

• 研究报告 •

Livin 和 PTEN 在结直肠癌组织中的表达及意义

李日恒

(河北大学附属医院普外科, 河北 保定 071000)

【摘要】 目的 探讨 Livin 蛋白和 PTEN 蛋白在结直肠癌组织中的表达和意义。方法 应用免疫组化法检测 10 例正常大肠组织, 30 例大肠腺瘤、息肉组织, 60 例结直肠癌组织中 Livin 蛋白和 PTEN 蛋白的表达。结果 PTEN 蛋白在结直肠癌组织中的阳性表达率明显低于正常大肠组织及大肠腺瘤、息肉组织, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); Livin 蛋白在正常大肠组织及结肠腺瘤、息肉组织中无表达, 在结直肠癌组织中高表达, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。在结直肠癌组织中, 随组织病理分级的增加, PTEN 蛋白表达阳性率逐渐下降, Livin 蛋白表达阳性率逐渐上升, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$ 和 $P < 0.05$); Livin 蛋白和 PTEN 蛋白表达呈负相关 ($P < 0.05$)。结论 Livin、PTEN 在结直肠癌发生发展过程中起着重要的作用, 联合检测可为结直肠癌的早期诊断、进一步治疗及预后提供必要的理论依据。

【关键词】 结直肠癌; 免疫组化; Livin; PTEN

中图分类号: R735.35; R730.23 文献标识码: B DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2009.04.021

应用免疫组化法对 60 例结直肠癌、30 例大肠腺瘤、息肉患者组织及 10 例正常人大肠组织中 Livin 和 PTEN 的蛋白表达进行了检测, 了解 Livin 蛋白和 PTEN 蛋白在这些组织中的表达, 探讨 Livin 和 PTEN 在结直肠癌组织中的表达规律及其相关性, 旨在为结直肠癌的诊断及治疗寻求一条新的途径。

1 资料与方法

1.1 临床资料: 收集本院 2004—2008 年结 80 例直肠癌手术患者标本, 全部标本经体积分数为 10% 的甲醛水溶液固定, 石蜡包埋。经复阅组织切片, 对诊断明确、资料完整的 60 例结直肠癌患者癌组织进行研究。所有病例术前均未进行放疗或化疗。组织病理学分类: “黏液癌” 10 例, 包括黏液腺癌、印戒细胞癌; “非黏液癌” 50 例包括乳头状腺癌、管状腺癌及未分化癌; 高分化腺癌 11 例, 中分化腺癌 19 例, 低分化腺癌 16 例。结直肠癌临床病理分期根据 Dukes 分期标准, A 期 16 例, B 期 18 例, C 期 17 例, D 期 9 例; 有淋巴结转移 14 例, 无淋巴结转移 46 例。30 例患者纤维结肠镜下手术切除后经病理检查证实的大肠腺瘤、息肉组织标本和 10 例正常人大肠组织标本作为对照。

1.2 实验方法: 标本经甲醛水溶液固定, 石蜡包埋, 切片厚度为 3 μm 。采用过

氧化物酶标记的链霉卵白素法 (SP 法), 一抗为兔抗人 Livin 多克隆抗体 (由美国 ADI 公司生产) 和兔抗人 PTEN 多克隆抗体 (购于武汉博士德生物工程有限公司)。免疫组化染色即用型快速免疫组化 Max Vision™ 试剂盒及 3,3'-二氨基联苯胺 (DAB) 显色试剂盒均购自福州迈新生物技术有限公司。用磷酸盐缓冲液 (PBS) 替代一抗设为阴性对照。

1.3 结果判定: Livin、PTEN 阳性染色均为棕黄色颗粒, 计算阳性细胞数。分级方法如下: - 为无棕黄色颗粒, + 为阳性细胞数 $> 1\%$ 而 $< 25\%$, ++ 为阳性细胞数在 $25\% \sim 50\%$, +++ 为阳性细胞数 $> 50\%$ 。进行统计学分析时, + ~ +++ 均作为阳性表达处理。

1.4 统计学方法: 数据采用 SPSS 12.0 统计软件进行分析, 率的比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Livin 蛋白表达 (表 1~2): 正常大肠组织和大肠腺瘤、息肉组织细胞中均未观察到黄色或棕黄色颗粒。60 例结直肠癌组织 Livin 蛋白表达阳性率为 70.0%, 与正常大肠及大肠腺瘤、息肉组织比较差异均有统计学意义 ($P < 0.01$); Livin 蛋白在结直肠癌组织中定位在细胞质中。Livin 蛋白的表达与结直肠癌患者的病理类型、淋巴结转移及 Dukes 分期均无明显相关关系, 与肿瘤分化程度明显相关 ($P < 0.05$)。

2.2 PTEN 蛋白表达 (表 1~2): PTEN

蛋白阳性细胞定位于细胞质。60 例结直肠癌患者组织中 PTEN 蛋白表达阳性率明显低于正常大肠组织和大肠腺瘤、息肉组织, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。PTEN 蛋白表达与结直肠癌病理类型、淋巴结转移及 Dukes 分期均无明显相关关系 ($P > 0.05$), 而与肿瘤分化程度明显相关 ($P < 0.01$)。

2.3 Livin 蛋白与 PTEN 蛋白的相关性: 相关分析显示, Livin 蛋白在结直肠癌组织、大肠腺瘤和息肉、正常大肠的表达阳性率与 PTEN 蛋白的表达阳性率呈反向关系 ($P < 0.05$)。

3 讨论

结直肠癌是一种严重危害人类健康的消化系统恶性肿瘤。根据世界卫生组织 (WHO) 国际癌症研究局 (IARC) 2002 年最新统计表明, 全球结直肠癌每年新发病例数达 94 万, 每年近 50 万人死于结直肠癌。我国结直肠癌病死率呈逐年升高趋势, 近 25 年来, 结直肠癌已成为我国发病率增长最快的恶性肿瘤, 其发病率增长了 100%。近年来, 结直肠癌的基础和临床研究已取得很大进步, 但因学和发病机制尚未完全阐明。

Livin 是 2000 年发现的凋亡抑制蛋白家族新成员, 存在于胚胎组织中, 在胎儿发育过程中的多种组织中呈高表达, 在正常成人的大多数终末组织中 (除胎盘) 低表达或不表达, 正常大肠组织中无 Livin 基因的表达^[1-3]。Livin 的细胞定位各方面报道不一。对多种肿瘤中 Livin

作者简介: 李日恒 (1972 -), 男 (汉族), 山东省人, 医学博士, 主治医师, Email: lrhzy@sina.com。

表 1 结直肠癌组织与正常大肠及大肠腺瘤、息肉组织中 Livin 和 PTEN 蛋白表达的比较

组织类型	例数	Livin 蛋白表达阳性率[% (例)]	PTEN 蛋白表达阳性率[% (例)]
结直肠癌组织	60	70.0(42)	16.7(10)
大肠腺瘤、息肉组织	30	0 (0) ^b	53.3(16) ^a
正常大肠组织	10	0 (0) ^b	90.0(9) ^a

注:与结直肠癌组织比较,^a $P<0.05$,^b $P<0.01$

表 2 Livin 蛋白、PTEN 蛋白与结直肠癌组织病理分级的关系

临床病理参数	例数	Livin 表达			PTEN 表达		
		阳性	阴性	P 值	阳性	阴性	P 值
病理类型 黏液癌	10	4	6	>0.05	10	0	>0.05
非黏液癌	50	14	36		44	6	
组织学分级 高分化	11	6	5	<0.05	7	4	<0.01
中分化	19	6	13		17	2	
低分化	16	1	15		16	0	
Dukes 分期 A 期	16	7	9	>0.05	14	2	>0.05
B 期	18	7	11		15	3	
C 期	17	3	14		17	0	
D 期	9	1	8		8	1	
淋巴结转移 有	14	5	9	>0.05	11	3	>0.05
无	46	14	32		43	3	

的研究显示,Livin 在很多肿瘤组织中有过表达现象,如在黑色素瘤、人子宫颈癌 Hela 细胞、人肝癌细胞、非小细胞肺癌细胞、白血病 T 淋巴细胞、鼻咽癌、胃癌、胰腺癌及肝癌中均有显著的过表达现象^[4-5],说明 Livin 的过表达可能是维持肿瘤细胞在体内生长的重要因素。

PTEN 基因是 1997 年发现的具有双重特异性磷酸酶活性的肿瘤抑制基因^[6],为第 10 号染色体丢失的张力蛋白同源的磷酸酶基因。PTEN 的重要作用表现在:①抑制细胞周期进展,诱导细胞 G1 期阻滞和凋亡,抑制细胞生长;②具有 DSP 活性,参与整合素跨膜信号转导,下调局部黏着斑激酶(FAK)磷酸化,抑制细胞的趋化、迁移、聚集和黏附;③调节未分化和已分化细胞的体积,调控未分化细胞的增殖^[7];④降低脂肪合成酶(FAS)的表达。FAS 过表达是肿瘤最常见的分子改变之一,PTEN 失活使 FAS 在癌细胞过表达^[8]。

大量证据表明,PTEN 是一个强有力的抑癌基因,在多种肿瘤中频繁发生突变,其突变频率可以与 p53 相匹敌^[9]。PTEN 的抑癌功能主要依赖于脂质磷酸酶的活性^[10]。PTEN 的抑癌作用主要表现在:①抑制细胞周期;②诱导细胞凋亡;③抑制肿瘤细胞侵袭和转移^[11];

④抑制肿瘤血管生成^[12];⑤抑制免疫系统的稳定性。

本实验中采用免疫组化法检测发现,Livin 蛋白、PTEN 蛋白均定位于细胞质中。在正常大肠及结肠腺瘤、息肉组织中 Livin 无表达,而 PTEN 则高表达;在结直肠癌组织中 Livin 高表达,同时 PTEN 低表达。说明 PTEN 与 Livin 共同参与了结直肠癌的发病机制。实验发现,Livin 蛋白的表达与结直肠癌组织的分化程度有关,分化程度越低,表达越高。PTEN 在正常大肠和结直肠癌黏膜中的表达率依次减少,提示 PTEN 表达降低与结直肠癌的形成和进展有关。PTEN 表达率在结直肠癌高、中分化组明显高于低分化组,表明 PTEN 表达与结直肠癌分化程度相关。

综上,Livin 和 PTEN 在结直肠癌的发生发展中起着重要的作用。对结直肠癌诊断以及判断肿瘤恶性程度、生物学行为及患者预后方面有实用价值,是结直肠癌诊断和治疗的潜在靶点。

参考文献

- [1] Kasof GM, Gomes BC. Livin, a novel inhibitor of apoptosis protein family member [J]. J Biol Chem, 2001, 276 (5):3238-3246.
- [2] Vucic D, Stennicke HR, Pisabarro MT,

et al. ML-IAP, a novel inhibitor of apoptosis that is preferentially expressed in human melanomas [J]. Curr Biol, 2000, 10(21):1359-1366.

- [3] Lin JH, Deng G, Huang Q, et al. KIAA, a novel member of the inhibitor of apoptosis protein family [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2000, 279 (3): 820-831.
- [4] Yagihashi A, Asanuma K, Kobayashi D, et al. Detection of autoantibodies to Livin and survivin in Sera from lung cancer patients [J]. Lung Cancer, 2005, 48(2):217-221.
- [5] Xiang Y, Yao H, Wang S, et al. Prognostic value of Survivin and Livin in nasopharyngeal carcinoma [J]. Laryngoscope, 2006, 116(1):126-130.
- [6] Myers MP, Stolarov JP, Eng C, et al. PTEN, the tumor suppressor from human chromosome 10q23, is a dual-specificity phosphatase [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1997, 94 (17): 9052-9057.
- [7] Mahimainathan L, Das F, Venkatesan B, et al. Mesangial cell hypertrophy by high glucose is mediated by downregulation of the tumor suppressor PTEN [J]. Diabetes, 2006, 55(7):2115-2125.
- [8] Kuhajda FP. Fatty acid synthase and cancer: new application of an old pathway [J]. Cancer Res, 2006, 66 (12):5977-5980.
- [9] Cantley LC, Neel BG. New insights into tumor suppression: PTEN suppresses tumor formation by restraining the phosphoinositide 3-kinase/AKT pathway [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96(8):4240-4245.
- [10] Vazquez F, Matsuoka S, Sellers WR, et al. Tumor suppressor PTEN acts through dynamic interaction with the plasma membrane [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103(10):3633-3638.
- [11] Sanchez T, Thangada S, Wu MT, et al. PTEN as an effector in the signaling of antimigratory G protein-coupled receptor [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102(12):4312-4317.
- [12] Dickerson EB, Thomas R, Fosmire SP, et al. Mutations of phosphatase and tensin homolog detected from chromosome 10 in canine hemangiosarcoma [J]. Vet Pathol, 2005, 42(5):618-632.

(收稿日期:2009-05-10)

(本文编辑:李银平)