

子宫内膜癌组织中 PTEN 和 MTA1 蛋白的表达及其相关性

桂 玲 张克强 王 静

(湖南省肿瘤医院 湖南 长沙 410013)

摘要 目的 探讨子宫内膜癌组织中 PTEN 和 MTA1 表达及其与子宫内膜癌生物学行为之间的关系。方法 采用免疫组化 SP 法检测 130 例子宫内膜癌和 40 例正常宫内膜组织中 PTEN 和 MTA1 的表达水平,并分析两者在子宫内膜癌中的相关性。结果 子宫内膜癌组织中 PTEN、MTA1 阳性表达均显著高于正常子宫内膜组织 ($P < 0.01$)。PTEN 与 MTA1 在子宫内膜癌组织中的表达呈负相关 ($r = -0.35, P < 0.05$)。结论 PTEN 和 MTA1 表达与子宫内膜癌的发生、发展及生物行为密切相关,且两者表达存在负相关性。

关键词 子宫内膜肿瘤 PTEN; MTA1; 免疫组织化学

中图分类号 R737.33 **文献标识码** A **文章编号** 1673-6273(2011)19-3700-03

Expression of PTEN and MTA1 and their Correlation in the Endometrial Cancer

GUI Ling, ZHANG ke-qiang, WANG jing

(Department of Obstetrics and Gynecology, Tumor Hospital of Hunan Province, Changsha 410013, China)

ABSTRACT Objective: To explore the expression of PTEN and MTA1 and their correlation in the endometrial cancer. **Methods:** In 130 cases of endometrial cancer and 40 cases of normal endometrial, the expression of PTEN and MTA1 was examined with immunohistochemistry SP method and their correlation. **Results:** The expression of PTEN and MTA1 in endometrial cancer was higher than that in normal endometrial. ($P < 0.01$). PTEN expression levels in endometrial cancer were inversely correlated with MTA1 protein. ($r = -0.35, P < 0.05$). **Conclusion:** Expression of PTEN expression and MTA1 is inversely correlated with the development and progression of endometrial cancer.

Key words: Endometrial cancer; PTEN; MTA1; Immunohistochemistry

Chinese Library Classification: R737.33 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2011)19-3700-03

前言

近年来子宫内膜癌呈上升趋势且趋于年轻化,其发生、发展是一个多因素参与、多基因改变的复杂过程,其中抑癌基因失活、癌基因异常激活以及肿瘤转移相关基因的激活和肿瘤转移抑制相关基因的失活等起着重要作用,这也是以后肿瘤治疗的一个新的发展方向^[1]。人第 10 号染色体缺失的磷酸酶及张力蛋白同源的基因 (phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten, PTEN) 是第一个被发现具有磷酸酶活性的抑癌基因,也被称为子宫内膜癌的看家基因^[2]。转移相关基因 1 (metastasis-associated gene 1, MTA1) 是近年来发现的与肿瘤转移相关的新基因。本研究采用免疫组化检测 PTEN 基因及 MTA1 基因在子宫内膜癌及正常子宫内膜组织中的表达,并进一步分析其相关性,为子宫内膜癌的临床诊断及评估预后提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 研究对象

采集 2007 年 1 月 - 2011 年 1 月湖南省肿瘤医院病理科存档子宫内膜癌病理蜡块标本 130 例和 49 例正常子宫内膜组织

标本。子宫内膜癌患者年龄 32-69(中位患者年龄 51)岁。病例收集的原则:①所选病例临床资料齐全;②所选病例术前未经任何治疗;③所有标本均经两位病理专家盲法复核确认,证实为子宫内膜癌。

1.2 试剂及实验方法

即用鼠抗人 PTEN 单克隆抗体,通用型 SP 试剂盒、浓缩型 DAB 试剂盒,均由北京中衫金桥生物技术有限公司生产;羊抗人 MTA1 多克隆抗体(购自美国 Santa Cruz 公司)。所有组织标本蜡块使用组织切片机做 4μm 厚度连续切片,按试剂盒说明书操作经常规脱蜡水化,经微波抗原修复处理后,加一抗 MTA1(稀释浓度 1:100)、一抗 PTEN,37℃ 孵育 30min,湿盒中 4℃ 过夜,加相应二抗试剂,经 DAB 染色,苏木素复染,中性树胶封片,光镜下观察。用已知阳性表达的癌组织做阳性对照,用磷酸盐缓冲液(PBS)代替一抗作为阴性对照,详细操作^[4]。

1.3 结果判定

MTA1 及 PTEN 蛋白的细胞核/细胞浆染色强度参照 Salvesen^[5]等评分标准,染色与背景相似者或不着色,组织中的上皮细胞或肿瘤细胞阳性染色细胞数/阳性细胞数 $< 10\%$ 为 0 分;着色浅,略高于背景者,组织中的上皮细胞或肿瘤细胞阳性染色细胞数/阳性细胞数占 $10\% \sim 40\%$ 为 1 分;棕黄色染色明显高于背景者,组织中的上皮细胞或肿瘤细胞阳性染色细胞数/阳性细胞数占 $41\% \sim 70\%$ 为 2 分;强染着色呈黄褐色,组织中的上皮细胞或肿瘤细胞阳性染色细胞数/阳性细胞数占 70% 为 3

作者简介 桂玲(1973-),女,本科,副主任医师,研究方向:妇科肿瘤的防治。电话 0731-89762091 Email:guilinghn2011@126.com
(收稿日期 2011-04-20 接受日期 2011-05-17)

分。对每一个组织点来说,以不同拷贝的阳性细胞数评分与染色程度的乘积之平均值为最终评分,最终评分范围为 0-12 分。评分 0 分为阴性 (-) >0~<4 为弱表达 (+) ≥ 4~<8 为中等表达 (++) ≥ 8~≤ 12 定义为强表达(+++)。(++)与(+++)定义为过表达。

1.4 统计学处理

所有统计资料都采用 SPSS17.0 软件进行统计分析。各组间相关因素的差异性比较采用 χ^2 检验,MTA1 及 PTEN 在子宫内膜癌中的相关性判断应用非参数统计中 Spearman 等级相关进行分析。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PTEN、MTA1 在子宫内膜癌组织和子宫内膜组织中的表达
PTEN 蛋白阳性表达为棕黄色颗粒状,定位于细胞浆,也可见于胞膜和(或)核膜。在 40 例正常子宫内膜组织中为 100%阳性表达,在 130 例子官内膜癌组织中阳性表达率为 36.20% (47/130) ,MTA1 蛋白主要在细胞核中表达,呈棕黄色颗粒状,其在子宫内膜癌组织中阳性表达率为 80.8%(78/130),明显高于在正常子宫内膜组织中的表达 (30% ,12/40)。正常组与内膜癌组之间 PTEN 蛋白及 MTA1 蛋白的表达有显著性差异 (表 1、图 1)。

表 1 子宫内膜癌与正常子宫内膜组织中 PTEN 和 MTA1 的表达

Table 1 The expression of PTEN and MTA1 in endometrial cancer and normal endometrial

Group	n	The expression of PTEN					The expression of MTA1				
		-	+	++	+++	positive rate	-	+	++	+++	positive rate
Normal endometrial	40	0	6	10	24	100%	28	12	0	0	30.0%
Endometrial cancer	130	83	35	12	0	36.20%	25	22	48	35	80.8%

* P<0.05 ** P<0.01

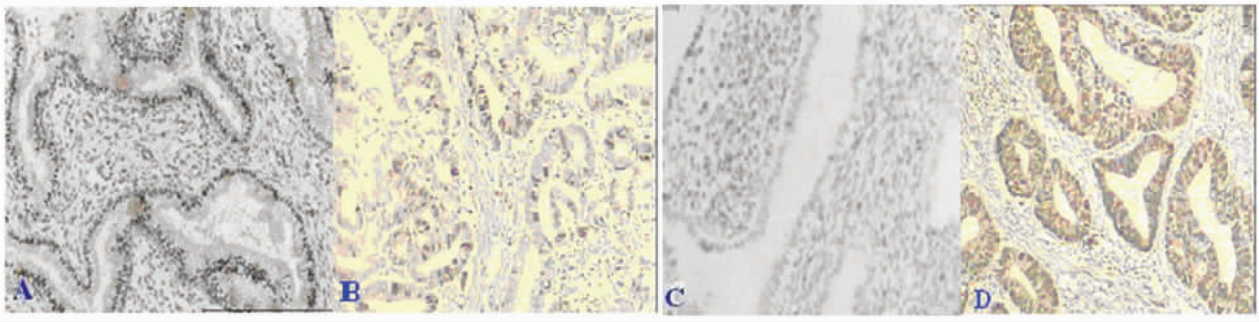


图 1 正常子宫内膜及子宫内膜癌中 MAT1 及 PTEN 蛋白的阳性表达情况(400 X)

Fig. 1 The expression of PTEN and MTA1 in endometrial cancer and normal endometrial(400 X)

A 正常子宫内膜中 MAT1 蛋白的阳性表达 B 子宫内膜癌中 MAT1 蛋白的阳性表达 C 正常子宫内膜中 PTEN 蛋白的阳性表达; D 子宫内膜癌中 PTEN 蛋白的阳性表达

2.2 PTEN 与 MTA1 在子宫内膜癌组织中表达的相关性分析
83 例过表达 MTA1 蛋白的子宫内膜癌组织中有 12 例同

时过表达 PTEN 蛋白。相关性显示 PTEN 蛋白与 MTA1 蛋白的表达呈负相关($r=-0.35$, $P=0.025$)(表 2)。

表 2 PTEN 蛋白与 MTA1 蛋白表达的相关性分析

Table 2 The analysis of correlation in expression of PTEN protein and MTA1 protein

		MTA1		r	P
		+	-		
PTEN	+	12	71	-0.35	0.025*
	-	20	26		

*p<0.05

3 讨论

MTA 家族是新近发现的肿瘤转移相关基因家族,其重要成员之一 MTA1 是 Toh^[6]等在 Pencil 的研究基础上利用 Southern 印记杂交技术在人乳腺癌株上找到的与人类同源物。该基因位于人染色体 14q32.3 ,全长 2.2 kb ,其 cDNA 全长 2756 bp ,

包含一个独立阅读开放框 ,起始密码位于第 97~99 核苷酸 ,终止密码位于第 2206~2208 核苷酸。已有的研究证实 MTA1 蛋白是一种细胞核内的调节蛋白 ,它是组蛋白脱乙酰基酶的一个组成部分 ,通过对靶基因的去乙酰作用 ,从而间接地调控细胞的生长 ,使一些癌细胞向更具有侵袭性表型转化 ,尤其是与上皮源性恶性肿瘤的侵袭转移密切相关^[7]。

LiW 等研究发现 MTA1 在正常睾丸组织中高表达, 在其他正常组织中如脑、心脏、肺、肝脏和肾脏中 MTA1 不表达或弱表达, 说明 MTA1 基因参与了正常细胞增殖过程^[8]。Hofer 用免疫组化法检测了 3219 例(正常、良性、恶性肿瘤)共 138 种肿瘤类型的微阵列中 MTA1 的表达后发现, 良性、恶性肿瘤中均有 MTA1 蛋白的表达, 其表达与组织浸润有关。淋巴瘤中 MTA1 表达最高, 不同类型的甲状腺癌及乳腺癌也高表达 MTA1, 不同类型的肾癌中 MTA1 低表达, 而软组织肿瘤如脂肪瘤、平滑肌瘤、平滑肌肉瘤、血管瘤、神经纤维瘤中未见 MTA1 表达。正常对照组织中未见 MTA1 的表达或弱表达^[9]。MTA1 蛋白表达在多种人类恶性肿瘤如乳腺癌、食管癌、胃肠癌、肺癌等均有不同程度的表达上调, 且与肿瘤的发生发展尤其是侵袭转移密切相关, 提示 MTA1 在正常细胞中可能具有一定的生理功能, 但在某些肿瘤中, 其表达量出现异常, 最终导致了肿瘤的侵袭、转移^[10]。

PTEN 是一个具有磷酸酶活性的抑癌基因, 定位于染色体 10q23.3, 有 9 个外显子和 8 个内含子, 是迄今发现的第一个具有双重特异性磷酸酶活性的抑癌基因, 可以通过脂质磷酸酶活性和蛋白磷酸酶活性两条途径发挥对细胞周期的调控作用。当 PTEN 基因突变、杂合性丢失(LOH)、过甲基化、微卫星不稳定或转录修饰等遗传学改变, 最终导致基因表达“沉默”^[11]。PTEN 的缺失使其对细胞失去诱导细胞凋亡、调节细胞周期等功能, 细胞可出现无限制生长、迁移能力加强、细胞间黏附能力减弱, 导致肿瘤发生, 且易发生浸润和转移, 影响预后^[12]。

本实验应用免疫组化 SP 法检测 MTA1 蛋白在子宫内膜癌中的表达, 结果显示: 在正常子宫内膜组中 MTA1 蛋白定位于细胞核, 呈棕黄色颗粒状。子宫内膜癌组中 MTA1 蛋白出现了细胞核/细胞浆/细胞膜的多种形式的定位模式, 相当比例的是细胞浆定位。子宫内膜癌组中 MTA1 蛋白的表达阳性率为 80.8%, 与子宫内膜组 30.0% 比较, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。说明子宫内膜癌中 MTA1 蛋白的表达明显高于正常子宫内膜, 与 Balasenthil 等^[13]用免疫组化检测 70 例子宫内膜癌标本有 53 例(75.7%) MTA1 蛋白的表达增强一致, 提示 MTA1 蛋白可能参与了子宫癌的发生、发展过程。

本研究表明, PTEN 蛋白在正常子宫内膜组与子宫内膜癌组中的阳性表达率分别为 100% 及 36.20%, 差异有统计学意义($P < 0.05$) 与国内佟晓红等^[14]报道一致。提示 PTEN 蛋白表达可能是正常子宫内膜生长的必要因素之一, 子宫内膜癌中抑癌基因 PTEN 蛋白表达下调或缺失可能通过降低细胞黏附和凋亡、提高细胞运动性和增殖、抑制细胞凋亡、促进新生血管形成而参与子宫内膜癌的演进过程, 表达下调的 PTEN 蛋白可作为反应子宫内膜癌病理生物学行为及预后的有效客观指标之一。我们的研究还发现 PTEN 与 MTA1 在子宫内膜癌组织中的表达呈明显的负相关, 提示二者在子宫内膜癌侵袭转移的过程中发挥着正负拮抗作用, 但 MTA1 与 PTEN 相关性是否必然, 以及它们之间在作用机制上哪个起决定性的作用仍需下一步研究。综上所述, PTEN、MTA1 异常表达在子宫内膜癌发生、发展中起重要作用。PTEN 蛋白表达可作为子宫内膜癌早期的标记物。同时检测子宫内膜癌中 PTEN 及 MTA1 蛋白的表达, 有助于综合评估子宫内膜癌的生物行为, 对子宫内膜癌的诊断、治疗及预后判断有重要意义可作为子宫内膜癌预后的生物学检测指标。

参考文献(References)

- [1] 周宏灏, 刘洁. 抗肿瘤药物的基因导向性个体化治疗[J]. 肿瘤药学, 2011, 1(1): 6-11
Zhou Hong-hao, Liu Jie. Gene targeting tailored therapy for the anti-tumor drugs[J]. Anti-tumor Pharmacy, 2011, 1(1): 6-11
- [2] 孙燕. 肿瘤治疗的新里程碑 - 靶向药物治疗[J]. 肿瘤药学, 2011, 1(1): 1-5
Sun Yan. New Milestone in the development of Clinical Oncology-Molecular Targeted Therapy[J]. Anti-tumor Pharmacy, 2011, 1(1): 1-5
- [3] 楼海亚, 林开清, 叶大风, 等. PTEN 表达能否作为评估子宫内膜样腺癌术前高危因素指标的探讨[J]. 癌症, 2005, 24(6): 748-750
Lou Hai-Ya, Lin kai-Qing, Ye Da-Feng, et al. Possibility of PTEN Expression on Predicting Pathologic Risk Factors of Endometrioid Adenocarcinoma before Operation[J]. Chinese Journal of Cancer, 2005, 24(6): 748-750
- [4] Xue Song, Zhong Mei-zuo, Liu Wei, et al. The experimental study for HFD's mechanism to inhibit Lewis lung cancer in mice [J]. Anti-tumor Pharmacy, 2011, 1(1): 36-39
- [5] Salvesen HB, Stefansson I, Kalvenes MB, et al. Loss of PTEN expression is associated with metastatic disease in patients with endometrial carcinoma[J]. Cancer, 2002, 94(8): 2185-2191
- [6] Toh Y, Pencil SD, Nicolson GL. A novel candidate metastasis-associated gene, mta1, differentially expressed in highly metastatic mammary adenocarcinoma cell lines. cDNA cloning, expression, and protein analyses[J]. Biochem, 1994, 269(37): 22 958-22 963
- [7] Nicolson G L, Naw aA, Toh Y, et al. Tumor metastasis associated human MTA1 gene and its MTA1 protein product role in epithelial cancer cell invasion, proliferation and nuclear regulation [J]. Clin Exp Metastasis, 2003, 20(1): 19-24
- [8] Li W, Liu X P, Xu R J, et al. Immunolocalization assessment of metastasis-associated protein 1 in human and mouse mature testes and its association with spermatogenesis [J]. Asian J Androl, 2007, 9(3): 345-352
- [9] Hofer MD, Tapia Coya, Browne TJ, et al. Comprehensive analysis of the expression of the metastasis-associated gene 1 in human neoplastic tissue[J]. Arch pathol Lab Med. 2006; 130: 989-996
- [10] Nicolson G L, Nawa A, Toh Y, et al. Tumor metastasis-associated human MTA1 gene and its MTA1 protein product: role in epithelial cancer cell invasion, proliferation and nuclear regulation [J]. Clin Exp Metastasis, 2003, 20(1): 19-24
- [11] Yang L, Kuang LG, Zheng HC, et al. PTEN encoding product: a marker for tumorigenesis and progression of gastric carcinoma [J]. World J Gastroenterol, 2003, 9(1): 35-39
- [12] Salvesen H B, Stefansson I, Kalvenes MB, et al. Loss of PTEN expression is associated with metastatic disease in patients with endometrial carcinoma [J]. Cancer, 2002, 94(8): 2185-2191
- [13] Balasenthil S, Broaddus RR, Kumar R. Expression of metastasis-associated protein 1 (MTA1) in benign endometrium and endometrial adenocarcinomas[J]. Hum Pathol, 2006, 37: 656-661
- [14] 佟晓红, 闫志红, 王瑛坚. 子宫内膜癌组织中 PTEN 及 PI3K 的表达及临床意义[J]. 中国妇幼保健, 2011, 26(1): 740-742
Tong Xiao-Hong; Yan Zhi-Hong; Wang Ying-Jian et al. Expressions of PTEN and PI3K in endometrial carcinoma tissues and their clinical significances [J]. Maternal and Child Health Care of China, 2011, 26(1): 740-742