

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.08.020

CIP2A 及 c-Myc 在宫颈癌组织中的表达及相关性分析

胡 茜¹, 刘 昆²

(1. 四川省成都市妇女儿童中心医院产科 610081; 2. 四川省抗生素研究所, 成都 610052)

[摘要] **目的** 检测蛋白磷酸酶 2A 的癌性抑制因子(CIP2A)和 c-Myc 蛋白在宫颈癌组织中的表达水平并分析二者表达的相关性。**方法** 运用免疫组织化学染色技术检测 CIP2A 和 c-Myc 蛋白在 72 例宫颈癌和 12 例正常宫颈组织中的表达水平, 分析 CIP2A 和 c-Myc 与宫颈临床病理特征的相关性以及二者表达的相关性。**结果** CIP2A 和 c-Myc 蛋白在宫颈癌组织中的阳性率分别为 52.8%(38/72)和 56.9%(41/72), 而二者在正常宫颈组织中的阳性率分别为 8.3%(1/12)和 25.0%(3/12), 差异有统计学意义($\chi^2=8.169, P=0.004; \chi^2=4.208, P=0.040$)。CIP2A 和 c-Myc 蛋白表达与肿瘤组织病理分化和临床分期显著相关($P<0.05$), 而与年龄、淋巴结转移和肿瘤病理类型无明显相关性。Pearson 相关分析结果显示宫颈癌组织中 CIP2A 与 c-Myc 蛋白表达呈显著正相关($r=0.673, P=0.001$)。**结论** 宫颈癌组织中 CIP2A 高表达与恶性临床病理特征密切相关, 并与 c-Myc 蛋白表达呈显著正相关。

[关键词] CIP2A; c-Myc; 宫颈癌
[中图分类号] R711.74 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2015)08-1072-03

The expression of CIP2A and c-Myc and their correlation analysis in cervical carcinoma tissues

Hu Qian¹, Liu Kun²

(1. Obstetrics, Women and Children's Hospital Center in Chengdu, Chengdu 610081, China;
2. Institute of Antibiotics of Sichuan Provincial, Chengdu 610052, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the expression of CIP2A and c-Myc and their correlation in cervical carcinoma. **Methods** We detected CIP2A and c-Myc expression using immunohistochemistry in 72 samples of cervical carcinoma and 12 samples of normal cervix tissues. Correlation between proteins and clinicopathologic features and relation between CIP2A and c-Myc expression were analyzed. **Results** The positive expression of CIP2A and c-Myc in cervical carcinoma tissues were 52.8% and 56.9%, respectively. While their positive expression in normal cervix tissues were 8.3% and 25.0%, respectively. The differences had statistical significance($\chi^2=8.169, P=0.004; \chi^2=4.208, P=0.040$, respectively). Clinicopathological analysis suggested that CIP2A and c-Myc protein expression were associated with histopathological differentiation and clinical stage($P<0.05$) in cervical carcinoma, but the protein expression was not related to age, lymph node metastasis and pathological type. CIP2A was significantly positive correlated with c-Myc protein in cervical carcinoma($r=0.673, P=0.001$). **Conclusion** The high-expression of CIP2A is correlated with malignant clinicopathologic characteristics, and CIP2A is positively associated with c-Myc, suggesting that CIP2A may promote tumor initiation and development through maintaining c-Myc protein in cervical carcinoma.

[Key words] CIP2A; c-Myc; cervical carcinoma

蛋白磷酸酶 2A 的癌性抑制因子(cancerous inhibitor of protein phosphatase 2A, CIP2A)最近新发现的一个癌蛋白, CIP2A 通过抑制蛋白磷酸酶 2A (protein phosphatase 2A, PP2A)对 c-Myc S62 的脱磷酸化作用, 从而遏制 PP2A 介导的 c-Myc 降解, 稳定肿瘤细胞中 c-Myc 蛋白水平^[1]。之前报道称 CIP2A 在胃癌组织中表达升高, 干扰其表达导致肿瘤细胞集落生成受损、细胞衰老和肿瘤分化^[2]。另外, 在人头颈部肿瘤、结肠癌、乳腺癌和口腔鳞状细胞癌中均发现 CIP2A 高表达^[3-6], 但 CIP2A 在宫颈癌组织中的表达及其与 c-Myc 的相关性少有报道。本课题应用免疫组织化学染色技术检测 CIP2A 和 c-Myc 在宫颈癌及正常宫颈组织中的表达水平, 分析 CIP2A 和 c-Myc 与宫颈癌临床病理特征的相关性及二者表达的相关性, 初步探讨 CIP2A 在宫颈癌发生、发展中的作用。

1 资料与方法

1.1 一般资料 随机收集成都市妇女儿童中心医院病理科 2009 年 1 月至 2012 年 12 月保存的宫颈癌组织标本, 共 72 例, 年龄 29~68 岁, 平均(42.3±3.4)岁。其中, 鳞癌 60 例, 腺癌

12 例; 分化程度: 高、中分化 39 例, 低分化 33 例; 临床分期(FIGO, 2009): I~II 期 35 例, III~IV 期 37 例。12 例正常宫颈组织标本来源于因慢性宫颈炎或子宫纤维瘤行全子宫切除术的患者, 年龄 30~65 岁, 平均(41.7±2.5)岁。两组患者年龄具有可比性。本研究通过本院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 CIP2A 和 c-Myc 蛋白的免疫组织化学染色 采用标准生物素-链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶(streptavidin-peroxidase-biotin, SP)法对 4 μm 石蜡切片进行染色。切片在 60℃烤箱中烘烤 60 min, 然后经二甲苯脱蜡和再水化, 0.01 mmol/L 柠檬酸盐缓冲液(pH 6.0)抗原热修复, 室温冷却 20 min, 0.3% Triton-X100 处理 30 min, 3% 双氧水-甲醇封闭内源性过氧化物酶活性, 正常血清封闭非特异性结合, 切片经 CIP2A(1:250, Novus Biologicals 公司)和 c-Myc(1:400, Cell Signaling Technology 公司)抗体 4℃孵育过夜。冲洗后滴加生物素标记的二抗(SP 试剂盒, 北京中杉金桥生物技术有限公司), 室温孵育 30 min。滴加辣根酶标记的链霉卵白素工作液,

室温孵育 30 min。滴加 DAB 显色,苏木素轻度复染。乙醇梯度脱水,二甲苯透明,中性树胶封片。PBS 代替一抗作为阴性对照。

1.2.2 免疫组织化学染色评估 所有切片由 2 位研究人员进行评估,染色强度评分:0 分,阴性;1 分,弱阳性;2 分,中度;3 分,强阳性。阳性细胞百分比评分:无阳性细胞,0 分; $\leq 25\%$, 1 分; $26\% \sim 50\%$, 2 分; $51\% \sim 75\%$, 3 分; $>75\%$, 4 分。染色强度和阳性细胞百分比评分相乘大于或等于 1 分则认为 CIP2A 或 c-Myc 蛋白阳性表达^[7]。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 13.0 统计软件进行分析处理,分类资料运用 χ^2 检验,相关性分析采用 Pearson 相关系数,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 宫颈癌及正常宫颈组织中 CIP2A 和 c-Myc 的表达水平比较 应用免疫组织化学染色技术检测 72 例宫颈癌及 12 例正常宫颈组织中 CIP2A 和 c-Myc 表达水平,CIP2A 和 c-Myc

蛋白阳性反应为棕黄色或棕褐色,CIP2A 蛋白主要定位在细胞质和细胞膜,而 c-Myc 蛋白主要定位于细胞质和细胞核(图 1)。CIP2A 和 c-Myc 蛋白在宫颈癌组织中的阳性率分别为 52.8%(38/72)和 56.9%(41/72),而二者在正常宫颈组织中的阳性率分别为 8.3%(1/12)和 25.0%(3/12),差异有统计学意义($\chi^2=8.169,P=0.004$; $\chi^2=4.208,P=0.040$)。

2.2 CIP2A 和 c-Myc 蛋白表达与宫颈癌临床病理特征的相关性 应用 χ^2 检验分析 CIP2A 及 c-Myc 蛋白表达与宫颈癌临床病理特征的相关性,结果见表 1。CIP2A 和 c-Myc 蛋白表达与肿瘤组织病理分化和临床分期有关($P<0.05$),而与年龄、淋巴结转移和肿瘤病理类型无显著相关性。

2.3 宫颈癌组织中 CIP2A 与 c-Myc 蛋白表达相关性 应用免疫组织化学评分对 72 例宫颈癌组织中 CIP2A 和 c-Myc 蛋白表达行半定量分析,Pearson 相关分析结果显示宫颈癌组织中 CIP2A 与 c-Myc 蛋白表达呈显著正相关($r=0.673,P=0.001$)。

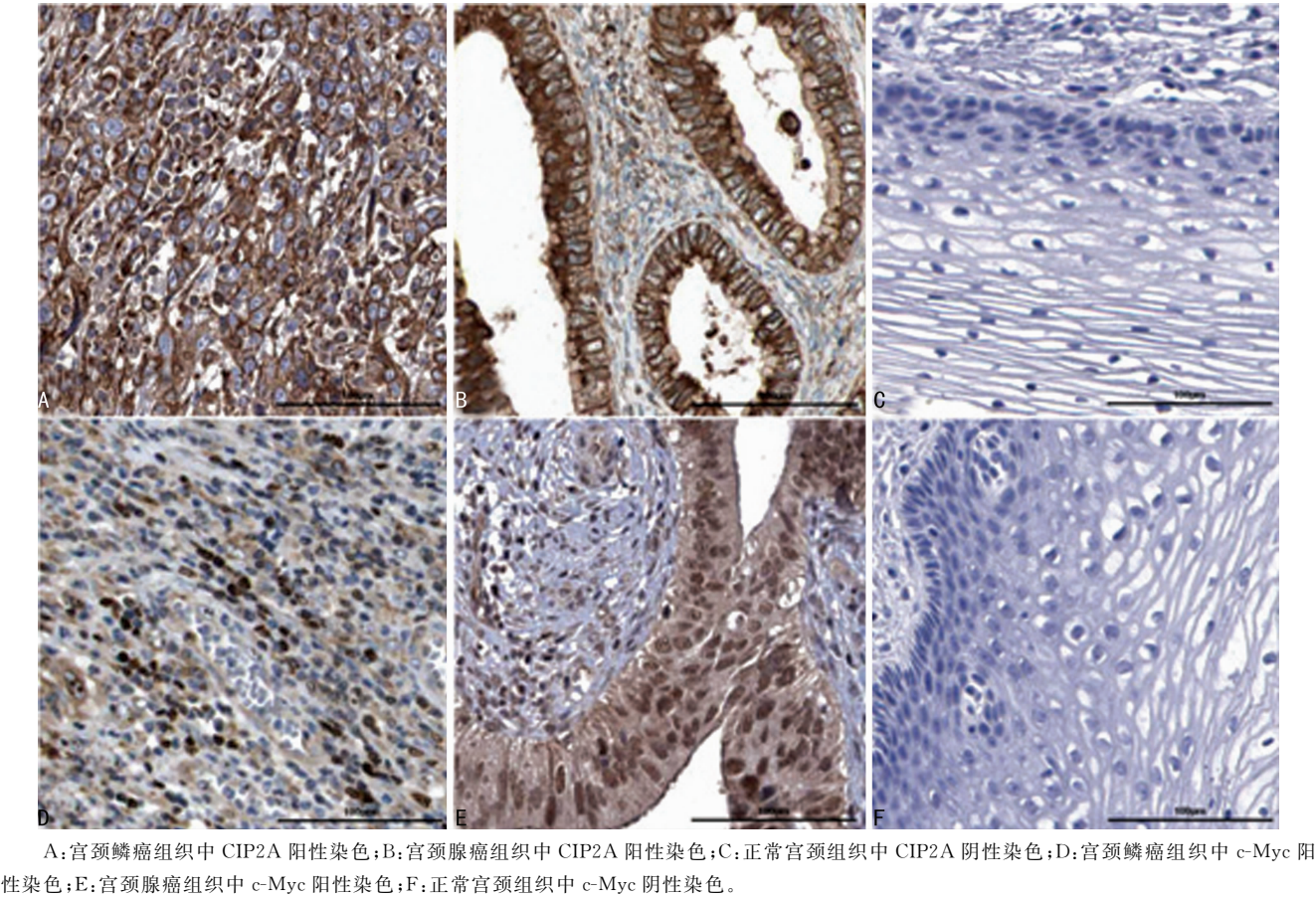


图 1 CIP2A 和 c-Myc 蛋白在宫颈癌及正常宫颈组织中的免疫组织化学染色(SP,×400)

表 1 CIP2A 和 c-Myc 蛋白表达与宫颈癌临床病理特征的相关性(n=72)

临床参数	类别	n	CIP2A		χ^2	P	c-Myc		χ^2	P
			阳性	阴性			阳性	阴性		
年龄(岁)	≤ 40	31	18	13	0.611	0.435	20	11	0.072	0.788
	>40	41	20	21			21	20		
临床分期	I~II	35	12	23	9.345	0.002	14	21	7.976	0.005
	III~IV	37	26	11			27	10		
分化程度	高、中分化	39	15	24	6.998	0.008	17	22	6.190	0.013

续表 1 CIP2A 和 c-Myc 蛋白表达与宫颈癌临床病理特征的相关性 (n=72)

临床参数	类别	n	CIP2A		χ^2	P	c-Myc		χ^2	P
			阳性	阴性			阳性	阴性		
淋巴结转移	低分化	33	23	10	0.991	0.320	24	9	0.432	0.511
	无	51	25	26			31	20		
	有	21	13	8			10	11		
病理类型	鳞癌	60	31	29	0.178	0.673	33	27	0.555	0.456
	腺癌	12	7	5			8	4		

3 讨 论

宫颈癌是导致妇科肿瘤患者死亡的第 2 位因素,每年全世界约有 500 000 新确诊病例,超过 1/3 的患者死亡^[8]。人乳头瘤病毒(human papilloma virus, HPV)在宫颈癌发生、发展中发挥重要作用。目前,HPV 疫苗的应用一定程度减少了宫颈癌发病率^[9]。CIP2A 由于具有转化人永生化细胞的能力而被证实为一种癌蛋白,最近 CIP2A 过表达在多种人类肿瘤中被报道,更重要的是许多研究发现 CIP2A 可以充当不同实体肿瘤和血液系统肿瘤的预后分子标志物,如非小细胞肺癌、结肠癌、乳腺癌、卵巢癌、肾癌、舌癌、食管腺癌、膀胱癌和慢性髓样白血病^[10]。本研究发现 CIP2A 在宫颈癌组织中的阳性表达率显著高于正常宫颈组织,既往有学者也证实了 CIP2A 在宫颈鳞癌组织中的表达水平高于正常宫颈和 CIN I ~ III 组织^[11],与本研究结果一致。进一步研究发现 CIP2A 蛋白表达与宫颈癌临床分期和分化程度呈显著相关,而 Liu 等^[11]研究发现 CIP2A 与宫颈癌临床病理特征无明显相关。本研究纳入了宫颈鳞癌和腺癌 2 种病理类型,而 Liu 等^[11]只纳入了宫颈鳞癌一种病理类型,不能代表宫颈癌整体,这可能是导致出现不同结论的原因。

c-Myc 作为一个经典的促癌蛋白参与许多生物学功能(如细胞增殖、分化、衰老、凋亡和转化),而在宫颈癌组织中已经证实存在 c-Myc 蛋白过表达^[12-14]。本研究也发现 c-Myc 蛋白在宫颈癌组织中表达水平显著高于正常宫颈组织。另外,统计学分析发现在高临床分期和低分化的肿瘤组织中 c-Myc 阳性率更高。CIP2A 是一个细胞 PP2A 抑制因子,通过抑制 PP2A 介导的 c-Myc 丝氨酸 62 号位脱磷酸化作用从而限制 c-Myc 蛋白水解。进一步评估宫颈癌组织中 CIP2A 和 c-Myc 蛋白表达相关性,结果发现 CIP2A 与 c-Myc 蛋白表达呈显著正相关。既往研究证实宫颈癌细胞系中干扰 CIP2A 表达可以导致 c-Myc 蛋白表达水平降低和细胞增殖^[11],提示 CIP2A 可能通过稳定 c-Myc 蛋白促进宫颈癌恶性生物学行为。

参考文献

[1] Junttila MR,Puustinen P,Niemelä M,et al. CIP2A inhibits PP2A in human malignancies[J]. Cell,2007,130(1): 51-62.

[2] Li W,Ge Z,Liu C,et al. CIP2A is overexpressed in gastric cancer and its depletion leads to impaired clonogenicity, senescence,or differentiation of tumor cells[J]. Clin Cancer Res,2008,14(12):3722-3728.

[3] Lin YC,Chen KC,Chen CC,et al. CIP2A-mediated Akt activation plays a role in bortezomib-induced apoptosis in

head and neck squamous cell carcinoma cells[J]. Oral Oncol,2012,48(7):585-593.

[4] Wiegner A,Pfann C,Uthe FW,et al. CIP2A influences survival in colon cancer and is critical for maintaining Myc expression[J]. PLoS One,2013,8(10):e75292.

[5] Niemelä M,Kauko O,Sihto H,et al. CIP2A signature reveals the MYC dependency of CIP2A-regulated phenotypes and its clinical association with breast cancer subtypes[J]. Oncogene,2012,31(39):4266-4278.

[6] Katz J,Jakymiw A,Ducksworth MK,et al. CIP2A expression and localization in oral carcinoma and dysplasia[J]. Cancer Biol Ther,2010,10(7):694-699.

[7] 涂康生,杨雪,宋涛,等. 原发性肝细胞癌组织中 CIP2A 和 c-myc 蛋白的表达及其意义[J]. 中国普通外科杂志, 2011,20(1):95-98.

[8] 车艳红,卢爱妮,廖予妹. 年轻妇女宫颈癌临床及病理分析[J]. 重庆医学,2013,42(28):3427-3428,3429.

[9] 吴丹梅,陈曼玲,金松. TCT HPV 及 hTERC 基因检测在宫颈癌筛查中的临床价值[J]. 重庆医学,2013,42(34): 4185-4186,4187.

[10] Puustinen P,Rytter A,Mortensen M,et al. CIP2A oncoprotein controls cell growth and autophagy through mTORC1 activation[J]. J Cell Biol,2014,204(5):713-727.

[11] Liu J,Wang X,Zhou G,et al. Cancerous inhibitor of protein phosphatase 2A is overexpressed in cervical cancer and upregulated by human papillomavirus 16 E7 oncoprotein[J]. Gynecol Oncol,2011,122(2):430-436.

[12] Albiñ A,Johnsen JI,Henriksson MA. MYC in oncogenesis and as a target for cancer therapies[J]. Adv Cancer Res,2010,107:163-224.

[13] Liao LM,Sun XY,Liu AW,et al. Low expression of long noncoding XLOC_010588 indicates a poor prognosis and promotes proliferation through upregulation of c-Myc in cervical cancer[J]. Gynecol Oncol,2014,133(3):616-623.

[14] Li T,Tang L,Bian D,et al. Detection of hTERC and c-MYC genes in cervical epithelial exfoliated cells for cervical cancer screening[J]. Int J Mol Med,2014,33(5): 1289-1297.