

端粒酶 hTERT 在子宫内膜癌中的表达及意义探讨

卫建平¹, 张波², 张小琴¹, 王晨¹

Research on expression of telomerase hTERT in human endometrial carcinoma and its significance

WEI Jian-ping, ZHANG Bo, ZHANG Xiao-qing, et al

Department of Pathology, Affiliated Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China

Abstract: Objective To get insight into the expression of telomerase hTERT in human endometrial carcinoma, and to determine its value in human endometrial carcinoma in clinical diagnosis. **Methods** 33 endometrial carcinoma cases, 36 postmenopausal cases, 36 endometrial hyperplasia cases were analyzed in hTERT and ER, PR alteration in immunohistochemistry. And to compare with accumulation of normal secretory phase endometrium and proliferative phase endometrium. **Results** The comparison showed hTERT positive rate in endometrial carcinoma was significantly higher than that in postmenopausal and endometrial hyperplasia, proliferative phase endometrium, and secretory phase endometrium ($P < 0.05$). There was a positive correlation between the expression of telomerase hTERT and malignant phenotype, clinical stage of endometrial carcinoma, but correlated negatively with the expression of ER, PR and grading of the tumor tissue in endometrial carcinoma. **Conclusion** Our study suggested that hTERT expression plays an important role in the development and progression of endometrial carcinoma, and that combination detection of hTERT and ER, PR might be a new diagnosis and prognostic marker in endometrial carcinoma.

Keywords: telomerase hTERT; endometrial carcinoma; estrogen receptor (ER); progesterone receptor (PR); immunohistochemistry

摘要:目的 探讨端粒酶 hTERT 基因蛋白表达与子宫内膜癌发生发展的关系及对内膜癌诊断、预后的临床意义。方法 采用免疫组化方法对 33 例子宫内膜癌、36 例绝经期子宫内膜及 36 例子宫内膜增生过长标本进行端粒酶 hTERT、雌激素受体 ER 及孕激素受体 PR 检测,同时与正常增殖期、分泌期子宫内膜进行对照。结果 hTERT 在子宫内膜癌中的表达强度明显高于其他内膜病变,有显著性差异 ($P < 0.05$); hTERT 在子宫内膜癌中的表达与肌层浸润及临床分期呈正相关;与病理分级及雌、孕激素受体 ER、PR 呈负相关。结论 上述结果提示端粒酶 hTERT 在子宫内膜癌的发生发展中可能起重要作用,端粒酶 hTERT 与 ER、PR 的联合检测可能成为子宫内膜癌判断预后的一个指标。

关键词: 端粒酶 hTERT; 子宫内膜癌; 雌激素受体; 孕激素受体; 免疫组织化学

中图分类号: R737.33 文献标识码: A 文章编号: 1000-8578(2003)06-0475-03

0 引言

Lehner 等用 RT-PCR 方法对子宫内膜癌和正常子宫内膜进行 hTERT mRNA 的端粒酶活性检测,结果发现子宫内膜癌的 hTERT mRNA 和端粒酶活性显著高于正常子宫内膜,并且增生期子宫内膜的 hTERT mRNA 也显著高于分泌期子宫内膜^[1]。Oshita 等学者用相同的技术对 36 例内膜癌和正常绝经期内膜进行检测,结果分别为 94.44% (34/36); 及 44.44% (4/9) 的阳性率^[2] 说明端粒酶的活性与

子宫内膜癌有关。但子宫内膜癌为激素依赖性肿瘤^[3],端粒酶与激素在内膜癌发生中关系如何? 少见报道。我们运用免疫组化 ABC 方法检测了 36 例绝经期子宫内膜,36 例增生过长的子宫内膜及 33 例子官内膜癌中的端粒酶 hTERT 基因蛋白,雌激素受体 ER、孕激素受体 PR,并与正常增殖期及分泌期子宫内膜的表达作对比,旨在进一步探讨端粒酶的 hTERT 基因蛋白与雌、孕激素在子宫内膜癌发生中的生物学作用。

1 材料与方法

1.1 材料 选用山西医科大学第二医院病理科 1996 年 9 月~2001 年 12 月手术切除的子宫内膜癌及子宫内膜活检的石蜡标本,共 123 例,分为四组:

收稿日期:2002-11-12; 修回日期:2003-02-12

基金项目:山西省自然科学基金资助项目(19991085)

作者单位:1.030001 太原,山西医科大学第二医院病理科;2. 北京大学医学院病理学系

(1) 正常增殖期子宫内膜组织 14 例, 分泌期子宫内膜 4 例, 来源于手术切除的子宫肌瘤或腺肌症标本; (2) 绝经后出血的老年性子宫内膜 36 例, 最小年龄 54 岁, 最大年龄 70 岁, 平均 60.11 岁; (3) 内膜单纯性增生过长 36 例, 年龄最小 26 岁, 最大 51 岁, 平均年龄 44.3 岁; (4) 子宫内膜癌 33 例, 年龄最小 37 岁, 最大 66 岁, 平均 53.7 岁。所有标本均用 10% 中性福尔马林固定, 石蜡包埋, 4 μ m 切片。按 WHO 标准, 高分化癌 9 例, 中分化癌 15 例, 低分化癌 9 例。按 FIGO 分期标准进行临床分期, 其中 期 31 例, 期 2 例, 期 0 例, 期 0 例。对 33 例子宫内膜癌进行随访, 时间 10 个月 ~ 60 个月, 存活 21 例, 死亡 4 例, 失访 8 例。

人端粒酶蛋白亚基 hTERT 单克隆抗体制备: 利用多肽固相合成 (Fmoc 法) 合成端粒酶 hTERT 抗原多肽, 免疫 BALB/c 小鼠, 以杂交瘤法制备单克隆抗体。应用 ELISA, Western blot, 免疫球蛋白重链可变区基因克隆及序列分析和免疫组织化学方法进行鉴定和肿瘤检测。

ER, PR 多克隆抗体, ABC 试剂购自 DAKO 公司。

免疫组化染色: 常规 ABC 免疫组织化学方法染色。

1.2 结果判断 阳性结果判断: 用已知对上述阳性的组织做空白对照。阴性结果判断: 用 PBS 代替上述抗体做对照。hTERT 以细胞浆出现棕黄色颗粒为判断标准, 偶见细胞核着色 (图略)。

1.2.1 hTERT, ER, PR 阳性结果判断采用半定量方式 (免疫反应强度) 判断结果。

1.2.2 阳性染色强度分级为 0 级: 阴性, 无细胞着色; 1 级: 阳性, 细胞浆内出现散在棕黄色颗粒; 2 级: 中度阳性, 细胞浆内出现少量棕黄色颗粒; 3 级: 强阳性, 细胞浆内出现大量棕黄色颗粒。

1.2.3 阳性细胞数分级 0 级: 无细胞着色; 1 级: 阳性, 阳性细胞数 10%; 2 级: 阳性细胞数 11% ~ 50%; 3 级: 阳性细胞数 51% ~ 80%; 4 级: 阳性细胞数 >80%。

1.2.4 标记分数 = 阳性染色强度记分 \times 阳性细胞数分数分级^[3]。

1.3 统计学方法 采用卡方检验进行率的比较。

2 结果

2.1 hTERT 基因蛋白在内膜增生过长, 绝经期内膜和子宫内膜癌中的表达

hTERT 基因蛋白在正常子宫内膜的增生期 40% (6/15) 的弱阳性表达, 分泌期子宫内膜为阴性

表达 0/4, 在子宫内膜增生过长中 61.11% (22/36) 的阳性表达, 在绝经期内膜中 61.11% (22/36) 的阳性表达; 在内膜癌中, hTERT 基因蛋白表达 93.94% (31/33)。中度 ~ 强度以上阳性的分别为内膜癌 87.1% (27/31), 子宫内膜增生过长 68.18% (15/22); 绝经期内膜中 59.09% (13/22)。

2.2 ER, PR 在内膜病变中的表达

在正常子宫内膜的增生期 ER, PR 分别为 92.86% (13/14), 85.71% (12/14); 正常分泌期子宫内膜 ER, PR 分别表达为 0% (0/4), 50% (2/4); 在子宫内膜增生过长 86.11% (31/36), 88.88% (32/36) 阳性表达; 在绝经期内膜中 88.89% (32/36), 86.11% (31/36) 的阳性表达; 在子宫内膜癌中 (图略) 为 75.76% (25/33), 72.72% (24/33)。

2.3 hTERT 与内膜癌的临床病理特征的关系

(1) 与病理类型的关系: hTERT 的阳性表达率在分泌期子宫内膜, 增殖期子宫内膜, 子宫内膜增生过长, 绝经后再出血内膜及子宫内膜癌中有逐渐增高的趋势, 差异有显著性 ($P < 0.05$)。 (2) 与病理分级的关系: hTERT 在低分化子宫内膜腺癌中的表达高于中高分化的腺癌 (100%; 87.5%), 但无统计学意义。 (3) 与肌层浸润及临床分期的关系: hTERT 蛋白表达在大于 1/2 肌层浸润及 期病人 96.42% (27/28)、高于无肌层浸润或浸润 <1/2 者的阳性率为 60.00% (3/5); (4) 与 hTERT 表达强度的关系: hTERT 中度 ~ 强度阳性表达在子宫内膜癌为 90.32% (28/31), 明显高于 9.6% (3/31) 的弱阳性表达。

3 讨论

端粒酶 hTERT 是 1997 年由 Weinrich 的研究小组分离克隆的端粒酶催化蛋白基因, 定位于染色体 5p^[4], 分子量约为 116KD, 含有多个逆转录功能区。研究证实 hTERT 是人端粒酶活性的决定因素, hTERT 表达与端粒酶活性高度相关^[5,6]。

端粒酶与性激素的调节机制还不十分清楚, 但有一些证据表明激素与端粒酶活性有关。Misiti 等在端粒酶阴性的人卵巢生发上皮细胞株中加入雌激素, 结果证实, 雌激素通过细胞上雌激素受体的表达, 诱导卵巢生发上皮 hTERT mRNA 及端粒酶的表达, 分析其分子机制为雌激素作用于 hTERT 基因的启动子, 对 hTERT 转录水平进行调节而激活端粒酶^[7,8]。Wang 及 Willims 等的研究发现血清孕激素水平与子宫内膜癌端粒酶活性呈负相关, 提出孕激素也参与调节端粒酶, hTERT 不仅是雌激素而且是孕激素的靶点^[9,10]。我们的实验数据表明:

hTERT 在子宫内膜癌中的表达明显高于其他良性内膜病变,有显著性差异 ($P < 0.05$);hTERT 在子宫内膜癌中的表达与临床分期呈正相关;与病理分级及雌、孕激素受体 ER,PR 呈负相关关系。这些结果类似国外报道,提示端粒酶 hTERT 在子宫内膜癌的发生发展中可能起重要作用,但是在绝经期内膜中的表达略高于国外研究 (61.11% > 44.44%),可能与我们选材为绝经后再出血的子宫内膜,其体内雌激素水平与正常绝经期子宫内膜不同有关,其机理有待进一步探讨。

本课题组半定量研究结果发现正常增殖期子宫内膜存在端粒酶活性,且端粒酶 hTERT 与子宫内膜周期变化有关,类同国外报道。子宫内膜细胞作为一种体细胞具有端粒酶活性,可能与其高度增殖和分化有关^[10]。我们的实验也提示端粒酶 hTERT 及 ER,PR 的联合检测对子宫内膜癌的病理分级和预后判断有积极意义。

参考文献:

[1] Lehner R, Enomoto T, Me gregor JA, et al. Quantitative analysis of telomerase hTERT mRNA and telomerase activity in endometrioid adenocarcinoma and in normal endometrium [J]. Gynecol Oncol, 2002, 84 (1): 120-125.
 [2] Oshita T, Naito N, Ohama E. Expression of telomerase reverse transcriptase

in human endometrial cancer [J]. Int J Oncol, 2000, 17 (6): 1225-1230.
 [3] Cresman WT, Sco per JT, Mocarty K Jr, et al. Influence of cytoplasmic steroid receptor content on prognosis of early stage endometrial carcinoma [J]. Am J Obstet Gynecol, 1985, 151 (7): 922-932.
 [4] Weinrich SL, Pruzan R, Ma L, et al. Reconstitution of human telomerase with the template RNA component and the catalytic protein subunit hTERT [J]. Nat Genet, 1997, 17 (4): 498-502.
 [5] Counter CM, Avilion AA, LeFeuvre CE, et al. Telomerase is associated with chromosome instability and is arrested in immortal cells which express telomerase activity [J]. EMBO J, 1992, 11 (5): 1921-1929.
 [6] Koyama S, Kana ya T, Takakura M, et al. Human telomerase reverse transcriptase as a critical determinant of telomerase activity in normal and malignant endometrial tissues [J]. Int J Cancer, 1999, 80 (1): 60-63.
 [7] 胡云, 刘颖, 郑建华. 子宫内膜腺癌中 DNA 含量和端粒酶活性的临床分析 [J]. 实用肿瘤学杂志, 2000, 14 (3): 201-203.
 [8] Misiti S, Nanni S, Fontana GG, et al. Induction of hTERT expression and telomerase activity by estrogen in human ovarian epithelial cells [J]. Mol Cell Biol, 2000, 20 (11): 3764-3771.
 [9] Wang Z, Koyama S, Takakura M, et al. Progesterone regulates human telomerase reverse transcriptase gene expression via activation of mitogen-activated protein kinase signaling pathway [J]. Cancer Res, 2000, 60 (19): 5376-5381.
 [10] Williams CD, Boggess JF, LaMarque LR, et al. A prospective, randomized study of endometrial telomerase during the menstrual cycle [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2001, 86 (8): 3912-3917.

(周永红校对)

· 动态· 简讯 ·

《现代肿瘤医学》征订启事

《现代肿瘤医学》(原名《陕西肿瘤医学》)是国内外公开发行的肿瘤专业学术期刊(刊号 ISSN1672-4992, CN61-1415/R),以贯彻“双百”方针,开展学术交流,不断提高肿瘤基础研究、预防及临床诊疗工作水平,坚持普及与提高相结合原则,为广大肿瘤科技工作者提供学术交流园地为办刊宗旨,主要栏目有专题专稿、论著、基础研究、流行病学、临床报道、短篇、经验交流、综述、中西医结合及护理园地。系《中国学术期刊综合评价数据库》统计源期刊、《中国期刊网》、《中国学术期刊(光盘版)》、《中国核心期刊(遴选)》、《中国生物医学文献数据库》、《CAJ-CD 规范》执行优秀期刊。

本刊为双月刊,80 页码,国际标准 A4 开本,逢双月底出版。自办发行,每期定价 7 元,全年 42 元,欢迎广大读者直接向编辑部邮购订阅。

地址:西安市雁塔西路 309 号陕西省肿瘤医院内《现代肿瘤医学》编辑部。

邮编:710061

电话:029-5366909,029-5254081 转 232,230

传真:029-5366909

E-mail: SXZLYX@263.net

