

胸腺瘤组织中 c-myc 基因的表达及其意义

黄壮士, 张艳峰, 曾涟乾

The Significance and Expression of c-myc in Thymomas

HUANG Zhuang-shi, ZHANG Yan-feng, ZENG Lian-qian

Dept. of Thoracic Surgery, 2nd Affiliated Hospital, Zhengzhou University, Zhengzhou 450014, China

Abstract :Objective To correlate the expression of c-myc in the thymomas with histological type, clinical stage. **Methods** c-myc's expression in paraffin-embedded sections of 41 thymomas and 18 non-neoplastic thymus were detected by immunohistochemical SP assay. **Results** The positive rates of c-myc in thymomas and non-neoplastic thymus was 63.4% (26/41), 16.7% (3/18). And the difference was significant ($P < 0.01$). The difference of c-myc positive rate in thymomas was significant between WHO histological type A/AB (30.0%) and type B (74.2%) ($P < 0.05$). The positive rate of c-myc in thymomas of Masaoka clinical stage I~II (75.9%) was significantly higher than that of stage III (33.3%) ($P < 0.05$). **Conclusion** c-myc may play an important role in the occurrence and development of thymoma. Testing the expression of c-myc in thymomas will be helpful to predict the aggression and prognosis.

Key words: Thymoma; c-myc; WHO type; Masaoka stage

摘要:目的 研究 c-myc 基因在胸腺瘤组织中的表达,探讨 c-myc 基因与胸腺瘤的发生发展、恶性程度的关系。方法 应用免疫组织化学 SP 法,检测 c-myc 在 41 例胸腺瘤和 18 例非肿瘤胸腺组织中的表达,结合胸腺瘤 WHO 分型、Masaoka 分期,研究 c-myc 基因在胸腺瘤各分型、分期中的表达情况。结果 c-myc 在胸腺瘤中的阳性表达率为 63.4%,在非肿瘤胸腺组织中的阳性表达率为 16.7%,两者间有统计学差异 ($P < 0.01$)。c-myc 在良性胸腺瘤(A/AB 型)和恶性胸腺瘤(B₁~B₃型)中的表达分别为 30.0%和 74.2%,两者有统计学差异 ($P < 0.05$)。c-myc 在非侵袭性胸腺瘤(I 期)与侵袭性胸腺瘤(II~III 期)中的表达分别为 75.9%和 33.3%,两者有统计学差异 ($P < 0.05$)。结论 c-myc 与胸腺瘤的发生发展有关;与胸腺瘤的恶性程度、侵袭性有关。

关键词: 胸腺瘤; c-myc; WHO 分型; Masaoka 分期

中图分类号: R736.3 文献标识码: A 文章编号: 1000-8578(2006)12-0865-03

0 引言

胸腺瘤是常见的前纵隔肿瘤^[1]。随着病程的进展,其有局部外侵、复发和远处转移等生物学特性,故临床上一般认为胸腺瘤属于低度恶性或具有潜在恶性倾向的肿瘤^[2]。由于单纯从细胞学形态上很难区分胸腺瘤的良恶性,所以目前尚缺乏对胸腺瘤恶性程度判断的客观指标。

近年来,利用基因分子生物技术对癌基因进行研究已成为肿瘤研究的热点。c-myc 是一种对细胞生长有调节作用的基因,其在多种肿瘤组织中有表达^[3],但在人胸腺瘤组织中的表达情况未见报道。本研究拟对此进行探讨。

1 资料与方法

1.1 标本

选自郑州大学第二附属医院 2000 年 1 月~2004 年 4 月胸腺瘤切除标本 41 例。患者男 23 例,女 18 例,年龄 18~78 岁,平均 42.3 岁。23 例合并有重症肌无力(MG),按 Masaoka 分期标准^[4]:非侵袭性胸腺瘤(I 期)12 例,侵袭性胸腺瘤 29 例(其中 II 期 15 例, III 期 11 例, IV 期 3 例)。按照 WHO 分型^[5-7]:良性或低度恶性胸腺瘤 10 例(其中 A 型 3 例, AB 型 7 例),恶性胸腺瘤 31 例(B₁ 型 15 例, B₂ 型 6 例, B₃ 型 10 例, C 型 0 例)。取同期 18 例非胸腺疾病开胸切除的胸腺组织(先、后天性心脏病等,以下称非肿瘤胸腺组织)作为对照组,两组一般情况无差异。全部标本经 10%中性福尔马林液固定,常规石蜡包埋组织块。制成 4μm 厚的连续切片 4 张,3 张供免疫组化染色,1 张供 HE 染色复核诊断。

1.2 试验方法

鼠抗人 c-myc 单克隆抗体为福州迈新公司提

收稿日期:2005-11-14;修回日期:2005-12-09
作者单位:450014 郑州大学第二附属医院胸外科
作者简介:黄壮士(1962-),男,硕士,教授,主要从事胸部肿瘤及重症肌无力的临床与基础研究



供。应用免疫组织化学链酶素亲生物蛋白 - 过氧化物酶(SP)法检测 c-myc 的表达。免疫组织化学实验步骤按试剂盒说明书进行,用 PBS 代替一抗做阴性对照。

1.3 结果判断

细胞核或胞浆呈棕黄色或黄色者为阳性细胞。在 400 倍视野下任意选择 5 个视野,每个视野计数 200 个细胞,细胞无阳性反应或阳性细胞数 < 1% 为 (-),阳性细胞数 > 1% 为 (+)。用已知阳性片作阳性对照,用 PBS 液代替一抗作阴性对照。

1.4 统计方法

采用四格表 ² 检验。以 = 0.05 作为校验标准。

2 结果

2.1 c-myc 基因在胸腺瘤和非肿瘤胸腺组织中表达的比较

c-myc 基因在 18 例非肿瘤胸腺组织中阳性表达率为 16.7% (3/18),在 41 例胸腺瘤中阳性率为 63.4% (26/41)。两者有统计学差异 (² = 10.937, P = 0.001 < 0.01),见表 1。

表 1 c-myc 在非瘤胸腺组织和胸腺瘤中的表达

Table with 5 columns: 分类, 例数, c-myc 表达 (-, +), 阳性率 (%), P. Rows: 非瘤胸腺组织, 胸腺瘤.

2.2 c-myc 基因在不同恶性程度胸腺瘤中的表达

在 10 例良性或低度恶性 (A/AB 型) 胸腺瘤中有 30.0% (3/10) 病例 c-myc 表达阳性,在 31 例恶性 (B1-B3 型) 胸腺瘤中有 74.2% (23/31) 表达阳性,两者间有统计学差异 (² = 4.603, P = 0.032 < 0.05),见表 2。

表 2 c-myc 表达与胸腺瘤 WHO 分型的关系

Table with 5 columns: 分型, 例数, c-myc 表达 (-, +), 阳性率 (%), P. Rows: A/AB, B1-B3.

2.3 c-myc 基因在侵袭性与非侵袭性胸腺瘤中的表达

c-myc 在 Masaoka 期、期、期和 期的表达分别为 33.3% (4/12)、60.0% (9/15)、90.9% (10/11) 和 100% (3/3) 呈明显的递增趋势。12 例非侵袭性(期)胸腺瘤有 33.3% (4/12) 病例 c-myc 表达阳性,29 例侵袭性(~ 期)胸腺瘤有 75.9% (22/29) c-myc 表达为阳性,两者有统计学差异 (²

= 4.911, P = 0.027 < 0.05),见表 3。

表 3 c-myc 表达与胸腺瘤 Masaoka 分期的关系

Table with 5 columns: 分期, 例数, c-myc 表达 (-, +), 阳性率 (%), P. Rows: 期, ~ 期.

2.4 c-myc 基因表达与胸腺瘤是否合并 MG 的关系 c-myc 在 23 例合并重症肌无力的胸腺瘤中有 52.2% (12/23) 表达阳性,18 例不合并重症肌无力的病例中 77.8% (14/18) 表达为阳性,两者无统计学差异 (² = 2.853, P > 0.05),见表 4。

表 4 c-myc 基因表达与胸腺瘤是否合并 MG 的关系

Table with 5 columns: 胸腺瘤, 例数, c-myc 表达 (-, +), 阳性率 (%), P. Rows: 无 MG, 有 MG.

3 讨论

胸腺组织学复杂的结构和细胞的多样化,二十世纪末以前胸腺瘤曾有过多种组织学分类方法[8],但都和预后没有很好的相关性。近年来,随着“胸腺瘤来源于胸腺上皮细胞属于胸腺上皮性肿瘤(Thymic Epithelial Tumors, TETs)”这一观点被越来越多的人接受,按照胸腺瘤组织中上皮细胞形态分类的 WHO 组织学分类法(1999 年)[5]也被广泛采用。越来越多的研究[6,7]显示该分类法与预后有良好的相关性,如 A/AB 型胸腺瘤很少侵犯其他器官,复发率也很低,B/C 型则多复发甚至转移,故认为 A/AB 型胸腺瘤属良性或顶多为低度恶性的胸腺瘤,B 型胸腺瘤为恶性胸腺瘤,C 型为高度恶性的胸腺癌。由于长期没有准确的胸腺瘤预后判断标准,临床工作中医生们往往采用临床分期方法来判断病人的预后。关于胸腺瘤的分期方法也很多[4,9,10],但目前最常用的是 Masaoka 分期[4]。Masaoka 期胸腺瘤不侵犯周围器官,手术切除率高,预后好,复发率仅有 5%, ~ 期胸腺瘤为侵袭性胸腺瘤,切除率低、预后较差[11]。本研究通过检测胸腺瘤组织中 c-myc 的表达,结合上述分类和分期,了解其与胸腺瘤侵袭性和恶性程度的关系。

c-myc 基因最早发现于禽类骨髓瘤病毒 MC29 中,c-myc 基因位于人类染色体 8q24 区带上编码一个类丝氨酸或苏氨酸的磷酸化蛋白质。研究表明,c-myc 蛋白主要作用于 G1 早期和 G/S 转变,通过调节细胞周期促进细胞增殖。c-myc 过度表达可改变细胞内的基因调控,使细胞易于转化为恶性表型,



当合并其他癌基因的活化或抑癌基因失活时均可加速或启动肿瘤的发生^[12]。

研究表明, c-myc 在慢性胃炎、胃溃疡、轻度不典型增生、重度不典型增生和早期胃癌中的表达逐渐升高,显示 c-myc 在肿瘤的发生发展过程中起重要作用^[13]。Orian^[14]认为 c-myc 蛋白高表达意味着有相当高比例的细胞处于增生状态,是肿瘤进展的重要指标,肿瘤的预后极差。DiFronzo NL 等^[15]在进行 MCF 病毒诱导的新生小鼠胸腺瘤的试验时发现 MCF 结合点定位于 myc 基因的上游,认为 MCF 病毒对于胸腺瘤的诱导可能与 myc 基因的异常表达相关。Spanopoulou E 等^[16]研究基因组中插入 c-myc 基因片段的转基因小鼠时,发现小鼠发生胸腺肿瘤,肿瘤中胸腺细胞与上皮细胞均扩增。考虑胸腺肿瘤发生过程中 c-myc 基因表达的增加促进了肿瘤细胞的增殖。

本实验中, c-myc 在胸腺瘤中表达的阳性率为 63.4% (26/41),明显高于在对照组(非瘤胸腺组织)中的表达 16.7% (3/18) ($P < 0.01$),显示 c-myc 参与了胸腺瘤的发生。Pei 等^[17]的研究显示, c-myc 可通过 cAMP、PKA 等途径导致细胞过度增殖,并且向侵袭性的方向发展。本研究中 c-myc 在 Masaoka Ⅰ期、Ⅱ期、Ⅲ期和Ⅳ期的表达分别为 33.3% (4/12)、60.0% (9/15)、90.9% (10/11) 和 100% (3/3) 呈明显的递增趋势,在侵袭性较强的Ⅲ~Ⅳ期胸腺瘤中, c-myc 表达明显高于无明显侵袭性的Ⅰ期胸腺瘤 ($P < 0.05$),也表明胸腺瘤中 c-myc 的表达与肿瘤的侵袭性有关,且随着侵袭性的加重而升高。c-myc 在恶性(B₁-B₃型)胸腺瘤中阳性率为 74.2%,明显高于良性(A/AB型)胸腺瘤中的表达 ($P < 0.05$),提示 c-myc 表达与胸腺瘤的恶性程度有关。检测 c-myc 将有助于胸腺瘤预后的判断。

另外,本研究发现 c-myc 在胸腺瘤中的表达,与其是否合并重症肌无力无明显关系。在合并重症肌无力组中阳性率较高,而在合并重症肌无力胸腺瘤中表达阳性率较低,可能与合并重症肌无力的患者胸腺瘤往往容易被早期发现有关。

参考文献:

[1] Zeng LQ, Liu QX, Zhang CY, et al. The changing patterns of occurrence and management in primary mediastinal tumors and cysts in the People's Republic of China[J]. Surg Gynecol Ob-

stet, 1988, 166(1): 55-59.
 [2] Nakahara K, Ohno K, Hashimoto J, et al. Thymoma: results with complete resection and adjuvant postoperative irradiation in 141 consecutive patients [J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 1988, 95(6): 1041-1047.
 [3] 刘乃国, 单长民, 吴淑华, 等. c-myc 和 p16 在口腔鳞癌中的协同作用[J]. 癌症, 2004, 23(6): 635-639.
 [4] Masaoka A, Monden Y, Nakahara K, et al. Follow-up study of thymomas with special reference to their clinical stages[J]. Cancer, 1981, 48(11): 2485-2492.
 [5] Rosai J, Sobin L H. Histological typing of tumours of the thymus. In: World Health Organization, International Histological Classification of Tumours[M]. 2nd ed. New York Springer-Verlag, 1999. 65.
 [6] Okumura M, Ohta M, Tateyama H, et al. The World Health Organization histologic classification system reflects the oncologic behavior of thymoma: a clinical study of 273 patients[J]. Cancer, 2002, 94(3): 624-632.
 [7] Kondo K, Yoshizawa K, Tsuyuguchi M, et al. WHO histologic classification is a prognostic indicator in thymoma [J]. Ann Thorac Surg, 2004, 77(4): 1183-1188.
 [8] 潘铁成, 杨明山. 胸腺疾病[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001. 118-119.
 [9] 黄壮士, 曾涟乾, 张斌. 胸腺瘤 318 例临床分析[J]. 中国肿瘤临床, 2004, 31(22): 1293-1295.
 [10] Asamura H, Nakagawa K, Matsuno Y, et al. Thymoma need a new staging system[J]. Interact Cardiovasc Thorac Surg, 2004, 3(1): 163-167.
 [11] Rios A, Torres J, Galindo PJ, et al. Prognostic factors in thymic epithelial neoplasms[J]. Eur J Cardiothorac Surg, 2002, 21(2): 307-313.
 [12] Popescu NC, Zimonjic DB. Chromosome-mediated alterations of the MYC gene in human cancer[J]. J Cell Mol Med, 2002, 6(2): 151-159.
 [13] Xu AG, Li SG, Liu JH, et al. Function of apoptosis and expression of the proteins bcl-2, p53 and C-myc in the development of gastric cancer[J]. World J Gastroenterol, 2001, 7(3): 403-406.
 [14] Orian JM, Vasilopoulos K, Yoshida S, et al. Overexpression of multiple oncogenes related to histological grade of astrocytic glioma[J]. Br J Cancer, 1992, 66(1): 106-112.
 [15] DiFronzo NL, Frieder M, et al. Duplication of U3 sequences in the long terminal repeat of mink cell focus-inducing viruses generates redundancies of transcription factor binding sites important for the induction of thymomas[J]. J Virol. 2003, 77(5): 3326-3333.
 [16] Spanopoulou E, Early A, Elliott J, et al. Complex lymphoid and epithelial thymic tumours in Thy1-myc transgenic mice [J]. Nature, 1989, 342(6246): 185-189.
 [17] Pei L. Identification of c-myc as a downstream target for pituitary tumor transforming gene [J]. J Biol Chem, 2001, 276(11): 8484-8491.

[编辑: 刘红武]