

NK/T 细胞淋巴瘤中 SYK 的表达变化及意义

张 洁, 肖胜军, 宋铁山

基金项目: 广西自然科学基金资助项目(编号:桂科自 0899015)

作者单位: 541004 广西, 桂林医学院病理及病理生理学在读研究生(张 洁); 541001 广西, 桂林医学院附属医院病理科(肖胜军); 437100 咸宁, 湖北科技学院人体解剖学教研室(宋铁山)

作者简介: 张 洁(1988-), 女, 在读研究生, 研究方向: 肿瘤发生与遗传。E-mail: zhangjieandpp@sina.cn

通讯作者: 宋铁山(1966-), 男, 医学硕士, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向: 肿瘤模型及其分子机理。E-mail: songtieshan@sina.com

[摘要] 目的 探讨酪氨酸激酶(SYK)在 NK/T 细胞淋巴瘤中的表达及意义。方法 应用免疫组织化学(SP)法检测 SYK 在外周 NK/T 细胞淋巴瘤组织标本中的表达情况, 并分析其表达与年龄、性别、分期及细胞增殖指数等临床病理参数的关联性。结果 SYK 在 NK/T 细胞淋巴瘤中高表达率为 27.27% (15/55); 低表达率为 72.73% (40/55), 且与临床分期和细胞增殖指数有关。SYK 高表达者具有较高的肿瘤分期和增殖指数。结论 NK/T 细胞淋巴瘤中 SYK 表达上调与细胞增殖及临床分期有关, 是其潜在的诊断和预后标记。

[关键词] 外周 T 细胞淋巴瘤; SYK; 免疫组织化学

[中图分类号] R 551.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2013)05-0401-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2013.05.01

SYK expression in NK/T cell lymphoma and its significance ZHANG Jie, XIAO Sheng-jun, SONG Tie-shan.

Department of Pathology, Guilin Medical University, Guangxi 541004, China

[Abstract] **Objective** To investigate the expression of SYK in NK/T cell lymphomas and its significance.

Methods The expression of SYK in NK/T cell lymphoma was examined by immunohistochemistry assay to evaluate the relation between its expression and clinicopathological characters such as age, sex, stage and proliferation index.

Results The percentage of NK/T-cell lymphoma with high expression of SYK was 27.27% (15/55). That with low expression of SYK was 72.73% (40/55). The expression of SYK was associated with tumour stage and cell proliferation index. NK/T lymphoma with high SYK expression had higher stage and proliferation index. **Conclusion** SYK overexpression is associated with tumour stage and cell proliferation in NK/T cell lymphomas, and is a potential diagnostic and prognostic factor.

[Key words] Peripheral T-cell lymphomas; SYK; Immunohistochemistry

NK/T 细胞淋巴瘤在欧美国家患病率较低, 而在我国比较常见^[1]。脾酪氨酸激酶(spleen tyrosine kinase, SYK)广泛存在于多种造血细胞的胞浆中, 与细胞的生长、增殖和凋亡相关^[2]。在实体瘤中 SYK 具有抑制肿瘤发生和转移的功能, 其具体分子机制仍不明确^[3]。而在慢性淋巴性白血病 SYK 抑制剂能有效地抑制肿瘤生长^[4]。SYK 对两者表现出截然相反的作用。NK/T 淋巴瘤中 SYK 表达和意义不明确。为了明确 SYK 在 NK/T 细胞淋巴瘤中的表达状况及意义, 为淋巴瘤诊断和治疗提供依据, 我们检测了 NK/T 细胞淋巴瘤中 SYK 表达变化, 并探讨其与临床病理参数的关联性。

1 材料与方法

1.1 材料 NK/T 细胞淋巴瘤诊断及分期均遵循

《造血与淋巴组织肿瘤 WHO 分类》^[5] 的诊断标准。收集桂林医学院附属医院 2008~2011 年 55 例 NK/T 细胞淋巴瘤蜡块组织标本, 其中非特异型 16 例, 血管免疫母细胞型 13 例, 肠病型 7 例, 鼻型 10 例, 肝脾 T 淋巴瘤 9 例。男性 32 例, 女性 23 例; 年龄 < 50 岁 33 例, ≥50 岁 22 例; 分期中 I 期/II 期 23 例, III 期/IV 期 32 例。病理标本均在低温冰箱保存。本研究通过本院伦理委员会监督和患者及家属知情同意。

1.2 入组标准 (1) 在我院行肿瘤活检并确诊为 T 细胞淋巴瘤患者。(2) 肿瘤为首发病灶, 而不是转移病灶。(3) 年龄 ≥ 18 周岁, 性别不限。(4) 肿瘤确诊前未进行过放疗、化疗及生物制剂治疗。(5) 排除其他恶性肿瘤、心肝肾肺功能不全、脑血管疾病、自身免疫疾病、外伤及严重感染性疾病患者。

1.3 免疫组化检测 蜡块4 μm 连续切片;60 $^{\circ}\text{C}$ 烤片1 h,柠檬酸盐缓冲液(pH 6.0,0.01 M)中抗原修复,高压锅中高温高压3 min。鼠抗人SYK一抗(santa cruz)1:100稀释,鼠抗人Ki67抗体(zsbio)1:100稀释。其余操作按免疫组化检测试剂盒说明书进行(HistostainTM-SP Kits,zsbio)。

1.4 免疫组化评分标准 SYK免疫组化评分标准采用阳性细胞百分比和染色强度综合计分:阳性细胞数<25%计0分, $\geq 25\%$ 和<50%计1分, $\geq 50\%$ 和<75%计2分, $\geq 75\%$ 计3分;不着色及微弱着色计0分,着色浅黄计1分,着色棕黄计2分,着色深棕色计3分;两者相加<4为低表达,两者相加 ≥ 4 为高表达。Ki67计分直接计算百分比, $\geq 20\%$ 为高增殖活性,<20%为低增殖活性。

1.5 统计学方法 应用SPSS13.0软件进行数据处理,计数资料关联性分析采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SYK在NK/T细胞淋巴瘤中的表达 SYK在NK/T细胞淋巴瘤中高表达率为27.27%(15/55),低表达率为72.73%(40/55),见图1。图1示SYK与Ki67在NK/T细胞中的表达具有相关性;SYK低表达者(图1a)Ki67也低表达(图1b);SYK高表达者(图1c)Ki67同样也高表达(图1d);而在增殖活性高的淋巴结生发中心细胞SYK呈高表达,在成熟淋巴细胞所在非生发中心呈低表达(图1e),Ki67也呈现相同的表达情况(图1f)。

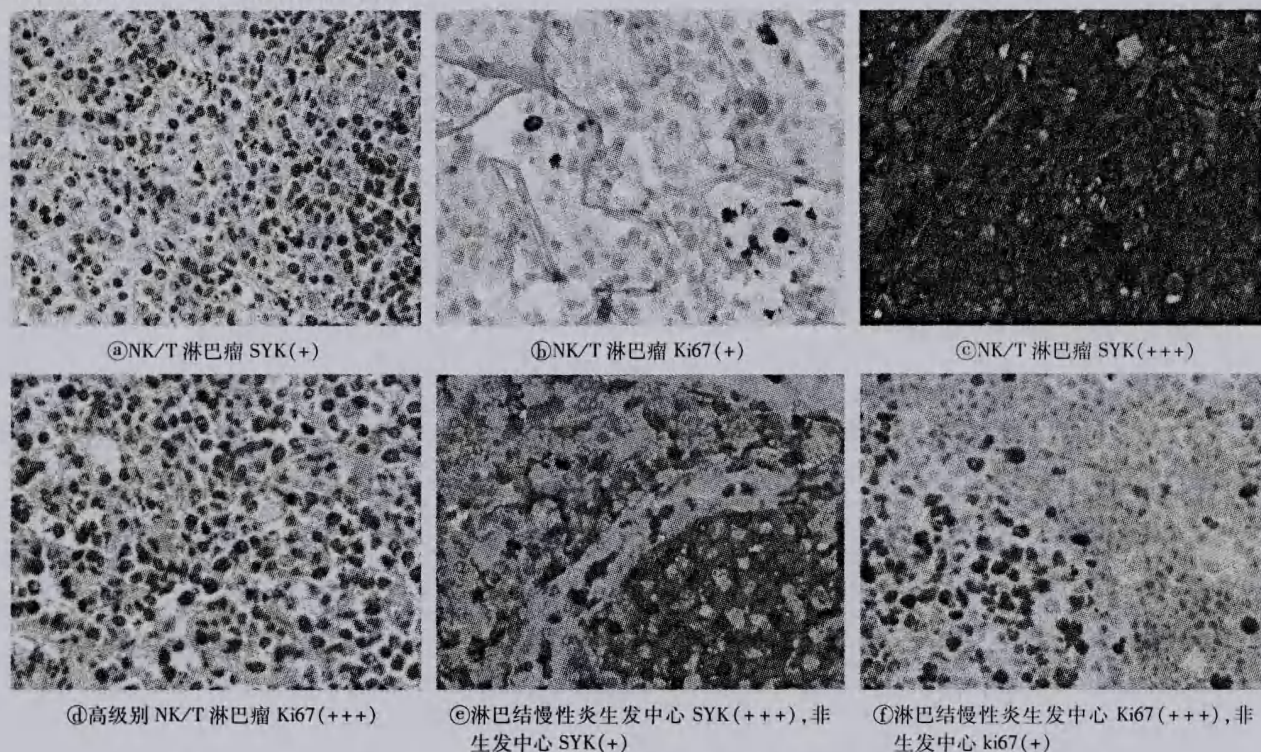


图1 SYK及Ki67在NK/T淋巴瘤及正常淋巴组织中的表达

2.2 SYK在NK/T淋巴瘤中的表达与临床病理参数的关联性 SYK在NK/T细胞淋巴瘤中表达与性别、年龄无关(P 均 >0.05),而与肿瘤临床分期和细胞增

殖指数有关($P < 0.05$ 和 $P < 0.01$)。SYK高表达临床分级较高者(Ⅲ/Ⅳ)所占的比例较大(80.0%),细胞增殖指数越高者所占的比例越大(86.7%)。见表1。

表1 SYK在NK/T淋巴瘤中的表达与临床病理参数的关联性[n(%)]

SYK	例数	性别		年龄(岁)		分期		细胞增殖指数	
		男	女	<50	≥ 50	I/II	III/IV	高	低
高表达	15	7(46.7)	8(53.3)	6(40.0)	9(60.0)	3(20.0)	12(80.6)	13(86.7)	2(13.3)
低表达	40	25(62.5)	15(37.5)	27(67.5)	13(32.5)	20(50.0)	20(50.0)	4(10.0)	36(90.0)
χ^2	-	1.1240		3.4375		4.0353		26.5431	
P	-	0.289		0.063		0.045		0.000	

3 讨论

3.1 SYK 基因最早于 1991 年由日本学者 Taniguchi 等^[6]从猪脾 cDNA 克隆出来,是一种非受体型的酪氨酸激酶。SYK 广泛存在于多种造血细胞的胞浆中,参与 B 细胞受体等多种信号通路传导通路,通过 525/526 位酪氨酸残基的磷酸化而激活,对细胞的生长、增殖和凋亡进行调节^[7]。SYK 在淋巴瘤的发生、发展的信号转导途径中扮演着重要的角色,SYK 磷酸化促进 B 细胞增殖且不依赖于生长因子的刺激^[8]。B 细胞抗原受体(B-cell receptor, BCR)活化后,其下游 Akt 激活抑制了 B 细胞淋巴瘤细胞凋亡,促进其存活。该效应依赖于 SYK 的活化^[9]。滤泡性淋巴瘤 SYK 能通过 PI3K-mTOR 信号通路激活 VEGF 和 MMP9 的表达,从而促进肿瘤的侵袭和血管生成;滤泡性淋巴瘤细胞中 SYK 沉默或 SYK 抑制剂干预能抑制肿瘤的侵袭和转移^[10]。上述数据表明 SYK 在 B 细胞淋巴瘤中发挥癌基因的效应。

3.2 T 细胞淋巴瘤中 SYK 的作用机制仍不明确。国外学者研究发现外周 T 细胞淋巴瘤中 SYK 表达上调,17% 的外周 T 细胞淋巴瘤中 SYK 基因发生易位形成 ITK-SYK 融合蛋白。ITK-SYK 融合蛋白使小鼠发生 T 淋巴细胞增殖性疾病^[11]。我们的研究与国外研究结果基本相符,发现 SYK 在 NK/T 淋巴瘤中有不同程度的表达。我们研究的结果表明其表达与细胞增殖和肿瘤分期有关。

3.3 SYK 高表达者肿瘤分期较高,且 Ki67 增殖指数亦高。Ki67 表达范围覆盖除 G₀ 期以外的各个增殖周期细胞,直接反映了增殖细胞的数量^[12]。Wilcox 等^[13]发现,外周 T 细胞淋巴瘤中 SYK 沉默可诱导细胞凋亡和阻碍细胞增殖,表明 SYK 可以作为外周 T 细胞淋巴瘤的一个新的治疗靶点。SYK 可以在多种细胞中广泛表达,这可能与组织生理功能关系密切。虽然在实体瘤如乳腺癌^[14]、胃癌^[15]、直肠癌^[16]等肿瘤组织中 SYK 表达降低或缺失,但在外周 T 细胞淋巴瘤中高表达^[7]。王华毅等^[17]对乳腺癌和非癌组织的研究中发现 SYK 与 Ki67 的表达呈负相关;这与我们在 NK/T 淋巴瘤中发现的结果相反。其可能机制是因为 SYK 在淋巴细胞中参与了一些炎性相关通路如 BCR 的转导,这些炎性相关通路可能参与了淋巴细胞的增殖。因此 SYK 对细胞增殖的效应可能与与细胞类型有关。我们的结果表明了靶向 SYK 可能抑制 NK/T 细胞淋巴瘤的增殖。

3.4 本研究同时发现 NK/T 细胞淋巴瘤中 SYK 的表达与肿瘤分期有关。肿瘤分期高的 NK/T 细胞淋

巴瘤中 SYK 呈现高表达($P=0.042$)。SYK 在肿瘤进展中的作用机制是否与 B 细胞淋巴瘤中抑制了 B 细胞淋巴瘤细胞凋亡、促进其存活^[9]、促进血管生成、侵袭^[10]有关,有待于进一步研究。

我们研究结果发现,SYK 在 NK/T 细胞淋巴瘤中与细胞增殖有关,并与肿瘤分期有关。表明 SYK 是 NK/T 细胞淋巴瘤的潜在诊断、预后因子及治疗靶标。

参考文献

- 1 钟博南,张晓华,李 敏,等. NK/T 细胞淋巴瘤的病理组织学、免疫表型及基因研究[J]. 中华血液学杂志,2003,24(10):505-509.
- 2 Zhang J, Billingsley ML, Kincaid RL, et al. Phosphorylation of SYK activation loop tyrosines is essential for SYK function. An in vivo study using a specific anti-SYK activation loop phosphotyrosine antibody[J]. J Biol Chem, 2000, 275(45):35442-35447.
- 3 Coopman PJ, Mueller SC. The SYK tyrosine kinase; a new negative regulator in tumor growth and progression[J]. Cancer Lett, 2006, 241(2):159-173.
- 4 Suljagic M, Longo PG, Bennardo S, et al. The SYK inhibitor fostamatinib disodium (R788) inhibits tumor growth in the Emu- TCL1 transgenic mouse model of CLL bsy blocking antigen-dependent B-cell receptor signaling[J]. Blood, 2010, 116(23):4894-4905.
- 5 Chan JK, Quintanilla-Martinez L, Ferr JA. Extranodal NK/T-cell lymphoma, nasal type[M]//WHO Classification of tumours of Haematopoietic and lymphoid Tissues. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. (Eds). International Agency for Research on Cancer, Lyon, France, 2008:285-288.
- 6 Taniguchi T, Kobayashi T, Kondo J, et al. Molecular cloning of a porcine gene SYK that encodes a 72-kDa protein-tyrosine kinase showing high susceptibility to proteolysis[J]. J Biol Chem, 1991, 266(24):15790-15796.
- 7 AL Feldman, DX Sun, ME Law, et al. Overexpression of SYK tyrosine kinase in peripheral T-cell lymphomas[J]. Leukemia, 2008, 22(6):1139-1143.
- 8 Carsetti L, Laurenti L, Gobessi S, et al. Phosphorylation of the activation loop tyrosines is required for sustained SYK signaling and growth factor-independent B-cell proliferation[J]. Cell Signal, 2009, 21(7):1187-1194.
- 9 Pogue SL, Kurosaki T, Bolen J, et al. B cell antigen receptor-induced activation of Akt promotes B cell survival and is dependent on SYK kinase[J]. J Immunol, 2000, 165(3):1300-1306.
- 10 Fruchon S, Kheirallah S, Al Saati T, et al. Involvement of the SYK-m TOR pathway in follicular lymphoma cell invasion and angiogenesis[J]. Leukemia, 2012, 26(4):795-805.
- 11 Dierks C, Adrian F, Fisch P, et al. The ITK-SYK fusion oncogene induces a T-cell lymphoproliferative disease in mice mimicking human disease[J]. Cancer Res, 2010, 70(15):6193-6204.
- 12 Potenskip, Pluciennik E, Bednarek AK, et al. Ki-67 expression in op-

- eralebreast cancer: a comparative study of immunostaining and a real-time RT-PCR assay[J]. *Pathol Res Pract*, 2006, 202(7): 491 - 495.
- 13 Wilcox RA, Sun DX, Novak A, et al. Inhibition of SYK protein tyrosine kinase induces apoptosis and blocks proliferation in T-cell non-Hodgkin, s lymphoma cell lines[J]. *Leukemia*, 2010, 24(1): 229 - 232.
- 14 Coppman PJ, Do MT, Barth M, et al. The SYK tyrosine kinase suppresses malignant growth of human breast cancer cells[J]. *Nature*, 2000, 406(6797): 742 - 747.
- 15 Chan AC, van Oers NS, Tran A, et al. Differential expression of ZAP-70 and SYK protein tyrosine kinases, and the role of this family of protein tyrosine kinases in TCR signaling[J]. *J Immunol*, 1994, 152(10): 4758 - 4766.
- 16 杨祖立, 王磊, 康亮, 等. 脾酪氨酸激酶基因甲基化与结肠癌临床病理特征之间的关系[J]. *中华胃肠外科杂志*, 2008, 11(5): 458 - 461.
- 17 王华毅, 张兆祥, 胡余昌, 等. 乳腺癌和非癌组织中 SYK、Survivin 和 K-i67 的表达及其相关性[J]. *临床与实验病理学杂志*, 2008, 24(2): 158 - 161.
- [收稿日期 2013-01-15][本文编辑 黄晓红 韦颖]

课题研究 · 论著

Caspase-9 和 Caspase-3 在血管性痴呆大鼠
海马 CA1 区的表达及意义

袁敏, 刘斌, 郑秀琪

基金项目: 唐山市科技局科技攻关计划应用项目(编号: 121302110a)

作者单位: 063000 唐山, 河北联合大学附属医院神经内一科(袁敏, 刘斌); 063021 唐山市开平医院医保科(郑秀琪)

作者简介: 袁敏(1974-), 女, 医学硕士, 主治医师, 研究方向: 脑血管病临床与基础研究。E-mail: yuanminzuibang@qq.com

通讯作者: 刘斌(1964-), 男, 医学硕士, 主任医师, 研究方向: 脑血管病临床与基础研究。E-mail: liubintsh@126.com

[摘要] 目的 探讨 Caspase-9 和 Caspase-3 在血管性痴呆大鼠海马 CA1 区的表达及意义。方法 将 100 只大鼠按随机数字法分为假手术组及模型组, 每组又分为 1、2、4、8 和 12 周 5 个亚组($n=10$ 只)。采用四血管阻断法制备血管性痴呆模型, 应用 Morris 水迷宫试验检测大鼠的学习记忆能力, TUNEL 检测细胞凋亡, 免疫组化法检测 Caspase-3 及 Caspase-9 蛋白的表达。结果 (1) 与假手术组比较, 在相同时间点模型组大鼠海马 CA1 区凋亡细胞数明显增多, 差异有统计学意义($P<0.05$); (2) 与假手术组比较, 模型组大鼠海马 CA1 区 Caspase-9、Caspase-3 阳性表达在 1 周开始增多, 2 周达到高峰, 4 周开始下降, 到 12 周仍增多, 差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 Caspase-9 及 Caspase-3 共同参与了血管性痴呆大鼠海马 CA1 凋亡的调控。

[关键词] 血管性痴呆; 大鼠; 凋亡; Caspase-9; Caspase-3**[中图分类号]** R 749.1+3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2013)05-0404-05

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2013.05.02

Expression and significance of Caspase-9 and Caspase-3 in CA1 area of hippocampus of vascular dementia rats YUAN Min, LIU Bin, ZHENG Xiu-Qi. First Department of Neurology, the Affiliated Hospital of Hebei United University, Tangshan 063000, China

[Abstract] **Objective** To observe the expression and significance of Caspase-9 and Caspase-3 in CA1 area of hippocampus of vascular dementia rats. **Methods** One hundred mice were randomly divided into sham operation group and vascular dementia model group. The groups were divided randomly into 1, 2, 4, 8 and 12 w groups ($n=10$). Vascular dementia rat models were established by blocking four vessels. Learning and memory abilities were detected by Morris water maze. Apoptotic cells were detected by TUNEL. The expression of Caspase-9 and Caspase-3 were detected by immunohistochemistry. **Results** (1) Compared to sham operation group, apoptotic cells were increased in CA1 area of hippocampus, there were statistical significance at every time point of the model group ($P<$