

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.19.025

子宫内膜癌中 PTEN 与 PI3K-Akt 通路的表达及意义

熊汉真¹ 刘少颜¹ 杨嶽鑫¹ 林琼燕² 江庆萍¹

(1 广州医科大学附属第三医院病理科 广东 广州 510515; 2 广州医科大学附属第三医院妇科 广东 广州 510515)

摘要 目的:研究 PTEN 与 PI3K-Akt 通路在子宫内膜癌中的表达及临床意义。**方法:**采用免疫组化技术检测正常子宫内膜组织(24 例)、子宫内膜样腺癌组织(55 例)及子宫内膜浆液性癌组织(26 例)中 PTEN、P13Kp110 α 及 p-AKTSer473 的表达情况,分析其表达与组织病理参数的关系。**结果:**免疫组化结果显示:子宫内膜癌的 PTEN 表达缺失率,P13Kp110 α 及 p-AKTSer473 表达阳性率均高于正常子宫内膜组织,且正常子宫内膜组织与子宫内膜样腺癌组织比较有统计学意义($P<0.05$);随着肌层浸润深度增加,PTEN 表达缺失率增加($P<0.05$)。**结论:**PTEN 的表达缺失及 P13Kp110 α 与 p-AKTSer473 的表达可能与子宫内膜癌的发生发展有关,尤其是在子宫内膜样腺癌的发生发展机制中占重要地位。

关键词:子宫内膜癌;PTEN;P13Kp110 α ; p-AKTSer473;信号通路

中图分类号:R737.33 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)19-3699-04

Expression of PTEN, PI3K-Akt Signal Pathway and Their Clinical Significance in Endometrial Cancer

XIONG Han-zhen¹, LIU Shao-yan¹, YANG Yue-xin¹, LIN Qiong-yan², JIANG Qing-ping¹

(1 Department of Pathology, the Third Hospital Affiliated to Guangzhou Medical College, Guangzhou, Guangdong, 510515, China;

2. Department of gynaecology, the Third Hospital Affiliated to Guangzhou Medical College, Guangzhou, Guangdong, 510515, China)

ABSTRACT Objective: To study the expression of PTEN, PI3K-Akt signal pathway and their clinical significance in endometrial cancer. **Methods:** Immunohistochemistry technology was used to detect the expression of PTEN, P13Kp110 α and p-AKTSer473 in normal endometrial tissues (24 cases), endometrial adenocarcinoma tissues (55 cases) and endometrial serous carcinoma tissues (26 cases). The relationship between the expression and the pathological parameters of tissues were analyzed. **Results:** Immunohistochemistry showed: The negative expression of PTEN and the positive expression of P13Kp110 α and p-AKTSer473 in endometrial cancer tissues were higher than that in normal endometrial tissues, statistically significant differences were found in the comparison of normal endometrial tissues and endometrial adenocarcinoma tissues ($P<0.05$); negative expression of PTEN increased with the increase of muscular layer infiltration depth ($P<0.05$). **Conclusion:** The negative expression of PTEN and the positive expression of P13Kp110 α and p-AKTSer473 might be related with the occurrence and development of endometrial cancer, especially in the occurrence and development of endometrial adenocarcinoma.

Key words: Endometrial cancer; PTEN; P13Kp110 α ; P-AKTSer473; Signal pathway

Chinese Library Classification(CLC): R737.33 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)19-3699-04

前言

子宫内膜癌是妇女常见的恶性肿瘤之一,其发病率逐年升高且呈年轻化趋势,严重威胁妇女的生活质量及生命安全^[1]。因此研究子宫内膜癌的发病机制并提出能早期诊断子宫内膜癌的标记物将为子宫内膜癌患者的治疗带来重大意义。目前已有研究者发现 PTEN 的突变与子宫内膜癌的发生机制有关,是子宫内膜样腺癌发生最常见的突变基因^[2-3]。PI3K-Akt 信号转导通路是一种与细胞存活、细胞周期调控、转录调节和细胞代谢等一系列细胞活动有关的信号转导通路,而 PTEN 是该通路的一种负调节因子^[4,5]。有研究发现子宫内膜癌的发生与该信号转

导通路的激活有关,但是具体机制仍不明确,本研究利用免疫组化法检测正常子宫内膜组织、子宫内膜样癌组织及子宫内膜浆液性癌组织中 PTEN、P13Kp110 α 及 p-AKTSer473 的表达情况,进而探讨这三者与子宫内膜癌发生发展的关系,为临床诊治提供理论支持。

1 资料和方法

1.1 一般资料

随机选取 2012 年 1 月至 2014 年 1 月于我院行子宫全切术、子宫次全切术及子宫刮术患者 105 例切除标本,年龄范围 30-75 岁,平均年龄(50.2 $\pm$ 12.3)岁。所有患者术前均未行化疗及化疗,标本均经 10%福尔马林固定及常规石蜡包埋备用。通过我院经验丰富的病理学专家复查光镜确诊按标准分为正常子宫内膜组织 24 例,子宫内膜样腺癌组织 55 例,子宫内膜

作者简介:熊汉真(1982-),女,在职博士,中级,从事妇科肿瘤病理方面的研究,E-mail:87yyuu@126.com

(收稿日期:2014-02-05 接受日期:2014-03-01)

浆液性癌组织 26 例, 其中子宫内膜样腺癌与子宫内膜浆液性癌是子宫内膜癌两种病理类型。

1.2 方法

1.2.1 免疫组化法 准备所需试剂: PTEN 鼠抗人单克隆抗体(北京中杉金桥生物技术有限公司), P13Kp110 α 兔单克隆抗体(美国 Cell Signaling Technology 公司), p-AKTser473 兔单克隆抗体(美国 Cell Signaling Technology 公司), SP 超敏试剂盒(北京博奥森公司), DAB 显色试剂盒(北京博奥森公司)。取下标本后石蜡包埋备用, HE 染色。石蜡标本连续性切片(每份标本取 3 份切片), 切片厚 4 μ m, 常规脱蜡、水化。双氧水孵育 10 min 后行热抗原修复 15-20 min, 分别加入一抗后 4 $^{\circ}$ C 过夜, 37 $^{\circ}$ C 孵育箱复温后 PBS 冲洗 3 次后加入抗一抗的后 37 $^{\circ}$ C 孵育 30 min, PBS 冲洗后加入 DBA 显色液进行显色再用苏木精进行复染。阳性对照采用已知阳性的子宫内膜癌切片, 空白对照采用已知阳性的子宫内膜癌切片, 用 PBS 缓冲液代替一抗。所有操作均严格按照试剂盒说明书进行。

1.2.2 观察指标

在 400 倍光镜下观察记录结果, 每份切片取 10 个高倍镜视野采取双人双盲计数, 记录切片中阳性细胞占同类观察细胞总数的百分比及其着色强度。PTEN 定位于细胞核, P13Kp110 α

及 p-AKTser473 定位于细胞质和(或)细胞膜中, 采用半定量积分法判定结果: 染色强度评分分 4 级, 无染色 0 分, 浅黄色 1 分, 棕黄色 2 分, 棕褐色 3 分; 阳性细胞占同类观察细胞总数的百分率分为 4 级, 无阳性细胞 0 分, 小于 25% 为 1 分, 25%-50% 为 2 分, 50-75% 为 3 分, 大于 75% 为 4 分。二者积分乘积 0-1 分判定为阴性, 2-4 分判定为阳性, 5-12 分为强阳性。

1.3 统计学方法

采用 SPSS18.0 软件进行数据录入及数据分析, 多组资料比较采用卡方检验及秩和检验, 用 pearson 相关进行相关性分析。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 PTEN、P13Kp110 α 及 p-AKTser473 在三种组织中的表达情况

免疫组化结果显示: 三组标本的 PTEN 表达缺失率, P13Kp110 α 及 p-AKTser473 表达阳性率差异有统计学意义 ($P<0.05$), 子宫内膜癌组织(子宫内膜样腺癌与子宫内膜浆液性癌)的 PTEN 表达缺失率, P13Kp110 α 及 p-AKTser473 表达阳性率均高于正常子宫内膜组织, 且正常子宫内膜组织与子宫内膜样腺癌组织比较有统计学意义 ($P<0.05$)。详见表 1。

表 1 PTEN、P13Kp110 α 及 p-AKTser473 在三种组织中的表达[n(%)]
Table 1 Expression of PTEN, P13Kp110 α and p-AKTser473 in three kinds of tissues[n(%)]

指标 Indexes	正常子宫内膜组织(n=24) Normal endometrial tissue (n=24)	子宫内膜样腺癌*(n=55) Endometrioid adenocarcinoma (n=55)	子宫内膜浆液性癌(n=26) Uterine serous carcinoma (n=26)	X ²	P
PTEN	阴性 Negative	4(16.67)	45(81.82)	29.263	<0.001
	阳性 Positive	14(58.33)	8(14.55)		
	强阳性 Strong positive	6(25.00)	2(3.63)		
P13Kp110 α	阴性 Negative	4(16.67)	7(12.73)	13.012	0.001
	阳性 Positive	20(83.33)	22(40.00)		
	强阳性 Strong positive	0(0.00)	26(47.27)		
p-AKTser ⁴⁷³	阴性 Negative	10(41.67)	5(9.09)	17.818	<0.001
	阳性 Positive	14(58.33)	30(54.55)		
	强阳性 Strong positive	0(0.00)	20(36.36)		

注: 与正常组织比较, 均 $P<0.05$

Note: Compared with the normal tissue, all $P<0.05$

2.2 子宫内膜癌组织中 PTEN、P13Kp110 α 及 p-AKTser473 的表达与组织病理学特征的关系

统计分析结果显示: PTEN 表达缺失率与肌层浸润有关, 肌层浸润越深其表达缺失率越高, 差异有统计学意义 ($P<0.05$),

与组织学分级无关,差异无统计学意义($P>0.05$);P13Kp110 α 关,差异均无统计学意义($P>0.05$),详见表 2。
及 p-AKTser473 的表达阳性率与组织学分级和肌层浸润均无

表 2 子宫内膜癌组织中 PTEN、P13Kp110 α 及 p-AKTser473 的表达与组织病理学特征的关系[n(%)]

Table 2 Expression of PTEN, P13Kp110 α and p-AKTser473 in endometrial carcinoma and relationship with histopathology[n(%)]

指标 Indexes		N	PTEN 阴性 PTEN negative	P13Kp110 α 阳性 P13Kp110 α positive	p-AKTser473 阳性 p-AKTser473 positive
组织学分级 Histological grade	G1	24	16(66.67)	17(70.83)	18(75.00)
	G2	31	19(61.29)	24(77.42)	24(77.42)
	G3	26	17(68.38)	18(69.23)	18(69.23)
	χ^2	-	0.191	0.542	0.503
	P	-	0.909	0.763	0.778
肌层浸润 Myometrial invasion	无 No	25	8(32.00)	16(64.00)	17(68.00)
	$\leq 1/2$	35	19(54.29)	26(74.29)	26(74.29)
	$> 1/2$	21	17(80.95)	18(85.71)	19(90.48)
	χ^2	-	10.886	2.769	3.344
	P	-	0.004	0.250	0.188

3 讨论

子宫内膜癌是女性常见生殖系统恶性肿瘤,死亡率近 100%,严重威胁女性健康。临床研究者发现子宫内膜癌的发生发展与许多因素有关,但是对其具体机制仍不清楚。有学者指出,张力蛋白同源物 PTEN 调控的 PIK3-Akt 信号转导通路与子宫内膜癌的发生发展关系密切^[6-8],本次研究通过免疫组化测量正常子宫内膜组织及子宫内膜癌组织中 PTEN、P13Kp110 α 及 p-AKTser473 这三者的表达情况从而探讨其与子宫内膜癌的发生发展关系,为临床早期诊断及治疗病人提供理论基础。

研究发现,子宫内膜癌的 PTEN 表达缺失率,P13Kp110 α 及 p-AKTser473 表达阳性率均高于正常子宫内膜组织,提示 PTEN 调控的 PIK3-Akt 信号转导通路确实与子宫内膜癌的发生有关,并且发现正常子宫内膜组织与子宫内膜样腺癌组织比较有统计学意义($P<0.05$),这与已有研究结果相近^[9,10],更加说明 PTEN 调控的 PIK3-Akt 信号转导通路与子宫内膜样腺癌的发生有密切关系^[10-12]。PTEN 的一种在广泛的肿瘤中发生突变和缺失的基因,是一种有双重特异性的磷酸酶活性抑癌基因,其所具有的脂质磷酸酶活性具有抑癌作用,能特异性地使磷脂酰肌醇 D3 环去磷酸化,从而拮抗 PI3K 底物磷酸化,负性调控 PIK3-Akt 信号转导通路,诱导凋亡^[12-14]。P13Kp110 α 及 p-AKTser473 的 PIK3-Akt 信号转导通路中的两种癌基因,随着 PTEN 的表达缺失其表达阳性率升高,表明 PTEN 确实抑制 P13Kp110 α 及 p-AKTser473 的活性。P13Kp110 α 是癌基因 PIK3CA 的催化亚单位具有类脂激酶和蛋白激酶的双重活性,已有研究者发现 PIK3CA 癌基因的突变晚于 PTEN 的突变^[14-16]。Akt 是一种产生丝氨酸苏氨酸激酶的癌基因,p-AKTser473 是这种基因的磷酸化激活位点,这种癌基因在与 PIK3CA 激活的产物的作用下激活,Akt 激活后又相继激活下游的靶基因从而调控细胞存活、周期、转录和代谢等^[16-18]。另外随着肌层浸润深度增加,PTEN 表达缺失率增加($P<0.05$),说明

PTEN 与子宫内膜癌的发展过程相关,随着 PTEN 表达的缺失,子宫内膜癌浸润程度增加,提示可将 PTEN 的表达作为一个预后指标^[19,20]。

总而言之,PTEN 的表达缺失及 P13Kp110 α 与 p-AKTser473 的表达可能与子宫内膜癌的发生发展有关,尤其是在子宫内膜样腺癌的发生发展机制中占重要地位。

参考文献(References)

- [1] Cheng H, Liu P, Zhang F, et al. A genetic mouse model of invasive endometrial cancer driven by concurrent loss of Pten and Lkb1 is highly responsive to mTOR inhibition [J]. Cancer Res, 2014, 74(1): 15-23
- [2] van der Zee M, Jia Y, Wang Y, et al. Alterations in Wnt-beta-catenin and Pten signalling play distinct roles in endometrial cancer initiation and progression[J]. J Pathol, 2013, 230(1): 48-58
- [3] Ge X, Guo R, Qiao Y, et al. The G protein-coupled receptor GPR30 mediates the nontranscriptional effect of estrogen on the activation of PI3K/Akt pathway in endometrial cancer cells [J]. Int J Gynecol Cancer, 2013, 23(1): 52-59
- [4] Weigelt B, Warne P H, Lambros M B, et al. PI3K pathway dependencies in endometrioid endometrial cancer cell lines [J]. Clin Cancer Res, 2013, 19(13): 3533-3544
- [5] Wik E, Birkeland E, Trovik J, et al. High phospho-Stathmin(Serine38) expression identifies aggressive endometrial cancer and suggests an association with PI3K inhibition[J]. Clin Cancer Res, 2013, 19(9): 2331-2341
- [6] Nout R A, Bosse T, Creutzberg C L, et al. Improved risk assessment of endometrial cancer by combined analysis of MSI, PI3K-AKT, Wnt/beta-catenin and P53 pathway activation [J]. Gynecol Oncol, 2012, 126(3): 466-473
- [7] Li T, Yang Y, Li X, et al. EGFR- and AKT-mediated reduction in PTEN expression contributes to tyrosine kinase resistance and is reversed by mTOR inhibition in endometrial cancer cells [J]. Mol Cell

- Biochem, 2012, 361(1-2): 19-29
- [8] Kang S, Dong S M, Kim B R, et al. Thioridazine induces apoptosis by targeting the PI3K/Akt/mTOR pathway in cervical and endometrial cancer cells[J]. Apoptosis, 2012, 17(9): 989-997
- [9] Samulak D, Grosman-Dziewiszek P, Michalska M M, et al. Evaluation of expression of the PTEN gene, oestrogen and progesterone receptors as diagnostic and predictive factors in endometrial cancer [J]. Pathol Oncol Res, 2014, 20(1): 191-196
- [10] Pavlidou A, Vlahos N F. Molecular Alterations of PI3K/Akt/mTOR Pathway: A Therapeutic Target in Endometrial Cancer [J]. Scientific World Journal, 2014, 2014: 709736
- [11] Skrzypczak M, Latrich C, Haring J, et al. Expression of SCUBE2 gene declines in high grade endometrial cancer and associates with expression of steroid hormone receptors and tumor suppressor PTEN [J]. Gynecol Endocrinol, 2013, 29(12): 1031-1035
- [12] Brucka A, Szylo K. Immunoexpression of the PTEN protein and matrix metalloproteinase-2 in endometrial cysts, endometrioid and clear cell ovarian cancer[J]. Ginek Pol, 2013, 84(5): 344-351
- [13] Myers A P. New strategies in endometrial cancer: targeting the PI3K/mTOR pathway--the devil is in the details[J]. Clin Cancer Res, 2013, 19(19): 5264-5274
- [14] Bosse T, ter Haar N T, Seeber L M, et al. Loss of ARID1A expression and its relationship with PI3K-Akt pathway alterations, TP53 and microsatellite instability in endometrial cancer [J]. Mod Pathol, 2013, 26(11): 1525-1535
- [15] Qin X, Yan L, Zhao X, et al. microRNA-21 overexpression contributes to cell proliferation by targeting PTEN in endometrioid endometrial cancer[J]. Oncol Lett, 2012, 4(6): 1290-1296
- [16] Peterson L M, Kipp B R, Halling K C, et al. Molecular characterization of endometrial cancer: a correlative study assessing microsatellite instability, MLH1 hypermethylation, DNA mismatch repair protein expression, and PTEN, PIK3CA, KRAS, and BRAF mutation analysis[J]. Int J Gynecol Pathol, 2012, 31(3): 195-205
- [17] Ioffe Y J, Chiappinelli K B, Mutch D G, et al. Phosphatase and tensin homolog (PTEN) pseudogene expression in endometrial cancer: a conserved regulatory mechanism important in tumorigenesis? [J]. Gynecol Oncol, 2012, 124(2): 340-346
- [18] Slomovitz B M, Coleman R L. The PI3K/AKT/mTOR pathway as a therapeutic target in endometrial cancer[J]. Clin Cancer Res, 2012, 18(21): 5856-5864
- [19] Zhang Z, Zhou D, Lai Y, et al. Estrogen induces endometrial cancer cell proliferation and invasion by regulating the fat mass and obesity-associated gene via PI3K/AKT and MAPK signaling pathways[J]. Cancer Lett, 2012, 319(1): 89-97
- [20] Wang L E, Ma H, Hale K S, et al. Roles of genetic variants in the PI3K and RAS/RAF pathways in susceptibility to endometrial cancer and clinical outcomes[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2012, 138(3): 377-385

(上接第 3690 页)

- [7] 刘永, 陆武, 宋长祥, 等. 18 氟 - 脱氧葡萄糖双探头符合线路断层显像在 39 例乳腺癌术前诊断中的应用 [J]. 重庆医学, 2012, 41(13): 1293-1294
- Liu Yong, Lu Wu, Song Chang-xiang, et al. Application of ¹⁸F-FDG coincidence SPECT/CT detection imaging in preoperative diagnosis of 39 cases of breast cancer[J]. Chongqing Medicine, 2012, 41(13): 1293-1294
- [8] 刘永, 陆武, 宋长祥, 等. 孤立性肺结节 ¹⁸F-FDG SPECT 显像的半定量研究[J]. 中国医学影像学杂志, 2011, 19(3): 237-240
- Liu Yong, Lu Wu, Song Chang-xiang, et al. Semi-Quantitative Study of Fluorodeoxyglucose Uptaking of Solitary Pulmonary Nodules by SPECT [J]. Chinese Journal of Medical Image, 2011, 19(3): 237-240
- [9] 姜福胜, 魏博, 李维青, 等. ¹⁸F-FDG 双探头符合线路 SPECT 在肺癌诊断中的价值[J]. 肿瘤, 2009, 29(9): 902-904
- Jiang Fu-sheng, Wei Bo, Li Wei-qing, et al. The value of ¹⁸F-FDG dual head SPECT coincidence imaging in diagnosis of lung cancer [J]. Tumor, 2009, 29(9): 902-904
- [10] 廖安燕, 王俊杰. 双探头符合线路断层显像 (SPECT/CT) 和增强 CT 扫描对 29 例肺癌纵隔淋巴结分期的比较分析[J]. 中国现代实用医学杂志, 2006, 5(001): 20-22
- Liao An-yan, Wang Jun-jie. Comparison of the differential of mediastinal lymph node staging in lung cancer with SPECT and CT [J]. Chinese Journal of Current Practical Medicine, 2006, 5(001): 20-22
- [11] 陆武, 刘永, 宋长祥, 等. ¹⁸F-FDG 符合线路 SPECT/CT 对肺孤立性病变的诊断价值[J]. 放射学实践, 2011, 26(5): 560-563
- Lu Wu, Liu Yong, Song Chang-xiang, et al. Diagnostic value of ¹⁸F-FDG SPECT/CT coincidence detection imaging for solitary pulmonary mass [J]. Radiologic Practice, 2011, 26(5): 560-563
- [12] 张人玲, 王荣福, 张海琴, 等. ¹⁸F-FDG 符合线路 SPECT 在肺癌诊断中的临床意义 [J]. 中国医学影像技术, 2002, 21(4): 632-633
- Zhang Ren-ling, Wang Rong-fu, Zhang Hai-qin, et al. ¹⁸F-FDG coincidence with SPECT in diagnosis of lung cancer [J]. Chinese Journal of Medical Image Technology, 2002, 21(4): 632-633
- [13] 韩丽君, 屈婉莹, 朱明, 等. ¹⁸F-FDG hPET/CT 显像诊断肺部病变 [J]. 中华核医学杂志, 2003, 23(1): 17-19
- Han Li-jun, Qu Wan-ying, Zhu Ming, et al. Evaluation of pulmonary nodules with ¹⁸F-FDG hPET/CT imaging [J]. Chinese Journal of Nuclear Medicine, 2003, 23(1): 17-19
- [14] 王少雁, 张建, 孙高峰, 等. ¹⁸F-FDG PET/CT 最大标准摄取值联合 HRCT 在肺癌诊断中的价值和影响因素分析 [J]. 中华核医学与分子影像杂志, 2013, 33(1): 29-33
- Wang Shao-yan, Zhang Jian, Sun Gao-feng, et al. The maximum standardized uptake value of ¹⁸F-FDG PET/CT combined with the image features on high resolution CT for the diagnosis of lung cancer [J]. Chinese Journal of Nuclear Medicine, 2013, 33(1): 29-33