

• 临床检验研究论著 •

PTEN 和 PDCD4 在上皮性卵巢癌中的表达及意义

刘力山¹, 刘丽霞², 杨秋丽³, 何秀萍^{1△}

(1. 哈尔滨医科大学附属第一临床医院妇产科, 黑龙江哈尔滨 150001; 2 牡丹江医学院附属红旗医院妇产科, 黑龙江牡丹江 157010; 3 内蒙古医学院附属第三医院妇产科, 内蒙古包头 010410)

摘要: 目的 探讨 PTEN、PDCD4 在上皮性卵巢癌中的表达及意义。方法 应用免疫组化非生物素二步法检测 PTEN、PDCD4 在上皮性卵巢癌、卵巢良性肿瘤以及正常卵巢组织中的表达。结果 PTEN 在上皮性卵巢癌组织中的表达明显低于卵巢良性肿瘤组织及正常卵巢组织, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。PDCD4 在上皮性卵巢癌组织中的表达明显低于卵巢良性肿瘤组织及正常卵巢组织, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。在上皮性卵巢癌中 PTEN、PDCD4 的表达呈正相关性($r = 0.839, P < 0.05$)。在恶性肿瘤组, PTEN 在高分化癌中的表达明显高于中、低分化癌($P < 0.05$)、I ~ II 期的阳性表达率明显高于 III ~ IV 期($P < 0.05$)。PDCD4 在高分化癌中的表达明显高于中、低分化癌且有统计学意义。结论 PTEN、PDCD4 的低表达与卵巢癌的发生、发展有关, 二者有可能成为卵巢癌诊断及治疗的新靶点。

关键词: 上皮性卵巢癌; PTEN; PDCD4; 免疫组化

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.12.015

文献标识码:A

文章编号: 1673-4130(2013)12-1527-02

Expression of PTEN and PDCD4 protein in ovarian epithelial cancer and its significance

Liu Lishan¹, Liu Lixia², Yang Qiuli³, He Xiuping^{1△}

(1. Department of Obstetrics and Gynecology, the First Clinical College of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang 150001, China; 2. Department of Obstetrics and Gynecology, Mudanjiang Medical College Hongqi Hospital, Mudanjiang, Heilongjiang 157010, China; 3. Department of Obstetrics and Gynecology, the Third Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical School, Baotou, Inner Mongolia 010410, China)

Abstract: Objective To investigate the expression and significance of PTEN and PDCD4 in ovarian epithelial cancer. **Methods** Immunohistochemical abiotic two-step method was used to determine the expression of PTEN and PDCD4 in ovarian epithelial carcinomas, ovarian epithelial tumors and normal ovarian issues. **Results** The positive expression rate of PTEN in ovarian epithelial carcinomas was significantly lower in ovarian epithelial tumors and normal ovarian issues. Difference had statistical significance($P < 0.05$). The positive expression rate of PDCD4 in ovarian epithelial carcinomas was significantly lower than those in ovarian epithelial tumors and normal ovarian issues. Difference had statistical significance($P < 0.05$). PTEN had positive correlation with PDCD4 in ovarian epithelial carcinomas($r = 0.839, P < 0.05$). In ovarian epithelial carcinomas, the positive expression of PTEN in high-grade was significantly higher than the middle- and low-grade($P < 0.05$). Its positive expression in I ~ II stage was markedly higher than III ~ IV stage($P < 0.05$). The positive expression of PDCD4 in high-grade was significantly higher than the middle- and low-grade($P < 0.05$). **Conclusion** The expression of PTEN and PDCD4 might be correlated to the carcinogenesis and development of ovarian cancer. They might become the new target for diagnosis and treatment of ovarian cancer.

Key words: ovarian epithelial carcinomas; PTEN; PDCD4; immunohistochemistry

卵巢癌是妇科最常见的恶性肿瘤之一, 而上皮性卵巢癌(浆液性囊腺癌最常见)占卵巢原发性恶性肿瘤的 85%~90%, 且发病率逐年增加, 它具有起病隐匿、早期临床诊断率低, 复发率、病死率高等特点, 对于卵巢癌的治疗, 目前临床主要采取手术以及铂类为主的联合化疗, 但由于卵巢癌耐药性的出现, 其 5 年存活率仍然很低。因此, 寻找新的肿瘤标记物和分子治疗靶点已成为卵巢癌研究的新热点。PTEN 是第一个被发现具有磷酸酶活性的抑癌基因, 它通过抑制细胞的有丝分裂、诱导细胞凋亡、参与调节细胞的黏附、转移和分化等发挥抑癌基因的作用^[1-2]。程序性细胞死亡因子-4(PDCD4)是 1995 年在小鼠体内发现的与细胞凋亡有关的因子, 可以通过抑制蛋白、转录和翻译过程来抑制肿瘤生长^[3]。PTEN 对卵巢癌的作用国内外已研究^[4], PDCD4 在卵巢癌方面研究的较少, 而二者在卵巢癌中相关性的研究尚未见, 本文利用免疫组化的方法检

测 PTEN、PDCD4 在卵巢癌组织中的表达, 从而分析二者在卵巢癌诊断及治疗中的作用。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2010 年 10 月至 2012 年 10 月就诊于本院的 40 例卵巢癌(浆液性囊腺癌)患者的手术标本, 年龄 36~75 岁。所有患者术前均未经放化疗, 标本均经病理证实。采用 FIGO 制定的标准进行手术病理分期, 卵巢癌患者标本中 I 期 6 例, II 期 19 例, III 期 12 例, IV 期 13 例。分化程度: 高分化 24 例, 中分化 9 例, 低分化 7 例。选取同期 18 例卵巢浆液性囊腺瘤, 10 例正常卵巢组织进行对照研究。

1.2 方法 应用免疫组化非生物素二步法进行检测。PTEN 蛋白阳性染色主要定位于细胞质中, 偶可见于细胞膜和(或)细胞核, PDCD4 蛋白阳性染色主要定位于细胞质, 以各种抗体在细胞质或胞核出现棕黄色颗粒为阳性信号。每例均随机观

察5个高倍视野($\times 400$)下的100个细胞,用半定量积分法判断结果:阳性细胞占总细胞数的百分率低于5%为0分,5%~<25%为1分,25%~<50%为2分,50%~<75%为3分,75%~100%为4分;阳性强度以黄色为1分,棕黄色为2分,棕褐色为3分;表达强度以两者积分相乘表示,0分为阴性(-),1~3分为弱阳性(+),4~8分为中度阳性(++)+,9~12分为强阳性(++)。

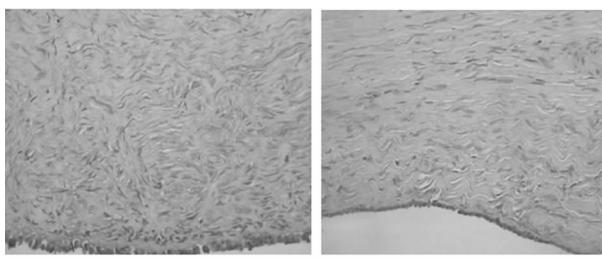
1.3 统计学处理 采用SPSS19.0统计软件处理,以 χ^2 检验分析各样本差异,相关性采用Spearman等级相关系数分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 PTEN、PDCD4 在卵巢癌、良性卵巢肿瘤及正常卵巢组织中的表达 PTEN在卵巢浆液性囊腺癌中的阳性表达率为40.00%,明显低于浆液性囊腺瘤组(88.89%)及正常卵巢组织组(100.00%),差异有统计学意义($\chi^2=19.822, P=0.000$)。浆液性囊腺瘤组及正常卵巢组差异无统计学意义($\chi^2=1.197, P=0.274$)。PDCD4在卵巢浆液性囊腺癌中的阳性表达率为45.00%,明显低于浆液性囊腺瘤组(94.44%)及正常卵巢组织组(100.00%),差异有统计学意义($\chi^2=19.551, P=0.000$)。浆液性囊腺瘤组及正常卵巢组差异无统计学意义($\chi^2=0.576, P=0.448$)。见表1。PTEN、PDCD4在卵巢癌中的表达情况见图1。

表1 PTEN、PDCD4在不同卵巢组织中的表达[n(%)]

组别	n	PTEN 阳性	PDCD4 阳性
正常卵巢组	10	10(100.00)	10(100.00)
良性卵巢组织组	18	16(88.89)	17(94.44)
卵巢癌组	40	16(40.00)	22(45.00)



A:PTEN蛋白的表达;B:PDCD4蛋白的表达。

图1 PTEN、PDCD4蛋白在卵巢癌中的表达(SP×200)

2.2 PTEN、PDCD4 的表达与卵巢浆液性囊腺癌临床病理特征之间的关系 卵巢癌组PTEN在I~II期的阳性表达率明显高于III~IV期($\chi^2=7.111, P=0.008$),高分化明显高于中、低分化($\chi^2=8.403, P=0.004$),差异有统计学意义,与年龄无关($\chi^2=0.269, P=0.604$)。PDCD4在高分化组的阳性表达率明显高于中、低分化($\chi^2=5.017, P=0.025$),与临床分期($\chi^2=0.007, P=0.976$)和年龄($\chi^2=0.017, P=0.897$)无关。见表2。

表2 PTEN、PDCD4表达与卵巢癌临床病理

特征的关系[n(%)]

项目	n	PTEN 阳性	PDCD4 阳性
年龄			
< 50岁	18	8(44.44)	7(38.89)
≥ 50岁	22	8(36.36)	9(40.91)

续表2 PTEN、PDCD4表达与卵巢癌临床病理特征的关系[n(%)]

项目	n	PTEN 阳性	PDCD4 阳性
临床分期			
I~II期	15	10(66.67)	6(40.00)
III~IV期	25	6(24.00)	10(40.00)
病理分级			
高	24	14(58.33)	13(54.17)
中、低	16	2(12.50)	3(18.75)

2.3 PTEN、PDCD4 在卵巢浆液性囊腺癌中相关性的分析 PTEN、PDCD4在卵巢浆液性囊腺癌中的表达呈正相关($r=0.839, P=0.000$),见表3。

表3 PTEN、PDCD4在卵巢浆液性囊腺癌中表达的相关性(n)

PDCD4	PTEN	
	+	-
+	14	4
-	2	20

3 讨 论

PTEN基因是第一个被发现的具有磷酸酯酶活性的肿瘤抑制基因,定位于第10号染色体上10q23.3区,全长2 095 bp,具有9个外显子和8个内含子,也是继P53之后发现的肿瘤中突变率最高的基因。基因突变会导致其磷酸酶活性下降,从而使细胞的恶性增殖能力加强,PTEN突变或缺失可促进血管内皮因子形成,使血管内皮细胞增殖和肿瘤微血管形成,从而使肿瘤侵袭转移能力增强,同时抑制细胞凋亡。在多种肿瘤中发现有PTEN基因的突变或缺失,已发现的如胶质母细胞瘤^[5]、乳腺癌^[6]、肺癌^[7]、消化道肿瘤^[8]、前列腺癌^[9]。而在卵巢癌中研究的较少。本研究发现PTEN在卵巢浆液性囊腺癌中的表达率明显低于良性卵巢肿瘤及正常卵巢组织,因此说明PTEN基因失活可能在卵巢癌的发病中起一定的作用。同时本研究发现卵巢癌分化程度越差,临床分期越晚,PTEN的表达率越低,因此,检测PTEN基因可能对评价卵巢癌的恶性程度、转移及预后具有临床价值^[10-11]。PDCD4是1995年在小鼠体内发现的与细胞凋亡有关的基因。此后又在人类中发现该基因的存在。已知人PDCD4基因定位于10q24,在细胞凋亡时,PDCD4表达增加。PDCD4表示能抑制肿瘤生长,被认为是一种新的肿瘤抑制基因。本研究显示卵巢浆液性囊腺癌中PDCD4表达明显低于良性卵巢肿瘤及正常卵巢组织,卵巢癌分化程度越差PDCD4的表达率越低,以上均说明PDCD4可能与卵巢癌的发生、发展有一定的关系^[12]。

癌症的发生是一个长期的多步骤、多因素的变化过程。而卵巢癌是女性生殖器常见的三大恶性肿瘤之一,死亡率居妇科恶性肿瘤首位,已成为严重威胁妇女生命和健康的主要肿瘤。PTEN及PDCD4为肿瘤抑制基因,本研究发现在卵巢浆液性囊腺癌中PTEN、PDCD4的表达呈正相关,从而推测二者可能在作用机制上存在某种联系,通过相互调节,在卵巢癌的发生发展中发挥协同效应,构成卵巢癌恶性生物学行为的基础。综上所述,PTEN、PDCD4与卵巢癌发生、发展关(下转第1530页)。

有统计学意义($P<0.05$)。单纯呼吸道感染组血清 IMA 浓度显著高于心律失常组。

2.2 各组血清 IMA 阳性率的比较见表 2, 心肌损伤组 IMA

阳性率明显高于健康对照组、心律失常组合单纯呼吸道感染组, 差异有统计学意义。单纯呼吸道感染组 IMA 阳性率显著高于心律失常组。

表 1 各组血清 IMA 浓度的比较

项目	健康对照组($n=104$)	心肌损伤组($n=143$)	心律失常组($n=113$)	单纯呼吸道感染组($n=144$)
IMA(U/mL)	75.82 ± 10.23	$98.23 \pm 20.87^* \# \triangle$	72.45 ± 13.36	$78.24 \pm 22.35 \triangle$
IMA 阳性率[%]	112(11.54)	108(75.52)* #△	8(7.08)	24(16.67)△

* : $P<0.05$, 与健康对照组比较; # : $P<0.05$, 与单纯呼吸道感染组比较; △ : $P<0.05$, 与心律失常组比较。

3 讨 论

IMA 是由 Bar-Or 等^[2]最早研究并发现的心肌缺血标志物。其产生机制为:当心肌缺血时,组织进行无氧代谢,产生的酸性代谢产物改变局部微环境的 pH 值,使蛋白质和细胞内储存的铜等金属离子释放出来,在经过复杂的氧化还原反应后,组织中产生的羟自由基将损害 IMA;其 N 端经羟自由基修饰后与钴的结合力下降^[3]。2003 年美国食品和药品管理局(FDA)已认可 IMA 可作为急性心肌缺血损伤的标志物应用于临床诊断^[4]。

儿童作为一类特殊的群体,其心肌较脆弱,发生轻微的心肌缺血即可引起心肌损伤,若不及时治疗,预后较差。因此,选择灵敏、特异的心肌缺血损伤标志物,及早诊断心肌缺血,对儿童心肌损伤的及时治疗具有重要的临床意义。

本研究结果显示,儿童心肌损伤患者血清 IMA 的浓度和阳性率均明显高于健康对照组、心律失常组以及单纯呼吸道感染组,这表明 IMA 对鉴别儿童心肌损伤、心律失常以及单纯呼吸道感染具有重要意义。同时有研究表明,IMA 在缺血开始后数分钟内即可升高,高峰持续 6~12 h,12 h 后恢复正常^[5]。IMA 在心肌缺血中比经典的心肌损伤标志物 cTnI 更早出现,cTnI 在心肌缺血 3~6 h 才开始升高,11~24 h 达到峰值^[6]。因此,IMA 比 cTnI 更适用于心肌缺血的早期诊断。

综上所述,血清 IMA 是儿童早期心肌缺血损伤的标志物,且其稳定性好,检测方法简单,在儿童早期心肌损伤的诊断中

具有广阔的应用前景,应引起广大医务工作者重视。

参考文献

- 李栋,包安裕,苏汉文.湖北地区健康人群缺血修饰白蛋白血水平参考区间的建立及临床应用[J].微循环学杂志,2011,21(4):49-50.
- Bar-Or D, Lau E, Rao N, et al. Reduction in cobalt binding capacity of human albumin with myocardial ischemia[J]. Ann Emerg Med, 1999, 34(Suppl 1): S56.
- Maguire OC, O'Sullivan J, Ryan J, et al. Evaluation of the albumin cobalt binding(ACB) assay for measurement of ischaemia-modified albumin(IMA) on the Beckman Coulter LX-20[J]. Ann Clin Biochem, 2006, 43(6): 494-499.
- 史连义,吴宝水,张继领.缺血修饰白蛋白临床应用研究进展[J].医学综述,2009,15(21):3239-3241.
- Lippi G, Montagnana M, Salvagno GL, et al. Potential value for new diagnostic markers in the early recognition of acute coronary syndromes[J]. CJEM, 2006, 8(1): 27-31.
- 潘曙明,赵洁,林强,等.超滤法缺血修饰白蛋白检测在急性冠脉综合征早期诊断中的作用[J].中华急诊医学杂志,2009,18(5):523-526.

(收稿日期:2013-01-12)

(上接第 1528 页)

系密切,联合检测二者可能为揭示卵巢癌发生、发展的有关机制提供理论依据,为卵巢癌的基因治疗提供新的靶点。

参考文献

- 陈勇,田怀果.抑癌基因 PTEN 研究进展[J].解剖与临床,2009,14(1):62-64.
- 李秉林,肖建,于如同.肿瘤抑癌基因 PTEN 研究新进展[J].现代肿瘤医学,2010,18(5):1034-1037.
- Lankat-Buttgereit B, Göke R. The tumour suppressor Pcd4 recent advances in the elucidation of function and regulation[J]. Biol Cell, 2009, 101(6): 309-317.
- 陈颖,李建军,杨雪飞,等. PTEN 蛋白在卵巢癌发生发展过程中的表达及临床病理意义[J].中国医科大学学报,2004,33(2):156-158.
- 贾云峰,韦玮,胡国良,等.神经胶质瘤 Ki-67、PTEN、和 survivin 表达的临床研究[J].局解手术学杂志,2012,21(4):343-345.
- 夏欣,张宁.抑癌基因 PTEN 与乳腺癌[J].世界肿瘤杂志,2009,8(3/4):191-196.
- 夏发明,黄立功,潘晓峰,等.非小细胞肺癌 RhoC 及 PTEN 的表达水平及相关性研究[J].中国高等医学教育,2012,6(67):128-130.
- 董君,马彬,杨京京,等.结直肠癌中 p-AKT 和 PTEN 蛋白的表达及其临床意义[J].临床与实验病理学杂志,2010,26(3):316-319.
- 刘光明,马洪顺,孙光. PTEN、FAK 在膀胱移行细胞癌中的表达[J].现代泌尿外科杂志,2009,14(2):114-117.
- 褚艳,岳天孚.卵巢浆液性乳头状囊腺癌中 PTEN、survivin 和 MMP-2 的表达及临床意义[J].实用妇产科杂志,2009,25(9):535-537.
- 朱巧英,沈宇飞,胡建铭,等.卵巢上皮性肿瘤中 PTEN 和 survivin 的表达及意义[J].实用医学杂志,2009,25(18):3009-3010.
- Wei NA, Liu SS, Leung THY, et al. Loss of Programmed cell death 4(Pcd4) associates with the progression of ovarian cancer [J]. Mol Cancer, 2009, 8(1): 70.

(收稿日期:2012-11-08)