

脑胶质瘤中脆性组氨酸三联体和 PTEN 的表达

王东林¹, 解晶心¹, 施公胜², 鄂群¹

Expressions of FHIT and PTEN in Brain Gliomas

WANG Dong-lin¹, XIE Jing-xin¹, SHI Gong-sheng², E Qun¹

1. Department of Pathology, Medical College of Nantong University, Nantong 226001, China; 2. Department of Pathology, Affiliated Hospital of Nantong University

Abstract: **Objective** To examine the expressions of FHIT and PTEN in gliomas, and to investigate the relationship between their expressions and the degree of tumor malignancy. **Methods** SP Immunohistochemical staining was used to examine the expressions of FHIT, PTEN in 80 gliomas and in 5 normal brain tissues. **Results** FHIT was located in the plasma of glioma cells, PTEN was located in the cellular nuclei of glioma cells, total positive rates were 47.5% (38/80), 55.0% (44/80) respectively. Expression rates of FHIT and PTEN in normal brain tissues were 80% (4/5). There was a statistically significant difference in the expression of FHIT and PTEN between normal brain tissues and different grades of gliomas ($P < 0.05$). Both of the expressions of FHIT and PTEN weakened with the rise in the degree of glioma malignancy. **Conclusion** Expressions of FHIT and PTEN in glioma cells are diminishing or absent, their cooperative operation promotes generation and advance of glioma.

Key words: Glioma; FHIT; PTEN

摘要: **目的** 检测抑癌基因脆性组氨酸三联体(FHIT)、PTEN在胶质瘤中的表达,并探讨其与肿瘤恶性程度的关系。**方法** 采用免疫组织化学SP法,检测80例胶质瘤、5例正常脑组织中的FHIT、PTEN蛋白的表达。**结果** FHIT主要定位于肿瘤细胞的细胞质,PTEN主要定位于肿瘤细胞的细胞核,总阳性率分别为47.5%(38/80)、55.0%(44/80);FHIT和PTEN在正常脑组织中表达率均为80%(4/5),两者在正常脑组织和不同级别胶质瘤之间的表达均有差异($P < 0.05$),且随胶质瘤恶性程度的增加而减弱。**结论** FHIT和PTEN在胶质瘤细胞中表达减少或缺失,两者协同作用促进胶质瘤的发生发展。

关键词: 胶质瘤;脆性组氨酸三联体(FHIT);PTEN

中图分类号:R739.41 文献标识码:A 文章编号:1000-8578(2007)06-0423-02

0 引言

FHIT(Fragile histidine triad)基因^[1]又称脆性组氨酸三联体,是Ohta等1996年从上皮癌细胞系中克隆出的一个候选抑癌基因,它定位于染色体3p14.2,含有编码组氨酸三联体的功能区域,在人类多种肿瘤组织中该基因均呈现表达下降^[2]。关于脑胶质瘤中FHIT基因表达的研究目前国内尚无报道,因此本研究采用免疫组织化学SP法,检测80例胶质瘤、5例正常脑组织的FHIT的表达,并与另一种抑癌基因PTEN的表达作对照分析,旨在了解抑癌基因与胶质瘤发生发展及恶性程度的关系,为临床诊治胶质瘤提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

收集南通大学附属医院病理科2003~2005年间胶质瘤存档蜡块80例,其中男45例,女35例,年龄14~78岁,平均年龄47.1岁。按WHO中枢神经系统肿瘤2000年分类标准分级,Ⅰ级35例,Ⅱ级30例,Ⅲ级15例,另取5例非正常死亡的人脑组织蜡块作为正常对照组。

1.2 主要试剂

兔抗人FHIT多克隆抗体购自Zymed公司(ZA-0510),小鼠抗人PTEN单克隆抗体购自Santa Cruz公司(ZM-0521 SP),免疫组化试剂盒(SP-9000)、DAB显色试剂盒(ZL F1039)购自北京中山公司。

1.3 实验方法

常规脱蜡水化,组织抗原微波修复,10%山羊血清封闭。FHIT和PTEN抗体的工作浓度均为1:100,免疫组化染色SP法按说明书操作步骤进行,DAB-H₂O₂显微镜控制下显色,苏木素复染细胞

收稿日期:2006-05-08;修回日期:2006-05-17

作者单位:1. 226001 江苏南通大学医学院病理解剖学教研室, 2. 南通大学附属医院病理科

作者简介:王东林(1962-),男,硕士,副教授,主要从事肿瘤病理研究

核,常规脱水中性树胶封片,每一抗体分别设阳性、阴性对照。

1.4 免疫组化结果判断

FHIT 以细胞质出现棕色染色为阳性,PTEN 以细胞核出现棕黄色染色为阳性,参考 Catalica 的 H-score ($H = I \times P$) 系统对实验结果进行半定量判定:染色强度 (I) 依次为 0 (无色),1 (淡黄色),2 (棕黄色),3 (棕褐色);染色范围 (P) 根据阳性细胞的百分比:未见染色为 0,染色细胞少于 25% 为 1,25% ~ 50% 为 2,大于 50% 为 3。将这两方面得分相乘即为该病例的染色结果。在未知病理诊断的条件下,在高倍镜下分别观察 10 个视野平均而得。得分 0 ~ 2 分判为阴性 (-),3 ~ 4 分判为弱阳性 (+),> 5 分判为强阳性 (++)。

1.5 统计学处理

运用 State 7.0 软件对相关数据资料进行统计处理。率的比较用 χ^2 检验,两等级资料之间的相关分析采用 Spearman 等级相关检验。

2 结果

2.1 胶质瘤中 FHIT 与 PTEN 蛋白的表达

FHIT 蛋白定位于胶质细胞的胞质,弥漫颗粒状着色为主,弥漫性星形细胞瘤(Ⅱ级)为深棕色(见图 1),多形性胶质母细胞瘤(Ⅳ级)为浅黄色(见图 2),正常脑组织胶质细胞胞浆棕黄色着色。PTEN 定位于细胞核,棕黄色颗粒状,阳性细胞呈弥漫分布(见图 3)或散在分布(见图 4),正常脑组织胶质细胞核棕黄色着色。在 80 例胶质瘤中 FHIT 蛋白阳性表达率为 47.5% (38/80),PTEN 蛋白阳性表达率为 55.0% (44/80)。胶质瘤组织与正常脑组织 FHIT 与 PTEN 蛋白的表达差异有显著性 ($P < 0.01$)。

2.2 FHIT 和 PTEN 表达与胶质瘤 WHO 分级的关系

在不同级别的脑胶质瘤中,FHIT 的表达有差别 ($\chi^2 = 17.00, P = 0.0002$, kwallis 法),其中 Ⅱ级与 Ⅲ级 ($\chi^2 = 18.88, P = 0.000$), Ⅲ级与 Ⅳ级 ($\chi^2 = 11.36, P = 0.003$) 之间差异有统计学意义,而 Ⅱ级与 Ⅳ级之间 ($\chi^2 = 0.1147, P = 0.944$) 差异无统计学意义。做 spearman 相关分析 ($r = -0.4620, P = 0.000$),提示 FHIT 表达与胶质瘤 WHO 分级呈负相关。PTEN 的表达也有差别 ($\chi^2 = 25.17, P = 0.000$, kwallis 法),其中 Ⅱ级与 Ⅲ级 ($\chi^2 = 26.75, P = 0.000$), Ⅲ级与 Ⅳ级 ($\chi^2 = 16.35, P = 0.000$) 之间差异有统计学意义,而 Ⅱ级与 Ⅳ级之间 ($\chi^2 = 0.2250, P = 0.894$) 差异无统计学意义。做 spearman 相关分析 ($r = -0.5456, P = 0.000$),提示

PTEN 表达与胶质瘤 WHO 分级呈负相关。FHIT 和 PTEN 在胶质瘤中的表达结果相比较可知两者表达具有相关性 ($r_s = 0.5430, P < 0.01$),提示两种蛋白表达呈正相关,详见表 1。

表 1 FHIT、PTEN 表达与胶质瘤 WHO 分级的关系

WHO 分级	n	FHIT			PTEN		
		- (%)	+ (%)	++ (%)	- (%)	+ (%)	++ (%)
35	8(22.8)	13(37.1)	14(40.0)	4(11.4)	12(34.2)	19(54.3)	
30	23(76.7)	4(13.3)	3(10.0)	22(73.3)	5(16.7)	3(10.0)	
15	11(73.3)	2(13.3)	2(13.3)	10(66.7)	3(20.0)	2(13.3)	
合计	80	42	19	19	36	20	24

2.3 FHIT 和 PTEN 在胶质瘤中的分布

FHIT 和 PTEN 在胶质瘤中的分布:同时阴性组: $\chi^2 = 9.33, P = 0.007$;一种蛋白表达组(FHIT 阳性或 PTEN 阳性): $\chi^2 = 2.31, P = 0.315$;两种蛋白同时表达组(FHIT 阳性和 PTEN 阳性): $\chi^2 = 14.00, P = 0.001$ (详见表 2),提示 FHIT 和 PTEN 在胶质瘤中的分布状况与胶质瘤的 WHO 分级有关,高级别(Ⅲ、Ⅳ)组两种抑癌基因多同时为阴性,低级别组(Ⅰ、Ⅱ)两种抑癌基因多同时为阳性。

表 2 FHIT 和 PTEN 蛋白在胶质瘤中的分布

WHO 分级	n	同时阴性 (%)	一种蛋白表达 (%)	两种蛋白表达 (%)
35	4(11.4)	4(60.0)	27(28.6)	
30	18(56.7)	9(33.3)	3(10.0)	
15	9(60.0)	4(26.7)	2(13.3)	
合计	80	31	17	32

3 讨论

胶质瘤是中枢神经系统最常见的恶性肿瘤,其发生发展与癌基因的激活和抑癌基因的失活有关,其中抑癌基因的失活发挥了重要作用。FHIT 基因含染色体脆性部位 FRA3B,是第一个将脆性位点与肿瘤联系的抑癌基因。Geradts 等^[3]对 99 例 NSCLC(非小细胞肺癌)的切片进行免疫组化研究发现,53%的病例 FHIT 表达缺失,并认为表达的缺失与 FHIT 位点发生的杂合性缺失(LOH)有关, FHIT 表达缺失与 p53、RB 及 p16 的表达异常一样频繁发生。Ishii H 等^[4]研究了 1948 例 FHIT 基因在原发肿瘤组织中的表达情况,有 1162 例表达缺失或低表达,占 60%。本研究显示,胶质瘤 FHIT 阳性表达率为 47.5%,缺失率为 52.5%,正常脑组织 FHIT 表达率为 80%,胶质瘤与正常脑组织 FHIT 表达有显著差异 ($P < 0.01$),这说明 FHIT 的表达缺失在胶质瘤的发生、发展过程中可能起重要作用。

(下转第 463 页)

部,促进细胞的有丝分裂,导致细胞增殖失控,其过表达与多种肿瘤的预后相关^[4]。

本研究结果显示 c-erbB-2 在 QBC-939 细胞和 SK-Cha-1 细胞中表达均为阳性;21 例原代培养人胆管癌细胞中有 18 例(86%)表达阳性,3 例表达阴性,6 例原代培养人正常胆管细胞中 c-erbB-2 蛋白的表达均为阴性。提示 c-erbB-2 在肝外胆管癌细胞中高表达,与肝外胆管癌的发生、发展有关,为胆管癌的防治提供了新的靶位。

参考文献:

[1] Guastalla JP, Bachelot T, Ray-Coquard I, et al. Cyclooxygenase 2 and breast cancer. From biological concepts to clinical trials[J]. Bull Cancer, 2004, 91 (Suppl 2): S99-108.
 [2] Grunt TW, Puckmair K, Tomek K, et al. An EGF receptor inhibitor induces RAR-beta expression in breast and ovarian cancer cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2005, 329(4): 1253-1259.
 [3] Nakazawa K, Dobashi Y, Suzuki S, et al. Amplification and overexpression of c-erbB-2, epidermal growth factor receptor, and c-met in biliary tract cancers[J]. J Pathol, 2005, 206(3): 356-365.
 [4] Richter M, Zhang H. Receptor-targeted cancer therapy[J]. DNA Cell Biol, 2005, 24(5): 271-282.

[编辑:安凤;校对:贺文]

(上接第 424 页)

其作用机制可能是由于 FHIT 的丢失或突变,正常细胞失去了负调控作用,促进肿瘤细胞无限制生长,而导致胶质瘤发生。

PTEN 基因定位于 10q 23.3,全长 200kb,是 1997 年由 3 个美国研究小组几乎同时发现的一种具有磷酸酶活性的肿瘤抑制基因^[5]。PTEN 基因异常可存在于胶质母细胞瘤、前列腺癌、子宫内膜癌等多种肿瘤。在胶质母细胞瘤中 PTEN 基因的突变率可高达 30%~40%,而在恶性程度低的其他类型的胶质瘤 PTEN 突变十分罕见,PTEN 表达的下降和缺失在由低度恶性胶质瘤向多形性胶质母细胞瘤转化过程中起着十分重要的作用^[6]。本研究显示,胶质瘤 PTEN 表达率为 55.0%,正常脑组织 PTEN 表达率为 80%,两者 PTEN 表达有显著差异 ($P < 0.01$),PTEN 的表达缺失使其抑癌功能丧失。推测 PTEN 的抑癌作用机制如下:PTEN 的表达产物具有脂质磷酸酶活性和蛋白磷酸酶活性,而 PTEN 抑制肿瘤的作用有赖于这两种磷酸酶的活性。蛋白磷酸酶活性能负性调节细胞的粘附、转移和浸润。脂质磷酸酶活性,能负性调节 PIK(phosphatidylinositol kinase, 磷脂酰肌醇激酶)途径,促使细胞凋亡和(或)抑制细胞周期进程并诱导其停止于 G₁ 期,从而抑制细胞生长和增殖。当 PTEN 表达减少或缺失时,这种负性调节机制削弱,导致肿瘤的发生和发展。

本研究显示, FHIT 和 PTEN 表达都与胶质瘤的 WHO 分级有关, FHIT 和 PTEN 表达率的下降与肿瘤病理分级呈负相关 ($r = -0.4620, P < 0.05$;

$r = -0.5456, P < 0.05$),随着胶质瘤级别的升高, FHIT 和 PTEN 表达下降,因此 FHIT 和 PTEN 可作为胶质瘤恶性程度的指标。FHIT 和 PTEN 表达呈正相关 ($P < 0.01$),这说明两种抑癌基因在胶质瘤的发生发展中有协同作用。本研究显示,在弥漫性星形细胞瘤(Ⅱ级)主要以两种抑癌基因表达为主,而多形性胶质母细胞瘤多不表达 FHIT 和 PTEN,抑癌基因的分布与胶质瘤分级有显著差异 ($P < 0.05$),提示不同位点基因突变的越多,抑癌基因缺失越多,肿瘤的恶性程度越高。

(本文图见插页 4)

参考文献:

[1] Pekarsky Y, Palamarchuk A, Huevner K, et al. FHIT as tumor suppressor: mechanisms and therapeutic opportunities [J]. Cancer Biology and Therapy, 2002, 1(3): 232-236.
 [2] Matthews CP, Shera K, Kiviat N, et al. Expression of truncated FHIT transcripts in cervical cancers and in normal human cells[J]. Oncogene, 2001, 20(34): 4665-4680.
 [3] Geradts J, Fong KM, Zimmerman PV, et al. Loss of Fhit expression in non-small-cell lung cancer: correlation with molecular genetic abnormalities and clinicopathological features[J]. Br J Cancer, 2000, 82(7): 1191-1197.
 [4] Ishii H, Dumon KR, Vecchione A, et al. Potential cancer therapy with the fragile histidine triad gene: review of the pre-clinical studies[J]. JAMA, 2001, 286(19): 1441-1449.
 [5] Raftopoulos M, Etienne-Mannerville S, Self A, et al. Regulation of cell migration by the c2 domain of the tumor suppressor PTEN[J]. Science, 2004, 303(5661): 1179-1181.
 [6] Gomez-Manzano C, Fueyo J, Jiang H, et al. Mechanisms underlying PTEN regulation of vascular endothelial growth factor and angiogenesis[J]. Ann Neurol, 2003, 53(1): 109-117.

[编辑:安凤;校对:贺文]

脑胶质瘤中脆性组氨酸三联体和 PTEN 的表达

(正文见 423 页)

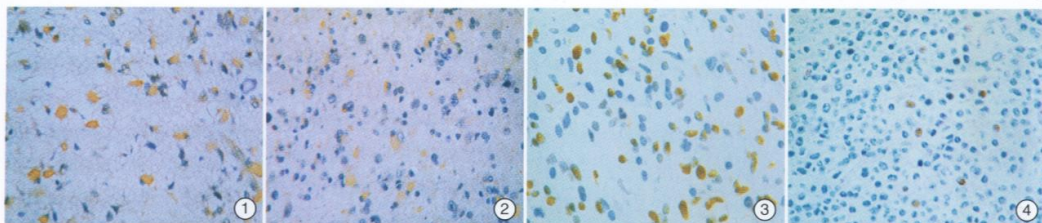
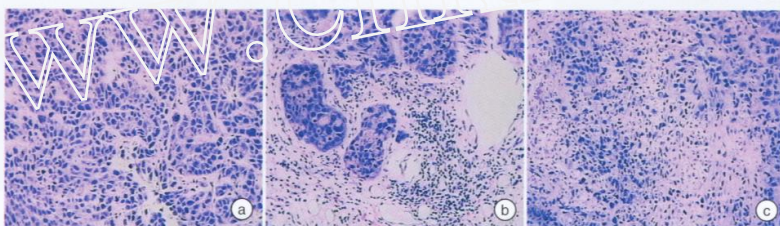


图 1 胶质瘤(II 级)FHIT 蛋白阳性(++)表达于肿瘤细胞质及突起,呈棕黄色弥漫分布(SP × 400)
 图 2 隆迪多形性胶质母细胞瘤(IV 级)FHIT 蛋白阳性(+)表达于肿瘤细胞胞质,呈棕黄色散在分布(SP × 400)
 图 3 间变性星形细胞瘤(III 级)PTEN 蛋白阳性(++)表达于肿瘤细胞核,呈棕黄色弥漫分布(SP × 400)
 图 4 多形性胶质母细胞瘤(IV 级)PTEN 蛋白阳性(+)表达于肿瘤细胞核,呈棕黄色散在分布(SP × 400)

NK 细胞对人鼻咽癌细胞 CNE2 裸鼠皮下移植瘤的抑制作用

(正文见 425 页)



a. 单纯 CNE2 组; b. CNE2+NK 细胞治疗组,可见明显的淋巴细胞浸润和角化肿瘤细胞;
 c. CNE2+NK 细胞治疗组,可见明显的肿瘤坏死

图 2 CNE2 组及 NK 细胞治疗组移植肿瘤细胞的病理学改变(HE × 200)

VEGF 及 MMP-7 与大肠癌的关系

(正文见 442 页)

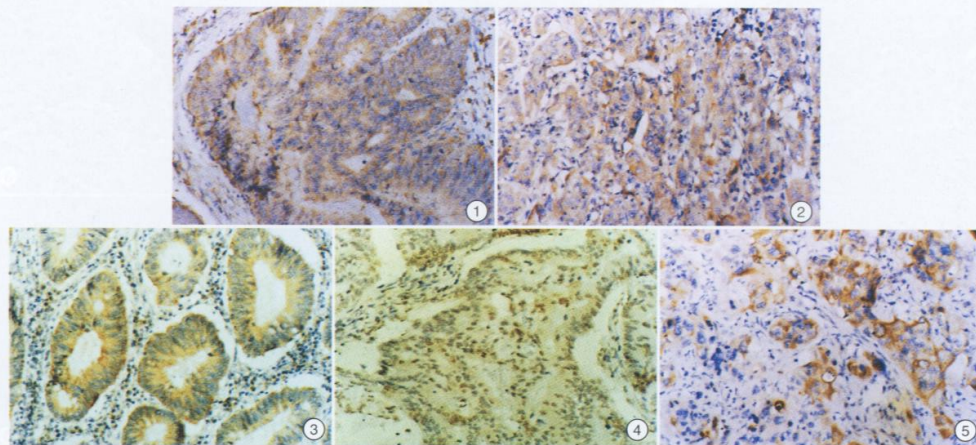


图 1 VEGF 在高分化大肠腺癌中的表达(SP × 200) 图 2 VEGF 在低分化大肠腺癌中的表达(SP × 200)
 图 3 MMP-7 在中分化大肠腺癌中的表达(SP × 200) 图 4 MMP-7 在中分化大肠腺癌部分胞核着色(SP × 200)
 图 5 MMP-7 在低分化大肠腺癌中的表达(SP × 200)