

胃癌 eIF4E 和 cyclin D1 表达及其临床病理意义

胡继军, 方向明, 熊碧芳, 彭波, 田霞, 龙焱华

Expression and Clinical Pathology of eIF4E and cyclin D1 in Gastric Carcinoma

HU Ji-jun, FANG Xiang-ming, XIONG Bi-fang, PENG Bo, TIAN Xia, LONG Yan-hua

Department of Gastroenterology, Wuhan Third Hospital, Wuhan 430060, China

Abstract: Objective To study the expression of eukaryotic initiation factor 4E (eIF4E) and cyclin D1 in gastric carcinoma and its clinical significance, to evaluate the relationship between eIF4E and cyclin D1.

Methods The expressions of eIF4E and cyclin D1 were detected in 91 cases of gastric carcinoma and 30 cases of normal gastric tissue by immunohistochemical method.

Results The expression of eIF4E and cyclin D1 was negative in normal gastric tissue. The positive rate of eIF4E and cyclin D1 was 95.6% (87/91) and 84.6% (77/91) respectively in gastric carcinoma. eIF4E and cyclin D1 expression was closely related to depth of invasion, lymph node metastasis and TNM stage ($P < 0.05$), but not to differentiated degrees, gender and ages. The expression of cyclin D1 was significantly correlated with that of eIF4E in gastric carcinoma tissues ($P < 0.05$).

Conclusion Examination of expression levels the eIF4E and cyclin D1 was of significance in malignant potential of gastric carcinoma.

Key words: Gastric carcinoma; Eukaryotic initiation factor 4E; cyclin D1

摘要:目的 研究真核细胞起始因子 4E(eIF4E)及 cyclin D1 在胃癌中的表达及临床意义,探讨 eIF4E 与 cyclin D1 之间的相关性。**方法** 应用免疫组化的方法检测 91 例胃癌及 30 例正常胃组织中 eIF4E 及 cyclin D1 的表达。**结果** eIF4E、cyclin D1 在正常胃组织中均为阴性表达,在胃癌组织中的阳性表达率分别为 95.6% (87/91) 和 84.6% (77/91)。eIF4E 及 cyclin D1 表达与胃癌浸润深度、淋巴结转移以及临床分期有关 ($P < 0.05$),但与肿瘤组织学分化程度、年龄、性别无关。胃癌组织中 eIF4E 与 cyclin D1 表达密切相关 ($P < 0.05$)。**结论** 检测 eIF4E 和 cyclin D1 表达水平,对于判断胃癌的恶性程度有重要意义。

关键词: 胃癌;真核细胞起始因子 4E;cyclin D1

中图分类号:R735.2 文献标识码:A 文章编号:1000-8578(2006)02-0097-03

0 引言

真核细胞起始因子 4E (eukaryotic initiation factor 4E, eIF4E) 是 mRNA 帽结合磷蛋白,是蛋白合成的限速因子。有研究表明, eIF4E 表达水平在一些人类肿瘤组织和肿瘤细胞株中显著升高^[1]。细胞周期素 D1 (cyclin D1) 可通过与细胞周期素依赖激酶 4 (CDK4) 结合形成复合物加快细胞由 G₁ 期进入 S 期,正调节细胞增殖周期,并在包括胃癌在内的多种肿瘤中表达增高^[2]。本研究采用免疫组织化学方法检测 eIF4E 和 cyclin D1 在胃癌组织中的表达,旨在探讨二者与胃癌临床生物学行为的相关性。

1 资料与方法

1.1 临床资料

收集 2002 年 10 月~2004 年 10 月我院及湖北省肿瘤医院手术切除并经病理学证实的胃癌组织标本 91 例,男 61 例,女 30 例,年龄 32~76 岁,平均年龄 51.2 岁。按胃癌协作组制定的有关胃癌大体分型、组织学分型和临床病理分期等规范进行严格的病理诊断来判断肿瘤转移情况;91 例胃癌石蜡包埋标本中,高分化腺癌 31 例,中分化 18 例,低分化 39 例,未分化 3 例;侵犯浆膜者 58 例,未侵犯浆膜者 33 例;有淋巴结转移 53 例,无淋巴结转移 38 例;TNM 分期: 期 14 例, 期 22 例, 期 45 例, 期 10 例。所有患者术前均未接受化疗和放疗。另选择同期胃镜及活检组织学正常的胃粘膜标本 30 例作为研究对照。所有标本经合理取材后用 10% 中性福尔马林溶液固定,经梯度酒精脱水后浸入二甲苯中,常规石蜡包埋,制成厚 5 μ m 的组织切片。

1.2 试剂和方法

鼠抗人 eIF4E 单克隆抗体、鼠抗人 cyclin D1 单克隆抗体均为 Santa Cruz 公司产品。免疫组化二

收稿日期:2005-03-28;修回日期:2005-05-26
作者单位:430060 武汉市第三医院消化内科
作者简介:胡继军(1968-),男,本科,主管技师,主要从事分子生物学研究

表 1 胃癌组织中 eIF4E 和 cyclin D1 的表达与临床病理特征的关系

临床资料	例数	eIF4E 阳性 (%)	P	cyclin D1 阳性 (%)	P
年龄					
< 60	45	43 (95.6)		38 (84.4)	
≥ 60	46	44 (95.7)	> 0.05	39 (84.8)	> 0.05
性别					
男	61	59 (96.7)		53 (86.9)	
女	30	28 (93.3)	> 0.05	24 (80.0)	> 0.05
肿瘤分化					
高中分化	49	46 (93.9)		41 (83.7)	
低未分化	42	41 (97.6)	> 0.05	36 (85.7)	> 0.05
浸润深度					
未及浆膜	33	29 (87.9)		24 (72.7)	
浆膜及以上	58	58 (100.0)	< 0.05	53 (91.4)	< 0.05
淋巴结转移					
无	38	34 (89.5)		28 (73.7)	
有	53	53 (100.0)	< 0.05	49 (92.5)	< 0.05
TNM 分期					
+	36	32 (88.9)		26 (72.2)	
+	55	55 (100.0)	< 0.05	51 (92.7)	< 0.05

步法试剂盒为 Antibody Diagnostic 公司产品。DAB 显色试剂盒购于北京中山生物技术有限公司。免疫组化染色程序严格按试剂盒说明书操作。eIF4E 抗体及 cyclin D1 抗体的工作浓度均为 1:200, 染色时均需微波修复抗原。实验中采用 PBS 代替一抗作为阴性对照, 光镜下观察阳性反应呈棕黄色。

1.3 结果判定

eIF4E 阳性细胞为细胞浆深染成棕黄色颗粒, cyclin D1 阳性细胞为细胞核深染成棕黄色颗粒; 在此基础上, 参照文献判断标准^[3,4], 以阳性细胞数 < 10% 为阴性表达, 阳性细胞数 ≥ 10% 为阳性表达。

1.4 统计学处理

采用 SPSS11.0 统计软件包进行分析。计数资料用 χ^2 检验和四格表确切概率法以及计数资料的相关性分析。以 $P < 0.05$ 为显著性检验水准。

2 结果

2.1 胃癌组织中 eIF4E 表达

eIF4E 阳性染色主要见于胃癌细胞的胞浆, 棕黄色颗粒弥漫分布整个胞浆或沿核膜周边分布 (见图 1~4)。91 例胃癌组织中, 87 例 eIF4E 表达呈阳性, 阳性表达率为 95.6%; 而 30 例正常胃组织中无 1 例阳性表达; 两者相比差异有显著性 ($P < 0.01$)。eIF4E 阳性表达与患者年龄、性别以及肿瘤分化程度均无明显相关性 ($P > 0.05$), 而与肿瘤浸润深度、淋巴结转移以及 TNM 分期有关 ($P < 0.05$), 见表 1。

2.2 胃癌组织中 cyclin D1 表达

cyclin D1 阳性染色主要见于胃癌细胞的胞核。在检测的 91 例胃癌中 cyclin D1 阳性表达者达 77 例, 阳性表达率为 84.6%; 而 30 例正常胃粘膜组织中均未见阳性表达; 二者差异有显著性 ($P < 0.01$)。cyclin D1 阳性表达与胃癌浸润深度、淋巴结转移以及 TNM 分期有关 ($P < 0.05$), 而与患者年龄、性别以及肿瘤分化程度均无明显相关性 ($P > 0.05$), 见表 1。

2.3 胃癌组织中 eIF4E 与 cyclin D1 表达的关系

对胃癌组织中 eIF4E 与 cyclin D1 表达水平进行相关性分析, eIF4E 阳性表达的 87 例胃癌中, 77 例 cyclin D1 阳性表达; eIF4E 阴性表达的 4 例胃癌中无 1 例阳性表达, 表明 cyclin D1 与 eIF4E 表达呈非常显著正相关 ($P < 0.01$, $r = 0.780$), 见表 2。

表 2 胃癌中 cyclin D1 与 eIF4E 表达的关系

组别	例数	cyclin D1 表达	
		阳性	阴性
eIF4E 表达			
阳性	87	77	10
阴性	4	0	4

3 讨论

eIF4E 基因是近年来发现的又一重要原癌基因, 其编码 25kD 的蛋白 eIF4E, 是 eIF4F 复合体 (eIF4E、eIF4A、eIF4G) 的一部分, 可特异性地与真核细胞 mRNA 的 5' 末端帽结构结合, 参与 mRNA 的翻译, 在帽依赖的翻译起始阶段起限制调控作用^[5]。eIF4E 的过度表达不仅能促进细胞的增殖反

应,而且更能促进细胞的恶性转化^[6]。近年来研究发现,eIF4E 过度表达与恶性肿瘤的发生及发展有关。Norton 等^[1]在人乳腺癌中发现 eIF4E 的过度表达,且不存在于乳房良性组织。Liang 等^[7]报道喉鳞癌中检测到 eIF4E 过度表达,而正常组织无 eIF4E 过度表达。本研究发现,胃癌中有 95.6% 的标本有 eIF4E 的阳性表达,而正常胃组织中无 1 例阳性表达,两者相比差异有显著性 ($P < 0.01$),且 eIF4E 阳性表达率与肿瘤浸润深度、淋巴结转移以及 TNM 分期有关 ($P < 0.05$)。提示 eIF4E 基因表达上调与胃癌的形成密切相关,并随着本病恶化程度的增加而持续增加,其表达水平对评价胃癌的恶性程度有一定价值。这与其他学者在喉癌中研究的结论相似^[3]。

cyclin D1 基因是一种细胞周期相关的原癌基因,为正调控子,位于 11q13 号染色体上,长度约 120kb,含有 5 个外显子,编码由 295 个氨基酸组成的蛋白质 cyclin D1,其分子量为 34 KD。cyclin D1 可与细胞周期素依赖激酶 4 (CDK4) 在 G₁ 期结合形成复合物,再通过 N 末端的 LECXE 基序与视网膜母细胞瘤 (Rb) 编码蛋白 pRb 结合,使 pRb 的 Ser 和 Tyr 残基磷酸化,释放出转录因子 E2F,驱动细胞由 G₁ 期进入 S 期,促进细胞增殖。而当 cyclin D1 表达失控时,则将引起细胞增殖失调,进而导致肿瘤形成^[2]。从本研究结果来看,胃癌中 cyclin D1 阳性表达率为 84.6%,而正常胃组织中均未见阳性表达,同时随着胃癌浸润深度的增加、有淋巴结转移以及 TNM 分期愈晚者 cyclin D1 表达水平明显升高,表明 cyclin D1 可能参与促进胃粘膜细胞恶性转化,其过度表达预示肿瘤有较高的侵袭性、容易发生转移和不良预后。

目前认为,eIF4E 能使一些肿瘤恶性相关基因的表达量发生变化,是肿瘤恶性表型产生的决定子;通过调节一些特异的恶性相关分子(如 cyclin D1、c-

myc、VEGF 等)的翻译表达量,促使细胞跃过正常生长限制而发生癌变^[8]。本研究通过检测 eIF4E 与 cyclin D1 在胃癌中表达,分析它们之间的相关性,结果发现 eIF4E 与 cyclin D1 呈非常显著正相关,提示胃癌中 eIF4E 高表达可能导致 cyclin D1 表达水平增高。由此可见,在胃癌发生发展过程中 eIF4E 不仅对 cyclin D1 表达可能起调控作用,而且它们也是预测胃癌恶性程度的重要生物学指标,有助于指导临床治疗方案的选择。

(本文图见封 3)

参考文献:

- [1] Norton KS, McClusky D, Sen S, et al. L K1B is elevated with eIF4E overexpression in breast cancer[J]. J Surg Res, 2004, 116(1): 98-103.
- [2] Gao P, Zhou GY, Liu Y, et al. Alteration of cyclin D1 in gastric carcinoma and its clinicopathologic significance[J]. World J Gastroenterol, 2004, 10(20): 2936-2939.
- [3] Nathan CA, Sanders K, Abreo FW, et al. Correlation of p53 and the proto-oncogene eIF4E in larynx cancers: prognostic implications[J]. Cancer Res, 2000, 60(13): 3599-3604.
- [4] Lan J, Xiong YY, Lin YX, et al. Helicobacter pylori infection generated gastric cancer through p53-Rb tumor-suppressor system mutation and telomerase reactivation[J]. World J Gastroenterol, 2003, 9(1): 54-58.
- [5] Graff JR, Zimmer SG. Translational control and metastatic progression: enhanced activity of the mRNA cap-binding protein eIF-4E selectively enhances translation of metastasis-related mRNAs[J]. Clin Exp Metastasis, 2003, 20(3): 265-273.
- [6] Rosenwald IB. The role of translation in neoplastic transformation from a pathologist's point of view[J]. Oncogene, 2004, 23(18): 3230-3247.
- [7] Liang Z, Lei T, Lu Ying Z, et al. The expression of proto-oncogene eIF4E in laryngeal squamous cell carcinoma[J]. Laryngoscope, 2003, 113(7): 1238-1243.
- [8] De Benedetti A, Graff JR. eIF-4E expression and its role in malignancies and metastases[J]. Oncogene, 2004, 23(18): 3189-3199.

[编辑: 贺文]

鼻腔鼻窦血管外皮瘤 1 例

(正文见 89 页)

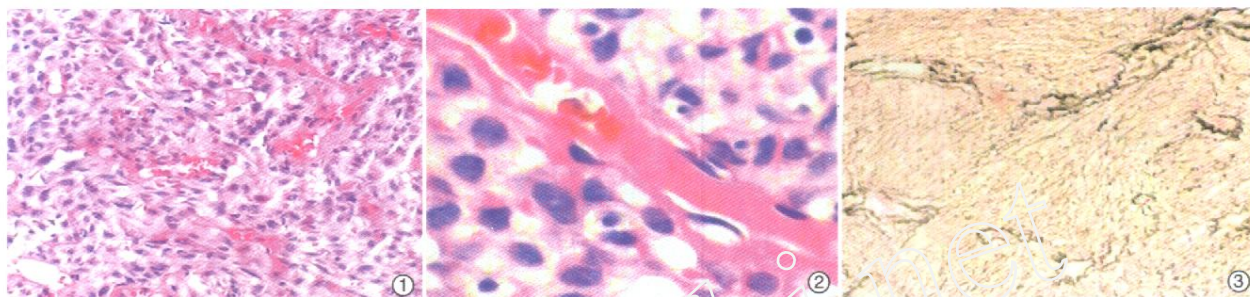


图 1 示瘤细胞在血管周围排列 (HE × 100)

图 2 示薄壁血管和周围瘤细胞核呈椭圆形、梭形 (HE × 400)

图 3 示血管壁及周围网状纤维放射状围绕瘤细胞周围 (网状纤维染色 × 100)

胃癌 eIF4E 和 cyclin D1 表达及其临床病理意义

(正文见 97 页)

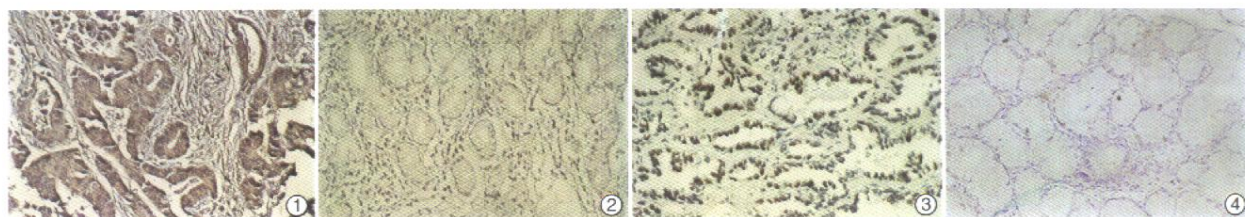


图 1 eIF4E 在胃癌中阳性表达 (免疫组化染色 × 200)

图 2 eIF4E 在正常胃组织中阴性表达 (免疫组化染色 × 200)

图 3 cyclin D1 在胃癌中阳性表达 (免疫组化染色 × 200)

图 4 cyclin D1 在正常胃组织中阴性表达 (免疫组化染色 × 200)

吉西他滨对人非小细胞肺癌 A549 细胞增殖与凋亡的影响

(正文见 100 页)

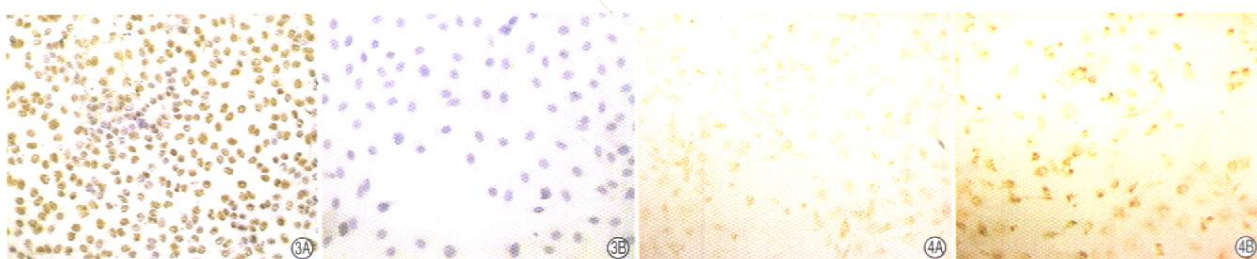


图 3 TUNEL 检测 A 1 μg/ml 处理 72h 组, 细胞凋亡生化改变 (× 200); B 阴性对照组 (× 200)

图 4 bcl-2 的表达 A 1 μg/ml 作用 72h 组, 胞浆中分布颗粒样物质 (× 100); B 对照组细胞 (× 100)