

· 论 著 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2023.18.003

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.r.20210203.1731.015\(2023-05-10\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.r.20210203.1731.015(2023-05-10))

RDH5 对肺腺癌恶性生物学行为及预后的影响*

刘海君,张洪岩,汤 隽,任开明,赵俊刚

(中国医科大学附属盛京医院胸外科,沈阳 110004)

[摘要] **目的** 验证视网膜脱氢酶 5(RDH5)在肺腺癌中的功能及其对预后的影响。**方法** 基于癌症基因组图谱(TCGA)数据库比较 RDH5 在肺腺癌组织和癌旁正常组织中的表达及对肺腺癌生存的影响。采用实时荧光定量逆转录 PCR(RT-qPCR)和 Western blot 检测细胞中 RDH5 的表达情况。siRNA 转染抑制 RDH5 的表达,使用 CCK-8 和克隆形成评估细胞增殖能力,通过流式细胞术对细胞凋亡进行测定。检测 2012 年 1 月至 2014 年 12 月该院 139 例肺腺癌术后患者癌组织中 RDH5 表达情况,分析 RDH5 表达与临床病理特征之间的相关性,以及 RDH5 表达与患者无病生存(DFS)和总生存(OS)的关系,COX 回归分析 DFS、OS 的危险因素。**结果** TCGA 分析结果显示,RDH5 在肺腺癌组织表达水平高于正常组织,且 RDH5 高表达患者的 OS 率低于低表达患者($P<0.05$)。肺腺癌细胞系(A549、H1437)中 RDH5 mRNA 相对表达水平较支气管上皮细胞系(16HBE)升高,A549、H1437 中 RDH5 蛋白表达增加($P<0.05$)。siRNA 处理后,A549、H1437 中 RDH5 mRNA 相对表达水平较处理前降低,且 RDH5 蛋白表达减少($P<0.05$)。siRNA 转染 96 h 的 A549、H1437 细胞增殖率较对照明显降低($P<0.05$)。克隆形成实验结果显示,siRNA 转染后细胞群落数明显减少。随着 siRNA 转染,RDH5 表达下降,细胞凋亡比例增加,A549、H1437 中凋亡细胞分别从 9.3%、10.0%增至 32.1%、45.6%。siRNA 转染后,A549、H1437 的抗含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶(caspase)3 表达减弱,抗裂解(cleaved)-caspase3 表达增强。RDH5 高表达与低表达的肿瘤分化程度、淋巴结转移、TNM 分期比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。139 例肺腺癌患者术后 5 年中位 DFS 时间为 33(15,68)个月,中位 OS 时间为 46(24,69)个月。RDH5 高表达的 DFS、OS 时间较低表达缩短,差异有统计学意义($P<0.05$)。多因素 COX 回归分析结果显示,RDH5 高表达提示患者的不良预后,DFS、OS 时间的 HR 分别为 0.40(95%CI:0.22~0.68)、0.52(95%CI:0.30~0.91),差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** RDH5 在肺腺癌中高表达,其可调节细胞增殖和凋亡。

[关键词] 肺腺癌;RDH5;预后;增殖;凋亡**[中图法分类号]** R734.2**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2023)18-2733-08

Effects of RDH5 on malignant biological behavior and prognosis of lung adenocarcinoma*

LIU Haijun, ZHANG Hongyan, TANG Jun, REN Kaiming, ZHAO Jungang
(Thoracic Department, Shengjing Affiliated Hospital of China Medical University,
Shenyang, Liaoning 110004, China)

[Abstract] **Objective** To verify the function of retinal dehydrogenase 5 (RDH5) in lung adenocarcinoma and impact on prognosis. **Methods** Based on The Cancer Genome Atlas (TCGA) database, the expression of RDH5 in cancer tissues and adjacent tissues and its effect on the survival of lung adenocarcinoma were compared. Real-time fluorescent quantitative reverse transcription PCR (RT-PCR) and western-blot were used to detect the expression of RDH5 in cells. siRNA transfection technology inhibited the expression of RDH5. CCK-8 and clone formation were used to evaluate cell proliferation ability, and cell apoptosis was determined by flow cytometry. The expression of RDH5 in cancer tissues of 139 patients with lung adenocarcinoma after surgery was detected, and the correlation between RDH5 expression and clinicopathological characteristics was evaluated, and the relationship between RDH5 and disease-free survival (DFS) and overall survival (OS) was

analyzed. The risk factors of DFS and OS were analyzed by COX regression. **Results** The results of TCGA analysis showed that the expression level of RDH5 in lung adenocarcinoma tissues was higher than that in normal tissues, and the OS rate in patients with high expression of RDH5 was lower than that in patients with low expression ($P < 0.05$). The relative expression of RDH5 mRNA in lung adenocarcinoma cell lines (A549, H1437) was higher than that in bronchial epithelial cell lines (16HBE), and the expression of RDH5 protein in A549 and H1437 was increased ($P < 0.05$). After siRNA treatment, the relative expression level of RDH5 mRNA in A549 and H1437 was decreased compared with that before treatment, and the expression of RDH5 protein in A549 and H1437 was decreased ($P < 0.05$). The cell proliferation rate of A549 and H1437 transfected with siRNA for 96 h was significantly lower than that of the control group ($P < 0.05$). The results of clone formation experiment showed that the number of cell communities decreased significantly after siRNA transfection. With siRNA transfection, the expression of RDH5 decreased and the apoptosis rate increased. The apoptotic cells in A549 and H1437 increased from 9.3% and 10.0% to 32.1% and 45.6%, respectively. After siRNA transfection, cysteinyl aspartate specific proteinase (caspase)3 expression of A549 and H1437 was decreased, and cleaved caspase3 expression was increased. There were significant differences in tumor differentiation, lymph node metastasis and TNM stage between high and low expression of RDH5 ($P < 0.05$). The 5-year median DFS time and median OS time of 139 patients with lung adenocarcinoma were 33(15,68) months and 46(24,69) months respectively. DFS and OS time with high RDH5 expression was shorter than that with low RDH5 expression, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). Multivariate COX regression analysis showed that high expression of RDH5 suggested poor prognosis, and the *HR* of DFS and OS time were 0.40(95%CI:0.22-0.68) and 0.52(95%CI:0.30-0.91), respectively, with statistically significant differences ($P < 0.05$). **Conclusion** RDH5 is highly expressed in lung adenocarcinoma, regulates cell proliferation and apoptosis.

[Key words] lung adenocarcinoma; retinal dehydrogenase 5; prognosis; proliferation; apoptosis

2020 年癌症相关数据显示,肺癌是全球第二大高发恶性肿瘤,约有 220 万新发病例,约有 180 万病例死于肺癌^[1]。根据细胞学类型,肺癌主要分为非小细胞肺癌(non-small-cell lung carcinoma, NSCLC)和小细胞肺癌,其中肺腺癌是 NSCLC 的最常见病理亚型^[2]。早期肺腺癌患者缺乏特异性临床表现,易错过最佳诊断时间,中晚期患者常发生局部浸润甚至远处转移,导致治疗效果不佳,5 年总生存(overall survival, OS)率长期低于 20%^[3]。目前,靶向治疗和免疫治疗是肺腺癌治疗的主要手段,在部分患者中取得了良好的临床效果^[4-5],但由于肿瘤异质性,临床上受益人群仍有限^[6]。

视网膜脱氢酶 5 (retinol dehydrogenase 5, RDH5)属于 RDH 家族,通过催化维生素 A 氧化为视黄醛成为视觉循环中的一种关键酶^[7-8]。近年来有报道指出 RDH5 在多种癌症中存在异常表达:在结直肠癌中 RDH5 的表达水平降低,通过影响细胞生长和分化来促进了结直肠癌的发展^[9]。胃癌患者的外显子组测序表明 RDH5 的突变可能与早期癌变有关^[10-11]。RDH5 在肝细胞癌组织中表达明显下调,其低表达与转移和不良预后相关^[12]。但在雌激素受体阴性乳腺癌中, RDH5 的表达升高被认为是肿瘤发生和耐药的

原因之一^[13]。目前 RDH5 在肺癌中的表达情况,功能和作用机制仍不清楚。所以探究 RDH5 在肺癌中的相关信息对于预测肺癌患者预后情况,开展针对肺癌的特异性治疗及提高治愈率有着重要的理论和临床意义,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞

肺腺癌细胞系 A549、H1437 和支气管上皮细胞系 16HBE 购自中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库。所有细胞系均在含 10% 胎牛血清(美国 Hyclone 公司)的 RPMI 1640 培养基(美国 Invitrogen 公司)进行培养。培养条件为 37 °C、5% CO₂。

1.1.2 组织标本

选取 2012 年 1 月至 2014 年 12 月于本院行根治性切除的 139 例肺腺癌患者为研究对象。所有患者均未接受术前放化疗,无重大疾病史及其他肿瘤病史。病理诊断符合美国癌症联合委员会(American Joint Committee on Cancer, AJCC)第 8 版标准,其中男 103 例,女 36 例;AJCC 分期:Ⅰ期 27 例,Ⅱ期 34 例,Ⅲ期 78 例。收集研究对象肿瘤组织及配对癌旁组织(距肿瘤边缘 3 cm 以上,避免肿瘤中心明显钙化

或坏死部分),保存于液氮中,随后转移至 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。本研究所有研究对象签署知情同意书,并经医院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 实时荧光定量逆转录 PCR(real-time fluorescent quantitative PCR,RT-qPCR)

Trizol 法分别提取组织和细胞中 RNA。加入适量的 DEPC H_2O 溶解($65\text{ }^{\circ}\text{C}$ 促溶 $10\sim 15\text{ min}$)。在 $260\sim 280\text{ nm}$ 处获得吸光度(A)值评估浓度。依据说明书,通过 Advantage[®] RT-for-PCR 试剂盒(日本 Takara 公司)使用 $2\text{ }\mu\text{g}$ RNA 合成 cDNA。将 cDNA 稀释,使用 HiScript[®] II One Step qRT-PCR SYBR[®] Green Kit(日本 Takara 公司)进行 RT-qPCR。PCR 扩增循环条件: $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ 预变性 4 min , $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ 变性 1 min , $63\text{ }^{\circ}\text{C}$ 退火 1 min , $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 延伸 1 min , 30 个循环。 $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min 后降至 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。以 β -actin 作为内参照。

所有 PCR 实验均使用 LightCycler 480 system II(德国罗氏诊断有限公司)完成。RDH5 的上游引物是 $5'\text{-GCT TCT TCC GAA CCC CTG TG-3'}$,下游引物是 $5'\text{-CCT GGC TAC TCA CAC TTG GT-3'}$; β -肌动蛋白的上游引物是 $5'\text{-ATT GGC AAT GAG CGG TT-3'}$,下游引物是 $5'\text{-CGT GGA TGC CAC AGG ACT-3'}$ 。引物由北京华大基因有限公司合成。

1.2.2 细胞转染

RDH5 表达被预先设计的小干扰 RNA(small interfering RNA, siRNA)干扰(#1, s11893; #2, s11894; Cat#4392420,美国 Thermo Fisher Scientific 公司)。使用非靶向 shRNA 作为阴性对照(#4390843,美国 Thermo Fisher Scientific 公司)。使用 Lipofectamine RNAiMAX(#13778-150,美国 Thermo Fisher Scientific 公司)混合 siRNA 进行转染。

1.2.3 Western blot

将培养的细胞用冷磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffer saline,PBS)洗涤两次,并在含有 $1\times$ Halt 蛋白酶和磷酸酶抑制剂混合物(#78442,美国 Thermo Fisher Scientific 公司)的 RIPA 缓冲液中裂解。裂解液以 1 s 的间隔超声 1 s ,总共 1 min ,然后在 $15\ 000\times g$ 和 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下离心 15 min 。收集上清液作为全细胞裂解物。蛋白质样品进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis,SDS-PAGE)并转移到硝酸纤维素膜上。膜用 5% 低脂奶粉封闭,并在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下用抗 RDH5 的一抗(PA5-19319,美国 Thermo Fisher Scientific 公司, $1:1\ 000$)、抗 β -actin(#4967,美国 Cell Signaling Technology 公司, $1:5\ 000$)、抗含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶(cysteiny l aspartate specific protein-

ase,caspase)3(#9662,美国 Cell Signaling Technology 公司, $1:1\ 000$)、抗裂解(cleaved)-caspase3(#9664,美国 Cell Signaling Technology 公司, $1:1\ 000$)在 TBST 中稀释用于 Western blot。在室温下与山羊抗兔 IgG 二抗(#7074,美国 Cell Signaling Technology 公司, $1:5\ 000$)孵育 1 h 后通过使用增强化学发光法(enhanced chemiluminescence,ECL)试剂(美国 GE Healthcare 公司)曝光显影蛋白条带 1 min 。

1.2.4 流式细胞分析

在含有 1% BSA 的 PBS 中将细胞浓度调整为 1×10^6 个/mL。细胞悬液与抗体室温孵育 30 min ,用含 1% BSA 的 PBS 洗涤和离心 2 次,将细胞沉淀悬浮于 PBS 中。流式细胞术使用 FACSVerse(美国 BD Biosciences 公司)仪器进行。使用 FlowJo 3.3 软件分析流式细胞术数据。

1.2.5 细胞活性实验

使用 CCK-8 试剂盒,并依据其使用说明书测定处理后细胞活性。接种细胞 24 h 后,开始转染细胞。之后每隔 24 h 使用 CCK-8 $10\text{ }\mu\text{L}$ 、避光孵育 1 h ,使用酶标仪在 450 nm 处测定 A 值。

1.2.6 细胞凋亡实验

收集含有漂浮凋亡细胞的上清液,将贴壁细胞沉淀并与漂浮细胞结合。收集的细胞用 PBS 洗涤两次,每个沉淀以 1×10^7 个/mL 重悬于膜联蛋白(Annexin)V 结合缓冲液中。细胞用 Annexin V(#640918,美国 BioLegend 公司)和 7-AAD(#420403,美国 BioLegend 公司)染色,并在室温下避光孵育 15 min 。将 Annexin V 结合缓冲液添加到每个样品中,并使用 FACSVerse 仪器(美国 BD Biosciences 公司)分析细胞。

1.2.7 生物信息学分析

于癌症基因组图谱(the cancer genome atlas,TCGA)分析 RDH5 在泛癌和肺腺癌中的表达差异,log-rank 进行生存分析,以 ggplot2 进行可视化。

1.3 统计学处理

采用 GraphPad 9 和 R3.6.3 软件进行数据分析,符合正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,比较采用 t 检验;不符合正态分布的计量资料以 $M(Q_1,Q_3)$ 表示,比较采用 Mann-Whitney U 检验;计数资料以例数和百分比表示,比较采用 χ^2 检验;采用 Kaplan-Meier 绘制生存曲线,COX 回归进行单因素及多因素分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 RDH5 mRNA 在肺腺癌组织及癌旁组织中的表达水平

TCGA 分析结果显示,RDH5 在肺腺癌组织表达水平高于癌旁正常组织,且 RDH5 高表达患者的 OS 率低于低表达患者($P < 0.05$),见图 1。

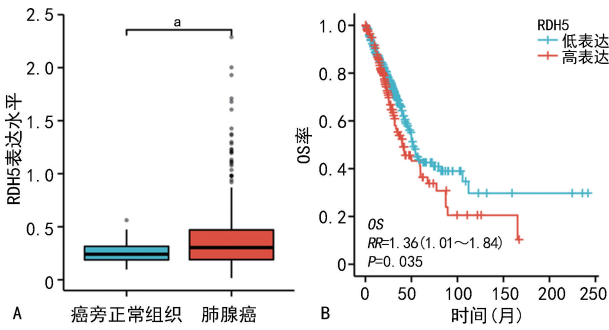


图 1 RDH5 在肺腺癌组织中的表达情况及预后影响
A:RDH5 mRNA 在肺腺癌及癌旁正常组织中的表达水平;B:RDH5 表达水平对肺腺癌患者的生存影响;^a $P < 0.05$ 。

2.2 RDH5 在肺癌细胞系的表达水平

A549、H1437 中 RDH5 mRNA 相对表达水平较 16HBE 升高,A549、H1437 中 RDH5 蛋白表达增加($P < 0.05$)。siRNA 处理后,A549、H1437 中 RDH5 mRNA 相对表达水平较处理前降低,RDH5 蛋白表达减少($P < 0.05$),见图 2。因 siRNA # 2 转染后 RDH5 mRNA 和蛋白表达水平较 siRNA # 1 转染后更低,故选取 siRNA # 2 进行后续研究。

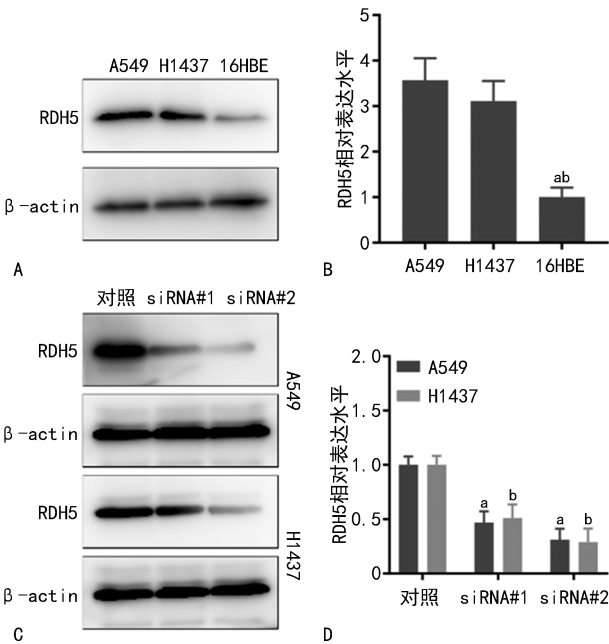


图 2 RDH5 在肺腺癌细胞中的表达情况
A:3 种细胞系中 RDH5 mRNA 相对表达水平比较;B:3 种细胞系中 RDH5 蛋白表达情况;C:siRNA 转染后,肺腺癌细胞系中 RDH5 mRNA 相对表达水平比较;D:siRNA 转染后,肺腺癌细胞系中 RDH5 蛋白表达情况;^a $P < 0.05$,与 A549 比较;^b $P < 0.05$,与 H1437 比较。

图 2 RDH5 在肺腺癌细胞中的表达情况

2.3 干扰 RDH5 的表达对肺腺癌细胞的影响

siRNA 转染 96 h 后,A549、H1437 中细胞增殖率较对照明显降低($P < 0.05$)。克隆形成实验结果显示,siRNA 转染后细胞群落数明显减少,见图 3。随

着 siRNA 转染,RDH5 表达减少,细胞凋亡比例增加,A549、H1437 中凋亡细胞分别从 9.3%、10.0% 增加至 32.1%、45.6%。siRNA 转染后,A549、H1437 的 caspase3 表达减弱,cleaved-caspase3 表达增强,见图 4。

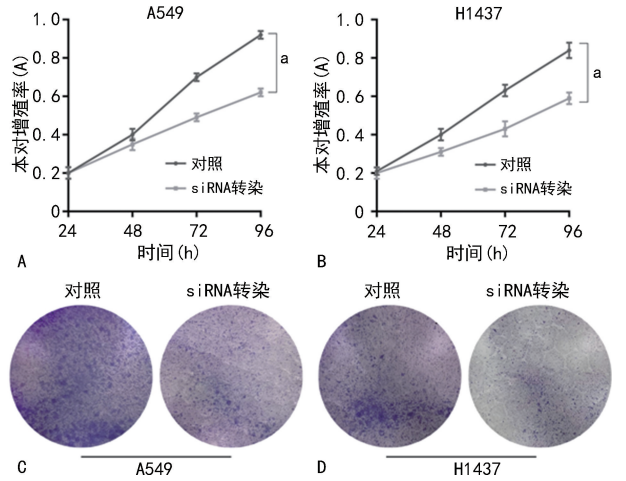


图 3 CCK-8 和克隆形成评估 RDH5 对细胞增殖的影响
A:A549 细胞增殖率变化情况;B:H1437 细胞增殖率变化情况;C:A549 克隆形成实验;D:H1437 克隆形成实验;^a $P < 0.05$ 。

图 3 CCK-8 和克隆形成评估 RDH5 对细胞增殖的影响

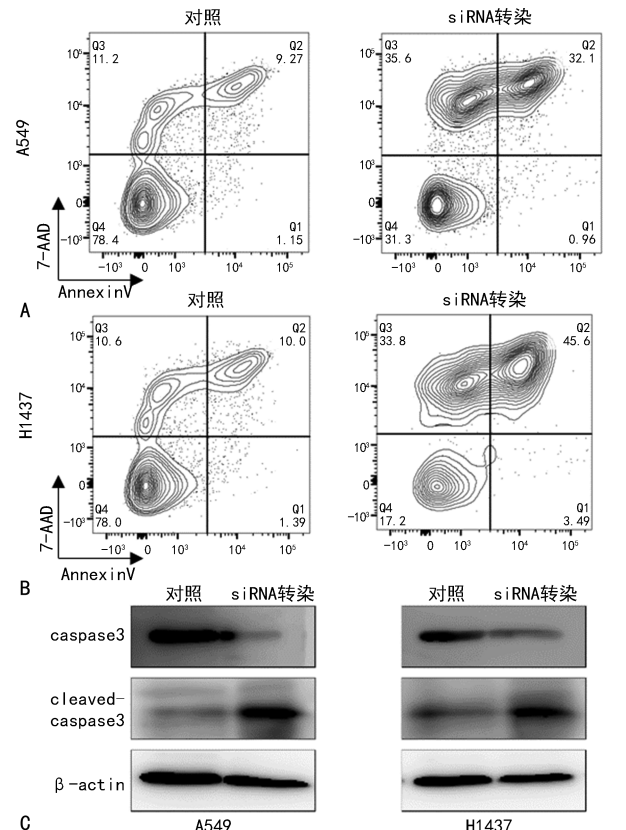


图 4 抑制 RDH5 表达促进细胞凋亡
A:A549 的 Annexin V/7AAD 染色分析;B:H1437 的 Annexin V/7AAD 染色分析;C:肺腺癌细胞系中凋亡相关蛋白表达情况。

图 4 抑制 RDH5 表达促进细胞凋亡

2.4 RDH5 表达水平与肺腺癌患者临床病理特征的关系

肺腺癌组织中 RDH5 相对表达的中位水平为

2.24, 以此作为截断值将 RDH5 相对表达水平 ≥ 2.24 的患者作为高表达 ($n = 83$), 将 RDH5 相对表达水平 < 2.24 的患者作为低表达 ($n = 56$)。结果显示, RDH5 高表达与低表达的肿瘤分化程度、淋巴结转移、AJCC 分期比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 1。

表 1 RDH5 表达水平与肺腺癌患者临床病理特征的关系 (n)

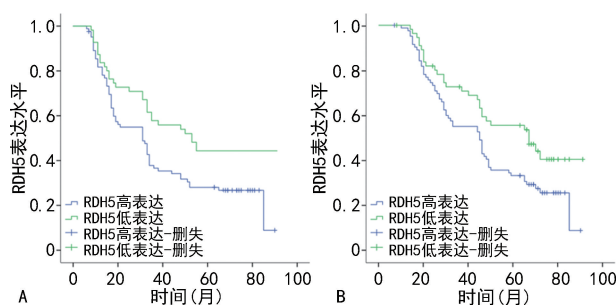
项目	RDH5		χ^2	P
	高表达 ($n = 83$)	低表达 ($n = 56$)		
性别			0.04	0.85
男	62	41		
女	21	15		
年龄			1.08	0.30
≥ 60 岁	37	30		
< 60 岁	46	26		
肿瘤大小			0.40	0.84
< 3 cm	46	32		
≥ 3 cm	37	24		
肿瘤分化程度			18.47	< 0.01
低分化	56	17		
高分化	27	39		
淋巴结转移			21.40	< 0.01
有	56	27		
无	27	29		
AJCC 分期			7.07	0.03
I 期	14	13		
II 期	15	19		
III a 期	54	24		

2.5 RDH5 表达水平与肺腺癌患者预后的关系

139 例肺腺癌患者中, 术后 5 年内死亡 95 例 (死亡率 68.34%), 中位无病生存 (disease-free survival, DFS) 时间为 33(15, 68) 个月, 中位 OS 时间为 46(24, 69) 个月。RDH5 高表达的 DFS、OS 时间较低表达患者缩短, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 5、表 2。

表 2 RDH5 高低表达的 DFS、OS 时间比较 [$M(Q_1, Q_3)$, 月]

项目	RDH5		Z	P
	高表达 ($n = 83$)	低表达 ($n = 56$)		
DFS	31.00(15.00, 65.00)	49.00(16.50, 69.00)	6.04	0.01
OS	45.00(22.00, 68.00)	64.00(22.75, 70.75)	5.47	0.02



A: DFS; B: OS.

图 5 RDH5 高表达与低表达肺腺癌患者的 Kaplan-Meier 生存曲线

单因素分析显示, 不同性别、肿瘤大小、肿瘤分化程度、淋巴结转移、AJCC 分期的 DFS、OS 比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 3。将差异有统计学意义的单因素分析结果纳入多因素分析, 结果显示 RDH5 高表达提示患者的不良预后 ($P < 0.05$), 见表 4。

表 3 影响肺腺癌患者 DFS、OS 的单因素分析 [$M(Q_1, Q_3)$, 月]

项目	n	DFS			OS		
		时间	Z	P	时间	Z	P
性别			5.51	0.02		5.77	0.02
男	103	33(15, 65)			45(23, 67)		
女	36	50(25, 72)			67(33, 74)		
年龄			2.16	0.14		1.93	0.17
≥ 60 岁	72	34(15, 69)			46(23, 69)		
< 60 岁	67	33(16, 65)			46(26, 68)		
肿瘤大小			11.98	< 0.01		12.34	0.01
< 3 cm	61	21(14, 48)			33(21, 63)		
≥ 3 cm	78	50(17, 71)			63(26, 71)		
肿瘤分化程度			7.49	0.01		6.08	0.01
低分化	66	51(15, 67)			57(24, 72)		
高分化	73	34(16, 72)			41(23, 68)		

续表 3 影响肺腺癌患者 DFS、OS 的单因素分析[M(Q₁, Q₃), 月]

项目	n	DFS			OS		
		时间	Z	P	时间	Z	P
淋巴结转移			30.98	<0.01		31.85	<0.01
有	70	27(15,48)			35(24,67)		
无	69	57(16,67)			63(33,72)		
AJCC 分期			107.35	<0.01		107.70	<0.01
I 期	27	69(20,72)			69(33,72)		
II 期	34	49(18,68)			56(26,68)		
III a 期	78	18(10,45)			26(13,55)		
RDH5			18.76	<0.01		18.15	<0.01
高表达	83	33(16,67)			40(20,67)		
低表达	56	57(27,72)			63(33,72)		

表 4 影响肺腺癌患者 DFS、OS 的多因素分析

项目	DFS			OS		
	P	HR	95%CI	P	HR	95%CI
性别(男 vs. 女)	0.36	1.30	0.75~2.26	0.89	0.96	0.55~1.69
肿瘤大小(≥3 cm vs. <3 cm)	0.50	0.84	0.51~1.40	0.48	0.83	0.50~1.39
肿瘤分化程度(低分化 vs. 高分化)	0.21	1.34	0.85~2.10	0.24	1.32	0.84~2.08
淋巴结转移(有 vs. 无)	0.08	0.62	0.36~1.07	0.03	0.53	0.31~0.93
AJCC 分期						
II 期 vs. I 期	<0.01	0.06	0.03~0.17	<0.01	0.07	0.03~0.18
III a 期 vs. II 期	<0.01	0.06	0.03~0.16	<0.01	0.07	0.03~0.17
RDH5(高表达 vs. 低表达)	0.01	0.40	0.22~0.68	0.02	0.52	0.30~0.91

3 讨 论

尽管已经做出了巨大的努力,但 NSCLC 患者的预后仍未得到改善。在过去 10 年中,分子靶向治疗的发展对肺腺癌的治疗方法产生了巨大影响,小分子酪氨酸激酶抑制剂的使用进一步延长了表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)、间变性大细胞淋巴瘤激酶(anaplastic lymphoma kinase, ALK)、c-ros 肉瘤致癌因子-受体酪氨酸激酶(ROS proto-oncogene 1, receptor tyrosine kinase, ROS1)和神经生长因子受体酪氨酸激酶(neurotrophin receptor kinase, NTRK)突变患者的生存期^[14-15]。

本研究发现,肺腺癌高表达 RDH5,与疾病预后、细胞生长和凋亡等方面密切相关,是肺腺癌发生、发展过程中的关键分子。RDH5 的发现是由于其在视网膜色素上皮循环中的重要作用,它是将 11-顺-维生素 A 转化为 11-顺-视黄醛的关键酶,该基因的突变可能导致视网膜色素变性引起眼病^[16]。尽管很少有组

织学研究报道 RDH5 表达与癌症之间的关系,但近年研究显示,RDH5 在结直肠癌、肝癌和胃癌中表达异常,且导致预后不良^[9-12]。也有报道指出,RDH5 在雌激素受体阴性乳腺癌中高表达,导致肿瘤进展及耐药^[13]。RDH5 在早期胃癌中发生突变,是早癌发生的驱动因素^[11],但 RDH5 在肝细胞癌中的突变率较低^[12]。RDH5 与肿瘤表观遗传学改变存在相关性,与非肿瘤组织相比,RDH5 在甲状腺乳头状癌中甲基化程度低,这表明 DNA 甲基化能够调节 RDH5 的表达。相似的结论在肝细胞癌中也有报道,即肝癌中存在明显的 RDH5 DNA 甲基化修饰异常^[12]。目前,RDH5 在肿瘤中的生物学功能暂不能统一,但根据已知的研究报道,RDH5 有其双刃剑的作用,在不同的癌症中的不同表达会有不同的功能。因此,明确其上下游的信号通路对研究 RDH5 有重要意义。

本研究发现 RDH5 在肺腺癌中特异性表达,通过激活 caspase3 介导了细胞凋亡。既往研究一度认为细胞凋亡是唯一受调控的细胞死亡机制,但随着近年

来对介导细胞死亡机制的理解不断加深,除了细胞凋亡外,坏死性凋亡、细胞焦亡和细胞自噬都是受调控的细胞死亡机制^[17]。而寻找各种抗癌机制引起细胞死亡可能会引领新的靶向治疗方案的制订。其中细胞凋亡的特点是细胞收缩、染色质浓缩、核碎裂、质膜起泡和邻近吞噬细胞清除碎片^[18],在本研究中,下调 RDH5 后肺腺癌细胞表现出活性减低并抑制增殖。在进一步的实验中,发现下调 RDH5 的表达可以诱导肺腺癌细胞凋亡,且证明 RDH5 在肺腺癌细胞系中会关联 caspase3 介导的细胞凋亡过程,导致肺腺癌细胞死亡。caspase3 是刺激癌症细胞凋亡的关键分子,是一种无活性二聚体,通过某个亚基的蛋白水解切割启动激活,不同的蛋白酶切割 caspase3 酶原以激活 caspase3。cleaved-caspase3 是 caspase3 的激活形式,是促进细胞凋亡的主要裂解酶^[19]。cleaved-caspase3 进一步切割不同的底物,导致蛋白酶级联放大,最终导致细胞凋亡,切割的底物导致蛋白质功能的改变,从而导致与细胞凋亡相关的细胞变化。因此,caspase3 激活意味着诱导细胞凋亡^[20]。本研究证实 RDH5 可以调节 caspase3 的表达来调控细胞凋亡过程,虽然不能明确更具体的机制,但根据既往的报道,RDH5 可以调控 HIPPO 通路^[12],而 HIPPO 通路跟细胞死亡有密切关联^[21],可以推测 RDH5 可能通过 HIPPO 通路调控细胞凋亡过程,但仍需要更多的证据。此外,caspase3 除了介导细胞凋亡,还可以通过裂解焦孔素(gasdermin,GSDME)来诱导细胞焦亡^[22]。且有报道表明,细胞凋亡后会继发性引起细胞焦亡,所以 RDH5 有介导细胞焦亡的可能性,不过这仍需更多的证据表明,包括细胞形态和信号通路的验证。

综上所述,RDH5 主要在肺腺癌组织中表达,其可通过抑制 caspase3 的激活来逃避细胞凋亡,从而增强细胞生存能力和耐药性。因此,RDH5 可能是肺腺癌患者预后的新治疗靶点。

参考文献

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020; GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209-249.
- [2] RELI V, TREROTOLA M, GUERRA E, et al. Abandoning the notion of non-small cell lung cancer[J]. *Trends Mol Med*, 2019, 25(7): 585-594.
- [3] ETTINGER D S, WOOD D E, AISNER D L, et al. Non-small cell lung cancer, version 5. 2017, NCCN clinical practice guidelines in oncology [J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2017, 15(4): 504-535.
- [4] OSMANI L, ASKIN F, GABRIELSON E, et al. Current WHO guidelines and the critical role of immunohistochemical markers in the subclassification of non-small cell lung carcinoma (NSCLC): moving from targeted therapy to immunotherapy [J]. *Semin Cancer Biol*, 2018, 52(1): 103-109.
- [5] XING P, WANG S, WANG Q, et al. Efficacy of crizotinib for advanced ALK-rearranged non-small-cell lung cancer patients with brain metastasis: a multicenter, retrospective study in China [J]. *Target Oncol*, 2019, 14(3): 325-333.
- [6] TESTA U, CASTELLI G, PELOSI E. Lung cancers: molecular characterization, clonal heterogeneity and evolution, and cancer stem cells [J]. *Cancers (Basel)*, 2018, 10(8): 248.
- [7] LIU X, LIU L, LI H, et al. RDH5 retinopathy (fundus albipunctatus) with preserved rod function [J]. *Retina*, 2015, 35(3): 582-589.
- [8] SKORCZYK-WERNER A, PAWLOWSKI P, MICHALCZUK M, et al. Fundus albipunctatus: review of the literature and report of a novel RDH5 gene mutation affecting the invariant tyrosine (p. Tyr175Phe) [J]. *J Appl Genet*, 2015, 56(3): 317-327.
- [9] KROPOTOVA E S, ZINOVIEVA O L, ZYRYANOVA A F, et al. Altered expression of multiple genes involved in retinoic acid biosynthesis in human colorectal cancer [J]. *Pathol Oncol Res*, 2014, 20(3): 707-717.
- [10] FERRER-TORRES D, NANCARROW D J, KUICK R, et al. Genomic similarity between gastroesophageal junction and esophageal Barrett's adenocarcinomas [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(34): 54867-54882.
- [11] KANG G, HWANG W C, DO I G, et al. Exome sequencing identifies early gastric carcinoma as an early stage of advanced gastric cancer [J]. *PLoS One*, 2013, 8(12): e82770.
- [12] HU H, XU L, LUO S J, et al. Retinal dehydrogenase 5 (RHD5) attenuates metastasis via

- regulating HIPPO/YAP signaling pathway in hepatocellular carcinoma [J]. *Int J Med Sci*, 2020, 17(13):1897-1908.
- [13] LIPSEY C C, HARBUZARIU A, ROBEY R W, et al. Leptin signaling affects survival and chemoresistance of estrogen receptor negative breast cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(11):3794.
- [14] DUMA N, SANTANA-DAVILA R, MOLINA J R. Non-small cell lung cancer: epidemiology, screening, diagnosis, and treatment [J]. *Mayo Clin Proc*, 2019, 94(8):1623-1640.
- [15] KLECZKO E K, KWAK J W, SCHENK E L, et al. Targeting the complement pathway as a therapeutic strategy in lung cancer [J]. *Front Immunol*, 2019, 10:954.
- [16] KATAGIRI S, HAYASHI T, NAKAMURA M, et al. RDH5-related fundus albipunctatus in a large Japanese cohort [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2020, 61(3):53.
- [17] SAULER M, BAZAN I S, LEE P J. Cell death in the lung: the apoptosis-necroptosis axis [J]. *Annu Rev Physiol*, 2019, 81:375-402.
- [18] GREEN D R, LLAMBI F. Cell death signaling [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2015, 7(12):a006080.
- [19] WANG Y, GAO W, SHI X, et al. Chemotherapy drugs induce pyroptosis through caspase3 cleavage of a gasdermin [J]. *Nature*, 2017, 547(7661):99-103.
- [20] KE H, WANG X, ZHOU Z, et al. Effect of weiming on apoptosis and caspase3 expression in a breast cancer mouse model [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 264:113363.
- [21] IKEDA S, SADOSHIMA J. Regulation of myocardial cell growth and death by the hippo pathway [J]. *Circ J*, 2016, 80(7):1511-1519.
- [22] ROGERS C, FERNANDES-ALNEMRI T, MAYES L, et al. Cleavage of DFNA5 by caspase3 during apoptosis mediates progression to secondary necrotic/pyroptotic cell death [J]. *Nat Commun*, 2017, 8:14128.
- (收稿日期:2022-12-29 修回日期:2023-05-12)
(编辑:袁皓伟)
-
- (上接第 2725 页)
- [31] UCHIDA J, KUWABARA N, MACHIDA Y, et al. Excellent outcomes of ABO-incompatible kidney transplantation: a single-center experience [J]. *Transplant Proc*, 2012, 44(1):204-209.
- [32] ZHAO D, ZHU L, ZHANG S, et al. Case report: successful ABO-incompatible deceased donor kidney transplantation in an infant without pre-transplant immunological treatment [J]. *Front Med (Lausanne)*, 2022, 9:838738.
- [33] LANGHORST C, GANNER A, SCHNEIDER J, et al. Long-term follow-up of ABO-incompatible kidney transplantation in freiburg, germany: a single-center outcome report [J]. *Transplant Proc*, 2021, 53(3):848-855.
- [34] PORRETT P M, ORANDI B J, KUMAR V, et al. First clinical-grade porcine kidney xenotransplant using a human decedent model [J]. *Am J Transplant*, 2022, 22(4):1037-1053.
- [35] MONTGOMERY R A, STERN J M, LONZE B E, et al. Results of two cases of pig-to-human kidney xenotransplantation [J]. *N Engl J Med*, 2022, 386(20):1889-1898.
- [36] HIRZEL C, PROJER L, ATKINSON A, et al. Infection risk in the first year after ABO-incompatible kidney transplantation: a nationwide prospective cohort study [J]. *Transplantation*, 2022, 106(9):1875-1883.
- [37] HAMANO I, HATAKEYAMA S, FUJITA T, et al. Outcome of ABO blood type-incompatible living-related donor kidney transplantation under a contemporary immunosuppression strategy in Japan [J]. *Transplant Proc*, 2020, 52(6):1700-1704.
- [38] BEGUM N A S, KASHEM T S, NOBI F, et al. Experiences of performing ABO-incompatible kidney transplantation in Bangladesh [J]. *Korean J Transplant*, 2022, 36(2):111-118.
- (收稿日期:2023-03-15 修回日期:2023-04-15)
(编辑:冯甜)