

核PTEN和Survivin蛋白在胃癌组织芯片中的表达及意义

王晓茹, 李小宁, 白光辉, 郭云娣

■背景资料

PTEN是一种抑癌基因, 与多种恶性肿瘤的发生、发展密切相关, Survivin是细胞凋亡抑制蛋白家族的新成员, 具有抑制细胞凋亡的作用, 在肿瘤进展中起着关键的作用。

王晓茹, 李小宁, 郭云娣, 苏州卫生职业技术学院 苏州检验医学生物技术重点实验室 江苏省苏州市 215009

白光辉, 苏州市立医院 江苏省苏州市 215008

作者贡献分布: 王晓茹、李小宁、白光辉及郭云娣共同参与实验设计与撰稿; 李小宁主要负责标本的制作; 白光辉主要负责临床标本的收集; 王晓茹与郭云娣负责SPSS数据库的建立、统计及论文撰写。

通讯作者: 郭云娣, 215009, 江苏省苏州市, 苏州卫生职业技术学院. gyd1964@163.com

收稿日期: 2011-07-27 修回日期: 2011-09-15

接受日期: 2011-10-06 在线出版日期: 2011-10-08

Significance of expression of nuclear PTEN and survivin in gastric cancer

Xiao-Ru Wang, Xiao-Ning Li, Guang-Hui Bai, Yun-Di Guo

Xiao-Ru Wang, Xiao-Ning Li, Yun-Di Guo, Suzhou Health College; Suzhou Key Laboratory of Biotechnology for Laboratory Medicine, Suzhou 215009, Jiangsu Province, China

Guang-Hui Bai, Suzhou Municipal Hospital, Suzhou 215008, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Yun-Di Guo, Suzhou Health College; Suzhou Key Laboratory of Biotechnology for Laboratory Medicine, Suzhou 215009, Jiangsu Province, China. gyd1964@163.com

Received: 2011-07-27 Revised: 2011-09-15

Accepted: 2011-10-06 Published online: 2011-10-08

Abstract

AIM: To investigate the expression of nuclear PTEN and survivin in gastric cancer and to evaluate their clinicopathological significance.

METHODS: The expression of nuclear PTEN and survivin was measured in 116 cases of gastric cancer and 35 cases of normal gastric mucosa tissue on tissue array sections by EnVision immunohistochemical method. The relationship of their expression with lymph node metastasis and Lauren's classification, as well as the correlation between nuclear PTEN and survivin expression were evaluated.

RESULTS: The positive rates of nuclear PTEN and survivin in normal gastric mucosa were higher than those in gastric cancer (100% vs 57.1%; 100% vs 44.0%). The expression of nuclear

PTEN and Survivin was significantly correlated with lymph node metastasis in gastric cancer ($P < 0.05$). Nuclear PTEN was significantly related to Lauren's classification and differentiation (both $P < 0.05$). The expression of nuclear PTEN had a significant correlation with that of survivin ($r = 0.088$, $P = 0.001$).

CONCLUSION: Nuclear PTEN and survivin are lowly expressed in gastric cancer. Nuclear PTEN and survivin may be good predictors of metastasis and prognosis of gastric cancer.

Key Words: Gastric cancer; Phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten; Survivin; Tissue microarray

Wang XR, Li XN, Bai GH, Guo YD. Significance of expression of nuclear PTEN and survivin in gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(28): 2974-2978

摘要

目的: 探讨核PTEN和Survivin蛋白在胃癌组织芯片中的表达、临床病理学特征及其意义。

方法: 在116例胃癌35例正常胃黏膜组织芯片上, 应用免疫组织化学EnVision法检测核PTEN和Survivin表达水平, 分析核PTEN和Survivin在胃癌的表达与患者淋巴结转移状态、Lauren's分型等的关系及其相互关系。

结果: 核PTEN和Survivin在正常胃黏膜组织中表达率为100%, 核PTEN在胃癌组织中的阳性表达率为51.7%(60/116); Survivin的阳性表达率为44.0%(51/116), 核PTEN和Survivin与患者淋巴结转移状态相关($P < 0.05$), 同时, 核PTEN还和肿瘤分化程度、Lauren's分型密切相关($P < 0.05$)。核PTEN和Survivin二者之间呈正相关($r = 0.088$, $P = 0.001$)。

结论: 胃癌组织中存在核PTEN和Survivin低表达; 同时检测胃癌组织中的核PTEN和Survivin的表达对判断肿瘤的恶性程度和估计预后有一定意义。

■同行评议者

高国全, 教授, 中山大学中山医学院生化系; 周素芳, 教授, 广西医科大学科技处

关键词: 胃癌; 第10号染色体同源缺失性磷酸酶-张力蛋白基因; Survivin; 组织芯片

王晓茹, 李苏宁, 白光辉, 郭云娣. 核PTEN和Survivin蛋白在胃癌组织芯片中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2011; 19(28): 2974-2978
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2974.asp>

0 引言

第10号染色体同源缺失性磷酸酶-张力蛋白基因(phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten, PTEN)是一重要的抑癌基因, 广泛表达于人类正常组织中, 同时具有脂质磷酸酶活性和蛋白磷酸酶活性: 参与调节细胞的生长、增殖、迁移与凋亡过程^[1-3]. Survivin^[4]是近年新发现的一个凋亡抑制因子. 本组研究采用免疫组织化学方法在已构建好的组织芯片中检测正常胃黏膜组织(癌旁7 cm以上)及手术切除的胃癌组织中核PTEN和Survivin的表达, 探讨核PTEN和Survivin在胃癌中的表达及其相互关系.

1 材料和方法

1.1 材料 收集胃癌组织118例, 为苏州市立医院2006-2009年的存档蜡块, 均为住院患者, 有详细的临床资料, 年龄32-84(中位年龄64.1)岁. 其中2例在制作组织芯片后肿瘤组织过少, 予以剔除. 本实验可用标本共116例. 其中有淋巴结转移者88例, 未见淋巴结转移者28例. 患者术前均未行新辅助放、化疗及内分泌治疗.

1.2 方法

1.2.1 组织芯片的构建: 组织标本经40 g/L甲醛溶液固定, 常规石蜡包埋制片, HE染色后, 在显微镜下定位、对应找出蜡块上相应无坏死的肿瘤组织并做标记. 自制(专利号: 200920350099.2)8×16组织芯片蜡块(64例×2点), 即组织阵为每例组织块取2个组织芯, 其直径为1.6 mm, (有定位用的空位), 正常胃黏膜35例每例取2点制成1个独立芯片, 共制备组织芯片3个.

1.2.2 标本处理: 兔抗人PTEN(产品编号: RAB-0110)、Survivin(产品编号: RAB-0536)多克隆抗体及二抗均购自福州迈新公司. 常规石蜡包埋, 4 μm厚连续切片. 采用Envision免疫组织化学法, 实验中以PBS液代替一抗作为阴性对照; 以试剂公司提供的阳性对照片作为阳性对照.

1.2.3 结果判定: 核PTEN阳性表达于肿瘤细胞核(有5例细胞核及细胞质均表达), Survivin阳性表达于肿瘤细胞质或细胞核, 呈现棕黄色颗粒

为阳性信号. 结果判定方法按照Fromovitz^[5]方法: 表达强度由染色深度(A)及阳性细胞百分比(B)共同评分. A: 阳性细胞染色深度按无着色、淡黄色、棕黄色、棕褐色分别计0、1、2、3分; B: 阳性细胞所占百分比按: 阳性细胞数≤5%、5%-25%、25%-50%、50%-75%、>75%分别计0、1、2、3、4分. A+B即为免疫组织化学评分. 评分≥4者为阳性, <4者为阴性.

统计学处理 核PTEN和Survivin表达与临床病理特征之间的相关性(包括: 分化程度、淋巴结转移、肿瘤浸润深度等)采用 χ^2 检验, 核PTEN和Survivin之间的相关关系采用Spearman相关性分析, 所用统计软件为SPSS13.0. $P \leq 0.05$ 被认为差异有显著性.

2 结果

2.1 核PTEN和Survivin在正常胃黏膜组织及胃癌组织中的表达 核PTEN和Survivin在35例正常胃黏膜均呈强阳性表达100%(35/35). 核PTEN和Survivin在116例胃癌中的阳性表达率分别为51.7%(60/116)、44.0%(51/116)(图1).

2.2 核PTEN和Survivin的表达与胃癌组织临床病理特征的关系 在116例胃癌中, 核PTEN的表达与患者性别、肿瘤浸润深度无关, 但与淋巴结转移、Lauren's分型、肿瘤分化程度、年龄相关; Survivin的表达与患者年龄、性别、浸润深度、分化程度、Lauren's分型无关, 但与淋巴结转移相关(表1).

2.3 胃癌组织中核PTEN和Survivin相关性分析 核PTEN和Survivin二者均阳性者为35例、均阴性者40例, 核PTEN阳性 Survivin阴性者25例, 核PTEN阴性Survivin阳性者16例. Spearman等级相关分析结果显示, 核PTEN和Survivin在胃中的表达呈正相关($r = 0.088, P = 0.001$).

3 讨论

胃癌是一种常见的恶性肿瘤, 目前认为, 胃癌的发生、发展是一个多阶段、多步骤、有序的过程, 是多因素的综合结果, 而抑癌基因的失活和癌基因的活化可能在其中发挥了重要的作用. PTEN基因是一种由多功能磷酸酶编码的具有酪氨酸、磷酸丝氨酸/苏氨酸双功能的特异性磷酸酶活性的抑癌基因^[1-3], 于1997年先后被Steck等3个国际科研小组发现并命名.

抑癌基因在肿瘤发生过程中持续丧失功能是导致细胞恶变的重要事件之一. 基因突变、

■ 研发前沿

作为近期发现的凋亡抑制蛋白之一, 人们逐渐认识到其在胃癌的发生、发展、诊断、判断预后、复发和治疗等均有重要价值. 有些学者认为PTEN和Survivin有可能有基因协同作用的可能, 认为正常细胞转化为癌细胞和浸润、转移是复杂的多阶段的过程, 至少有2个或2个以上功能不同的异常激活的基因各自发挥作用, 并在空间和时间上相互配合, 协同促进了细胞的癌变.

■相关报道

Deng等报道118例胃癌PTEN和Survivin的阳性率分别为52.5%(62/118)和76.2%(98/118), PTEN和Survivin呈正相关($P = 0.04$).

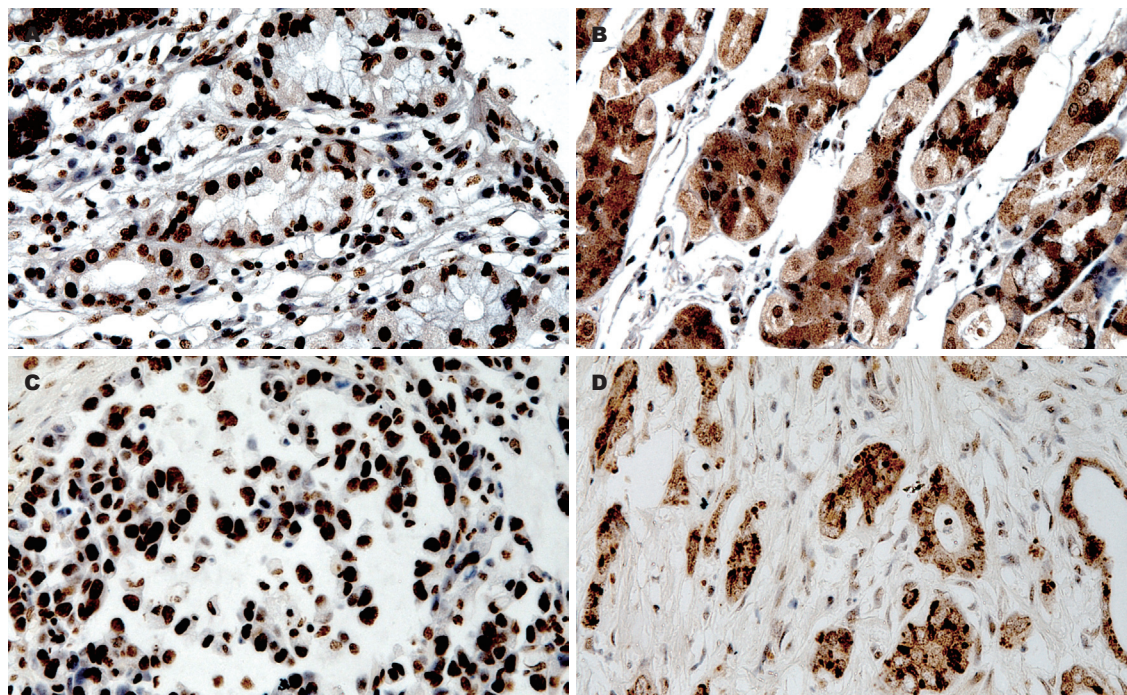


图1 核PTEN和Survivin在正常胃黏膜组织及胃癌组织中的表达(HE × 400). A: 正常胃黏膜组织核PTEN染色, 细胞核阳性; B: 正常胃黏膜组织Survivin染色, 细胞核/细胞质阳性; C: 胃癌组织核PTEN染色, 细胞核阳性; D: 胃癌组织Survivin染色, 细胞核/细胞质阳性.

过度甲基化等构成了核PTEN表达下调的分子基础. 研究发现^[6], 无论是从mRNA还是从蛋白水平上, 胃癌组织中核PTEN基因都有较高的阴性表达率. 正常胃黏膜上皮核PTEN蛋白表达阳性率100%(与本组实验结果相一致); 胃癌组织核PTEN蛋白阳性率66%^[7], 本组实验中核PTEN阳性表达率为51.7%, 与文献报道相接近, 同时, 本实验核PTEN蛋白的表达与胃癌的组织分化程度呈正相关($P = 0.033$), 组织分化程度高、恶性程度低者, 表达率高, 且多为强阳性表达, 而核PTEN蛋白失表达或弱阳性表达则多见于组织分化程度低、恶性程度高者. 除与胃癌组织分化程度有关外, 核PTEN蛋白表达还与淋巴结转移($P = 0.005$)、Lauren's分型($P = 0.043$)明显相关, 核PTEN蛋白表达水平越低, 患者预后越差. 这些结果均与Zheng等^[7]的研究结果相一致. 另外, 本组实验核PTEN的失表达多见于年龄小于60岁患者, 可能这些人群更易于基因突变或细胞凋亡失衡有关.

Wang等^[8]的一项研究也发现, 60例进展期胃癌中有17例(28.3%)存在核PTEN基因的突变, 包括8例错义突变、5例沉默突变、2例无义突变、1例碱基缺失和1例内含子拼接供体位点突变, 认为PTEN基因突变在进展期胃癌的发生中可能起重要作用. 本组实验中, 患者均为进展

期胃癌, 我们认为, 核PTEN的失表达是胃癌发生、发展的晚期事件.

核PTEN具有参与调节细胞凋亡过程的功能^[1-3], 凋亡失衡与肿瘤的发生密切相关, 作为凋亡抑制因子之一的Survivin与肿瘤的关系正在被逐渐认识, 他在人类许多肿瘤中都有表达^[9]. Survivin在胃癌中的表达已有一些学者做了检测. Kania等^[10]检测了55例胃癌患者的胃镜活检癌组织标本及癌旁组织标本, Survivin mRNA及蛋白在癌组织及癌旁组织中均有显著表达. 但亦有一些研究显示Survivin在胃癌组织中的表达率仅为15.4%、34.5%不等^[9]. 文献中Survivin的表达与临床病理特征及预后之间的关系各项研究不尽相同. 如Ikeguchi等^[11]的研究显示: Survivin的表达与淋巴结转移有关, 有淋巴结转移的患者其Survivin阳性率及表达水平均显著高于淋巴结阴性的患者; 而Kazuhito等^[9]认为Survivin低水平表达者高于高表达者. 本组实验中, Survivin在癌旁正常胃黏膜组织中表达率为100%, 而胃癌(进展期)组织中的表达率为44%, 且其失表达者更易于淋巴结转移($P = 0.040$). 与本实验的另一指标PTEN的蛋白表达水平与淋巴结转移的关系相同, 提示有可能在胃癌淋巴结转移上核PTEN和Survivin有协同作用, 也正符合了核PTEN和Survivin相关关系的统计结果: 核PTEN

表 1 PTEN和Survivin表达与胃癌临床病理特征的关系

临床病理参数	n	PTEN阳性			Survivin阳性		
		%	χ^2 值	P值	%	χ^2 值	P值
年龄(岁)							
<60	30	33.3			30.0		
≥60	86	58.1	5.481	0.019	48.8	3.204	0.073
性别							
男	90	52.2			41.1		
女	26	50.0	0.040	0.842	53.8	1.328	0.249
分化程度							
高、中分化	49	63.3			49.0		
低分化	67	43.3	4.525	0.033	40.3	0.866	0.352
淋巴结转移							
无	28	75.0			60.7		
有	88	44.3	8.008	0.005	38.6	4.203	0.040
浸润深度							
未达浆膜	26	61.5			53.8		
浆膜及外	90	48.9	1.293	0.256	41.1	1.328	0.249
Lauren's分型							
肠型	61	60.7			42.6		
胃型	55	41.8	4.110	0.043	45.5	0.094	0.759

■应用要点

同时检测胃癌组织中的核PTEN和Survivin的表达对判断肿瘤的恶性程度和估计预后有一定意义。

与Survivin呈现正相关($r = 0.088$, $P = 0.001$), 与Hwang等^[12,13]的研究相同: 核PTEN^[14]可能通过调控胰岛素样生长因子而抑制细胞生长, 而核PTEN/胰岛素样生长因子共同通过PI3K/Akt信号转导通路起作用。核PTEN低表达可能通过调节PI3K/Akt途径使Survivin表达下调, 使抑制血管内皮细胞和肿瘤细胞的凋亡紊乱, 从而促进肿瘤细胞的增殖和血管生成促进肿瘤生长、侵袭和转移^[15]。同时检测胃癌组织中的核PTEN和Survivin的表达对判断肿瘤的恶性程度和估计预后有一定意义。

目前, 将抑癌基因作为靶分子是肿瘤基因治疗的基本策略之一, 在肿瘤中增加核PTEN/Survivin的表达有可能可以抑制其生长或者提高化疗敏感性^[16], 但其机制还有待于进一步的研究。

4 参考文献

- Li J, Yen C, Liaw D, Podsypanina K, Bose S, Wang SI, Puc J, Miliareis C, Rodgers L, McCombie R, Bigner SH, Giovanella BC, Ittmann M, Tycko B, Hibshoosh H, Wigler MH, Parsons R. PTEN, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast, and prostate cancer. *Science* 1997; 275: 1943-1947
- Steck PA, Pershouse MA, Jasser SA, Yung WK, Lin H, Ligon AH, Langford LA, Baumgard ML, Hattier T, Davis T, Frye C, Hu R, Swedlund B, Teng DH, Tavtigian SV. Identification of a candidate tumour suppressor gene, MMAC1, at chromosome 10q23.3 that is mutated in multiple advanced cancers. *Nat Genet* 1997; 15: 356-362
- Li DM, Sun H. TEP1, encoded by a candidate tumor suppressor locus, is a novel protein tyrosine phosphatase regulated by transforming growth factor beta. *Cancer Res* 1997; 57: 2124-2129
- Crook NE, Clem RJ, Miller LK. An apoptosis-inhibiting baculovirus gene with a zinc finger-like motif. *J Virol* 1993; 67: 2168-2174
- Fromowitz FB, Viola MV, Chao S, Oravez S, Mishriki Y, Finkel G, Grimson R, Lundy J. ras p21 expression in the progression of breast cancer. *Hum Pathol* 1987; 18: 1268-1275
- Hino R, Uozaki H, Murakami N, Ushiku T, Shinozaki A, Ishikawa S, Morikawa T, Nakaya T, Sakatani T, Takada K, Fukayama M. Activation of DNA methyltransferase 1 by EBV latent membrane protein 2A leads to promoter hypermethylation of PTEN gene in gastric carcinoma. *Cancer Res* 2009; 69: 2766-2774
- Zheng HC, Sun JM, Li XH, Yang XF, Zhang YC, Xin Y. Role of PTEN and MMP-7 expression in growth, invasion, metastasis and angiogenesis of gastric carcinoma. *Pathol Int* 2003; 53: 659-666
- Wang JY, Huang TJ, Chen FM, Hsieh MC, Lin SR, Hou MF, Hsieh JS. Mutation analysis of the putative tumor suppressor gene PTEN/MMAC1 in advanced gastric carcinomas. *Virchows Arch* 2003; 442: 437-443
- Miyachi K, Sasaki K, Onodera S, Taguchi T, Nagamachi M, Kaneko H, Sunagawa M. Correlation between survivin mRNA expression and lymph node metastasis in gastric cancer. *Gastric Cancer* 2003; 6: 217-224
- Kania J, Konturek SJ, Marlicz K, Hahn EG, Konturek PC. Expression of survivin and caspase-3 in gastric cancer. *Dig Dis Sci* 2003; 48: 266-271

■应用要点

本文研究对胃癌组织发病机制及临床预后判断有一定意义。

- 11 Ikeguchi M, Kaibara N. Changes in survivin messenger RNA level during cisplatin treatment in gastric cancer. *Int J Mol Med* 2001; 8: 661-666
- 12 Hwang PH, Kim SY, Lee JC, Kim SJ, Yi HK, Lee DY. PTEN/MMAC1 enhances the growth inhibition by anticancer drugs with downregulation of IGF-II expression in gastric cancer cells. *Exp Mol Med* 2005; 37: 391-398
- 13 Deng H, Wu RL, Zhou HY, Huang X, Chen Y, Liu LJ. Significance of Survivin and PTEN expression in full lymph node-examined gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 1013-1017
- 14 杨桢, 吕农华. PTEN在胃癌中的研究进展. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 608-613
- 15 叶新青, 陈发龙. Survivin和PTEN在胃癌中的研究进展. *中国癌症防治杂志* 2011; 2: 149-151
- 16 李子珊, 杨慧龄. PTEN基因与胃癌相关性研究进展. *社区医学杂志* 2010; 8: 35-37

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011年版权归世界华人消化杂志

● 消息 ●

招聘生物医学编辑部主任

本刊讯 百世登出版集团(Baishideng Publishing Group Co., Limited, BPG)已经为各位编辑部主任搭建好整体架构, 希望培养出对编辑与出版行业真正感兴趣甚至愿意将其作为终身事业的专业人才, 成为BPG的核心人物. 欢迎应届毕业生加盟BPG团队, 请将您的简历E-mail发至: j.l.li@wjgnet.com

■工作职责

- 1 贯彻执行员工手册、编辑手册、编委手册和作者手册.
- 2 根据作者指南及学科发展动向和读者的需求, 制订期刊的总体发展规划, 负责编辑、出版、发行和经营管理.
- 3 策划年度编委会成员的社论和专题亮点等栏目约稿, 并按照计划负责监督落实.
- 4 负责期刊同行评议和定稿会, 按期编排、加工, 发排稿件, 发排后参与校对或审核校样、核红、签字付印.
- 5 组织期刊印刷版或网络版出版后审读, 发现问题及时修改.

■职位要求

硕士及以上学历, 具有生物医学专业学科背景及丰富的写作和发表生物医学文章者优先录用.

■薪资待遇面议

■培训流程

第一步学习手册; 第二步编务; 第三步排版制作; 第四步编辑; 第五步投稿办公系统操作; 第六步期刊网络系统学习; 第七步期刊管理培训; 第八步BPG管理委员会考核; 第九步考核通过后正式签订劳动合同, 并颁发编辑部主任聘任书.