

# REST 表达与胶质瘤卒中患者预后相关性研究

刘坤 屈祥勇 邹礼

(湖南省脑科医院 (湖南省第二人民医院) 神经外科 湖南长沙 410007)

**摘要:** 目的: 探讨 REST 表达与胶质瘤卒中患者预后相关性研究。方法: 收集患者的年龄、性别、体重、身高、民族、既往史、家族肿瘤史、手术时间、手术类型、肿瘤大小、肿瘤出血量、WHO 分期, 检测对 21 例胶质瘤卒中患者肿瘤组织和 10 例脑外伤正常脑组织样本中 GFAP、Ki67、P53、IDH1 突变、MGMT 启动子突变, 分析 REST 的表达水平。结果: REST 的高表达与患者的肿瘤大小, 肿瘤出血量、WHO 分期以及 P53、Ki67 显著性相关。同时 REST 高表达患者预后相比 REST 低表达患者总体生存期更短。结论: REST 表达水平与胶质瘤卒中患者术后预后正相关, 为神经胶质瘤卒中患者的治疗提供新理论依据。

**关键词:** 神经元限制性沉默因子, 胶质瘤, 卒中, 预后

神经胶质瘤是成人恶性脑瘤中发病率最高的一类肿瘤, 其中 III、IV 级为恶性胶质瘤, 占 77.5%<sup>[1-3]</sup>。恶性胶质瘤可伴有卒中, 其病理变化更为复杂, 可发生坏死、囊变与出血, 手术全切难且复发。目前尚未完全阐明胶质瘤的发病机制, 临床仍缺乏针对胶质瘤有效的治疗方法, 神经胶质瘤中抑制元素-1 沉默转录因子/神经元限制性沉默因子 (Repressor elementsilencing transcription factor; REST) 表达与癌症发生及恶性进展密切相关, REST 可变剪切的发生可影响翻译形成的 REST 蛋白功能减弱或缺失。本文采用回顾性和平行分析, 检测 REST 表达水平与胶质瘤卒中患者术后预后的相关性, 为神经胶质瘤卒中患者的治疗提供新理论依据。

## 资料与方法

1 一般资料 选择我院 2021 年 1 月至 2022 年 12 月收治的 21 例胶质瘤卒中和 10 例脑外伤患者作为研究对象。胶质瘤卒中患者纳入标准: 年龄 ≥ 18 岁; 术前 CT 及 MR 明确为肿瘤卒中; 术中快速病检为胶质瘤; 胶质瘤周边坏死组织标本可获得; 患者具有良好的依从性。胶质瘤卒中患者排除标准: 患者有重大手术、放疗史; 正在接受其他药物试验; 依从性差; 有合并疾病; 有其他临床严重疾病史包括精神病学疾病及其他恶性肿瘤; 处于妊娠及哺乳期。本研究报请我院伦理委员会批准, 患者知情并同意参与研究。

## 2. 临床资料收集

收集患者资料包括: 年龄、性别、体重、身高、民族、既往史、家族肿瘤史、手术时间、手术类型、肿瘤大小、肿瘤出血量、WHO 分期、相关检测指标 (包括 GFAP、Ki67、P53、IDH1 突变, MGMT 启动子突变等), 进行预后的相关分析。

3. RNA 及蛋白提取及后续检测: 取符合标准的胶质瘤卒中患者肿瘤组织及脑损伤患者正常组织样本, Trizol 提取组织总 RNA, 提取的总 RNA 样品经浓度及纯度测定, 并经 1% 的琼脂糖凝胶电泳测定, 确定样本已成功提取 RNA, 同时采用 RIPA 裂解液提取组织中蛋白。qRT-PCR 检测患者 REST 的 mRNA 表达水平, Western Blot 和免疫组化检测 REST 的蛋白表达水平。组织样本检测 REST 表达水平结合上述患者的临床资料进行相关性分析。

4. 随访: 门诊或电话随访, 定期收集患者相关信息, 包括 MRI 结果, 是否复发等。

5. 数据分析: 采用 SPSS22.0 软件进行统计分析, 以 P ≤ 0.05 认为具有统计学意义。t 检验分析胶质瘤及正常脑组织间 REST 表达差异; Correlation 相关性检测, 用于胶质瘤组织中 REST 表达的相

关性; 卡方检验分析 REST 表达与患者临床病理学特征之间的相关性; 卡方检验分析后期患者随访资料中 REST 表达水平与患者疾病复发的关联性。

## 结果

首先分析了 GEO、TCGA 数据库中 REST 在胶质瘤卒中患者和正常脑组织的表达差异; 对 21 例胶质瘤卒中患者肿瘤组织和 10 例正常脑组织样本中 REST 的表达水平检测。REST 在胶质瘤组织中表达显著上调具有显著的统计学差异。结合患者的病历资料分析了 REST 的表达与患者临床病理学特征之间的相关性, 发现 REST 的高表达与患者的肿瘤大小, 肿瘤出血量、WHO 分期以及 P53、Ki67 显著性相关。同时 REST 高表达患者预后相比 REST 低表达患者总体生存期更短。

表 1 患者一般临床特征以及 REST 表达水平与患者临床病理学相关性

临床特征	病例数	REST 表达水平		P 值
		REST 低表达 (n=10)	REST 高表达 (n=11)	
年龄	21	42.54 ± 19.35	41.08 ± 20.43	0.562
性别				0.631
男性	12	6 (50.0%)	6 (50.0%)	
女性	9	4 (44.4%)	5 (55.6%)	
术前 KPS 评分				0.637
<80	4	2 (50.0%)	2 (50.0%)	
≥80	17	9 (53.0%)	8 (47.0%)	
WHO 分期				0.048*
III	5	2 (40.0%)	3 (60.0%)	
IV	16	6 (37.5%)	10 (62.5%)	
肿瘤大小 (cm)				0.057*
<3	4	1 (25.0%)	3 (75.0%)	0.029*
≥3	17	5 (29.4%)	12 (70.6%)	
出血卒中 (ml)				0.015*
<5	2	1 (50.0%)	1 (50.0%)	
≥5	19	3 (15.8%)	16 (84.2%)	
GFAP				0.629
阳性	18	8 (44.4%)	10 (65.6%)	
阴性	3	2 (66.7%)	1 (33.3%)	
Ki67				0.034*

<15%	12	7 (58.3%)	5 (41.7%)	
>=15%	9	3 (33.3%)	6 (66.7%)	
P53				0.001 <sup>*</sup>
阳性	15	5 (33.3%)	10 (66.7%)	
阴性	6	5 (83.3%)	1 (16.7%)	
IDH1 突变				0.732
突变型	7	4 (57.1%)	3 (42.9%)	
野生型	14	6 (42.9%)	8 (57.1%)	
MGMT 启动子				0.251
甲基化				
甲基化	2	1 (50.0%)	1 (50.0%)	
非甲基化	19	12 (63.2%)	7 (36.8%)	

\*表示两组比较 P<0.05, 具有统计学差异

### 讨论

在肿瘤生长过程中, 形成大量肿瘤血管, 管壁较薄弱, 受肿瘤生长牵扯、扭曲等则易破裂出血, 另血管内部血栓形成, 局部血流淤滞, 梗死后再出血, 及肿瘤坏死组织对血管壁的侵蚀。胶质瘤发生肿瘤卒中的主要原因有<sup>[3]</sup>: 肿瘤生长较快, 而内部血管生长较慢, 导致血管生长迟于肿瘤生长, 肿瘤中心坏死出血。REST 是细胞核内具有锌指结构的重要转录抑制因子, 可以抑制 2000 多种神经基因的转录, REST 蛋白包含八个锌指结构, 与靶基因的保守结合序列 RE-1 结合对靶基因的转录起负调控作用<sup>[4]</sup>。REST 在非神经细胞中呈现高表达, 在神经细胞中的表达具有阶段性。在未分化的神经细胞中 REST 表达量较高, 在神经细胞分化过程中, REST 表达量逐渐降低, 而成熟的神经细胞中 REST 基本不表达或表达量很低。研究表明, 将分化中的神经细胞过表达 REST, 神经细胞将停止分化<sup>[4, 5]</sup>。在非神经系统肿瘤细胞中, REST 发挥肿瘤抑制作用, 而在神经系统肿瘤中 REST 作为原癌基因发挥作用<sup>[6]</sup>。REST 的过表达与多种神经系统疾病的发生发展相关, 包括髓母细胞瘤、神经母细胞瘤、嗜铬细胞瘤<sup>[7]</sup>。Tea B 等<sup>[8]</sup>发现大部分 (67%) 神经胶质瘤组织样本中均存在 REST 的表达。Luciano C 等<sup>[9]</sup>通过 Q-PCR 检测到 15 例神经胶质瘤肿瘤组织中 REST mRNA 表达量均高于正常脑组织 2-5 倍。REST 表达于少突胶质细胞系形成及成熟的全过程, 通过抑制靶基因的表达促进细胞系的成熟和髓鞘形成<sup>[10]</sup>。Marisetty AL 等<sup>[11]</sup>发现多巴胺受体 D2 基因是 REST 调控胶质母细胞瘤干细胞介导的靶点。REST 不仅可以与其辅助蛋白的相互作用促进神经胶质细胞系的形成和成熟, 还能通过影响神经胶质瘤细胞的自我更新、侵袭性和致瘤性调节细胞的生长<sup>[12]</sup>。在神经胶质瘤细胞中过表达 REST, 能够促进细胞增殖并抑制细胞分化; 当敲除 REST 后, 细胞增殖能力减弱、侵袭性降低、凋亡增加, 用敲除 REST 的神经胶质瘤细胞进行小鼠成瘤实验, 瘤体体积显著减小, 生存期延长<sup>[13]</sup>。Wang 等<sup>[14]</sup>通过细胞计数 kit-8 和 transwell 实验分别分析了 NP/siRNA 靶向 REST 对胶质母细胞活性的抑制和迁移能力的显著抑制, 有效地抑制胶质母细胞瘤的增殖和迁移。本研究通过胶质瘤卒中患者的 REST 的表达水平相关性及 REST 表达水平与胶质瘤卒中患者术后预后的相关性, 为神经胶质瘤卒中患者的治疗提供新理论依据。

参考文献:

- [1]《中国中枢神经系统胶质瘤诊断和治疗指南》编写组. 中国中枢神经系统胶质瘤诊断和治疗指南(2012 精简版)[J]. 中华医学杂志,2012,92(33): 2309-2313.
- [2]Omuro A, DeAngelis LM. Glioblastoma and Other Malignant Gliomas: A Clinical Review[J]. Journal of the American Medical Association,2013,310(17):1842-50.
- [2]郭烈美, 邱永明, 葛建伟, 等. 高级别胶质瘤术中肿瘤卒中的可能机制及治疗策略. 中国微侵袭神经外科杂志. 2012. 17(11): 505-506.
- [4]Li H,Liu Z,Wu Y, et al. The deficiency of NRSF/REST enhances the pro-inflammatory function of astrocytes in a model of Parkinson's disease[J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis,2020,1866(1): 165590.
- [5] Kim M, Ryu KY. Regulation of REST levels overcomes dysregulation of neural stem cell differentiation caused by disruption of polyubiquitin gene Ubb[J]. Biochem Biophys Res Commun,2017,486(1): 171-177.
- [6] Navarrete-Modesto V, Orozco-Su á rez S, Alonso-Vanegas M, et al. REST/NRSF transcription factor is overexpressed in hippocampus of patients with drug-resistant mesial temporal lobe epilepsy[J]. Epilepsy Behav,2019,94: 118-123.
- [7]Kurita J, Hirao Y, Nakano H, et al. Sertraline, chlorprothixene, and chlorpromazine characteristically interact with the REST-binding site of the corepressor mSin3, showing medulloblastoma cell growth inhibitory activities[J]. Scientific reports,2018,8(1):13763.
- [8]Blom T, Tynninen O, Puputti M, et al. Molecular genetic analysis of the REST/NRSF gene in nervous system tumors[J]. Acta neuropathologica,2006,112(4):483-90.
- [9]Conti L, Crisafulli L, Caldera V, et al. REST controls self-renewal and tumorigenic competence of human glioblastoma cells[J]. PloS one,2012,7(6):e38486.
- [10]Bergsland M, Covacu R, Perez Estrada C, et al. Nitric oxide-induced neuronal to glial lineage fate-change depends on NRSF/REST function in neural progenitor cells[J]. Stem cells (Dayton, Ohio),2014,32(9):2539-49.
- [11]Marisetty A, Lu L, Veo B, et al. REST-DRD2 mechanism impacts glioblastoma stem cell-mediated tumorigenesis[J]. Neuro-oncology,2019,21(6):775-85.
- [12] Kamal M, Sathyan P, Singh S, et al. REST regulates oncogenic properties of glioblastoma stem cells[J]. Stem cells,2012,30(3):405-14.
- [13]Wang E, Sandberg R, Luo S, et al. Alternative isoform regulation in human tissue transcriptomes[J]. Nature,2008,456(7221):470-6.
- [14]Wang R, Degirmenci V, Xin H, et al. PEI-Coated Fe<sub>3</sub> O<sub>4</sub> Nanoparticles Enable Efficient Delivery of Therapeutic siRNA Targeting REST into Glioblastoma Cells[J].International journal of molecular sciences,2018,19(8).

本课题由湖南省科技厅自然科学基金项目 (2021JJ70088) 资助