

· 基础研究 ·

垂体肿瘤转移基因在喉鳞状细胞癌中的表达及临床意义

金 军, 金永德, 金顺吉

(延边大学附属医院 耳鼻咽喉科, 吉林 延吉 133000)

摘要: **目的** 探讨喉鳞状细胞癌中垂体肿瘤转移基因(pituitary tumor transforming gene, PTTG)蛋白表达及其临床意义。**方法** 采用免疫组织化学 S-P 法检测 56 例喉鳞癌及 13 例喉正常黏膜中 PTTG 的表达, 分析 PTTG 表达与喉鳞癌临床病理指标之间的关系。**结果** PTTG 蛋白在喉鳞癌组织中的阳性表达率为 64.3%, 在喉正常黏膜细胞中的阳性表达率为 23.1% ($P < 0.05$); PTTG 的阳性表达及其强度与喉鳞癌临床病理指标之间差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** PTTG 基因蛋白阳性表达及其强度可做为判定喉鳞癌生物学行为及其预后的参考指标之一。

关键词: 喉肿瘤; 鳞状细胞癌; 垂体肿瘤转移基因

中图分类号: R739.65

文献标识码: A

文章编号: 1007-1520(2012)02-0094-04

Expression of PTTG in laryngeal squamous cell carcinoma and its clinical significance

JIN Jun, JIN Yong-de, JIN Shun-ji

(Department of Otorhinolaryngology, the Affiliated Hospital of Yanbian University, Yanji 133000, China)

Abstract: **Objective** To study the expression of pituitary tumor transforming gene (PTTG) in laryngeal squamous cell carcinoma (LSCC) and its clinical significance. **Methods** The expression of PTTG was detected with immunohistochemical S-P method in 56 samples of LSCC and 13 of normal laryngeal mucosa. The relationship of expression of PTTG with the biological behaviors of LSCC was analyzed. **Results** The positive rates of PTTG were 64.3% and 23.1% in LSCC and normal laryngeal mucosa ($P < 0.05$). The positive rate and the strength of expression of PTTG were statistically related with the biological behaviors of LSCC. **Conclusion** The expression of PTTG and its strength may become important targets in determining the biological behaviors and the prognosis for LSCC.

Key words: Laryngeal tumor; Squamous cell carcinoma; Pituitary tumor transforming gene

近年研究表明垂体肿瘤转移基因(pituitary tumor transforming gene, PTTG)的表达与多种恶性肿瘤的发生、发展及其预后明显相关。目前国内已有卵巢癌、肺癌、结肠癌、直肠癌、肝癌以及乳腺癌等恶性肿瘤细胞中 PTTG 表达的研究报道, 但有关喉鳞状细胞癌中 PTTG 表达及相关性的研究报道甚少。本实验采用免疫组化 S-P 法检测喉鳞状细胞癌组织与喉正常黏

膜组织中 PTTG 蛋白的表达及其强度, 探讨 PTTG 的表达及其强度与喉鳞状细胞癌临床病理指标的关系。

1 资料和方法

1.1 临床资料

收集 2000 年 1 月 ~ 2006 年 12 月在延边大学医院经病理确诊后手术切除的喉鳞状细胞癌病理标本 56 例, 其中男 46 例, 女 10 例; 年龄 38 ~ 85 岁, 平均年龄 61 岁。所有病例术

作者简介: 金 军, 男, 主治医师。
通讯作者: 金顺吉, Email: ysjjin@ybu.edu.cn.

前均未进行放疗、化疗及其他肿瘤相关治疗。按 2002 年 UICC 制定的喉癌组织学分类和 TNM 分级标准进行临床分类,其中 T1、T2 33 例、T3、T4 23 例, I 期 11 例、II 期 20 例、III 期 17 例、IV 期 8 例;声门上型 23 例、声门型 28 例、声门下型 5 例;高分化鳞癌 25 例、中分化鳞癌 23 例、低分化鳞癌 8 例;颈淋巴结转移者 9 例。选取 13 例肉眼下距癌组织缘 1.0 cm 以上,经镜下检查确无癌细胞的癌旁黏膜组织标本作为对照组。全部标本经 10% 福尔马林固定,常规石蜡包埋,进行 5 μm 厚的连续切片。

1.2 免疫组化检测

采用免疫组化 S-P 染色法。以已知阳性切片做阳性对照,以 PBS 代替一抗做阴性对照。兔抗人 PTTG-1 多克隆抗体及通用型 SP 试剂盒均购自北京中杉金桥生物有限公司。试剂盒中试剂 1 为封闭用正常羊血清工作液;试剂 2 为羊抗鼠生物素化二抗工作液;试剂 3 为辣根酶标记链霉素卵白素工作液(S-A/HRP)。

1.3 实验仪器

石蜡切片 LEICA RAi 2135(德国产品), OLYMPUS 光学显微镜(日本产品),真彩色病理图像分析系统 CMIAS 系列(北京航空航天大学产品),快速生物医学微波炉 CD-t 型(上海创大科技有限公司产品)。

1.4 结果判定

PTTG 在喉鳞癌细胞的细胞浆、细胞核上着色,以细胞浆为主,呈棕黄色颗粒。参考张耀明等^[1]计分方法,所有病例免疫标志结果分析,均在不知临床资料的情况下,由两名经验丰富的病理医师进行判断,并取得一致意见。阳性细胞必须具备:细胞结构清晰,阳性染色定位准确,着色明显高于背景。结果判断采用半定量积分法,根据每张切片的阳性细胞比例及着色深浅计数。阳性细胞比例 $< 1/3$ 为 1 分, $1/3 \sim 2/3$ 为 2 分, $> 2/3$ 为 3 分;细胞无着色为 0 分,浅黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分。根据两者乘积判断阳性等级:0 分为阴性(-), 1~2 分为弱阳性(+), 3~4 分为阳性(++), > 4 分为强阳性(+++)。

1.5 统计学处理

全部数据采用 SPSS 14.0 统计软件包进行分析处理,组间比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 认

为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 PTTG 蛋白在喉鳞癌及对照组中的表达

PTTG 蛋白阳性表达产物定位于细胞浆、细胞核上,呈棕黄色细颗粒状,喉癌组织中 PTTG 的表达结果见图 1, 2。喉鳞癌中阳性表达率为 64.3%;其中弱阳性者 17 例,阳性者 12 例,强阳性者 7 例。对照组 PTTG 阳性表达率为 23.1%;其中弱阳性者 2 例,阳性者 1 例,无强阳性表达。PTTG 在喉鳞癌中的阳性表达率较对照组高,两者比较差异具有统计学意义($P < 0.05$)。

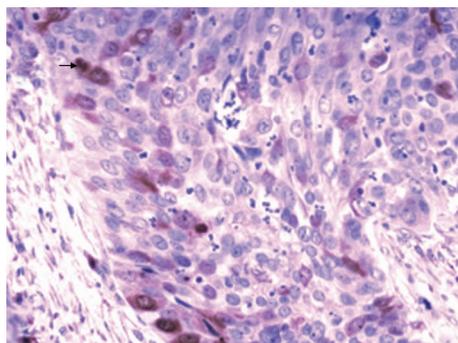


图 1 喉鳞癌中 PTTG 阳性表达(SP法, $\times 200$)

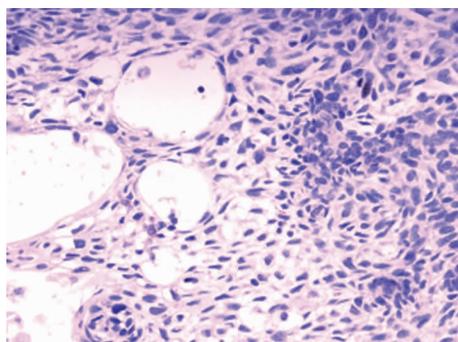


图 2 喉鳞癌中 PTTG 阴性表达(SP法, $\times 200$)

2.2 喉鳞癌中 PTTG 蛋白表达与临床病理指标的关系见表 1

PTTG 在喉癌组织中高分化鳞癌与中、低分化鳞癌的阳性表达率分别为 48.0%、77.4%,两者差异具有统计学意义($P < 0.05$)。声门型喉癌阳性表达率 46.4%,而声门上型和声门下型喉癌阳性表达率分别为 82.6%、80.0%,两者比较差异具有统计学意义($P <$

0.05)。T1、T2 喉鳞癌 PTTG 蛋白阳性表达率为 45.5%；而 T3、T4 中 PTTG 蛋白阳性表达率为 91.3%，两者比较差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)；淋巴结转移者 PTTG 蛋白阳性表达率为 100.0%，而无淋巴结转移者为 57.4%，

两者比较差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)；喉癌 I、II 期与 III、IV 期 PTTG 蛋白阳性表达率分别为 41.9% 和 92.0%，两者比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。而 PTTG 蛋白阳性表达与患者年龄、性别无关 ($P > 0.05$)。

表 1 喉鳞癌组织 PTTG 蛋白表达与临床病理参数的关系

(n, %)

临床病理特征	例数	PTTG 蛋白				阳性率	χ^2	P
		-	+	++	+++			
病理分类								
高分化	25	13	9	3	0	48.0	5.217	0.022
中、低分化	31	7	8	9	7	77.4		
临床分型								
声门上型	23	4	9	6	4	82.6	7.790	0.020
声门型	28	15	6	5	2	46.4		
声门下型	5	1	2	1	1	80.0		
T 分级								
T1、T2	33	18	7	7	1	45.5	10.493	0.001
T3、T4	23	2	10	5	6	91.3		
临床分期								
I、II 期	31	18	6	6	1	41.9	13.006	0.000
III、IV 期	25	2	11	6	6	92.0		
淋巴结转移								
无	47	20	14	9	4	57.4	8.887	0.019
有	9	0	3	3	3	100.0		

3 讨论

喉鳞状细胞癌是最常见的喉部恶性肿瘤，约占全身恶性肿瘤的 2%。近年来喉鳞癌的疾病率呈不断上升的趋势，喉癌等恶性肿瘤的发生是多因素综合作用的结果，随着分子生物学的发展，基因在肿瘤发生中的作用越来越受到重视，因此寻找特异的肿瘤标志基因就成了热点。

国内外的研究表明，PTTG 是一种强有力的肿瘤转化基因，可以通过诱导细胞转化、促进其他原癌基因及促癌因子的表达、干扰姐妹染色单体分离、促进碱性成纤维细胞生长因子 (basic fibroblast growth factor, bFGF) 参与的肿瘤血管生成等多种机制参与肿瘤的形成与发展。在多种肿瘤细胞系如早幼粒白血病细胞

HL-60、乳腺癌细胞 MCF-7 等中发现 PTTG 高表达^[2]。张耀明等^[1]采用免疫组化方法检测 41 例原发性胆囊癌及 20 例慢性结石性胆囊炎中 PTTG 和 VEGF 的表达水平。结果在原发性胆囊癌中 PTTG 和 VEGF 阳性表达率分别为 85.4% 和 56.1%，其阳性率及表达等级均明显高于慢性胆囊炎中的表达。PTTG 和 VEGF 表达强度均与胆囊癌的 Nevin 分期和淋巴结转移密切相关。PTTG 表达与 VEGF 表达呈正相关。PTTG 或 VEGF 阳性患者的累积生存期明显低于阴性者。申兴斌等^[3]用 RT-PCR 方法和免疫组化方法检测 20 例大肠正常黏膜、80 例大肠癌组织中 PTTG mRNA 及蛋白的表达水平，结果大肠癌组织中 PTTG、bFGF 表达量及微血管密度明显高于大肠正常黏膜组织，且与大肠癌浸润深度、淋巴结转移、Duke's 分期呈正相关。王洪燕等^[4]采用 RT-PCR 技术检测 40 例

食管癌及相应的40例癌旁组织中PTTG mRNA的表达,同时采用免疫组化SP法检测相应标本中PTTG和bFGF蛋白的表达。结果在食管癌组织中PTTG基因呈过度表达且PTTG mRNA的平均表达水平显著高于相应的癌旁正常组织,免疫组化结果显示,PTTG蛋白在食管癌组织中的表达(34/40)明显高于癌旁组织中的阳性表达(9/40)。其阳性率高低与TNM分级和分化程度有关。赵建农等^[5]报道30例垂体腺瘤侵袭组和非侵袭组手术标本,采用RT-PCR检测PTTG和P27 mRNA的表达及免疫组化检测PTTG、P27和PCNA蛋白的表达,并分析PTTG、P27蛋白表达与PCNA蛋白表达之间的相关性。结果侵袭组PTTG mRNA的表达显著高于非侵袭组,P27 mRNA在侵袭组和非侵袭组的表达无显著差异,侵袭组PTTG蛋白表达显著增高,与PCNA蛋白表达呈正相关,P27蛋白表达显著减低,与PCNA蛋白表达呈负相关。

PTTG基因表达蛋白的羧基末端包含一个转录活性区域,该区域可与一种在人体内普遍表达的蛋白质即PTTG结合因子(PBF)结合。PBF在体内外可特异性的与PTTG相互作用。PTTG主要在细胞浆中表达,而PBF内含-碱性序列-核定位信号子序列(NLS),PTTG与PBF在同一细胞内共同表达可以导致PTTG由细胞质向细胞核内转移,进而发挥转录、活化功能,并最终导致癌症发生^[6]。本研究结果,喉癌组织中PTTG主要定位于细胞浆和细胞核,表明在这些细胞中同时表达PBF,PTTG蛋白阳性表达率在对照组和喉鳞癌组中分别为23.1%及64.3%,喉鳞癌组中PTTG阳性表达率明显高于对照组,具有统计学意义($P < 0.05$),说明PTTG高表达与喉鳞癌的发生有明显的关系。PTTG阳性表达与喉癌的组织分化有关,中、低分化与高分化喉鳞癌之间的PTTG阳性表达率具有统计学意义($P < 0.05$),其分化越差、恶性程度越高,PTTG阳性率越高。PTTG阳性表达与喉鳞癌的TNM分级和临床分期有关,随TNM分类和喉癌分期的增高PTTG阳性表达率逐渐增加,既T3、T4喉鳞癌的阳性表达率高于

T1、T2喉鳞癌的阳性表达率;Ⅲ、Ⅳ期的阳性表达率明显高于Ⅰ、Ⅱ期的阳性表达率($P < 0.05$)。PTTG在声门型喉鳞癌的阳性表达率低于声门上、下型喉鳞癌的阳性表达率,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。PTTG的阳性表达还与喉鳞癌的淋巴结转移有关,有淋巴结转移的喉鳞癌组织中PTTG阳性表达率为100%,较无淋巴结转移的为57.4%,具有统计学意义($P < 0.05$)。但PTTG的表达与患者的性别、年龄无明显关系($P > 0.05$)。即分化越差、恶性度越高、侵犯部位越大,且有淋巴结转移的喉鳞癌组织中PTTG表达越强,与上述文献报道基本一致。可见,PTTG在喉鳞癌组织中的表达率及其表达强度与喉鳞癌的生物行为有密切的关系,PTTG高表达的喉鳞癌分化较差,恶性度高,侵犯部位较大,当然其预后较差。

总之,PTTG过度表达与喉癌的发生发展及患者的不良预后有密切相关。检测术后喉癌标本中的PTTG表达,有助于综合评价喉癌的情况,以利于喉鳞癌患者组织和实施有效的辅助治疗和评估喉鳞癌患者的预后。

参考文献:

- [1] 张耀明,彭广福,宋越,等. PTTG和VEGF在原发性胆囊癌中的表达及意义[J]. 肝胆胰外科杂志,2009,21(3):196-199.
- [2] Zhang X, Horwitz GA, Prezant TR, et al. Structure, expression, and function of human pituitary tumor transforming gene (PTTG)[J]. Mol Endocrinol, 1999, 13(1): 156-166.
- [3] 申兴斌,陈泳,王瑞婷,等. PTTG、bFGF在大肠癌发生发展中的作用及其与微血管生成的关系[J]. 广东医学,2011,32(16):2154-2157.
- [4] 王洪燕,张海霞,杨福俊,等. 食管鳞癌组织PTTG和bFGF的表达与临床病理特征的相关性研究[J]. 世界中西医结合杂志,2011,6(7):560-564.
- [5] 赵建农,刘运生,聂新民. PTTG、P27 mRNA及其蛋白的表达与垂体腺瘤增殖活性的关系[J]. 中国耳鼻喉颅底外科杂志,2004,10(2):65-68.
- [6] Chien W, Pei L. A novel binding factor facilitates nuclear translocation and transcriptional activation function of the pituitary tumor transforming gene product[J]. J Biol Chem, 2000, 275(25):19422-19427.

(修回日期:2012-02-16)