

## DOCK4 在肺腺癌诊断和预后中的意义

李昌盛<sup>1</sup> 孙临奥<sup>2</sup> 周雪峰<sup>1\*</sup>

1 武汉大学中南医院胸外科 湖北武汉 430000 2 武汉大学第二临床学院 湖北武汉 430000

〔摘要〕目的 探讨胞质分裂作用因子 4(DOCK4) 在肺腺癌中的表达及作用。方法 采用逆转录定量聚合酶链反应(RT-qPCR)和酶联免疫吸附法(ELISA)检测 94 例肺腺癌及其邻近癌旁组织中 DOCK4 的表达水平,进一步探讨 DOCK4 在肺腺癌中的表达与临床病理特征及患者预后的关系。结果 RT-qPCR 和 ELISA 分析显示,肺腺癌组织中 DOCK4 的表达水平明显高于癌旁组织( $P<0.05$ )。DOCK4 高表达与淋巴结转移、肿瘤大小、TNM 分期、肿瘤分化程度显著相关( $P<0.05$ ),与年龄、性别、吸烟史无关( $P>0.05$ )。Cox 回归分析显示 DOCK4 是肺腺癌的独立预后因素。结论 DOCK4 在肺腺癌中高表达,可作为一种潜在的预后和诊断的生物标志物。

〔关键词〕DOCK4; 预后; 诊断; 肺腺癌

〔中图分类号〕R734.2 〔文献标识码〕A 〔文章编号〕2095-7165(2021)02-001-02

肺癌主要分为非小细胞肺癌与小细胞肺癌,非小细胞肺癌主要包括肺腺癌和肺鳞癌,其中肺腺癌是非小细胞肺癌最常见的亚型,占肺癌的 40% 以上。手术切除是肺腺癌患者的最有效的治疗方法;然而,患者的术后生存率仍然较差。主要原因是肺腺癌在早期容易发生远处转移<sup>[1]</sup>。因此,寻找肺腺癌中有效的中潜在的分子生物标志物,对于提高肺癌疗效和改善预后至关重要具有重要的临床意义。

DOCK4 是鸟嘌呤核苷酸交换因子,调节 GTPase Rac1 的激活,Rac1 激活可促进肌动蛋白重组,肿瘤血管生成中的侧丝足形成以及血管形态改变<sup>[2]</sup>。研究表明,DOCK4 与细胞迁移和乳腺癌患者发生骨转移有关<sup>[3]</sup>,然而,DOCK4 在肺腺癌中的作用尚不清楚,因此,本研究主要探讨 DOCK4 在肺腺癌中的表达及意义。

## 1 资料与方法

## 1.1 临床资料

选取 2015 年 1 月至 2020 年 6 月我院收治的符合标准的肺腺癌患者 94 例,其中男 51 例,女 43 例;年龄 29~76 岁,平均年龄(57.53±12.67)岁,所有患者均在本院首次病理诊断为肺腺癌,术前均未接受放疗、化疗等任何形式的抗肿瘤治疗。术前从医院病历中获取性别、年龄、吸烟史、肿瘤大小、分化程度等临床特征。本研究已经本院伦理研究会审核批准,所有患者均获得书面知情同意。

## 1.2 方法

## 1.2.1 逆转录定量聚合酶链反应(RT-qPCR)

采用 TRIzol 提取总 RNA,用 QuantiFast RT-PCR 试

剂盒反转录成 cDNA,QuantiTect-SYBR-Green-PCR 检测 DOCK4 的表达。GAPDH 作为内参。DOCK4 的引物序列为 F:5'-GGATACCTACGGAGCAGGAG-3' 和 R:5'-AGCCATCACACTTCTCCAGG-3',GAPDH 的引物序列为 F:5'-CCAGTGGTCTCCTCTGA-3' 和 R:5'-GCTGTAGCCAAATCGTGT-3'。2<sup>-ΔΔct</sup> 分析 mRNA 相对表达。

## 1.2.2 酶联免疫吸附法(ELISA)

准备样本,标准品和试剂;加入准备好的样品和标准品,37℃ 反应 30 分钟,洗板 3 次,加入酶标试剂,37℃ 反应 30 分钟,洗板 3 次;加入显色液,37℃ 反应 10 分钟,加入终止液,15 分钟内读取 OD 值。

## 1.3 统计方法

采用 Excel 录入数据并建立数据库,运用 SPSS 20.0 软件对数据进行统计学分析,结果采用平均值±标准差(SD)表示,两组间均数比较用 t 检验,生存率分析 Cox 比例风险模型, $P<0.05$  具有统计学意义。

## 2 结果

## 2.1 肺腺癌与癌旁组织中 DOCK4 表达情况

如图 1A 所示,DOCK4 mRNA 在肺腺癌组织(T)中的表达水平明显高于癌旁组织(N)(\*\*\*, $P<0.001$ )。此外,ELISA 分析显示,DOCK4 在癌组织(T)和癌旁组织(N)中的平均表达量分别为(3.713±0.197)ng/ml 和(1.678±0.138)ng/ml,癌组织内 DOCK4 表达量明显高于癌旁组织(\*\*\*, $P<0.001$ ) (图 1, B)。这些数据表明 DOCK4 在肺腺癌中高表达。

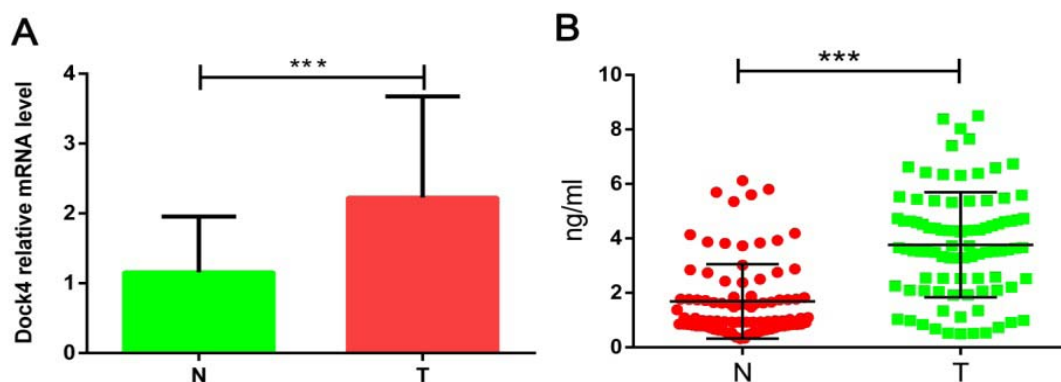


图 1

## 2.2 DOCK4 在肺腺癌诊断中的价值

根据 DOCK4 表达的 ROC 分析,曲线下面积为 0.811( $P<0.001$ ),

最佳诊断临界值为 1.90ng/ml (敏感性=0.851,特异性=0.787)被认为是区分肺腺癌和正常肺组织的分界点(图 2)。

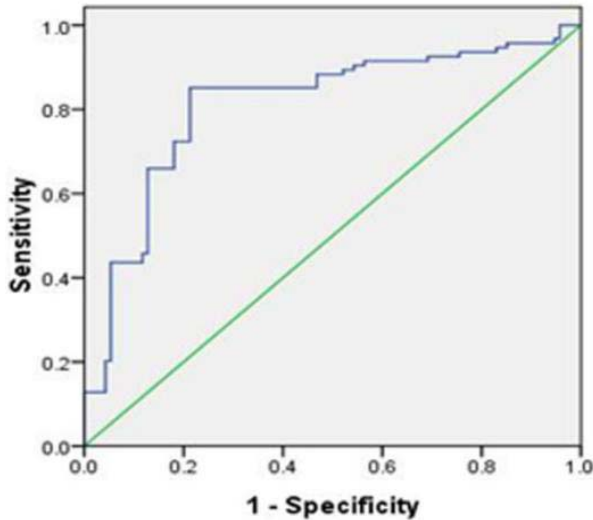


图 2

2.3 DOCK4 在肺腺癌中的表达与临床病理特征及预后的关系

我们进一步分析了 DOCK4 在肺腺癌中的表达与临床病理特征的关系。结果显示，DOCK4 高表达与淋巴结转移、肿瘤大小、TNM 分期、肿瘤分化程度显著相关 ( $P < 0.05$ )，与年龄、性别、吸烟史无关 (表 1,  $P > 0.05$ )。

肺腺癌预后相关的危险因子分析显示：肺腺癌预后与性别、年龄、肿块大小、吸烟史无相关性，而与淋巴结转移、临床分期、分化程度以及 Dock4 表达相关 ( $P < 0.05$ )，因此，可以得出 DOCK4 是肺腺癌的独立预后因素，具体见表 2。

3 讨论

DOCK 家族蛋白是 Rho GTPases Rac 和 Cdc42 进化保守的交换因子。哺乳动物中有 11 种 DOCK 蛋白，分别命名为 DOCK1 (或 DOCK180) 和 DOCK11，它们发挥着不同的细胞功能。特别是，DOCK 蛋白调节肌动蛋白的细胞骨架、细胞粘附和迁移。因此，DOCK 家族成员参与了各种病理，包括癌症、中枢神经和免疫系统缺陷<sup>[4]</sup>。DOCK4 是 DOCK 家族的一个成员，编码具有 DHR-1 (CZH-1) 结构域、DHR-2 (CZH-2) 结构域和 SH3 结构域的蛋白质。它既可以作为疾病的启动子，也可以作为疾病的抑制剂，这可能是由于它具有调节细胞与细胞接触和运动通路的能力<sup>[5]</sup>，人类癌症细胞中的 DOCK4 突变可能会造成细胞连接功能丧失甚至更严重的表型变化。

在本研究中，与癌旁组织相比，DOCK4 在肺腺癌中高表达，提示 DOCK4 可能是一个促癌基因，DOCK4 的过表达可能与肺腺癌的形成有关。然而，研究表明，它可以抑制多种类型癌症的肿瘤生长，包括卵巢癌和胶质母细胞瘤。这些数据提示 DOCK4 的表达可能与肿瘤的异质性有关。此外，我们还探讨了 DOCK4 在肺腺癌中的表达与临床病理特征的相关性。结果表明，DOCK4 的表达与肿瘤大小显著相关，提示 DOCK4 的过表达可能有助于细胞的生长和增殖。进一步证实 DOCK4 过表达与淋巴结转移、TNM 分期相关，提示 DOCK4 过表达与肺腺癌的进展相关。Cox 回归分析提示 DOCK4、淋巴结转移、TNM 分期与患者预后相关，可能是肺腺癌的独立预后因素。因此，这些数据表明 DOCK4 是肺腺癌的预后生物标志物。DOCK4 过表达可能会促进肿瘤进展，并导致不利的结果预后。有研究显示，DOCK4 是乳腺癌中肿瘤进展的潜在预测因子<sup>[3]</sup>。最近，DOCK4 被报道参与细胞的分化、增殖、迁移和侵袭。然而，DOCK4 在肺腺癌中表达对细胞分化、增殖、迁移和侵袭的影响尚不清楚。DOCK4 过表达可能通过调节细胞的分化、增殖、迁移或侵袭促进肺腺癌的发展。然而，这一假设在未来还需要更多的证

据来验证。

综上所述，这些数据提示 DOCK4 在肺腺癌中高表达，并与肿瘤的形成和进展相关，可作为肺腺癌潜在的预后和诊断生物标志物。

[参考文献]

[1] Hutchinson BD, Shroff GS, Truong MT, et al. Spectrum of Lung Adenocarcinoma[J]. Semin Ultrasound CT MR. 2019,40(3):255-264.  
 [2] Huang M, Liang C, Li S, et al. Two Autism/Dyslexia Linked Variations of DOCK4 Disrupt the Gene Function on Rac1/Rap1 Activation, Neurite Outgrowth, and Synapse Development[J]. Front Cell Neurosci. 2020,13:577.  
 [3] Westbrook JA, Wood SL, Cairns DA, et al. Identification and validation of DOCK4 as a potential biomarker for risk of bone metastasis development in patients with early breast cancer[J]. J Pathol. 2019 ,247(3):381-391.  
 [4] Kunimura K, Uruno T, Fukui Y. DOCK family proteins: key players in immune surveillance mechanisms[J]. Int Immunol. 2020 ,32(1):5-15.  
 [5] Sundaravel S, Kuo WL, Jeong JJ, et al. Loss of Function of DOCK4 in Myelodysplastic Syndromes Stem Cells is Restored by Inhibitors of DOCK4 Signaling Networks[J]. Clin Cancer Res. 2019 ,25(18):5638-5649.

表 1: DOCK4 表达量与肺腺癌患者临床病理特征的关系

项目	例数 (n)	DOCK 4 平均表达水平 (ng/ml)	P
年龄			0.429
≤ 55	40	3.896 ± 0.321	
> 55	54	3.578 ± 0.247	
性别			0.616
男	51	3.622 ± 0.255	
女	43	3.822 ± 0.308	
吸烟史			0.103
是	61	3.477 ± 0.232	
否	33	4.150 ± 0.353	
淋巴结转移			0.021
是	24	3.978 ± 0.224	
否	70	2.941 ± 0.376	
肿块大小 (cm)			<0.001
<3.0	64	4.235 ± 0.194	
≥ 3.0	30	2.601 ± 0.392	
临床分期			<0.001
I	60	3.075 ± 0.212	
II	26	4.451 ± 0.327	
III	8	6.105 ± 0.682	
分化程度			<0.001
高	63	2.951 ± 0.194	
中	21	4.42 ± 0.258	
低	10	7.029 ± 0.295	

表 2: 肺腺癌患者预后相关的危险因子分析

临床病理因素	HR	95%CI	P
性别	1.072	0.593 ~ 1.937	0.818
年龄	0.817	0.439 ~ 1.522	0.525
吸烟	0.907	0.510 ~ 1.613	0.740
淋巴结转移	2.442	1.231 ~ 4.845	0.011
肿块大小	0.702	0.379 ~ 1.299	0.260
临床分期	2.204	1.222 ~ 3.973	0.009
分化程度	2.928	1.757 ~ 4.880	<0.001
DOCK4	0.421	0.189 ~ 0.938	0.034