

T1 期肾透明细胞癌组织中 B7-H4 的表达与预后的关系

吴 岩,于得水,李 琛,徐新宇,施卫国,程晓冬,顾震华,董 坚,丛 军

(南京医科大学附属无锡第二人民医院泌尿外科,江苏 无锡 214002)

[摘要] 目的:研究 B7-H4 在 T1 期肾癌组织中的表达及其评估预后的价值。方法:检测并统计 102 例肾癌标本中 B7-H4 的表达率、肾癌患者临床特征及术后复发率等。结果:B7-H4 表达阳性及阴性组在临床及病理特征方面无统计学差异;无瘤生存率和转移率方面阳性组明显高于阴性组,具有统计学差异;多变量分析中,肾癌术后复发方面,肿瘤大小、临床分期及 B7-H4 阳性表达具有显著相关性($P < 0.05$)。结论:B7-H4 的表达与肾透明细胞癌的发生发展及免疫逃避密切相关,在评估肾癌患者预后方面具有一定价值。

[关键词] B7-H4; 肾透明细胞癌; 预后

[中图分类号] R786;R737.11

[文献标识码] A

[文章编号] 1007-4368(2012)06-816-04

The relationship between B7-H4 expression and prognosis of stage T1 renal cell carcinoma

WU Yan, YU De-shui, LI Chen, XU Xin-yu, SHI Wei-guo, CHENG Xiao-dong, GU Zheng-hua, DONG Jian, CONG Jun

(Department of Urology, Wuxi No.2 Hospital Affiliated to NJMU, Wuxi 214002, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate B7-H4 expression in stage T1 renal cell carcinoma and its role in evaluation of prognosis. **Methods:** B7-H4 expression was detected in kidney specimen from 102 cases, whose clinical features and renal cell carcinoma recurrence rate were also recorded. **Results:** There was no significant difference in the clinical and pathological features between the B7-H4 positive and negative groups; the disease free survival rate and metastasis rate were significantly higher in the B7-H4 positive group than those of the negative group. Tumor size and clinical stage have a significant correlation with the B7-H4 expression in renal cell carcinoma recurrence after surgery ($P < 0.05$). **Conclusion:** The B7-H4 expression is closely related to the development and immune evasion of renal clear cell carcinoma, and is valuable in predicting the prognosis of patients with renal cell carcinoma.

[Key words] B7-H4; renal clear cell carcinoma; prognosis

[Acta Univ Med Nanjing, 2012, 32(6): 816-818, 822]

肾癌约占成人恶性肿瘤的 3%,近年来,肾癌发病率较前升高,行手术切除是目前唯一可能治愈的方法。由于肾癌的生物行为复杂多变,小肾癌具有转移潜力^[1],术后复发率在 30%左右^[2]。因此,寻找敏感的标志物用以评估肾癌患者预后具有重要的临床意义。本实验研究 B7-H4 的表达对评估肾癌预后的价值。

1 对象和方法

1.1 对象

收集 2005 年 10 月~2009 年 11 月南京医科大学附属无锡第二人民医院泌尿外科行根治性肾癌

切除或保留肾单位手术,且术后病理诊断为肾透明细胞癌的患者标本 102 例(均为 T1 期)。其中,男 39 例,女 63 例,年龄 25~76 岁,平均(53.2 ± 12.0)岁,随访时间 6~68 个月,平均(29.6 ± 22.1)个月。回顾性分析患者的基本医疗资料。资料包括:患者的年龄、性别、肿瘤大小、症状等。可触及腹部肿块、腹痛、肉眼血尿等均作为诊断的依据。评估内容包括:肿瘤的组织学类型、TNM 分期、核分级等。所有患者术前均处于 T1 期,无淋巴结或远处转移证据。

1.2 方法

兔抗人 B7-H4 多克隆抗体(1:500)购于美国 Santa Cruz 公司,SP 试剂盒购于陕西超英生物科技

有限公司。操作按 SP 试剂盒说明书进行,以细胞浆及细胞膜出现棕褐色颗粒为 B7-H4 阳性染色,每随机高倍镜下阳性细胞数占总细胞数 $\geq 10\%$ 为阳性, $< 10\%$ 为阴性,同时观察 B7-H4 在近曲小管及远曲小管中的表达。所有免疫组化染色均由同一病理科医生独立完成。

1.3 统计学方法

采用 SPSS13.0 软件进行统计学分析。B7-H4 的表达与临床及病理学特征的关系采用 χ^2 检验,复发影响变量采用 Cox 比例风险回归模型,生存分析采用 Kaplan-Meier 方法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 B7-H4 的表达与临床及病理学特征的关系

B7-H4 阳性表达 18 例 (17.6%), 阴性表达 84 例 (82.4%), 见图 1; B7-H4 在远曲小管表达 78 例, 近曲小管表达 56 例。阳性表达组中, 3 例患者行肾部分切除术, 阴性组中有 12 例患者行肾部分切除术, 切缘均阴性。两组在年龄、性别、临床症状、肿瘤大小、分期、核分级及区域淋巴结转移方面均无显著相关性 ($P > 0.05$, 表 1)。

2.2 B7-H4 的表达与复发率

B7-H4 阳性表达 T1 期肾癌患者的 15、30、45 个

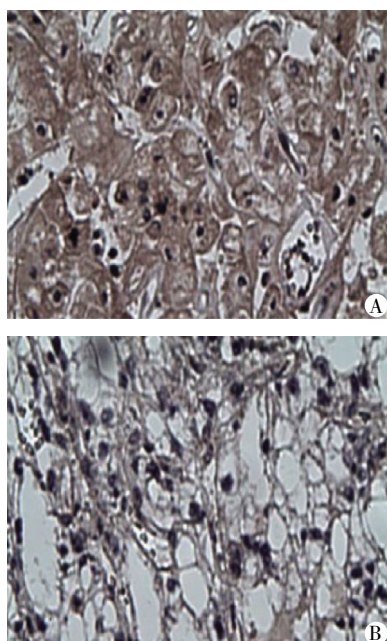


图 1 肾透明细胞癌组织中 B7-H4 的阳性表达(A)与阴性表达(B)(HE, $\times 200$)

Figure 1 The expression of B7-H4 in renal cell carcinoma (HE staining, $\times 200$)

月的无瘤生存率分别为 80.5%、76.8%及 48.3%, B7-H4 阴性表达组的对应无瘤生存率分别为 97.3%、93.4%及 79.5%, 两组间差异具有统计学意义 ($P = 0.019$, 图 2)。

102 例患者中, B7-H4 阳性表达组患者的淋巴结及远处转移率 (5/18, 27.8%) 较阴性组 (7/84, 8.3%) 高, 两者间差异具有统计学意义 ($P = 0.035$)。单变

表 1 B7-H4 表达与 T1 期肾透明细胞癌临床病理特征关系
Table 1 The association of B7-H4 expression and clinical pathology of stage T1 renal cell carcinoma

临床参数	n	B7-H4 表达		P 值
		阳性	阴性	
年龄(岁)				
< 65	76	10(13.2)	66(86.8)	0.897
≥ 65	26	8(30.8)	18(69.2)	
性别				
男	39	13(13.3)	26(66.7)	0.577
女	63	5(7.9)	58(92.1)	
临床症状				
典型	84	17(20.2)	67(79.8)	0.461
隐匿	18	1(5.6)	17(94.4)	
肿瘤大小(cm)				
≤ 4	67	7(10.4)	60(89.6)	0.239
> 4	35	11(31.4)	24(68.6)	
原发肿瘤分期				
pT1a	67	7(10.9)	57(89.1)	0.190
pT1b	35	8(25.0)	24(75.0)	
核分级				
1~2	82	12(14.6)	70(85.4)	0.080
3~4	20	6(30.0)	14(70.0)	
区域淋巴结				
pNx/pN0	97	17(17.5)	80(82.5)	0.949
pN1/pN2	5	1(20.0)	4(80.0)	

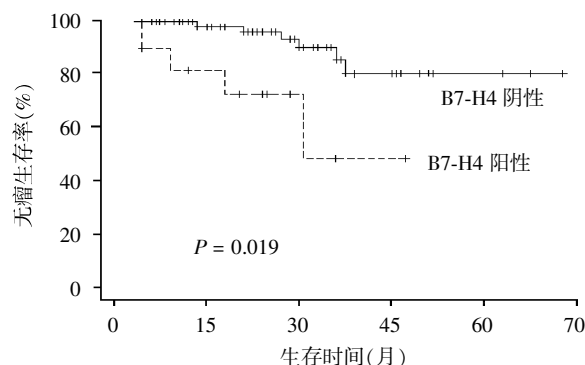


图 2 B7-H4 的表达与 T1 期肾透明细胞癌患者生存曲线
Figure 2 The survival curve of renal cell carcinoma patients in stage T1 with or without B7-H4 expression

量分析肾癌复发相关因素, B7-H4 的表达具有显著相关性($P < 0.05$)。多变量分析表明, 在肾癌术后复

发方面, 肿瘤大小、临床分期及 B7-H4 表达具有显著相关性($P < 0.05$, 表 2)。

表 2 肾癌患者无瘤生存的多变量分析

Table 2 Multivariate analysis of disease free survival of patients with renal cell carcinoma

临床参数	单变量分析 P 值	多变量分析		
		风险比	95%CI	P 值
年龄	0.289	2.607	2.394~2.861	0.106
性别	0.457	0.491	0.395~0.592	0.484
临床症状	0.955	0.440	0.368~0.576	0.507
肿瘤大小	0.574	5.404	4.963~5.965	0.020
临床分期	0.279	3.909	3.632~4.129	0.048
核分级	0.135	0.130	0.108~0.148	0.719
区域淋巴结	0.678	0.414	0.394~0.435	0.520
B7-H4 表达	0.002	7.354	6.856~7.785	0.007

3 讨论

目前有多种基因、蛋白或血清学标志物等经证实与肾癌的预后有关, 如血清淀粉样蛋白(SAA)、碳酸酐酶IX(CAIX)及血管内皮生长因子(VEGF)等^[3-5], 但因缺乏特异性或在肾癌晚期才可检测出, 在预测肾癌预后方面应用较少。

B7-H4 是 B7 家族最新发现的一种负性共刺激分子, 具有抑制 T 细胞增殖、细胞周期进展以及细胞因子合成从而达到下调 T 细胞免疫功能的作用, 同时诱导无应答性肿瘤细胞凋亡, 使机体对于肿瘤细胞的免疫杀伤及免疫监视功能降低, 为肿瘤的免疫逃逸创造了条件^[6-7]。多项实验^[8-10]结果表明, 肝癌、卵巢癌、子宫内膜癌、前列腺癌等瘤细胞及肿瘤相关巨噬细胞中 B7-H4 的表达均显著高于正常人群。肿瘤细胞中 B7-H4 的表达与其肿瘤临床病理特征有关, B7-H4 高表达的患者肿瘤复发率及病死率往往较高, 预后较差^[11]。

本研究证实 B7-H4 在肾癌组织中高表达, 而据文献报道^[12], B7-H4 在正常肾脏组织中表达极少, 这表明肾癌组织中的表达强度明显高于正常组织, 提示 B7-H4 的阳性表达与不良预后呈正相关。既往文献均报道 B7-H4 在远曲小管中高表达^[13-14], 近曲小管的表达却少有报道, 本实验证实 B7-H4 在近曲小管中表达, 显示 B7-H4 在肾癌组织中呈弥漫性高表达。同时, 本实验显示 B7-H4 阳性表达与肿瘤的无瘤生存率及转移率均有密切关系, 阳性表达组的肿瘤转移率显著高于阴性组, 无瘤生存率却显著低于阴性组。本研究认为, 肾透明细胞癌细胞可以通过表达 B7-H4 参与免疫细胞抗肿瘤的负调控及诱导

无应答性肿瘤细胞凋亡, 介导肿瘤免疫逃逸的发生, 从而促进肾癌的发生发展及转移等, 但还需进一步研究。B7-H4 的表达可作为预测肾透明细胞癌的复发及预后的一项新指标。

本研究为回顾性研究, 局限于 T1 期肿瘤, 病理类型均为透明细胞癌, 且样本量较小。既往研究提示 B7-H4 的表达率为 50.6%~65.3%, 本研究仅为 17.6%, 这可能与免疫组化过程有关。

综上所述, 本研究认为 B7-H4 的表达与肾透明细胞癌的复发转移及无瘤生存率方面密切相关, B7-H4 在预测肾癌患者预后方面具有一定价值。

[参考文献]

- [1] Kattan MW, Reuter V, Motzer RJ, et al. A postoperative prognostic nomogram for renal cell carcinoma[J]. J Urol, 2001, 166(2): 63-67
- [2] Frank I, Blute ML, Chevillat JC, et al. An outcome prediction model for patients with clear cell renal cell carcinoma treated with radical nephrectomy based on tumor stage, size, grade and necrosis: the SSIGN score [J]. J Urol, 2002, 168(13): 2395-2400
- [3] Kelly KJ, Kluge-Beckerman B, Zhang J, et al. Intravenous cell therapy for acute renal failure with serum amyloid A protein-reprogrammed cells [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2010, 299(2): 453-464
- [4] Li G, Feng G, Gentil-Perret A, et al. Serum carbonic anhydrase 9 level is associated with postoperative recurrence of conventional renal cell cancer[J]. J Urol, 2008, 180(2): 510-513
- [5] Leibovich BC, Sheinin Y, Lohse CM, et al. Carbonic anhydrase IX is not an independent predictor of outcome for

(下转第 822 页)

ple types of cancer [J]. *Cell Mol Life Sci*,2009,66(8): 1326-1336

[4] Clohessy JG,Zhuang J,de Boer J,et al. Mcl-1 interacts with truncated Bid and inhibits its induction of cytochrome c release and its role in receptor-mediated apoptosis[J]. *J Biol Chem*,2006,281(9):5750-5759

[5] Adams JM,Cory S. The Bcl-2 apoptotic switch in cancer development and therapy [J]. *Oncogene*,2007,26(9): 1324-1337

[6] Kang MH,Reynolds CP. Bcl-2 inhibitors;targeting mitochondrial apoptotic pathways in cancer therapy[J]. *Clin Cancer Res*,2009,15(4):1126-1132

[7] 张婷,许飞,张晨辉,等. CD58/CD2 表达与宫颈癌肿瘤生物学的关系及意义[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*,2010,30(8):1097-1099

[8] 林旭滨,姜文奇,钟雪云,等. 凋亡调控基因 Mcl-1 在 T 细胞性淋巴瘤中的表达及临床意义[J]. *癌症*,2007,26(4):435-439

[9] Allen TD,Zhu CQ,Jones KD,et al. Interaction between MYC and MCL1 in the genesis and outcome of non-small-cell lung cancer[J]. *Cancer Res*,2011,71(6): 2212-2221

[10] Schulze-Bergkamen H,Ehrenberg R,Hickmann L,et al. Bclx (L) and Myeloid cell leukaemia-1 contribute to apoptosis resistance of colorectal cancer cells[J]. *World J Gastroenterol*,2008,14(24):3829-3840

[11] Tromp JM,Geest CR,Breij EC,et al. Tipping the Noxa/Mcl-1 balance overcomes ABT-737 resistance in chronic lymphocytic leukemia [J]. *Clin Cancer Res*,2012,18(2):487-498

[12] Harrison LR,Micha D,Brandenburg M,et al. Hypoxic human cancer cells are sensitized to BH-3 mimetic-induced apoptosis via downregulation of the Bcl-2 protein Mcl-1[J]. *J Clin Invest*,2011,121(3):1075-1087

[13] Zhou P,Levy NB,Xie H,et al. MCL1 transgenic mice exhibit a high incidence of B-cell lymphoma manifested as a spectrum of histologic subtypes[J]. *Blood*,2001,97(12):3902-3909

[14] Chetoui N,Sylla K,Gagnon-Houde JV,et al. Down-regulation of mcl-1 by small interfering RNA sensitizes resistant melanoma cells to fas-mediated apoptosis[J]. *Mol Cancer Res*,2008,6(1):42-52

[收稿日期] 2011-12-23

(上接第 818 页)

patients with clear cell renal cell carcinoma [J]. *J Clin Oncol*,2007,25(17):4757-4764

[6] Krambeck AE,Thompson RH,Dong H,et al. B7-H4 expression in renal cell carcinoma and tumor vasculature; associations with cancer progression and survival [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*,2006,103(14):10391-10396

[7] Zang X,Loke P,Kim J,et al. B7x;a widely expressed B7 family member that inhibits T cell activation [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*,2003,100(11):10388-10392

[8] Choi IH,Zhu G,Sica GL,et al. Genomic organization and expression analysis of B7-H4,an immune inhibitory molecule of the B7 family [J]. *J Immunol*,2003,171(19):4650-4654

[9] Tringler B,Liu W,Corral L,et al. B7-H4 overexpression in ovarian tumors[J]. *Gynecol Oncol*,2006,100(7):44-52

[10] Salceda S,Tang T,Kmet M,et al. The immunomodulatory protein B7-H4 is overexpressed in breast and ovarian cancers and promotes epithelial cell transformation [J]. *Exp Cell Res*,2005,306(10):128-141

[11] Sica GL,Choi IH,Zhu G,et al. B7-H4,a molecule of the B7 family,negatively regulates T cell immunity[J]. *Immunity*,2003,18(3):849-861

[12] Miyatake T,Tringler B,Liu W,et al. B7-H4 (DD-O110) is overexpressed in high risk uterine endometrioid adenocarcinomas and inversely correlated with tumor T-cell infiltration[J]. *Gynecol Oncol*,2007,106(1):119-127

[13] Crispen PL,Boorjian SA,Lohse CM,et al. Predicting disease progression after nephrectomy for localized renal cell carcinoma;the utility of prognostic models and molecular biomarkers[J]. *Cancer*,2008,113(3):450-460

[14] Lam JS,Pantuck AJ,Belldegrun AS,et al. Protein expression profiles in renal cell carcinoma;staging,prognosis,and patient selection for clinical trials [J]. *Clin Cancer Res*,2007,13(4):703-708

[收稿日期] 2011-11-03