

· 研究原著 ·

文章编号 1000-2790(2007)10-0910-03

卵巢上皮性肿瘤组织中 PI3K 和 p-AKT 蛋白的表达

李巧云 闻立红 颜秋梅 (郑州大学第五附属医院妇产科 河南 郑州 450052)

Expressions of PI3K and p-AKT proteins in epithelial ovarian cancers

LI Qiao-Yun, WEN Li-Hong, YAN Qiu-Mei

Department of Obstetrics and Gynecology, Fifth Affiliated Hospital, Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China

【Abstract】 AIM: To investigate the expressions of phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) and phosphorylated-AKT (p-AKT) proteins in epithelial ovarian cancers and their correlations. **METHODS:** Expressions of PI3K and p-AKT in 20 normal ovarian tissues, 20 benign tumors and 60 ovarian epithelial cancers were detected by immunohistochemical method. **RESULTS:** The positive rates of PI3K in normal ovarian tissues (5%) and benign tumor tissues (20%) were significantly lower than that in epithelial ovarian cancers (58.3%, $P < 0.01$). The positive rates of p-AKT in normal ovarian tissues (10%) and benign tumor tissues (20%) were significantly lower than that in ovarian epithelial cancers (53.3%, $P < 0.01$). The expressions of PI3K and p-AKT proteins were correlated to clinical stages, differentiation degree, lymph node metastasis and distant metastasis ($P < 0.05$), but not to age, histological type and ascites ($P > 0.05$). In ovarian cancers, a positive correlation was observed between the expressions of PI3K and p-AKT ($r_s = 0.501$, $P < 0.001$). **CONCLUSION:** AKT is an important target gene of PI3K. The abnormality of PI3K/AKT pathway is associated with the development of epithelial ovarian cancer.

【Keywords】 ovarian neoplasms; 1-phosphatidylinositol 3-kinase; AKT

【摘要】目的:探讨3-羧基磷脂酰肌醇激酶(PI3K)和磷酸化蛋白激酶B(p-AKT)在上皮性卵巢肿瘤组织中的表达、相互关系及其意义。方法:应用免疫组化方法检测20例正常卵巢、20例卵巢良性上皮肿瘤、60例卵巢癌组织中PI3K和p-AKT蛋白的表达。结果:PI3K在卵巢癌组织中阳性表达率为58.3%,高于正常卵巢和良性上皮肿瘤组织的5%,20%($P < 0.01$)。p-AKT在卵巢癌组织中阳性表达率为53.3%,高于正常卵巢和良性上皮肿瘤组织的10%,20%($P < 0.01$)。PI3K和p-AKT蛋白表达与卵巢癌临床分期、病理分级、有无淋巴结转移和远处转移有关(P 均 < 0.05),而与年龄、病理类型、有

无腹水无关(P 均 > 0.05)。卵巢癌组织中PI3K和p-AKT蛋白间的表达呈正相关($r_s = 0.501$, $P < 0.001$)。结论:AKT是PI3K的一个重要靶基因,PI3K/AKT信号传导通路异常活化与卵巢癌的发生、发展有关。

【关键词】 卵巢肿瘤 1-磷脂酰肌醇 3-激酶 ;AKT

【中图分类号】 R737.31 **【文献标识码】** A

0 引言

PI3K/AKT信号传导通路的异常活化可以使肿瘤细胞逃避凋亡,异常增殖分化,促进肿瘤血管新生和肿瘤发生。已经发现在卵巢癌细胞中PI3K催化亚单位(P110)的扩增和AKT的变异。AKT的上游调节基因是PI3K,一旦PI3K激活AKT,AKT可磷酸化一些和细胞凋亡直接或间接相关的底物蛋白,促进卵巢癌的发生。化疗药物可以通过PI3K/AKT途径使DNA修复及细胞产生凋亡。人们一直希望通过卵巢癌发生、发展分子机制的研究寻找新的治疗靶基因,为此我们应用免疫组化方法探讨PI3K/AKT通路中PI3K和磷酸化AKT(p-AKT)在卵巢癌组织中的表达及相互关系,为进一步加深对卵巢癌发病机制的理解,并为卵巢癌的治疗提供新思路。

1 材料和方法

1.1 材料 2000-01/2007-01手术切除和病理检查确诊的上皮性卵巢癌60例,其中浆液性囊腺癌37例,黏液性囊腺癌23例,年龄16~78(中位47)岁;正常卵巢组织20例,来源于同期因子宫肌瘤手术的标本;卵巢良性上皮性肿瘤组织20例,其中浆液性囊腺瘤12例,黏液性囊腺瘤8例。上皮性卵巢癌按组织学分级分为:高分化(G_1)15例,中分化(G_2)22例,低分化(G_3)23例,按FIGO(1988年)的分类标准,I~II期39例,III~IV期21例。有淋巴结转移者36例,无淋巴结转移者24例。所有患者均为初发,术前均未接受过放化疗。兔抗人PI3K多克隆抗体(工作浓度为1:100),购自北京中杉金桥生物技术有限公司。兔抗人p-AKT多克隆抗体(工作浓度为1:50),购自美国CST公司。

1.2 方法 免疫组化SP法。每批染色均设阴性和阳性对照。阴性对照采用磷酸盐缓冲液(PBS)代替

收稿日期 2007-03-05; 接受日期 2007-04-12

作者简介 李巧云,本科,副主任医师。Tel:(0371)66916854 Email:

919yanqm@163.com

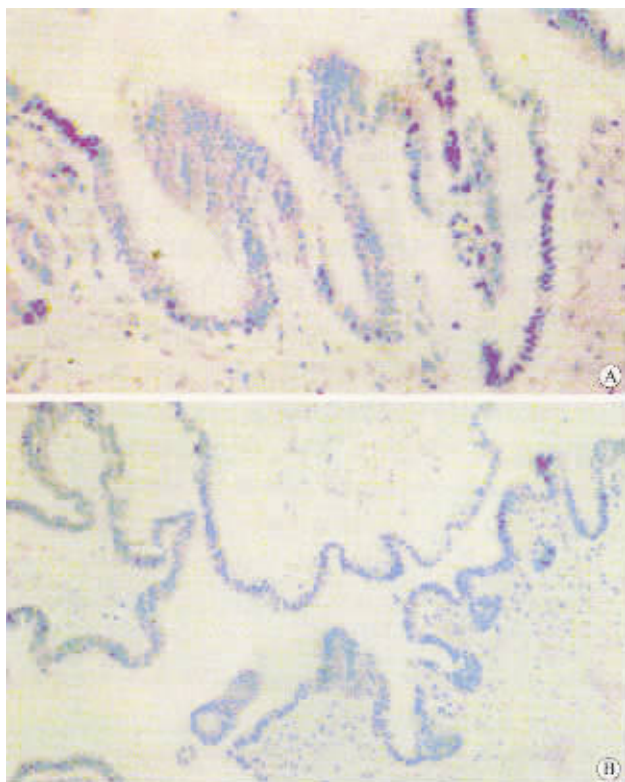
一抗 阳性对照取 PI3K 和 p-AKT 表达阳性的乳腺癌组织的石蜡切片. 光学显微镜下随机选取 5 个视野, 每个视野记数 100 个细胞, 计算阳性细胞数占总细胞数的百分比, 取 5 个视野的算术平均值. ① 根据显色细胞的比例计分 0 分(显色癌细胞为 0%)、1 分(显色细胞 < 10%)、2 分(显色细胞 10% ~ 50%)、3 分(显色细胞 51% ~ 80%)、4 分(显色细胞 > 80%). ② 根据细胞染色强度计分 0 分(癌细胞无显色)、1 分(浅黄色)、2 分(棕黄色)、3 分(黄褐色). 积分 = 染色强度 × 阳性细胞数, 积分范围 0 ~ 12 分, ≥ 4 分定义为阳性表达.

统计学处理: 采用 SPSS 10.0 统计软件进行统计学分析. 采用统计学方法为 χ^2 检验和 Spearman 等级相关.

2 结果

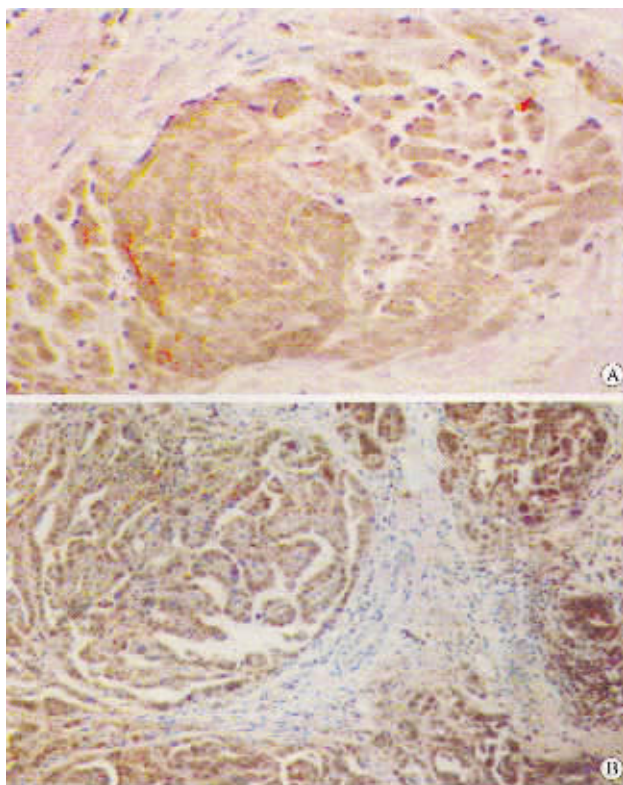
2.1 PI3K 和 p-AKT 蛋白在卵巢组织中的表达

PI3K 和 p-AKT 蛋白在正常组和良性组的阳性表达率明显低于卵巢癌组 ($P < 0.01$). PI3K 的阳性表达为黄棕色或黄褐色均匀颗粒状, 以胞质为主要部分细胞核着色. p-AKT 的阳性表达为黄棕色或黄褐色均匀颗粒状, 细胞质着色(图 1 ~ 3 表 1).



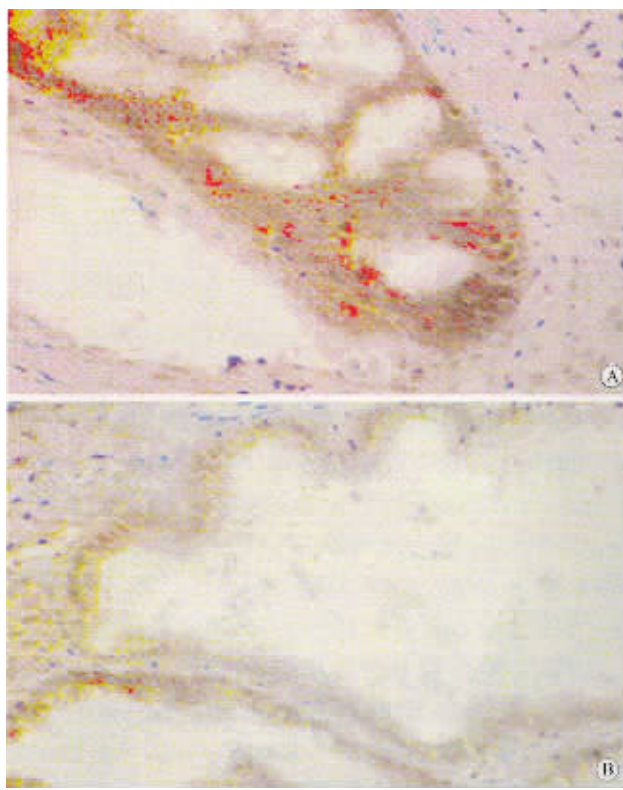
A : PI3K B : p-AKT.

图 1 PI3K 和 p-AKT 在卵巢良性上皮性肿瘤中的表达 (SP × 100)



A : PI3K B : p-AKT.

图 2 PI3K 和 p-AKT 在卵巢浆液性囊腺癌中的表达 (SP × 100)



A : PI3K B : p-AKT.

图 3 PI3K 和 p-AKT 在卵巢粘液性囊腺癌中的表达 (SP × 100)

表1 卵巢组织中 PI3K 和 p-AKT 蛋白表达的比较 [n(%)]

组别	n	PI3K 蛋白阳性表达	p-AKT 蛋白阳性表达
正常	20	1(5.0) ^b	2(10.0) ^b
良性	20	4(20.0) ^b	4(20.0) ^b
卵巢癌	60	35(58.3)	32(53.3)

^bP < 0.01 vs 卵巢癌.

2.2 PI3K 和 p-AKT 表达与卵巢癌临床病理的关系

PI3K 和 p-AKT 蛋白表达与卵巢癌临床分期、病理分级、有无淋巴结转移和远处转移有关($P < 0.05$), 而与年龄、病理类型和有无腹水无关($P > 0.05$,表 2) ,而且两者相关($r_s = 0.501$, $P < 0.001$) .

表2 PI3K 和 p-AKT 蛋白的表达与卵巢癌临床病理的关系 [n(%)]

临床病理	n	PI3K 蛋白	p-AKT 蛋白
年龄(岁)			
<50	38	20(52.6)	18(47.4)
≥50	22	12(54.5)	10(45.5)
临床分期			
I ~ II 期	39	14(35.9)	12(30.8)
III ~ IV 期	21	18(85.7) ^a	17(81.0) ^b
病理类型			
浆液性	37	17(45.9)	21(56.8)
黏液性	23	13(56.5)	14(60.9)
病理分级			
G ₁ ~ G ₂	37	14(37.8)	12(32.4)
G ₃	23	18(78.3) ^b	17(73.9) ^b
腹水			
有	47	29(80.6)	27(57.4)
无	13	7(53.8)	6(46.2)
淋巴结转移			
阳性	36	24(66.7)	23(63.9)
阴性	24	7(29.2) ^b	6(25.0) ^a
远处转移			
阳性	41	28(68.3)	26(63.4)
阴性	39	11(28.2) ^b	9(23.1) ^b

^aP < 0.05 , ^bP < 0.01.

3 讨论

PI3K/AKT 信号传导通路参与多种肿瘤的发生发展^[1]. PI3K 是异二聚体,由催化亚基(P110)和调节亚基(P85)组成^[2]. AKT 是位于 PI3K 下游的一个重要激酶,二者均是促进细胞生存和维持细胞正常功能关键的信息分子,并且构成细胞对外应激反应过程中促进细胞生长、抑制细胞凋亡和维持细胞重要功能的信号传递链.有研究表明, P110 α 干扰 RNA 可以

显著减少卵巢癌细胞的迁移、侵袭和增殖. PI3KCA 在约 80% 的早期卵巢癌细胞和一些上皮性卵巢癌中表达增高. Levine 等^[3]在 198 例高分期卵巢上皮癌组织中对编码 PI3KCA 高度保守区域进行基因测序,发现 PI3KCA 在卵巢癌的发生中起重要作用. PI3K 信号通路通过 AKT 和其他效应器起作用,参与了多种细胞的发生发展进程,包括细胞周期调整、细胞生存、细胞黏附和运动、血管发生、葡萄糖代谢的稳定等. AKT 由氨基端的 PH 结构域、中间的激酶活性区及羧基端的尾部三部分构成.目前已发现至少存在 3 种 PKB 家族成员: PKB α / β / γ (AKT-1/2/3). Thr308 和 Ser473 两个位点同时磷酸化是 AKT 活化所必需的.许多刺激因子如生长因子、白介素等均可激活 AKT. 卵巢癌组织中常有 PKB β 基因扩增和过度表达以及 PKB β 激酶活性的增高,且与卵巢癌的恶性生物学行为密切相关.有研究证实 PI3K 和 AKT2 的频繁激活和(或)过度表达在卵巢癌中普遍存在^[4],导致细胞抵抗死亡或死亡延迟^[5]. AKT 活化促使肿瘤细胞对化疗药物和放射治疗产生耐受^[6]. 这表明 AKT 的活化可以抑制细胞凋亡,进一步说明 p-AKT 参与卵巢癌的发展.因此 p-AKT 可能和卵巢癌患者的预后有关,并可能为卵巢癌提供新的治疗靶点.

我们发现 PI3K 和 p-AKT 蛋白在正常卵巢组织中的阳性表达率显著低于在卵巢癌中的表达,临床期别越晚、病理分级越高,蛋白阳性表达率越高.两者的表达还与淋巴结转移、远处转移有关,而与患者的年龄、病理类型、有无腹水无关,提示 PI3K 和 p-AKT 与卵巢癌细胞的增生、转移、浸润及预后有关.其机制可能与 AKT 通过激活其底物如增加细胞周期素 D 转录,还可以通过磷酸化 P21 使细胞周期加速,促进肿瘤发展有关.总之,这些研究提示,抑制 PI3K/AKT 信号通路可能对癌症患者具有治疗价值.

【参考文献】

- [1] 郭瑞霞,魏丽惠. 磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B 信号传导通路 与妇科恶性肿瘤的研究进展[J]. 中华妇产科杂志, 2005, 40 : 358 - 360.
- [2] Gao J, Flynn DC, Bellone S, et al. G1 cell cycle progression and the expression of G1 cyclins are regulated by PI3K/AKT/mTOR/p70S6K1 signaling in human ovarian cancer cells[J]. Am J Physiol Cell Physiol 2004 287 281 - 291.
- [3] Levine D, Bogomolny F, Yee C, et al. Frequent mutation of gene PI3KCA in ovarian and breast cancers[J]. Clin Cancer Res, 2005, 11 2875 - 2878.
- [4] Cheng J, Chou C, Kuo M, et al. Radiation-enhanced hepatocellular carcinoma cell invasion with MMP-9 expression through PI3K/Akt/NF-kappaB signal transduction pathway[J]. Oncogene, 2006, 25 : 7009 - 7018.
- [5] Fresno A, Casado E, Castro J, et al. PI3K/Akt signaling pathway and cancer[J]. Cancer Treat, 2004 30 193 - 204.
- [6] Vivanco I, Sawyers C. The phosphatidylinositol 3-Kinase AKT pathway in human cancer[J]. Nat Rev Cancer, 2002 2 489 - 501.

编辑 袁天峰