

PTEN、p27^{kip1}、VEGF 在子宫内膜癌中的表达及意义

张和平, 高云荷

The expression and significance of PTEN, p27^{kip1} and VEGF in endometrial carcinoma

ZHANG He-ping, GAO Yun-he

Department of Obstetrics and Gynecology, the Second Hospital of Lanzhou Medical College, Lanzhou 730030, China

Abstract: Objective To study the expression and significance of PTEN, p27^{kip1}, and VEGF in endometrial carcinoma and its relationships. **Methods** Using immunohistochemistry test (sp methods), we examined the expression of PTEN, p27^{kip1} and VEGF in 32 cases of endometrial carcinoma, 13 cases of uterus atypical hyperplasia and 10 cases of normal endometrium. **Results** In endometrial carcinoma tissues, the positive rates of PTEN, p27^{kip1} were significantly lower than that of uterus atypical hyperplasia and normal endometrium tissues ($P < 0.01$). The expression of PTEN correlated with histological grade, muscle invasion and lymph node metastasis ($P < 0.05$), but not with clinical stage ($P > 0.05$). PTEN positive cases were positively correlated with p27^{kip1} ($r = 0.744$, $P < 0.01$), but were negatively correlated with VEGF in endometrial carcinoma ($r = -0.738$, $P < 0.01$). **Conclusion** Reduced or absent PTEN, p27^{kip1} and increased VEGF expression may play an important role in the genesis and development of endometrial carcinoma. The expression of PTEN was strongly associated with the expression of abnormal p27^{kip1} and VEGF. Binding detection of PTEN, p27^{kip1} protein and VEGF have positive effect on early diagnosis of endometrial carcinoma.

Keywords: Suppressor gene PTEN; p27^{kip1} VEGF; Endometrial Carcinoma; Immunohistochemistry

摘要:目的 探讨抑癌基因 PTEN、p27^{kip1}、VEGF 在子宫内膜癌中的表达、意义及三者之间的相关性。方法 采用免疫组化 SP 法检测 32 例子官内膜腺癌, 13 例子官内膜不典型增生和 10 例正常子宫内蜡切片中 PTEN、p27^{kip1} 及 VEGF 的表达。结果 子宫内腺癌组织与子宫内不典型增生、正常子宫内组织比较, PTEN、p27^{kip1} 阳性表达率明显降低, 差异有非常显著性 ($\chi^2 = 11.09$, $\chi^2 = 9.466$, $P < 0.01$), VEGF 表达率明显增加, 差异有非常显著性 ($\chi^2 = 21.253$, $P < 0.01$)。PTEN 表达与肿瘤分化、肌层浸润程度、淋巴结转移有关 ($P < 0.05$), 与临床分期无关 ($P > 0.05$)。在子宫内腺癌组织中, PTEN 与 p27^{kip1} 表达呈正相关 ($r = 0.744$, $P < 0.01$), 与 VEGF 表达呈负相关 ($r = -0.738$, $P < 0.01$)。结论 PTEN、p27^{kip1} 的失表达与 VEGF 的过表达在子宫内腺癌的发生发展中起着一定的作用, PTEN 与 p27^{kip1}、VEGF 的异常表达密切相关, 三者的联合检测有助于子宫内腺癌的早期诊断。

关键词: 抑癌基因 PTEN; p27^{kip1} 基因; VEGF; 子宫内腺癌; 免疫组织化学

中图分类号: R730.23 文献标识码: A 文章编号: 1000-8578(2004)01-0024-03

0 引言

癌基因的激活, 抑癌基因的失活及细胞周期调控的失常与肿瘤的发生密切相关, PTEN 又名 MMAC1、TEP1, 是新近发现的肿瘤抑制基因, 该基因的高度表达使肿瘤细胞生长受到抑制^[1], 且 PTEN 是子宫内腺癌中突变率最高的基因^[2]; p27^{kip1} 主要通过对 CDK-cyclinD、CDK2-cyclinE 的抑制阻滞细胞于 G₁ 期^[3]。肿瘤的生长及转移有赖于

血管的形成, 目前发现血管内皮生长因子 (VEGF) 是诱导肿瘤血管生成作用较强和特异的调节因子^[4]。因此本研究采用免疫组化对子宫内腺癌组织中 PTEN、p27^{kip1} 蛋白及 VEGF 表达进行检测, 旨在探讨 PTEN、p27^{kip1}、VEGF 在子宫内腺癌中的表达及临床意义。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选择兰州医学院第二附属医院 1996 ~ 2002 年手术切除的子宫内腺癌标本 32 份, 选择同期子宫内不典型增生标本 13 份及正常

收稿日期: 2003-07-21; 修回日期: 2003-08-11

作者单位: 730030 兰州医学院第二附属医院妇产科

子宫内膜标本 10 份,子宫内膜癌的细胞分级及分期均按 FIGO (1988) 标准, G₁ 9 例, G₂ 10 例, G₃ 13 例, I 期 11 例, II 期 12 例, III 期 9 例,术前均未行放疗,患者年龄 39 ~ 71 岁,平均 55 岁,所有 HE 切片均经病理专家复检确认。

1.2 试剂 鼠抗人 PTEN、p27^{kip1}、VEGF 单克隆抗体、免疫组化 SP 试剂盒, DAB 显色剂等均为福州迈新生物技术公司产品。

1.3 方法 石蜡包埋组织连续切片厚 5μm, 采用免疫组化 SP 染色, 染色步骤严格按试剂盒要求进行。

1.4 结果判定 (1) PTEN 判断标准: 细胞浆内有橘黄色或棕黄色颗粒者为阳性细胞, 计算 10 个高倍镜(×400)视野下阳性细胞百分数, 百分数 ≤20% 为阴性, >20% 为阳性; (2) p27^{kip1} 定位于细胞核, 阳性物质呈棕黄色或棕褐色颗粒状, 在高倍镜下随机选取 10 个视野, 计数 1000 个肿瘤细胞, 对阳性细胞所占的百分比 (0%=0, <10%=1, 11% ~ 50%=2, 51% ~ 80%=3, >81%=4) 及染色强度 (无色 =0, 淡黄色 =1, 棕黄色 =2, 棕褐色 =3) 进行评分, 以两者乘积 >3 为阳性标准, (3) VEGF 染色以细胞质和

(或) 胞膜中出现棕黄色颗粒为标准, 以阳性细胞数目的多少进行分级 0% ~ 5% (-), 5% ~ 10% (±), 10% ~ 30% (+), 30% ~ 70% (++) , 大于 70% (+++) [5], 见图 1~4。

1.5 统计学处理 采用 χ^2 检验及计数资料的相关分析, 所有数据以 SPSS 8.0 统计软件包进行统计学处理。

2 结果

2.1 PTEN 的表达 10 例正常子宫内膜组织中, 9 例阳性表达, 6 例(++), 2 例(+), 1 例(+++) , 阳性表达率为 90%, 13 例子宫内膜不典型增生组中, 6 例阳性表达, 3 例(++), 2 例(+), 1 例(+++) , 阳性表达率为 46.15% , 32 例子宫内膜腺癌组织中, 9 例阳性表达, 5 例(+), 3 例(+++) , 1 例(++) , 阳性表达率为 28.13% 。从正常子宫内膜 子宫内膜不典型增生 子宫内膜腺癌, PTEN 阳性表达率逐渐下降, 差异有显著性意义 ($\chi^2 = 11.904, P < 0.01$) , 子宫内膜不典型增生与正常子宫内膜相比较, 差异有显著性意义 ($\chi^2 = 4.790, P < 0.05$) , 见表 1。

表 1 PTEN、p27^{kip1}、VEGF 表达与子宫内膜组织学类型关系

类别	n	PTEN 表达		P	p27 ^{kip1} 表达		P	VEGF 表达		P
		阳性	%		阳性	%		阳性	%	
正常子宫内膜	10	9	90.00	0.029 ^a	9	90.00	0.029 ^a	1	10.00	0.028 ^a
子宫内膜不典型增生	13	6	46.15	0.009 ^b	6	46.15	0.009 ^b	6	46.15	0.000 ^b
子宫内膜腺癌	32	9	28.13		11	34.38		28	87.50	

^a 表示子宫内膜不典型增生与正常子宫内膜比较, ^b 表示子宫内膜腺癌与子宫内膜不典型增生及正常子宫内膜组织比较。

2.2 PTEN 表达与子宫内膜腺癌临床病理特征关系 PTEN 阳性表达率在高分化、中分化、低分化腺癌组织中分别为 55.55%、30%、7.69% , 差异有显著性 ($\chi^2 = 6.052, P < 0.05$) , PTEN 阳性表达与肌层浸润程度有关 ($\chi^2 = 5.772, P < 0.05$) , 与淋巴结转移有关 ($\chi^2 = 5.225, P < 0.05$) , 而与临床分期无关 ($\chi^2 = 0.500, P > 0.05$) , 见表 2。

2.3 p27^{kip1} 的表达 在正常子宫内膜、子宫内膜不典型增生及子宫内膜腺癌组织中 p27^{kip1} 蛋白阳性表达率分别为 90%、46.15%、34.38% , 即从正常子宫内膜 子宫内膜不典型增生 子宫内膜腺癌, p27^{kip1} 阳性表达率逐渐下降, 差异有非常显著性 ($\chi^2 = 9.466, P < 0.01$) , 子宫内膜不典型增生与正常子宫内膜组织比较, 差异有显著性 ($\chi^2 = 4.791, P < 0.05$) , 见表 1。

2.4 VEGF 的表达 VEGF 在正常子宫内膜、子宫内膜不典型增生、子宫内膜腺癌组织中阳性表达率分别为 10%、46.15%、87.5% , 即从正常子宫内膜 子宫内膜不典型增生 子宫内膜腺癌, VEGF 阳

表 2 PTEN 蛋白表达与临床病理特征的关系

类别	n	PTEN 蛋白阳性表达率 (%)		P
		-	+ ~ +++	
病理分级				
G ₁	9	44.45	55.55	
G ₂	10	70.00	30.00	
G ₃	13	92.31	7.69	0.049
临床分期				
	11	63.64	36.36	
	12	66.67	33.33	
	9	77.78	22.22	0.779
肌层浸润				
无浸润或 1/2	20	60.00	40.00	
>1/2	12	91.67	8.33	0.016
淋巴结转移				
有	19	89.47	10.53	
无	13	53.85	46.15	0.022

性表达率逐渐增加, 差异有非常显著性 ($\chi^2 = 21.253, P < 0.01$) , 见表 1。

2.5 PTEN 和 p27^{kip1} 表达的关系 在 32 例子宫内膜腺癌组织中, PTEN 和 p27^{kip1} 表达水平之间存在

正相关关系,见表 3。

表 3 PTEN 与 p27^{kip1} 蛋白表达的关系

类别	n	p27 ^{kip1} 表达		
		-	+ ~ ++	+++
PTEN 表达				
-	23	20	2	1
+ ~ ++	6	0	5	1
+++	3	0	1	2
合计	32	20	8	4

$r = 0.744, P < 0.01$

2.6 PTEN 和 VEGF 表达的关系 在 32 例子宫内膜腺癌组织中,PTEN 和 VEGF 表达水平之间存在负相关,见表 4。

表 4 PTEN 与 VEGF 表达的关系

类别	n	VEGF 表达		
		-	+ ~ ++	+++
PTEN 表达				
-	23	1	9	13
+ ~ ++	6	4	2	0
+++	3	3	0	0
合计	32	8	11	13

$r = -0.738, P < 0.01$

3 讨论

基因 PTEN 是 1997 年克隆的第一个编码具有磷酸酶活性产物的肿瘤抑制基因,在许多肿瘤中,这个基因区域有杂合性丢失,在子宫内膜癌中,PTEN 基因是突变率最高的基因,它可使 PIP3 (3,4,5-三磷酸磷脂酰肌醇)去磷酸化,抑制 PIP3 激活的丝苏氨酸激酶 PKB/AKT 活性,影响其下游通路靶包括 G₁ 期 CDK 抑制基因 p27^{kip1}、BAD 等的磷酸化水平从而介导 G₁ 期停顿,影响基因的表达,对细胞生长具有负性调节作用^[6]。此外 PTEN 还有使局部粘附激酶 (FAK) 及 Schc 脱磷酸,影响细胞迁移、浸润、整合素介导的细胞铺展及局部粘附的形成^[7,8]。Jian g 等^[10] 研究发现 PTEN 可通过抑制 AKT 或 PI3K 活性抑制血管的生成。本研究发现 PTEN、p27^{kip1} 在正常子宫内膜及子宫内膜不典型增生组织中的阳性表达率分别为 90%、46.15%,差异有显著性 ($\chi^2 = 4.791, P < 0.05$),提示 PTEN、p27^{kip1} 蛋白表达缺失是子宫内膜腺癌前病变的早期分子事件。两者表达率相同可能是与病例少有关。子宫内膜腺癌与不典型增生及正常内膜组织比较 PTEN、p27^{kip1} 阳性表达率均逐渐下降,说明两者在子宫内膜腺癌的发展中起着一定的作用,PTEN 与子宫内膜腺癌病理参数关系表明肿瘤恶性程度越高,临床预后越差。PTEN 与 p27^{kip1} 表达关

系证明 PTEN 通过 PIP3 途径使细胞周期停止于 G₁-S 期的机制失调进而促进肿瘤的发展^[10],而 VEGF 在三种组织中的表达水平及其与 PTEN 关系表明 PTEN 通过 AKT 或 PI3K 活性抑制血管的生成,从而抑制肿瘤的生长及转移。Mutter 等^[11] 用免疫组化检测 132 例子宫内膜组织包括正常增生期,复合型增长,PTEN 蛋白失表达率分别为 43%,56%,63%,提示 PTEN 可能作为检测子宫内膜癌前病变的一种方法。总之,PTEN 基因突变导致的 PTEN 功能丧失是子宫内膜癌的早期分子事件,由于 PTEN 功能丧失导致 p27^{kip1} 功能下降及 VEGF 表达的上升促进子宫内膜癌的发生发展,因此用免疫组化联合检测 PTEN、p27^{kip1} 蛋白及 VEGF 表达有助于子宫内膜癌及其癌前病变的早期诊断。

(本文图见封 2)

参考文献:

- [1] SteckPA, PershouseMA, JasserSA, et al. Identification of a candidate tumor suppressor gene, MMAC1, at chromosome 10q23.3 that is mutated in multiple advanced cancers [J]. Nat Genet, 1997, 15 (4): 356-373.
- [2] Maehama T, Dixon JE. The tumor suppressor, PTEN/MMAC1, dephosphorylates the lipid second messenger phosphatidylinositol (3,4,5)-trisphosphate [J]. Biochem, 1998, 273 (22): 13375-13378.
- [3] Bullrich F, Maclachlan TK, Nietal S, et al. Chromosomal mapping of members of the cdc2 family of protein kinases, cdk3, cdk6, PI3SRE, and DITALE, and PITALRE, and cdk inhibitor, p27^{kip1}, to regions involved in human cancer [J]. Cancer Res, 1995, 55 (6): 1199.
- [4] Maeda K, Chung YS, Ogawa Y, et al. Prognostic value of vascular endothelial growth factor expression in gastric carcinoma [J]. Cancer, 1996, 77 (5): 858-863.
- [5] 许文涛, 杨文涛. 免疫组织化学反应结果的判断标准 [J]. 中国癌症杂志, 1996, 6 (4): 229.
- [6] Tamura M, Gu J, Matsumoto K, et al. Inhibition of cell migration, spreading, and focal adhesions by tumor suppressor PTEN [J]. Science, 1998, 280 (5369): 1614-1617.
- [7] Gu J, Tamura M, Yamada KM, et al. Tumor suppressor PTEN inhibits integrin- and growth factor-mediated mitogen-activated protein (MAP) kinase signaling pathways [J]. Cell Biol, 1998, 143 (5): 1375-1383.
- [8] Hirai Y, Tanaka N, Furuta R, et al. Somatic mutations of the PTEN/MMAC1 gene associated with frequent chromosomal loss detected using comparative genomic hybridization in endometrial cancer [J]. Gynecol Oncol, 2001, 83 (1): 81-88.
- [9] Jiang BH, Zhen YJ, Hoki M, et al. Phosphatidylinositol 3-kinase signaling mediates angiogenesis and expression of vascular endothelial growth factor in endothelial cells [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2000, 97 (4): 1749-1753.
- [10] Mizumatsu S, Tamai T, Ono Y, et al. Expression of cell cycle regulator p27^{kip1} is correlated with survival of patients with astrocytoma [J]. Clin Cancer Res, 1999, 5 (3): 551-557.
- [11] Mutter JL, Baak JP, Fitzgerald JT, et al. Global expression changes of constitutive and hormonally regulated genes during endometrial neoplastic transformation [J]. Gynecol Oncol, 2001, 83 (2): 177-185.

(安凤校对)

PTEN、p27^{kip1}、VEGF 在子宫内膜癌中的表达及意义

(正文见 24 页)

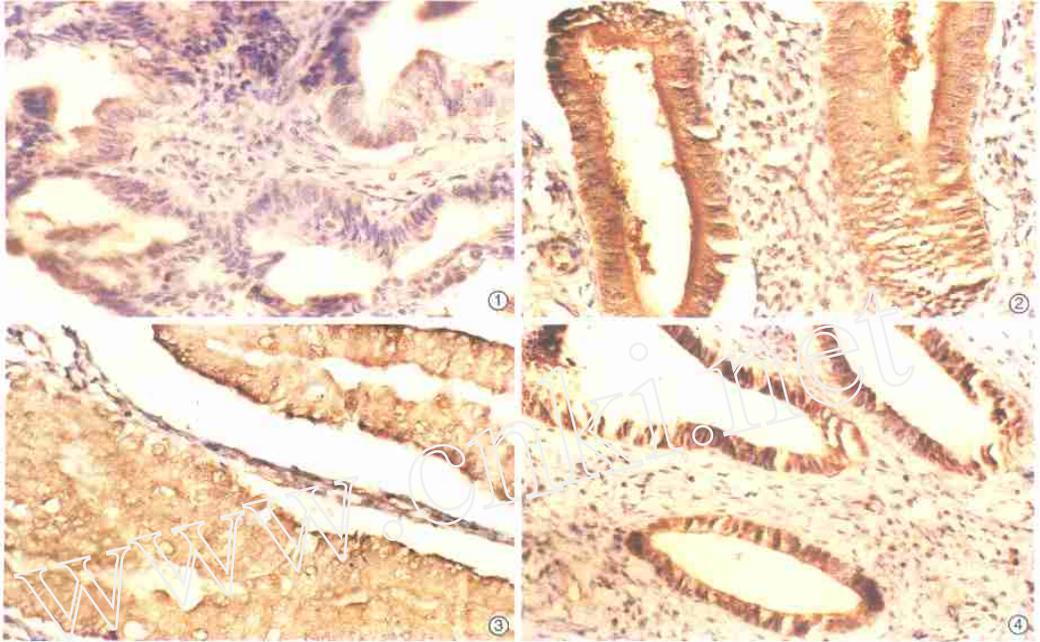


图1 子宫内膜腺癌胞浆中PTEN阴性表达(SP,x400)

图2 增生期子宫内膜胞浆中PTEN阳性表达(SP,x400)

图3 增生期子宫内膜细胞核中p27^{kip1}阳性表达(SP,x400)

图4 子宫内膜腺癌胞浆中VEGF阳性表达(SP,x400)

21例消化系统神经内分泌癌临床病理回顾性分析

(正文见 51 页)

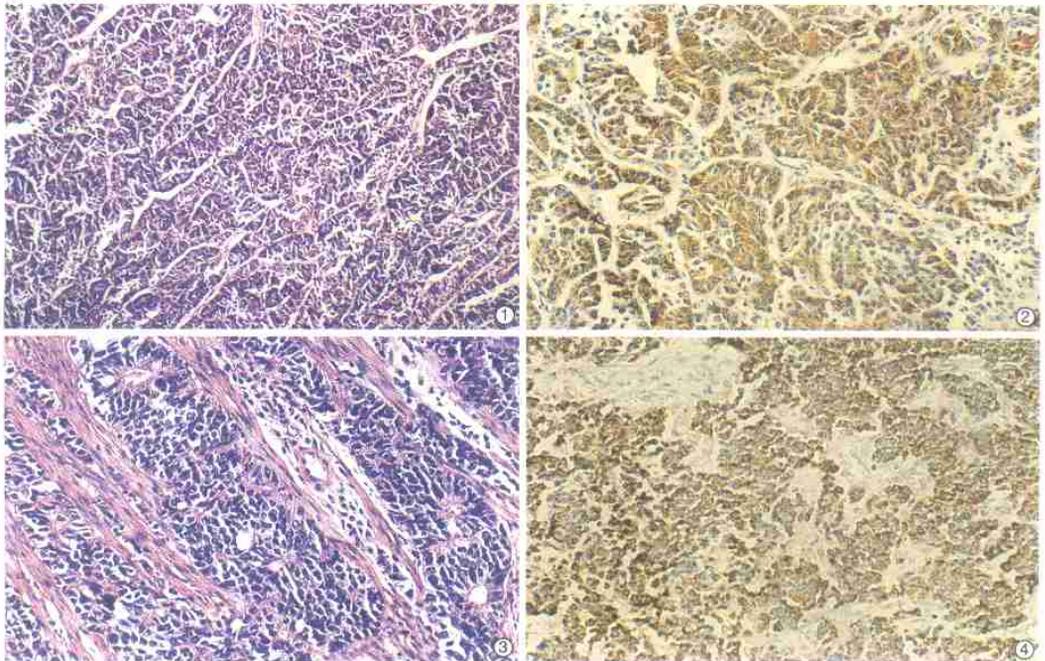


图1 典型类癌, 癌细胞中等大小, 形态一致, 胞浆较丰富, 排列成腺泡状、巢团状结构, 间质有丰富的薄壁血管(HE, × 100)

图2 典型类癌, 肿瘤细胞 Syn 表达阳性(ABC, × 200)

图3 小细胞癌, 癌细胞排列成菊形团样结构(HE, × 400)

图4 小细胞癌, 肿瘤细胞 Syn 表达阳性(ABC, × 400)