

PTEN、P27 和 BAG-1 在子宫内膜癌中的表达及临床意义*

梁艳芳¹, 曾今诚^{2,3}, 康东平¹, 王玲梅¹, 陈 灿¹, 阮建波¹

(1. 东莞市太平人民医院/暨南大学医学院附属东莞医院病理科, 广东东莞 523808; 2. 广东省医学分子诊断重点实验室, 广东东莞 523808; 3. 广东医学院检验医学研究所, 广东东莞 523808)

摘要:目的 研究 PTEN、P27 和 BAG-1 在子宫内膜癌中的表达及其与临床病理特征的关系。方法 免疫组织化学 SP 法检测东莞市太平人民医院 102 例子宫内膜癌组织、90 例子宫内膜增生组织和 44 例正常子宫内膜组织 PTEN、P27 和 BAG-1 蛋白的表达并分析其临床意义。结果 PTEN 和 P27 在子宫内膜癌及增生组织呈低表达, BAG-1 呈高表达。PTEN 和 BAG-1 表达与肿瘤的组织学分级及肌层浸润相关, BAG-1 表达还与患者临床分期相关, 而 P27 表达与患者临床及病理特征均无明显相关性。三者关联性分析显示, PTEN 与 P27 及 BAG-1 之间存在关联性, 而 P27 与 BAG-1 之间无关联。结论 子宫内膜癌及增生组织中 PTEN 和 P27 呈低表达, BAG-1 呈高表达, 三者子宫内膜癌的发生发展中起一定的作用。

关键词:免疫组织化学; 子宫内膜肿瘤; PTEN; P27; BAG-1

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.07.006

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2014)07-0785-03

The expression and clinical significance of PTEN, P27 and BAG-1 in endometrial carcinoma*

Liang Yanfang¹, Zeng Jincheng^{2,3}, Kang Dongping¹, Wang Lingmei¹, Chen Can¹, Ruan Jianbo¹

(1. Department of Pathology, Taiping People's Hospital/Dongguan Hospital Affiliated to Medical College of Jinan University, Dongguan, Guangdong 523808, China; 2. Key Laboratory for Medical Molecular Diagnostics of Guangdong Province, Dongguan, Guangdong 523808, China; 3. Institute of Laboratory Medicine, Guangdong Medical College, Dongguan, Guangdong 523808, China)

Abstract: Objective To study the expression of PTEN, P27 and BAG-1 in endometrial carcinoma, and to analysis the clinical significance. **Methods** The expression of PTEN, P27 and BAG-1 in 102 cases of endometrial carcinoma, 90 cases of endometrial hyperplasia and 44 cases of normal endometrium tissue were detected by immunohistochemistry. **Results** PTEN and P27 in endometrial carcinoma and hyperplasia tissue showed lower expression, BAG-1 showed high expression in them. The expression of PTEN and BAG-1 were well correlated to histology degree and muscular infiltration. BAG-1 expression also had a well correlated to clinical stage. In this study, we had not find a correlated between the expression of P27 and clinical and pathology characteristic of patient. PTEN expression had a Pearson relevance to P27 or BAG-1 expression, but there was no correlation between P27 and BAG-1. **Conclusion** PTEN and P27 in endometrial carcinoma and hyperplasia tissue showed lower expression, BAG-1 showed high expression in them. PTEN, P27 and BAG-1 might play a role in the development of endometrial cancer.

Key words: immunohistochemistry; endometrial neoplasms; PTEN; P27; BAG-1

子宫内膜癌是女性生殖道常见三大恶性肿瘤之一, 是妇科肿瘤中的常见病、多发病。近年来, 其发病率已上升至女性生殖系统恶性肿瘤的 20%~30%。目前, 子宫内膜癌的漏诊率较高, 究其原因, 主要是其缺乏特异临床表现, 预后常与肿瘤生物学特性及恶性程度等多种因素相关。因此, 如何早期诊断及正确判断预后成为目前子宫内膜癌临床研究的热点之一。细胞周期失控是癌变的重要原因, 一旦细胞正常的生长、发育平衡被打破, 细胞将发生增殖失控而导致癌变。为进一步研究这些因素在子宫内膜癌中的表达及相互作用, 本研究采用免疫组织化学方法检测子宫内膜癌组织中 PTEN、P27、BAG-1 的表达情况, 并探讨其临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择东莞市太平人民医院 2005~2011 年手术切除经病理确诊的子宫内膜癌患者 102 例标本、子宫内膜增生 90 例的标本(其中单纯性增生 40 例, 复杂性增生 16 例, 不典型增生 34 例)和正常子宫内膜组织 44 例的标本。102 例患者年龄 34~64 岁, 平均 53.40 岁; 按照国际妇产科联盟(FIGO)进行手术-病理分期: I 期 60 例, II 期 22 例, III~IV 期 20

例; 组织学分级: G1 级 44 例, G2 级 34 例, G3 级 24 例; 无肌层浸润 52 例, 有肌层浸润 50 例, 其中浅肌层浸润($<1/2$)30 例, 深肌层浸润($\geq 1/2$)20 例。以上标本均经 10% 中性福尔马林固定, 石蜡包埋, 4 μm 连续切片。

1.2 试剂 PTEN 和 P27 鼠抗人单克隆抗体、免疫组织化学试剂盒均购自北京中杉金桥生物技术有限公司。BAG-1 兔抗人单克隆抗体购自深圳晶美生物工程有限公司。染色步骤按试剂盒要求进行。用磷酸盐缓冲液(PBS)代替一抗作阴性对照, 已知结肠癌和乳腺癌阳性切片作为阳性对照。

1.3 方法 采用免疫组织化学 SP 法。PTEN 阳性染色位于细胞质, 呈黄色或棕黄色颗粒。P27 阳性染色主要位于细胞核内, 为棕黄色颗粒。BAG-1 阳性染色位于细胞质, 部分细胞出现细胞核棕黄色颗粒。采用双盲法随机选取 10 个高倍视野($\times 400$), 每个高倍视野计数 100 个肿瘤细胞。观察阳性细胞所占的百分比及染色强度。对阳性细胞所占的百分比计分($<5\%=0$ 分, $5\%\sim 25\%=1$ 分, $26\%\sim 50\%=2$ 分, $51\%\sim 75\%=3$ 分, $>75\%=4$ 分)及染色强度(无色=0, 淡黄色=1, 棕黄色=2, 深棕色=3)进行评分, 累积 0 分为阴性(-), 累积大于

表 1 PTEN、P27、BAG-1 在子宫内膜组织中的表达[n(%)]

组别	n	PTEN			P27			BAG-1		
		+~++++	χ^2	P	+~++++	χ^2	P	+~++++	χ^2	P
正常子宫内膜	44	40(90.9)			28(63.6)			4(9.1)		
子宫内膜增生 ^a	90	48(53.3)	16.962	0.002	32(35.6)	2.042	0.030	28(31.1)	0.735	0.047
子宫内膜癌 ^a	102	42(41.2)	14.087	0.000	22(21.6)	0.211	0.000	66(64.7)	3.189	0.000

^a:P<0.05,与正常子宫内膜比较。

表 2 PTEN、P27、BAG-1 表达与患者临床病理特征的关系[n(%)]

项目	n	PTEN			P27			BAG-1		
		+ ~ + + + +	χ^2	P	+ ~ + + + +	χ^2	P	+ ~ + + + +	χ^2	P
组织学分级										
G1	44	26(54.5)	0.000	0.024	10(22.7)	4.348	0.861	18(40.9)	1.829	0.011
G2~G3	58	16(31.0)			12(20.7)			44(75.9)		
FIGO 临床分期										
I	60	24(40.0)	2.370	0.838	18(30.0)	14.087	0.080	26(43.3)	0.000	0.002
II ~ IV	42	18(42.9)			4(9.5)			36(85.7)		
肌层浸润										
无	52	28(53.8)	0.842	0.061	12(23.1)	7.840	0.789	24(46.2)	0.485	0.029
有	50	14(28.0)			10(20.0)			38(76.0)		
年龄										
≤50 岁	52	22(42.3)	0.640	0.867	12(23.1)	7.84	0.789	34(65.4)	0.696	0.493
>50 岁	50	20(40.0)			10(20.0)			28(56.0)		
肿瘤大小										
>5 cm	40	14(35.0)	0.000	0.472	6(15.0)	2.560	0.360	20(50.0)	3.226	0.205
≤5 cm	62	28(45.2)			16(25.8)			42(67.7)		

或等于 1 分为阳性(+)，其中 1~2 分为(+)，3~4 分为(++)，5~6 分为(+++)。以累积积分大于或等于 3 分为高表达，否则视为低表达。

1.4 统计学处理 采用 SPSS15.0 统计软件进行统计分析。计数资料的比较采用 χ^2 检验，关联性分析采用 Pearson 相关分析，以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 PTEN、P27、BAG-1 在子宫内膜组织中的表达 免疫组织化学 SP 法显示，PTEN 和 BAG-1 主要表达于细胞质，P27 主要表达于细胞核。PTEN、P27、BAG-1 在子宫内膜组织中均存在差异表达。PTEN 和 P27 在子宫内膜癌和子宫内膜增生组织中低表达，而 BAG-1 在子宫内膜癌和子宫内膜增生组织中高表达， χ^2 检验分析显示，三者 in 子宫内膜癌或子宫内膜增生组织中的表达与正常子宫内膜组织比较，差异有统计学意义(P<0.05)。见表 1。子宫内膜癌组织中 PTEN 和 P27 表达与子宫内膜增生组织中的表达比较，差异均无统计学意义($\chi^2=0.000, P=0.234; \chi^2=9.025, P=0.128$)；子宫内膜癌组织中 BAG-1 表达与子宫内膜增生组织中的表达比较，差异有统计学意义($\chi^2=0.063, P=0.001$)。

2.2 PTEN、P27、BAG-1 与患者临床病理特征的关系 免疫组织化学 SP 法结果显示，PTEN 在 G1 级子宫内膜癌组织中的表达明显高于 G2~G3 级(P<0.05)，BAG-1 在 G1 级子宫内膜癌组织中的表达明显低于 G2~G3 级(P<0.05)，P27 表达与子宫内膜癌组织学分级无关(P>0.05)。PTEN 和 P27 表达均与患者 FIGO 临床分期、肌层浸润程度、年龄及肿瘤大小无关(P>0.05)，BAG-1 表达与患者 FIGO 临床分期和肌层浸润程度相关，II~IV 期明显高于 I 期(P<0.05)，肌层浸润

程度越深表达越高(P<0.05)。BAG-1 表达与患者年龄及肿瘤大小无关(P>0.05)。见表 2。

2.3 PTEN、P27、BAG-1 在子宫内膜癌中的相关性分析 Pearson 相关分析子宫内膜癌 PTEN、P27、BAG-1 之间的关联性显示，子宫内膜癌中 PTEN 和 P27 表达存在相关性(P<0.05)，BAG-1 和 P27 两者在子宫内膜癌中的表达无关联性(P>0.05)，见表 3；PTEN 和 BAG-1 表达之间也存在关联性(P<0.05)，见表 4。

表 3 PTEN 和 P27 关联性分析(n)

分组	项目	P27		r	χ^2	P
		+~++++	-			
PTEN	阳性	18	24	0.397	9.564	<0.05
	阴性	4	56			
BAG-1	阳性	12	50	0.067	0.229	>0.05
	阴性	10	30			

表 4 PTEN 和 BAG-1 关联性分析(n)

PTEN	BAG-1		r	χ^2	P
	+~++++	-			
+~++++	16	26	0.362	7.710	<0.05
-	46	14			

3 讨 论

PTEN 是 1997 年发现的具磷酸酯酶活性的抑癌基因。近

年来研究发现其抑癌作用的发挥主要体现在通过参与 PTEN/PI3K/AKT、PTEN/FAK/P130cas、PTEN/ERK、p53/MDM2、FRAP/mTOR 等多条信号途径,诱导细胞周期停止和程序性细胞死亡,调节细胞粘连、迁移和分化,抑制血管的生成等^[1]。特别是 PTEN 参与调节的 PI3K/AKT 信号途径是一个独立于其他通路的新的生长因子信号传导系统,参与调控肿瘤细胞代谢、生长、凋亡、恶变等生物学特性。PTEN 是目前已知的子宫内膜癌中突变率最高的基因,蒋宋薇等^[2]研究也认为 PTEN 表达缺失与子宫内膜癌的发生有关。本研究通过检测 102 例子宫内膜癌组织,90 例子官内膜增生组织和 44 例正常子宫内膜组织也发现,癌组织和增生组织 PTEN 的表达有较高缺失率。PTEN 的表达在子宫内膜癌的发生发展中具有重要作用。本研究还发现,癌组织中 PTEN 缺失表达与 P27 缺失表达存在关联性($P<0.05$)。同时与 BAG-1 过表达存在关联性($P<0.05$)。P27 是一个重要的候选抑癌基因,是细胞周期蛋白依赖性激酶抑制蛋白家族的重要成员,在控制细胞 G₁/S 期检查点中具有重要作用。P27 表达缺失使肿瘤细胞容易跨过 G₁/S 期检查点从而诱导细胞恶性增殖。P27 低表达已被认为与肿瘤预后不良及高侵袭性密切相关^[3]。近来 Abu Backer 等^[4]认为,P27 在鉴别子宫颈内腺癌与子宫内膜癌中具有重要意义。子宫内膜癌中 P27 缺失表达较子宫颈内腺癌更高。本研究也显示,子宫内膜癌中具有较高 P27 缺失率。BAG-1 是 BAG 家族的重要成员,在拮抗肝细胞生长因子、血小板衍生长因子介导的细胞凋亡中发挥重要作用^[5]。BAG-1 可通过与 Bcl-2、肝细胞生长因子受体、热休克蛋白 Hsp70/Hsc70、Raf-1 激酶及多种甾体类激素受体相互作用,形成复合体,调节细胞生长增殖和凋亡抑制的作用,BAG-1 也是通过多种途径来实现凋亡抑制的。相关研究表明,BAG-1 在多种恶性肿瘤中均有较高的表达且与肿瘤的恶性转化密切相关^[6-7]。本研究通过免疫组织化学 SP 法检测了 PTEN、P27、BAG-1 在子宫内膜癌组织中的表达情况,结果显示 PTEN 和 P27 在子宫内膜癌和子宫内膜增生组织中低表达,而 BAG-1 在子宫内膜癌和子宫内膜增生组织中高表达。PTEN 在 G1 级子宫内膜癌组织中的表达明显高于 G2~G3 级,BAG-1 在 G1 级子宫内膜癌组织中的表达明显低于 G2~G3 级,且 PTEN 和 BAG-1 表达之间存在相关性。PTEN 表达与患者 FIGO 临床分期、肌层浸润程度、年龄及肿瘤大小无关。BAG-1 表达与患者 FIGO 临床分期和有无肌层浸润相关,与患者年龄及肿瘤大小无关。究竟是 PTEN 表达影响了 BAG-1 表达,还是 BAG-1 表达影响着 PTEN 表达?还有待深入研究。作者认为,PTEN 和 BAG-1 在子宫内膜癌的发生过程中具有重要作用,并可能存在某种关联性。PTEN 是目前已知的子宫内膜癌中突变率最高的基因,其在子宫内膜癌中的本质作用还在深入研究中。目前,多数研究认为 BAG-1 在乳腺癌发生发展中具有重要作用。Townsend 等^[8]研究发现,BAG-1 在乳腺癌中的阳性率为 92% (147/160),并认为乳腺癌组织学分级与 BAG-1 细胞核阳性呈负相关,高分化肿瘤核表达减弱,但与细胞质表达关联性差异无统计学意义($P>0.05$)。目前,在妇科肿瘤中 BAG-1 的研究主要集中于宫颈癌和卵巢癌的基础性研究,在子宫内膜癌的研究相对较少。早年 Ribeiro-Silva^[9]发现 10% 以上的宫内膜鳞腺癌细胞 BAG-1 阳性表达。夏守国等^[10]研究发现 BAG-1 可能参与子宫内膜癌细胞凋亡与分化的调控。张宾等^[11]在子宫内膜样腺癌中的研究发现 BAG-1 高表达与子宫内膜样腺癌的发生、发展有关。结合本研究结果,作者认为 BAG-1 可能在子

宫内膜癌发生发展中起到一个比较重要的作用。Bamberger 等^[12]发现 P27 可调控正常子宫内膜增生,其低或缺失表达可能是子宫内膜癌发生的重要步骤。本研究结果表明,P27 表达水平随着子宫内膜癌恶性程度的增加而下降,但与患者 FIGO 临床分期、有关肌层浸润、年龄及肿瘤大小无关。本研究提示 PTEN、P27 缺失表达和 BAG-1 过表达可能在子宫内膜癌的发生发展中起一定的作用。

参考文献:

- [1] 曾今诚,林观平,周克文. PTEN 信号途径与肿瘤相关研究进展[J]. 广东医学院学报,2010,28(2):193-196.
- [2] 蒋宋薇,徐红,梁秀就,等. 子宫内膜癌组织 PTEN 和 c-erbB-2 蛋白表达临床意义的探讨[J]. 中华肿瘤防治杂志,2009,16(16):1246-1249.
- [3] Nycum LR,Smith LM,Farley JH,et al. The role of p27 in endometrial carcinoma[J]. Gynecol Oncol,2001,81(2):242-246.
- [4] Abu Backer FM,Mustapha NR,Othman NH. Combined expression of p161NK4a and p27Kip1, but not p21WAF1, differentiates endocervical from endometrial adenocarcinoma[J]. Anal Quant Cytol Histol,2011,33(5):283-288.
- [5] Shimanuki Y,Takahashi K,Cui R,et al. Role of serum vascular endothelial growth factor in the prediction of angiogenesis and prognosis for non-small cell lung Cancer[J]. Lung,2005,183(1):29-42.
- [6] Turner BC,Krajewski S,Krajewska M,et al. BAG-1; a novel biomarker predicting long-term survival in early-stage breast Cancer[J]. J Clin Oncol,2001,19(4):992-1000.
- [7] Song JY,Kim JW,Lee JK,et al. BAG-1 expression in normal endometrium,endometrial hyperplasia and endometrial Cancer[J]. Acta Obstet Gynecol Scand,2008,87(8):862-867.
- [8] Townsend PA,Dublin E,Hart IR,et al. BAG-1 expression in human breast Cancer;interrelationship between BAG-1 RNA,protein,HSC70 expression and clinico-pathological data[J]. J Pathol,2002,197(1):51-59.
- [9] Ribeiro-Silva A. Immunohistochemical features of a papillary squamous cell carcinoma of the endometrium with transitional cell differentiation[J]. Diagn Pathol,2007,2(26):26.
- [10] 夏守国,李大可,黄惠琼,等. 抗凋亡蛋白 BAG-1 在子宫内膜癌中的表达及其与肿瘤分化的关系[J]. 四川医学,2006,27(8):863-864.
- [11] 张宾,李畅,种道群,等. 子宫内膜样腺癌组织 GELSOLIN 和 BAG-1 蛋白的表达及其临床意义[J]. 中华肿瘤防治杂志,2009,16(11):856-859.
- [12] Bamberger AM,Riethdorf L,Milde-Langosch K,et al. Strongly reduced expression of the cell cycle inhibitor p27 in endometrial neoplasia[J]. Virchows Arch,1999,434(5):423-428.