经医学杂志, 2014, 13 (10): 984 - 989.
- [6] 刘晓晗. SOX2 在脑胶质瘤组织中的表达及其与临床病理特征的关系 [J]. 山东医药, 2014, 54 (30): 40 - 42.
- [7] Lei J, Jaradat JM, Owosho A, et al. Evaluation of SOX2 as a potential marker for ameloblastic carcinoma [J]. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol, 2014, 117 (5): 608 - 616.
- [8] 黄红芳. 转录因子 Foxd3、SOX2 在宫颈上皮内瘤样病变中的表达临床意义 [J]. 现代仪器与医疗, 2015, 21 (3): 77 - 78.
- [9] Watanabe H, Ma Q, Peng S, et al. SOX2 and p63 colocalize at genetic loci in squamous cell carcinomas [J]. J Clin Invest, 2014, 124 (4): 1636 - 1645.
- [10] 刘淑平, 程涛, 袁卫平. 人诱导多能干细胞的成瘤性发生机制及干预策略 [J]. 中华血液学杂志, 2015, 36 (3): 258 - 261.
- [11] 张晋, 金贵善, 米蕊芳, 等. 神经胶质瘤干细胞向内皮细胞分化的差异基因表达谱的分析 [J]. 中华神经外科杂志, 2015, 31 (3): 299 - 303.
- [12] 延慧敏, 姚孟飞, 姚宏. SOX2 OCT4 TWIST 和 YB - 1 蛋白在宫颈鳞状细胞癌中的表达与临床意义 [J]. 中国药物与临床, 2015, 10 (8): 1092 - 1094.

(收稿日期: 2015 - 11 - 26; 修回日期: 2016 - 02 - 10)

(本文编辑: 毛亚敏)