

非小细胞肺癌组织中RBM3的表达及其与患者预后的相关性研究

黄东帅¹, 田金², 郭成业^{3*}

¹青岛大学附属青岛市市立医院西院区, 山东 青岛

²青岛市中医医院(市海慈医院)肿瘤中心, 山东 青岛

³青岛大学附属青岛市市立医院本部院区, 山东 青岛

收稿日期: 2023年2月6日; 录用日期: 2023年3月1日; 发布日期: 2023年3月9日

摘要

目的: 探讨RBM3 (RNA结合基序蛋白3, RNA binding motif protein 3)在非小细胞肺癌(Non-Small Cell Lung Cancer, NSCLC)组织中的表达情况及其与患者临床病理学参数和预后的关系。方法: 收集2014年8月1日至2015年8月1日在青岛市市立医院东院区胸外科行肺癌根治术的135例NSCLC患者, 通过免疫组化染色方法检测RBM3的表达情况, 通过卡方检验分析其与患者临床病理学参数的相关性, 采用Kaplan-Meier法、log-rank检验法和Cox比例风险模型统计RBM3表达与患者OS (总生存期)及PFS (无进展生存期)的关系。结果: RBM3的表达与肿瘤组织分化程度($P = 0.015$)、N分期($P = 0.005$)、T分期($P = 0.032$)、LVD (淋巴管密度, 以D2-40进行标记) ($P = 0.039$)及MVD (微血管密度, 以CD34进行标记) ($P = 0.035$)明显相关, 差异具有统计学意义($P < 0.05$); 单因素Cox回归分析表明: RBM3的表达、肿瘤组织分化程度、LVD、MVD、T分期、N分期是影响非小细胞肺癌的OS的因素($P < 0.05$); RBM3的表达、肿瘤组织分化程度、LVD、MVD、N分期是影响非小细胞肺癌的PFS的因素($P < 0.05$); Cox比例风险模型多因素分析表明, RBM3、N分期、T分期及LVD、MVD是影响NSCLC患者OS及PFS的独立危险因素($P < 0.05$)。生存分析提示低表达RBM3患者的OS、PFS明显长于高表达RBM3的患者。结论: RBM3、N分期、T分期、LVD、MVD是非小细胞肺癌独立的预后因素。RBM3可能成为非小细胞肺癌总体生存率的预后标志物, 并可能成为非小细胞肺癌治疗的潜在靶点, 具有广阔的治疗前景。

关键词

非小细胞肺癌, RBM3, 临床病理学特征, OS, PFS

Expression of RBM3 in Non-Small Cell Lung Cancer and Its Correlation with Prognosis of Patients

Dongshuai Huang¹, Jin Tian², Chengye Guo^{3*}

*通讯作者。

文章引用: 黄东帅, 田金, 郭成业. 非小细胞肺癌组织中 RBM3 的表达及其与患者预后的相关性研究[J]. 临床医学进展, 2023, 13(3): 3088-3103. DOI: 10.12677/acm.2023.133440

¹West Campus of Qingdao Municipal Hospital Affiliated to Qingdao University, Qingdao Shandong

²Cancer Center, Qingdao Traditional Chinese Medicine Hospital (Qingdao Hiser Hospital), Qingdao Shandong

³Main Campus of Qingdao Municipal Hospital Affiliated to Qingdao University, Qingdao Shandong

Received: Feb. 6th, 2023; accepted: Mar. 1st, 2023; published: Mar. 9th, 2023

Abstract

Objective: To investigate the expression of RBM3 (RNA binding motif protein 3) in non-small cell lung cancer (NSCLC) tissues and its relationship with clinical pathological parameters and prognosis of patients. **Methods:** A total of 135 patients with NSCLC who underwent radical resection of lung cancer in Department of Chest Surgery, Qingdao Municipal Hospital East Campus from August 1, 2014 to August 1, 2015 were collected. The expression of RBM3 was detected by immunohistochemistry, and its correlation with clinical pathological parameters was analyzed by Chi square test. The Kaplan-Meier method, log-rank test and Cox proportional risk model were used to calculate the relationship between RBM3 expression and OS (overall survival) and PFS (progression-free survival) of the patients. **Results:** The expression of RBM3 was significantly correlated with the degree of differentiation ($P = 0.015$), N-stage ($P = 0.005$), T-stage ($P = 0.032$), LVD (lymphatic vessel density, labeled with D2-40) ($P = 0.039$) and MVD (microvessel density, labeled with CD34) ($P = 0.035$) (both $P < 0.05$). Univariate Cox regression analysis showed that the expression of RBM3, tumor tissue differentiation, LVD, MVD, T-stage, and N-stage were the factors affecting OS in NSCLC ($P < 0.05$). The expression of RBM3, the differentiation degree of tumor tissue, LVD, MVD, and N-stage were the factors that affected the PFS of NSCLC ($P < 0.05$). Multivariate analysis using Cox proportional hazards model showed that RBM3, N-stage, T-stage, LVD and MVD were the independent risk factors for OS and PFS in patients with NSCLC ($P < 0.05$). Survival analysis indicated that the OS and PFS of patients with low expression of RBM3 were significantly longer than those of patients with high expression of RBM3. **Conclusion:** RBM3, N-stage, T-stage, LVD and MVD are independent prognostic factors for NSCLC. RBM3 may become a prognostic marker of overall survival for non-small cell lung cancer and a potential target for the treatment of non-small cell lung cancer, with a broad therapeutic prospect.

Keywords

Non-Small Cell Lung Cancer, RBM3, Clinicopathological Features, OS, PFS

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

肺癌作为全球负担最重的恶性肿瘤之一[1],严重危害人类的身体健康,其中非小细胞肺癌约占85%。在全球所有癌症中,肺癌发病人数和死亡人数都位居第一。从GLOBOCAN 2020最新公布的数据可知,2020年全球新发肺癌病例约220万,占全部恶性肿瘤的11.4%,死亡病例约180万,占恶性肿瘤相关死亡的18.0%。中国肺癌发病数和死亡数分别占全球的37.0%和39.8% [2]。

肺癌是预后最差的恶性肿瘤之一。基于全球61个国家的预后数据显示,肺癌年龄标化的5年生存率仅有10.0%~20.0% [3]。肺癌主要治疗手段包括手术、放疗、免疫治疗和靶向治疗等。但非小细胞肺癌

的5年存活率随着诊断分期的升高而降低[4]，尽管大量研究集中于肺癌的肿瘤抑制因子和癌基因，并试图揭示肿瘤发生、发展和转移的机制，但准确的潜在分子机制仍有待充分研究。对肺癌的潜在分子机制进行深入研究有助于开发新的临床诊断和治疗方法。因此进一步研究肺癌的发生、发展及作用机制，仍然是目前研究的重点。

RNA结合基序蛋白3 (RNA Binding Motif Protein 3, RBM3)是Danno等[5]于1995年首次在人类胎儿的脑组织cDNA文库中发现的。RBM3是哺乳动物体内重要的冷应激蛋白，也是高度保守RNA结合蛋白家族成员，在轻度低温的环境下它的表达量增加。此外，已证明RBM3可促进细胞增殖和红细胞生成分化[6][7]。最近的研究表明，RBM3在人类结肠直肠癌[8][9]和前列腺癌[6]中起促进作用。RBM3在人类卵巢癌[10]、尿路上皮膀胱癌[11]、恶性黑色素瘤[12]，以及胃腺癌[13]中高度表达。这些数据表明，RBM3能够在各种人类癌症中发挥不同作用并表现出组织特异性。据我们所知，迄今为止，RBM3在人类肺癌中的作用尚不清楚。

本实验采用免疫组化SP法检测NSCLC组织中RBM3表达，探讨其与临床病理特征及预后的关系，以为NSCLC诊断和预后生物学标志物提供参考。

2. 资料和方法

2.1. 临床资料

从病案室的病例信息查询系统以及住院病人信息查询系统中，本研究收集了2014年8月1日至2015年8月1日于青岛市市立医院东院区胸外科行肺癌根治术的135例NSCLC患者的相关临床以及随访资料，包括性别、年龄、吸烟史，术后病理检查报告、TNM分期、肿瘤分化程度、淋巴结转移等各项资料，以及患者每月到医院随访的资料、影像学检查结果以及血液化验等相关情况。此次研究全部病患的相关信息都有详尽的记录，其中包括手术治疗后的随访检查、病患疾病的进展状况、实验室的检查结果以及病患的死亡日期以及详细的死因。所选患者手术前均未实施过任何放化疗、靶向免疫以及中药等抗肿瘤疗法，均已通过术后石蜡病理检查确诊为非小细胞肺癌，且术后标本保存完好。其中男性61例，女性为74例。年龄42至75岁。根据美国抗癌联合会(AJCC, American Joint Committee on Cancer)第8版TNM分期标准进行分期，T1 54例，T2 38例，T3 43例。淋巴结阳性80例，淋巴结阴性55例。高、中分化59例，低分化76例。本实验经青岛市市立医院伦理委员会批准，所有患者均签署知情同意书。

2.2. 方法

对组织上的RBM3表达，经免疫组化技术定位、定性检测，主要免疫组化技术实验步骤：取NSCLC组织石蜡标本，4 μm厚连续切片，经二甲苯脱蜡、乙醇梯度水化。EDTA修复液高温修复抗原，3% H₂O₂孵育10 min，加入10%山羊血清封闭10 min。加入1:100稀释的兔抗人RBM3单克隆抗体4℃过夜孵育，次日加入辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔多克隆抗体，在室温下孵育30分钟。(注：辣根过氧化物酶对光敏感，应避免不必要的光暴露)。PBS冲洗后，将DAB显色剂均匀滴加到玻片上，染色3~15分钟，后继续PBS缓冲液冲洗，苏木精复染、脱水、透明，封片，镜下观察(见表1和表2)。

Table 1. Details of experimental reagents used

表 1. 所用实验试剂详情

试剂名称	工作浓度	购买公司
兔抗人RBM3单克隆抗体	1:100	北京博奥森生物技术有限公司
HRP标记的山羊抗兔二抗	1:100	北京中杉金桥生物技术有限公司

Continued

鼠抗人单克隆抗体CD34	1:100	ab8158, Abcam
鼠抗人单克隆抗体D2-40	1:100	ab77854, Abcam
免疫组织化学试剂盒	-	北京中杉金桥生物技术有限公司
二氨基联苯胺(DAB)显色试剂盒	1:50	北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司
苏木素试剂	1:50	北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司

其他试剂: 无水乙醇、透明中性树脂、PBS缓冲液、不同浓度的乙醇、0.3%过氧化氢、硫酸溶液、蒸馏水、二甲苯溶液、清洁剂、柠檬酸盐缓冲溶液等一系列的器材以及试剂, 全部都由青岛市市立医院东院区病理科提供。

Table 2. Details of the instruments used in the experiment

表 2. 实验所用仪器详情

仪器设备	购买公司
双目显微镜	日本OLYMPUS公司
显微照相机	日本OLYMPUS公司
Qcapture图像采集系	日本OLYMPUS公司
组织包埋全自动机	日本樱花公司
RM2135型切片机	德国LEICA公司
摊片烤片机	孝感宏业医用仪器公司
电热恒温培养箱	江苏省沪通电热设备厂

2.3. 结果判读

由两位职称均为副主任医师以上的病理科医师独立阅片, 当两位医师计数后分组结果不一致时, 由第三位病理科主任医师重新计数并分组。每张切片随机选取 5 个高倍镜视野(400×)计数细胞。RBM3 蛋白表达以细胞核呈棕黄或棕褐色颗粒为阳性。按细胞染色强度评分: 无着色为 0 分, 浅黄色为 1 分, 黄色或深黄色为 2 分, 棕黄或棕褐色为 3 分。按阳性细胞数所占比例评分: 阳性细胞数 < 10%为 0 分, 10%~24%为 1 分, 25%~49%为 2 分, 50%~74%为 3 分, ≥75%为 4 分。两者相乘即为总评分, 0~1 为阴性, 2~4 为弱阳性, 5~8 为中度阳性, 9~12 为强阳性。为了确定 RBM3 表达是否与临床病理特征相关, 将 RBM3 表达水平为阴性与弱阳性定义为 RBM3 低表达组, 表达水平是中阳性及强阳性定义为 RBM3 高表达组。

2.4. 对照

此次研究还设置了阴性对照组, 通过此方式使得实验的客观性得以保障, 对实验的染色结果, 有效地排除了此次研究因素之外产生的干扰以及影响, 同时也让显色分数的收集以及计数变得更为明了。在免疫组化染色中, 阴性对照组会用 PBS 缓冲液替代实验组中用到的一抗, 同时还会向其中加入等量的液滴。除此步骤, 其余实验相关步骤与阳性实验组中的一致。

2.5. 统计学方法

统计学分析应用 SPSS 23.0 软件进行。RBM3 表达与各临床病理参数之间的组间数据分析比较采用卡方检验; 采用 Kaplan-Meier 法绘制患者的生存曲线; 采用 Cox 比例风险模型来确定各变量对 OS、PFS 的影响, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。log-rank 检验法分析 RBM3 表达与患者 OS、PFS 之间的关系,

$P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2.6. 随访

此次研究，对 135 位病患进行了仔细且完整的随访记录。2020 年 8 月 1 日是随访结束的日期。随访期间内，一共对 117 位患者进行了随访，另外 18 位病患与其家属均因不同原因失访，无法按时完成相应的随访。假若医护人员在连续 3 天的随访中，无法联系到患者以及其家属，则次病例就会被定义为失访。因此，此次研究的随访完成率是 86.7%。在全部完成了随访的患者中，有 7 名患者退出了研究，15 名患者因研究时限已到而停止观察。所以最终可以分析的数据仅有 95 例病人的病例随访结果。随访的方式主要是通过电话随访和翻阅该病患在本院住院期间的一系列有关资料。

3. 结果

3.1. NSCLC 组织中 RBM3 的表达情况

NSCLC 组织中 RBM3 的表达情况见图 1~6。

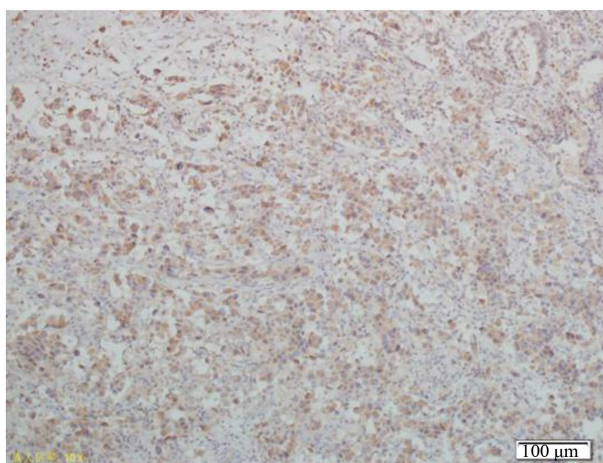


Figure 1. RBM3 enrichment group $\times 10$
图 1. RBM3 富集组 $\times 10$

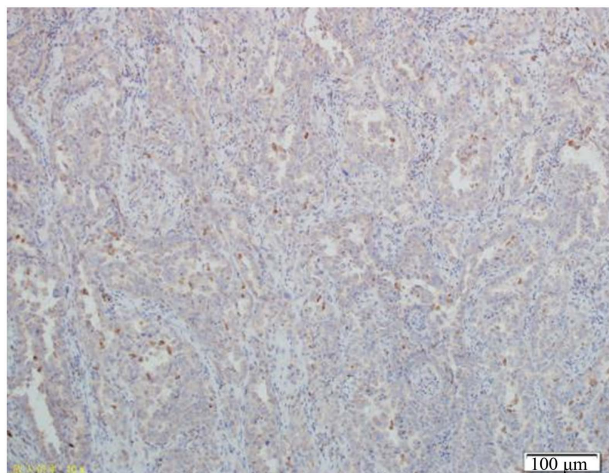


Figure 2. RBM3 sparse group $\times 10$
图 2. RBM3 稀疏组 $\times 10$

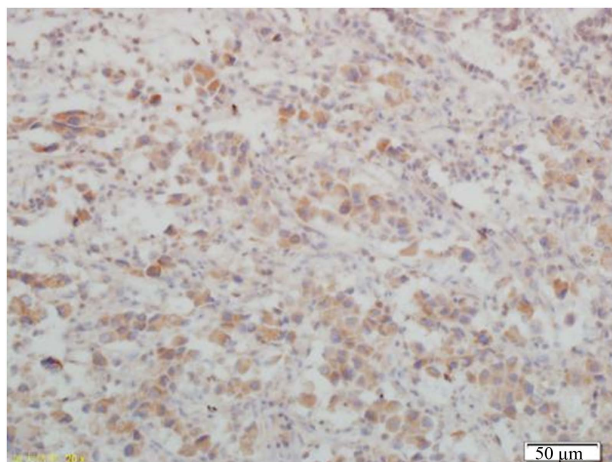


Figure 3. RBM3 enrichment group ×20
图 3. RBM3 富集组×20

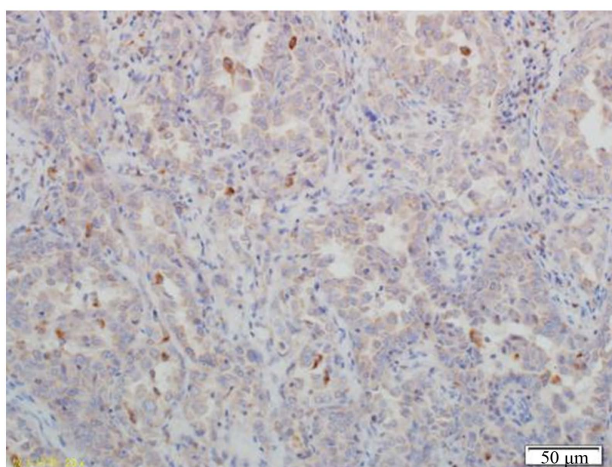


Figure 4. RBM3 sparse group ×20
图 4. RBM3 稀疏组×20

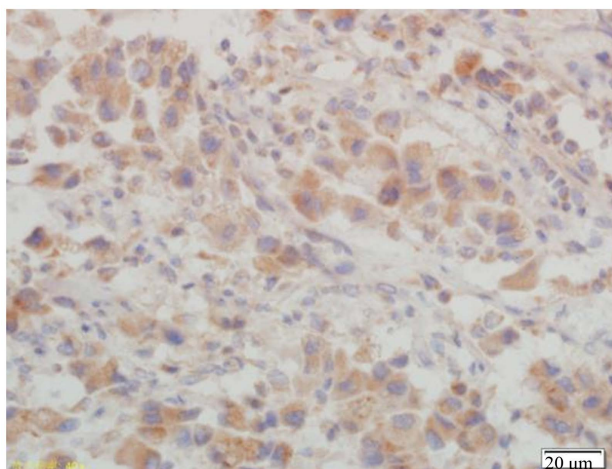


Figure 5. RBM3 enrichment group ×40
图 5. RBM3 富集组×40

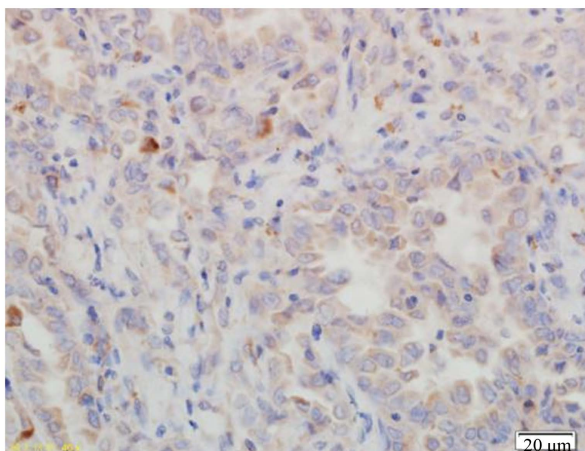


Figure 6. RBM3 sparse group $\times 40$

图 6. RBM3 稀疏组 $\times 40$

3.2. RBM3 与临床病理参数的关系

RBM3 的表达与肿瘤组织分化程度($P = 0.015$)、N 分期($P = 0.005$)、LVD ($P = 0.039$)、MVD ($P = 0.035$)及 T 分期($P = 0.032$)明显相关, 差异具有统计学意义($P < 0.05$) (见表 3)。

Table 3. Relationship between RBM3 and clinicopathological parameters

表 3. RBM3 与临床病理参数的关系

参数	分组	RBM3 高表达	RBM3 低表达	X^2	P
年龄	≥ 60	33	32	1.184	0.303
	< 60	29	41		
性别	男	23	38	3.029	0.087
	女	39	35		
吸烟史	有	24	37	1.941	0.171
	无	38	36		
组织分化程度	高 + 中	20	39	6.105	0.015
	低	42	34		
N 分期	N+	45	35	8.428	0.005
	N0	17	38		
T 分期	T1	24	30	6.858	0.032
	T2	12	26		
	T3	26	17		
MVD	高	31	23	4.777	0.035
	低	31	50		
LVD	高	36	29	4.516	0.039
	低	26	44		

3.3. RBM3 与 OS、PFS 的单因素分析

单因素 Cox 回归分析表明：RBM3 的表达、肿瘤组织分化程度、LVD、MVD、T 分期、N 分期是影响非小细胞肺癌 OS 的因素($P < 0.05$)；RBM3 的表达、肿瘤组织分化程度、LVD、MVD、N 分期是影响非小细胞肺癌 PFS 的因素($P < 0.05$) (见表 4)。

Table 4. Univariate analysis of RBM3 and OS and PFS

表 4. RBM3 与 OS、PFS 的单因素分析

参数	OS		PFS	
	HR (95% CI)	<i>P</i>	HR (95% CI)	<i>P</i>
年龄	1.081 (0.716~1.631)	0.711	0.847 (0.583~1.310)	0.514
性别	1.131 (0.744~1.721)	0.564	0.802 (0.530~1.215)	0.298
吸烟史	1.379 (0.914~2.082)	0.126	1.384 (0.923~2.076)	0.116
组织分化程度	1.610 (1.046~2.480)	0.031	1.670 (1.092~2.555)	0.018
N 分期	4.801 (2.900~7.949)	<0.001	4.504 (2.786~7.282)	<0.001
T 分期	1.690 (1.033~2.765)	0.037	1.568 (0.970~2.536)	0.067
MVD	2.124 (1.405~3.213)	<0.001	2.079 (1.382~3.127)	<0.001
LVD	2.472 (1.622~3.767)	<0.001	2.234 (1.480~3.373)	<0.001
RBM3	0.361 (0.238~0.550)	<0.001	0.361 (0.238~0.550)	<0.001

3.4. RBM3 与 OS、PFS 的多因素分析

Cox 比例风险模型的多因素分析表明，RBM3 的表达、N 分期、T 分期、LVD、MVD 均是影响 OS、PFS 的独立危险因素($P < 0.05$) (见表 5)。

Table 5. Multifactorial analysis of RBM3 and OS and PFS

表 5. RBM3 与 OS、PFS 的多因素分析

参数	OS		PFS	
	HR (95% CI)	<i>P</i>	HR (95% CI)	<i>P</i>
年龄	0.880 (0.572~1.356)	0.563	0.871 (0.572~1.326)	0.519
性别	1.531 (0.937~2.501)	0.089	1.284 (0.792~2.081)	0.311
吸烟史	0.753 (0.446~1.270)	0.287	0.878 (0.526~1.465)	0.618
组织分化程度	0.941 (0.567~1.561)	0.813	0.840 (0.516~1.369)	0.485
N 分期	0.193 (0.110~0.339)	<0.001	0.205 (0.119~0.353)	<0.001
T 分期	2.138 (1.234~3.705)	0.007	1.906 (1.114~3.263)	0.019
MVD	0.515 (0.305~0.870)	0.013	0.450 (0.264~0.765)	0.003
LVD	0.449 (0.254~0.795)	0.006	0.544 (0.311~0.953)	0.033
RBM3	0.382 (0.227~0.642)	<0.001	0.367 (0.220~0.614)	<0.001

3.5. 生存分析

生存分析显示: RBM3 高表达患者 OS、PFS 较低表达患者 OS、PFS 之间具有显著差异性, 说明 RBM3 高表达者较低表达者在生存预后方面危险度更高, RBM3 的表达是影响非小细胞肺癌预后的因素之一(见图 7~16)。

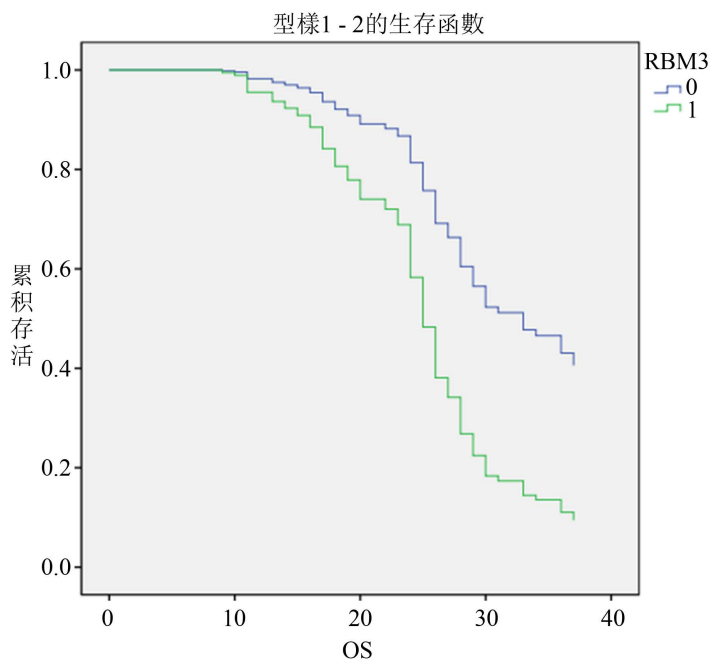


Figure 7. Comparison of OS between patients with high and low expression of RBM3
图 7. RBM3 高表达与低表达患者 OS 比较

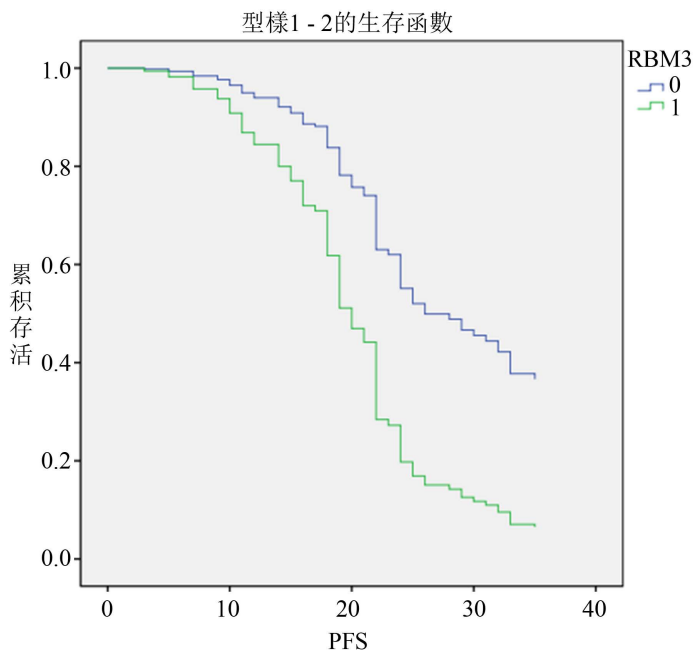


Figure 8. Comparison of PFS between patients with high and low RBM3 expression
图 8. RBM3 高表达与低表达患者 PFS 比较

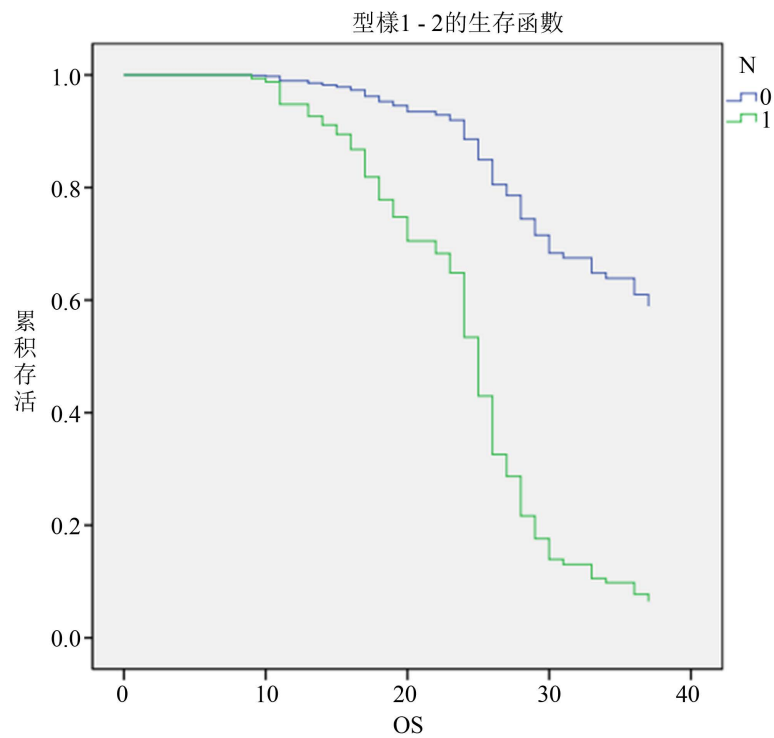


Figure 9. Comparison of OS in patients with and without lymph node metastasis
图 9. 淋巴结有无转移患者 OS 比较

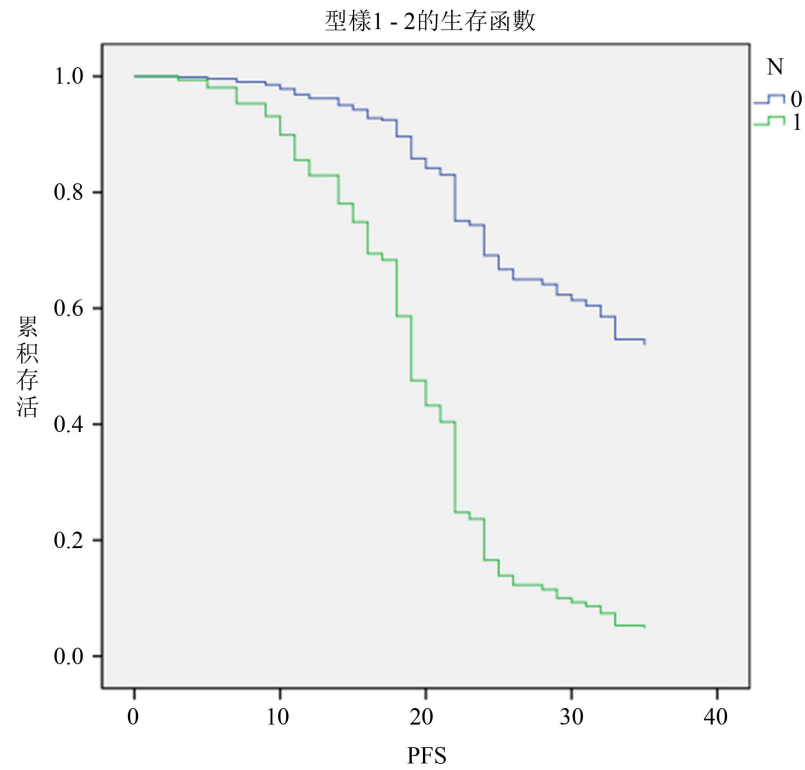


Figure 10. Comparison of PFS in patients with and without lymph node metastasis
图 10. 淋巴结有无转移患者 PFS 比较

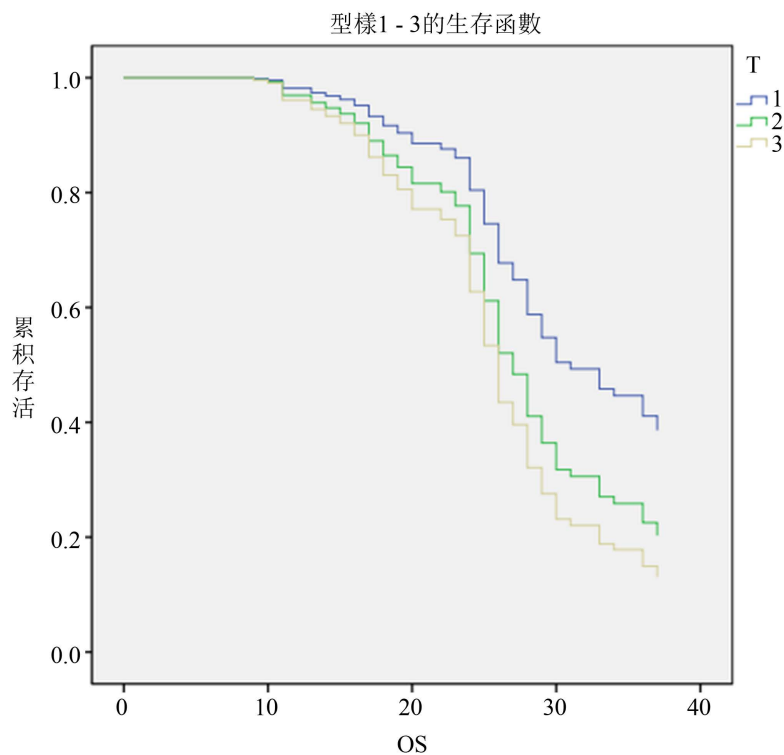


Figure 11. Comparison of OS between patients with different T-stages
图 11. T 分期不同患者 OS 比较

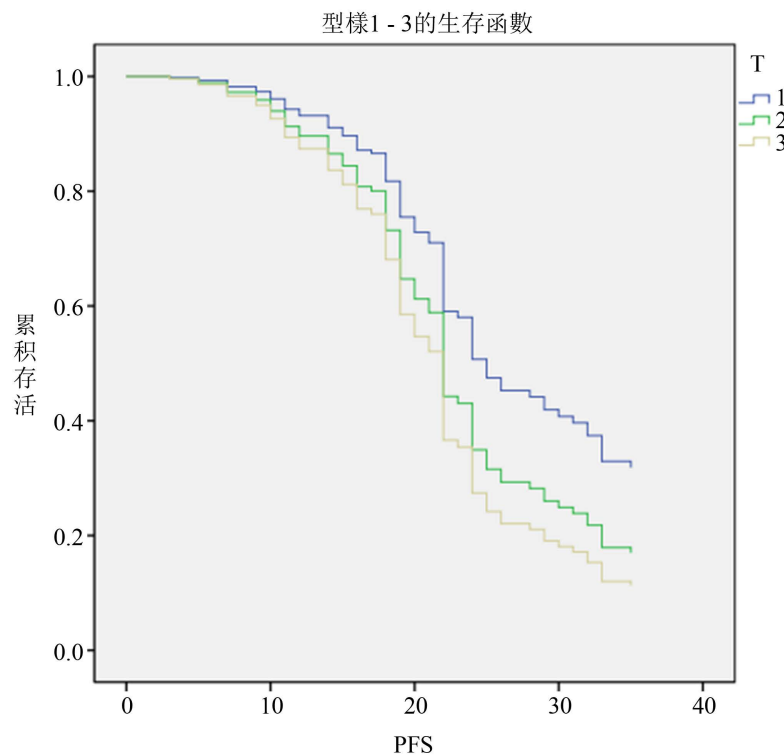


Figure 12. Comparison of PFS in patients with different T-stages
图 12. T 分期不同患者 PFS 比较

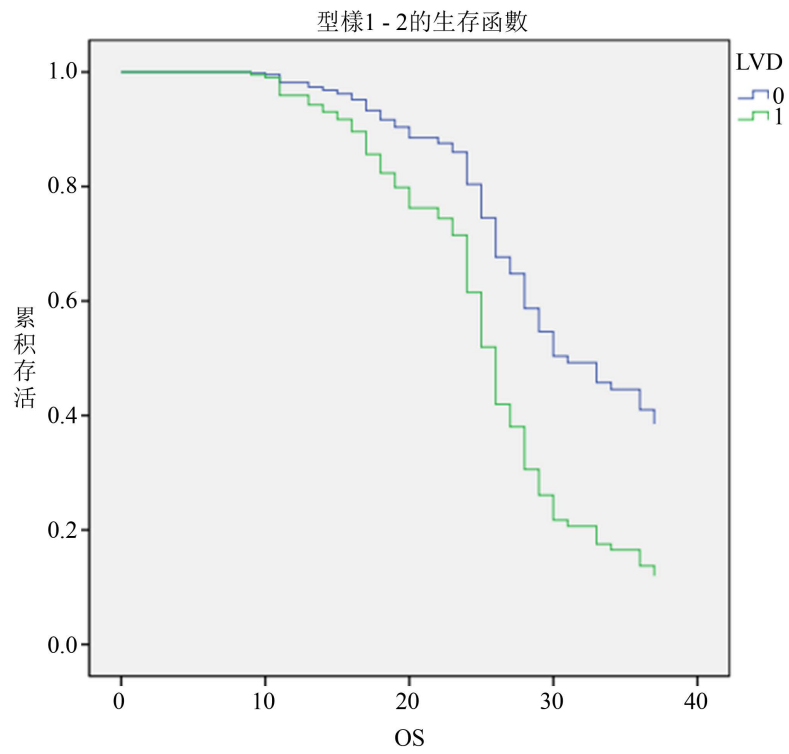


Figure 13. Comparison of OS in patients with different LVD expression
图 13. LVD 表达不同患者 OS 比较

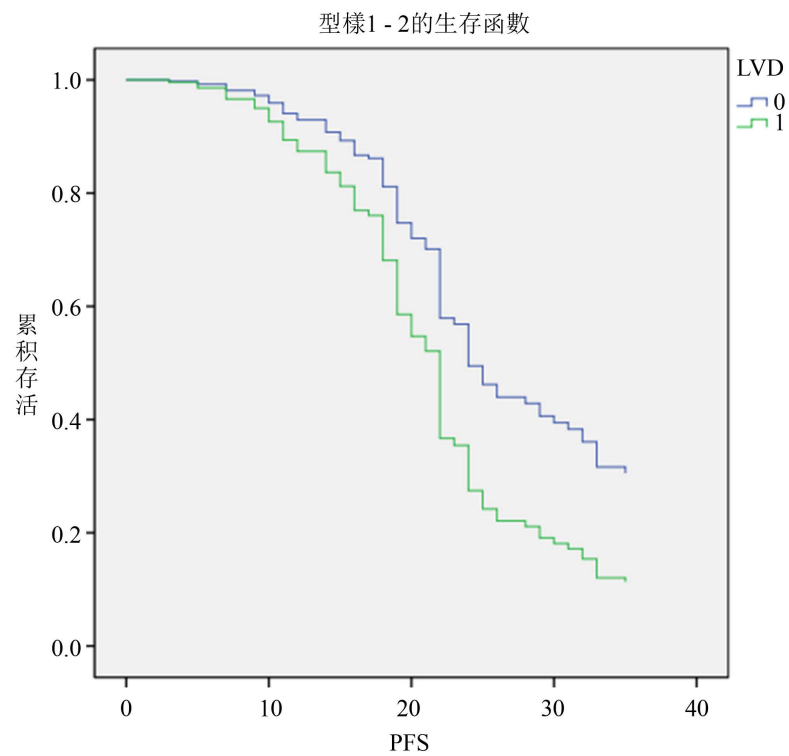


Figure 14. Comparison of PFS in patients with different LVD expression
图 14. LVD 表达不同患者 PFS 比较

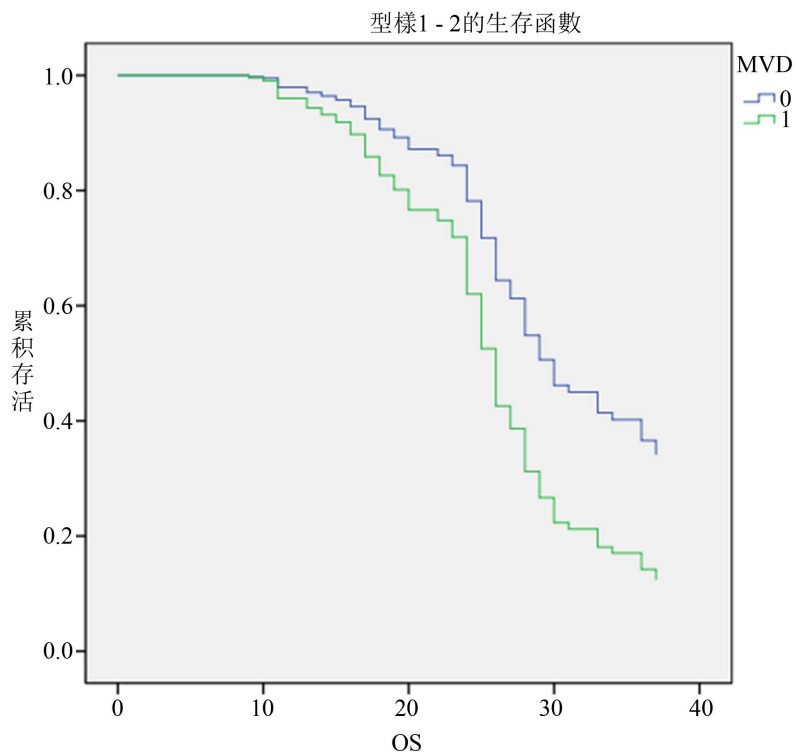


Figure 15. Comparison of OS in patients with different MVD expression
图 15. MVD 表达不同患者 OS 比较

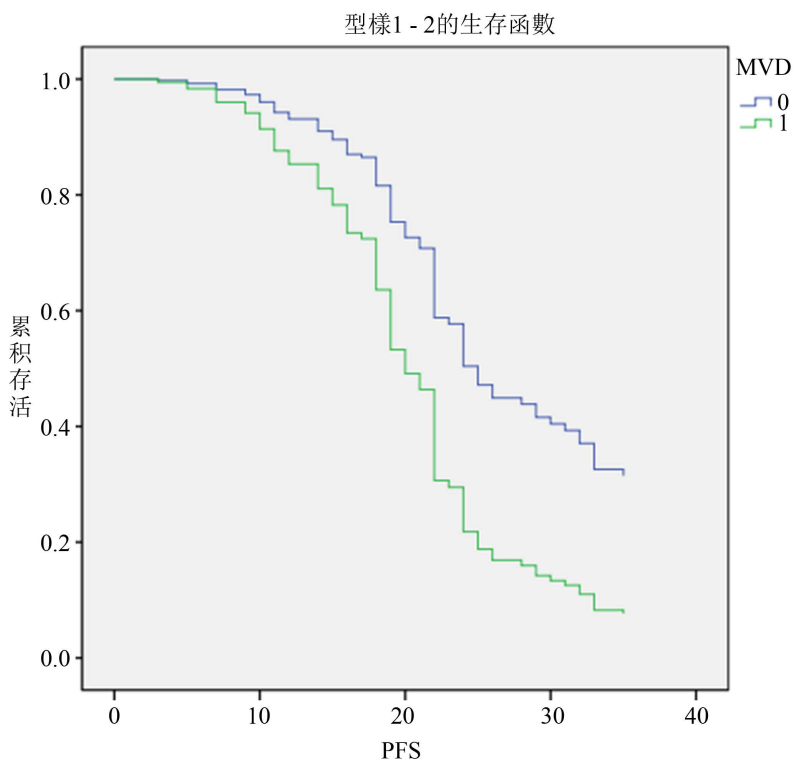


Figure 16. Comparison of PFS in patients with different MVD expression
图 16. MVD 表达不同患者 PFS 比较

4. 讨论

肺癌是我国最常见的恶性肿瘤之一，居全球癌症死亡的第一位[1]。其中非小细胞肺癌约占 85%。NSCLC 治疗中，早期可以通过手术切除，但大部分患者约 70%最初诊断时即表现为晚期或转移[14]。晚期 NSCLC 的预后极差，中位生存时间约为 1 年，5 年生存率不足 20% [15]。目前已经证实肺癌的致病因子有吸烟、空气污染、环境因素、电离辐射、ras、myc 基因家族等[16]，但 RBM3 与肺癌的发生、发展、作用机制研究较少。本文旨在研究 RBM3 在非小细胞肺癌(Non-Small Cell Lung Cancer, NSCLC)病理组织中的表达情况与病人总生存期(Overall Survival, OS)、无进展生存期(Progress-Free Survival, PFS)的关系。由此进一步了解或明确肿瘤发生发展的可能机制，以期发现更有效的诊疗方式来提高肺癌的治疗效果。

RBM3 最初在胎儿大脑 cDNA 文库中被发现，并由 Derry 等人于 1995 年首次分离出来[5]。RBM3 是一种高度保守的冷诱导 RNA 结合蛋白，是三种 X-染色体相关联的 RBM 基因(RBMX, RBM3, RBM10)之一，定位于 Xp11.23，在应激反应中转录上调[5]，参与 mRNA 的生物作用，刺激蛋白质合成，促进细胞增殖，发挥抗凋亡作用。目前，越来越多的研究表明 RBM3 能够作为原癌基因发挥作用，与各种癌症的进展和转移相关[17]。临床认为 RBM3 为潜在原癌基因，分析原因：RBM3 表达水平与肿瘤分期相关，这表明 RBM3 水平影响着肿瘤发生；RBM3 沉默会增加 G2/M 期细胞数量，导致细胞最终凋亡；RBM3 可提高血管内皮生长因子 mRNA、IL-8、环氧化酶的稳定、翻译[18] [19]；其中 mRNA 翻译水平变化在肿瘤发生、细胞转化中发挥着重要作用，RBM3 可与 mRNA 直接结合，而改变 mRNA 二级结构，影响核糖体亚基与起始因子的访问，并调节激酶潜在活性。RBM3 在大多数人类肿瘤中高表达[9] [20]，并且最早基于基因抗体的方法阐明了 RBM3 作为肿瘤标记物的作用。RBM3 在肿瘤发生和临床结果预测中的参与已被广泛研究，在许多癌症中有不同的结论，包括乳腺癌，尿路上皮癌，前列腺癌，结肠直肠癌和胃癌[11] [21] [22] [23] [24]。然而，RBM3 在 NSCLC 中的作用尚未见报道。随着对 RBM3 研究的不断深入，RBM3 蛋白在肿瘤中的发生、发展中的作用被越来越多人重视。以往认知，RBM3 是通过冷休克刺激产生的，其作用于增殖中的作用应起到抑制而非促进的作用，但是，近期发现在多种肿瘤细胞中 RBM3 在成瘤或促进增殖方面达上调。例如，RBM3 在纯化的 CD34+细胞中表达上调，提示其在造血系统中起到增殖的作用，这与我们的实验结果相吻合，即 RBM3 与 MVD 相关。关于 RBM3 的一个假想说法认为，它可能通过影响 DDR (DNA 的损伤修复)和其稳定性来促进肿瘤早期发生进展，从而降低了阈值造成了更多的恶性克隆[10] [19]。一旦具有侵袭能力的肿瘤发生，高水平的 RBM3 的表达可能会影响染色体的稳定性和对化疗的敏感性[19]。

有研究显示 RBM3 的表达与肿瘤病理分期相关，但其与侵袭及增殖相关的机制尚未明确。相关人员通过免疫组化及组织微阵列芯片检测 88 例良性及恶性前列腺肿瘤中 RBM3 的表达水平，发现在手术切除的良性膀胱肿瘤的组织中 RBM3 鲜有表达，而在膀胱恶性肿瘤中其表达量明显增高，并且在有远处侵袭性膀胱癌中表达更高。数据表明，RBM3 在膀胱移行细胞癌中高表达，相对于原位侵袭性，其机制更倾向作用于远处转移[25]。我们推断 RBM3 可能在推动早期成瘤机制中，可能通过维持 DNA 的完整性来起作用。但是在不同类型癌症的发生发展过程中 RBM3 发挥的作用是完全不同的，或许是因为所处的病理条件不同。在卵巢癌[10]、前列腺癌[21]、星形细胞瘤[26]、鼻咽癌[27]等癌症中，RBM3 被检测出高表达，并且 RBM3 表达还影响着癌症患者的各项临床病理参数。尽管在大多数类型的癌症中，RBM3 表达都与患者预后水平密切相关[28]，却与食管癌患者预后没有太大关系[29]。本次研究中，RBM3 在有淋巴结转移的 NSCLC 中呈现高表达，而在无淋巴结转移的 NSCLC 中，RBM3 表达低，差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)，可说明 RBM3 在恶性肿瘤的远处转移中起一定作用并与患者预后不良相关。作者推测这些不同分析结果，可能是由于在单个器官中 RBM3 与其他被激活和表达的基因之间相互作用造成的。

在本次实验中有一些局限性。首先, 尽管长期随访使我们的结果更有说服力, 但还需要对大量患者进行额外的前瞻性研究来证实我们的结论。第二, 免疫组化检测出的 RBM3 分子只是原始肿瘤组织的样本, 并不能反映出它在肿瘤微环境相互作用的完整信息。我们的研究清楚地证明了 RBM3 在预测 NSCLC 患者生存率中的预后价值。不同研究中差异的原因尚不清楚, 将来可能仍需要更大的队列来确定 RBM3 在疾病过程中的积极或消极作用。

综上所述, 高表达的 RBM3 (Immunohistochemical Staining, 免疫组织化学染色)可作为独立的预后标志物, RBM3 的表达与肿瘤分化程度、淋巴结转移、LVD、MVD 及 T 分期、N 分期明显相关, RBM3 可能成为重要的临床预后标志物治疗非小细胞肺癌。总之, RBM3 蛋白高表达与 NSCLC 发生、发展及转移过程中的不良事件如肿瘤浸润、淋巴结转移等呈负相关, 且与 NSCLC 预后不良有关。分析 RBM3 在 NSCLC 中的临床病理学意义和预后价值, 有助于理解 NSCLC 发生、发展过程, 有望为 NSCLC 诊断、靶向治疗和预后评估提供新靶点。

参考文献

- [1] De Angelis, R., Sant, M., Coleman, M.P., *et al.* (2014) Cancer Survival in Europe 1999-2007 by Country and Age: Results of EUROCARE-5—A Population-Based Study. *The Lancet Oncology*, **15**, 23-34. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(13\)70546-1](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(13)70546-1)
- [2] Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R.L., *et al.* (2021) Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **71**, 209-249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- [3] Allemani, C., Matsuda, T., Di Carlo, V., *et al.* (2018) Global Surveillance of Trends in Cancer Survival 2000-14 (CONCORD-3): Analysis of Individual Records for 37513025 Patients Diagnosed with One of 18 Cancers from 322 Population-Based Registries in 71 Countries. *The Lancet (London, England)*, **391**, 1023-1075. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)33326-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)33326-3)
- [4] Zeng, H., Chen, W., Zheng, R., *et al.* (2018) Changing Cancer Survival in China during 2003-15: A Pooled Analysis of 17 Population-Based Cancer Registries. *The Lancet Global Health*, **6**, e555-e567. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(18\)30127-X](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(18)30127-X)
- [5] Derry, J.M., Kerns, J.A. and Francke, U. (1995) RBM3, a Novel Human Gene in Xp11.23 with a Putative RNA-Binding Domain. *Human Molecular Genetics*, **4**, 2307-2311. <https://doi.org/10.1093/hmg/4.12.2307>
- [6] Zeng, Y., Wodzinski, D., Gao, D., *et al.* (2013) Stress-Response Protein RBM3 Attenuates the Stem-Like Properties of Prostate Cancer Cells by Interfering with CD44 Variant Splicing. *Cancer Research*, **73**, 4123-4133. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-12-1343>
- [7] Baghdoyan, S., Dubreuil, P., Eberlé, F. and Gomez, S. (2000) Capture of Cytokine-Responsive Genes (NACA and RBM3) Using a Gene Trap Approach. *Blood*, **95**, 3750-3757. https://doi.org/10.1182/blood.V95.12.3750.012a24_3750_3757
- [8] Venugopal, A., Subramaniam, D., Balmaceda, J., *et al.* (2016) RNA Binding Protein RBM3 Increases β -Catenin Signaling to Increase Stem Cell Characteristics in Colorectal Cancer Cells. *Molecular Carcinogenesis*, **55**, 1503-1516. <https://doi.org/10.1002/mc.22404>
- [9] Sureban, S.M., Ramalingam, S., Natarajan, G., *et al.* (2008) Translation Regulatory Factor RBM3 Is a Proto-Oncogene That Prevents Mitotic Catastrophe. *Oncogene*, **27**, 4544-4556. <https://doi.org/10.1038/onc.2008.97>
- [10] Ehlén, A., Brennan, D.J., Nodin, B., *et al.* (2010) Expression of the RNA-Binding Protein RBM3 Is Associated with a Favourable Prognosis and Cisplatin Sensitivity in Epithelial Ovarian Cancer. *Journal of Translational Medicine*, **8**, 78. <https://doi.org/10.1186/1479-5876-8-78>
- [11] Boman, K., Segersten, U., Ahlgren, G., *et al.* (2013) Decreased Expression of RNA-Binding Motif Protein 3 Correlates with Tumour Progression and Poor Prognosis in Urothelial Bladder Cancer. *BMC Urology*, **13**, 17. <https://doi.org/10.1186/1471-2490-13-17>
- [12] Jonsson, L., Bergman, J., Nodin, B., *et al.* (2011) Low RBM3 Protein Expression Correlates with Tumour Progression and Poor Prognosis in Malignant Melanoma: An Analysis of 215 Cases from the Malmö Diet and Cancer Study. *Journal of Translational Medicine*, **9**, 114. <https://doi.org/10.1186/1479-5876-9-114>
- [13] Jonsson, L., Hedner, C., Gaber, A., *et al.* (2014) High Expression of RNA-Binding Motif Protein 3 in Esophageal and Gastric Adenocarcinoma Correlates with Intestinal Metaplasia-Associated Tumours and Independently Predicts a Re-

- duced Risk of Recurrence and Death. *Biomarker Research*, **2**, 11. <https://doi.org/10.1186/2050-7771-2-11>
- [14] Molina, J.R., Yang, P., Cassivi, S.D., Schild, S. and Adjei, A.A. (2008) Non-Small Cell Lung Cancer: Epidemiology, Risk Factors, Treatment, and Survivorship. *Mayo Clinic Proceedings*, **83**, 584-594. [https://doi.org/10.1016/S0025-6196\(11\)60735-0](https://doi.org/10.1016/S0025-6196(11)60735-0)
- [15] Tas, F., Ciftci, R., Kilic, L. and Karabulut, S. (2013) Age Is a Prognostic Factor Affecting Survival in Lung Cancer Patients. *Oncology Letters*, **6**, 1507-1513. <https://doi.org/10.3892/ol.2013.1566>
- [16] 王瑞, 赵佳, 张龙. 肺腺癌患者肺组织中 RBM3 mRNA 表达及意义[J]. 临床肺科杂志, 2019, 24(12): 2236-2240.
- [17] Zhou, R.B., Lu, X.L., Zhang, C.Y. and Yin, D.C. (2017) RNA Binding Motif Protein 3: A Potential Biomarker in Cancer and Therapeutic Target in Neuroprotection. *Oncotarget*, **8**, 22235-22250. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.14755>
- [18] Jögi, A., Brennan, D., Rydén, L., *et al.* (2009) Nuclear Expression of the RNA-Binding Protein RBM3 Is Associated with an Improved Clinical Outcome in Breast Cancer. *Modern Pathology: An Official Journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*, **22**, 1564-1574. <https://doi.org/10.1038/modpathol.2009.124>
- [19] Ehlén, Å., Nodin, B., Rexhepaj, E., *et al.* (2011) RBM3-Regulated Genes Promote DNA Integrity and Affect Clinical Outcome in Epithelial Ovarian Cancer. *Translational Oncology*, **4**, 212-221. <https://doi.org/10.1593/tlo.11106>
- [20] O'Connell, R.M., Rao, D.S., Chaudhuri, A.A. and Baltimore, D. (2010) Physiological and Pathological Roles for microRNAs in the Immune System. *Nature Reviews Immunology*, **10**, 111-122. <https://doi.org/10.1038/nri2708>
- [21] Jonsson, L., Gaber, A., Ulmert, D., *et al.* (2011) High RBM3 Expression in Prostate Cancer Independently Predicts a Reduced Risk of Biochemical Recurrence and Disease Progression. *Diagnostic Pathology*, **6**, 91. <https://doi.org/10.1186/1746-1596-6-91>
- [22] Yang, G., Fu, H., Zhang, J., *et al.* (2010) RNA-Binding Protein Quaking, a Critical Regulator of Colon Epithelial Differentiation and a Suppressor of Colon Cancer. *Gastroenterology*, **138**, 231-240.e231-235. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.08.001>
- [23] Schneider, J., Gómez-Esquer, F., Díaz-Gil, G., Torrejón, R. and Pollán, M. (2011) mRNA Expression of the Putative Antimetastatic Gene BRMS1 and of Apoptosis-Related Genes in Breast Cancer. *Cancer Genomics & Proteomics*, **8**, 195-197.
- [24] Ye, F., Jin, P., Cai, X., Cai, P. and Cai, H. (2017) High RNA-Binding Motif Protein 3 (RBM3) Expression Is Independently Associated with Prolonged Overall Survival in Intestinal-Type Gastric Cancer. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, **23**, 6033-6041. <https://doi.org/10.12659/MSM.905314>
- [25] 曾丹, 华金仁, 安云婷. RBM3 在卵巢上皮性癌中的表达及临床意义[J]. 当代医学, 2016, 22(31): 14-15.
- [26] Zhang, H.T., Zhang, Z.W., Xue, J.H., Kong, H.B., Liu, A.J., Li, S.C., *et al.* (2013) Differential Expression of the RNA-Binding Motif Protein 3 in Human Astrocytoma. *Chinese Medical Journal*, **126**, 1948-1952.
- [27] Ma, R., Zhao, L.N., Yang, H., *et al.* (2018) RNA Binding Motif Protein 3 (RBM3) Drives Radioresistance in Nasopharyngeal Carcinoma by Reducing Apoptosis via the PI3K/AKT/Bcl-2 Signaling Pathway. *American Journal of Translational Research*, **10**, 4130-4140.
- [28] 郭俊杰, 李锁严, 董丽艳, 于伟杰, 刘翠萍, 韩明玥. 浸润性乳腺癌组织中 RNA 结合基序蛋白 3 的表达水平及意义[J]. 癌症进展, 2019, 17(12): 1449-1452.
- [29] Grupp, K., Hofmann, B., Kutup, A., *et al.* (2018) Reduced RBM3 Expression Is Associated with Aggressive Tumor Features in Esophageal Cancer but Not Significantly Linked to Patient Outcome. *BMC Cancer*, **18**, 1106. <https://doi.org/10.1186/s12885-018-5032-z>