

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.08.007

鼻咽癌组织中 PTTG 和 cyclinD1 蛋白的表达及临床意义

张维彬, 黄荣熙, 黄 娅

(广东省佛山市顺德区北滘医院病理科 528311)

摘 要:目的 探讨鼻咽癌组织中垂体肿瘤转化基因(PTTG)和细胞周期素 D1(cyclinD1)蛋白的表达及其临床意义。方法 采用免疫组织化学检测 PTTG 和 cyclinD1 蛋白在 68 例鼻咽癌、22 例癌前病变及 25 例鼻咽黏膜慢性炎组织中的表达情况。结果 PTTG 和 cyclinD1 蛋白在鼻咽黏膜慢性炎组织中的阳性表达率分别为 4.0% 和 8.0%, 癌前病变为 40.9% 和 63.6%, 鼻咽癌组织为 80.9% 和 72.1%, PTTG 蛋白的表达在鼻咽癌与癌前病变和鼻咽黏膜慢性炎组织中比较, 差异均有统计学意义($P < 0.05$); 鼻咽癌与癌前病变组织比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$); PTTG 蛋白的高表达与鼻咽癌的临床分期和淋巴结转移有关($P < 0.05$)。cyclinD1 蛋白的表达在鼻咽癌与鼻咽黏膜慢性炎组织中比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 而在鼻咽癌与癌前病变中比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$), cyclinD1 蛋白的高表达与临床分期和淋巴结转移无关; PTTG 与 cyclinD1 表达两者无相关性($P > 0.05$)。结论 PTTG 和 cyclinD1 蛋白的高表达参与了鼻咽癌的发生、发展过程, PTTG 基因的突变或激活可能还与鼻咽癌的预后有关。

关键词:鼻咽癌; 垂体肿瘤转化基因; 细胞周期素 D1

中图法分类号:R739.6

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2019)08-1031-03

Clinical significances of PTTG and cyclinD1 protein expressions in nasopharyngeal carcinoma

ZHANG Weibin, HUANG Rongxi, HUANG Ya

(Department of Pathology, Beijiao Hospital of Shunde District, Foshan, Guangdong 528311, China)

Abstract: Objective To detect the expressions of pituitary tumor transforming gene (PTTG) and cyclinD1 protein in nasopharyngeal carcinoma, and to elucidate their clinical significance. **Methods** We detected the expressions of PTTG and cyclinD1 protein in 68 cases of nasopharyngeal carcinoma, 22 cases of precancerous lesion and 25 cases of inflammatory nasopharyngeal mucosa by immunohistochemistry method. **Results** The expression rates of PTTG protein were 4.0% in inflammatory nasopharyngeal mucosa, 40.9% in precancerous lesion and 80.9% in nasopharyngeal carcinoma, which were significantly different from that in inflammatory nasopharyngeal mucosa by statistic analysis ($P < 0.05$), the expression rate in nasopharyngeal carcinoma was also significantly different from that in precancerous lesion by statistic analysis ($P < 0.05$). The higher expression of PTTG protein was correlated with clinical stage and lymph node metastasis of nasopharyngeal carcinoma. The expression rates of cyclinD1 protein were 8.0% in inflammatory nasopharyngeal mucosa, 63.6% in precancerous lesion and 72.1% in nasopharyngeal carcinoma, which were significantly different from that in inflammatory nasopharyngeal mucosa by statistic analysis ($P < 0.05$), but the expression rate in nasopharyngeal carcinoma was not significantly different from that in precancerous lesion by statistic analysis ($P > 0.05$). The higher expression of cyclinD1 protein was not related with clinical stage and lymph node metastasis of nasopharyngeal carcinoma. **Conclusion** The higher expression of PTTG and cyclinD1 protein might participate in nasopharyngeal carcinogenesis. Mutation and stimulation of PTTG gene might be associated to the prognosis of nasopharyngeal carcinoma.

Key words: nasopharyngeal carcinoma; pituitary tumor transforming gene; cyclinD1

鼻咽癌是发生于鼻咽部上皮组织的恶性肿瘤, 其发病有很强的区域性, 在我国南方地区, 特别是“珠三角”地区为高发区, 其发病机制尚不十分明确, 可能与病毒、遗传、环境、化学等因素有关, 其中主要与多种

癌基因和抑癌基因的相互作用有密切关系。鼻咽癌的发生具有相当长的癌前阶段, 因此研究癌前组织和鼻咽癌组织的基因表达, 不仅能探讨鼻咽癌发生、发展规律, 同时也为鼻咽癌的基因治疗提供有效的生物

学指标。本研究应用免疫组织化学检测垂体肿瘤转化基因(PTTG)和细胞周期素 D1(cyclinD1)蛋白在鼻咽黏膜慢性炎、癌前病变和鼻咽癌组织中的表达及其与临床病理特征的关系,探讨鼻咽癌发生、发展机制。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集本院 2012 年 1 月至 2017 年 12 月存档鼻咽纤维镜活检石蜡包埋标本,其中鼻咽癌 68 例,癌前病变 22 例(中、重度非典型增生),患者术前均未进行化疗和放疗。选取鼻咽黏膜慢性炎组织 25 例作为对照。鼻咽癌标本按 WHO 组织学分型为鼻咽未分化型非角化性癌 54 例,分化型非角化性癌 14 例;男 45 例,女 23 例;年龄 26~68 岁,中位年龄 43 岁;按 TNM 分期标准,I 期 9 例,II 期 23 例,III 期 28 例,IV 期 8 例;伴颈部淋巴结转移 40 例(病理活检或穿刺活检诊断为鼻咽癌转移),无转移 28 例。组织经 10%甲醛固定,石蜡包埋,连续以厚度 4 μm 切片 4 张,先做常规 HE 染色,然后做免疫组织化学染色。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学检测方法 cyclinD1 单克隆抗体购自迈新试剂公司,羊抗人 PTTG 多克隆抗体和 EnVision(HRP/Rabbit)试剂盒购自丹麦 DAKO 基因公司,免疫组织化学染色法采用 EnVision(二步法),按试剂盒说明书操作,每批染色设阳性对照和阴性对照(以 PBS 代替一抗),最后用苏木素复染、脱水、封片。

1.2.2 结果判断 PTTG 蛋白阳性为细胞核和(或)细胞质出现棕黄色颗粒状,cyclinD1 蛋白以细胞核出现棕黄色染色为阳性,由 2 名病理医师双盲观测,每张切片观察 10 个高倍镜视野,记数 500 个癌细胞的阳性百分比,以≥10%为阳性。

1.3 统计学处理 采用 SPSS20.0 软件作数据处理,计数资料以例数表示,进行 χ^2 检验及 Spearman 相关分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 不同病变鼻咽组织中 PTTG 和 cyclinD1 蛋白的表达 鼻咽黏膜慢性炎、癌前病变及鼻咽癌组织中 PTTG 蛋白的阳性表达率逐渐升高,PTTG 蛋白的表达在鼻咽癌与癌前病变和鼻咽黏膜慢性炎组织中比较,差异均有统计学意义($P<0.05$),鼻咽癌与癌前病变组织比较,差异有统计学意义($P<0.05$),随着病变的进展,其阳性表达率逐渐升高。cyclinD1 蛋白在鼻咽黏膜慢性炎组织的阳性表达率为 8.0%、癌前病变为 63.6%、鼻咽癌组织为 72.1%,在癌前病变和鼻咽癌组织中 cyclinD1 蛋白的阳性表达率高于鼻咽黏膜慢性炎组织,差异有统计学意义($P<0.05$),而前两者差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

2.2 PTTG 和 cyclinD1 蛋白的表达与鼻咽癌临床病理特征的关系 PTTG 和 cyclinD1 蛋白的表达与鼻咽癌患者性别、年龄和组织学分型无关($P>0.05$);PTTG 蛋白的阳性表达与淋巴结转移状况和 TNM 分期有关($P<0.05$),cyclinD1 蛋白的阳性表达与淋巴结转移状况和 TNM 分期无关($P>0.05$)。见表 2。

表 1 PTTG、cyclinD1 蛋白在各型鼻咽组织中的表达[n(%)]

病理类型	n	PTTG	cyclinD1
鼻咽黏膜慢性炎	25	1(4.0)	2(8.0)
癌前病变	22	9(40.9)*	14(63.6)*
鼻咽癌	68	55(80.9)*	49(72.1)*

注:与鼻咽黏膜慢性炎比较,* $P<0.05$

表 2 PTTG、cyclinD1 蛋白的表达与鼻咽癌临床病理特征的关系[<i>n</i> (%)]					
临床病理特征	<i>n</i>	PTTG		cyclinD1	
		阳性	<i>P</i>	阳性	<i>P</i>
性别					
男	45	38(84.4)	0.296	32(71.1)	0.808
女	23	17(73.9)		17(73.9)	
年龄(岁)					
<45	31	24(77.4)	0.506	22(71.0)	0.854
≥45	37	31(83.8)		27(73.0)	
组织学分型					
未分化型	54	43(79.6)	0.606	40(74.1)	0.467
分化型	14	12(85.7)		9(64.3)	
TNM 分期					
I ~ II	32	22(68.8)	0.016	21(65.6)	0.265
III ~ IV	36	33(91.7)		28(77.8)	
淋巴结转移					
有	40	36(90.0)	0.022	31(77.5)	0.232
无	28	19(67.9)		18(64.3)	

2.3 PTTG 和 cyclinD1 蛋白在鼻咽癌组织中表达的相关性 在 PTTG 阳性表达的 55 例鼻咽癌组织中,cyclinD1 阳性表达有 42 例,在 PTTG 阴性表达的 13 例鼻咽癌组织中,cyclinD1 阳性表达有 7 例,经统计学分析,PTTG 和 cyclinD1 蛋白的表达无相关性($r=0.197,P=0.107$)。见表 3。

表 3 鼻咽癌组织中 PTTG 和 cyclinD1 蛋白的相关性表达(n)

PTTG	n	cyclinD1	
		阳性	阴性
阳性	55	42	13
阴性	13	7	6

3 讨 论

PTTG 是一种原癌基因,同时也是细胞转化基因,与多种肿瘤的发生有密切关系。在健康成人组织中检测不到或只有弱表达,在多种肿瘤中,如乳腺癌、大肠癌、肺癌等都有高表达^[1]。研究证明,PTTG 基因能激活原癌基因和促癌因子的表达、诱导细胞转化、抑制姐妹染色单体分离、参与肿瘤血管生成^[2-3]。因此,PTTG 基因在肿瘤发生、发展和浸润过程中发挥重要作用。

HUI 等^[4]研究发现,鼻咽癌染色体 3p、7q、9p、11q、13q、14q、16q 存在高频遗传性丢失,姐妹染色单体不能分离而致基因丢失、细胞突变、癌基因的激活,从而导致肿瘤的发生。厉浩等^[5]研究显示,在 60 例鼻咽癌组织中 PTTG 基因的表达率为 58.3%,而且 PTTG 的阳性表达率与 TNM 分期和颈部淋巴结转移有关。本研究发现,从鼻咽黏膜慢性炎、癌前病变到鼻咽癌组织中 PTTG 蛋白的阳性表达率逐渐升高,鼻咽癌组织中表达程度最强,且随着鼻咽癌恶性程度的增高而增加;同时,PTTG 的表达强度与鼻咽癌的 TNM 分期和淋巴结转移情况密切相关。说明在鼻咽癌演变过程中 PTTG 基因突变或丢失可能起到重要作用,可能涉及肿瘤的发生、发展全过程,而且还参与肿瘤淋巴结转移过程。

细胞周期调控与肿瘤的发生关系密切,cyclinD1 是细胞周期调控主要因子之一,在细胞周期的 G₁/S 期转变中起关键作用。cyclinD1 能刺激周期蛋白依赖性激酶 4(CDK4)介导的视网膜母细胞瘤(RB)基因转录产物磷酸化,当 cyclinD1 过表达时将使 CDK4 对 RB 蛋白调节失控,从而导致细胞失控性生长,形成肿瘤。因此 cyclinD1 基因是一种癌基因。cyclinD1 可发生多种形式的基因突变,一般在鳞癌和腺癌中较常见,在食管癌、头颈部鳞癌和肺癌等肿瘤中都发现 cyclinD1 基因过表达^[6]。梁朝晖等^[7]研究显示:63.3% 的鼻咽癌有 cyclinD1 过表达。钟守军等^[8]报告 cyclinD1 的过表达与鼻咽癌的发生、发展和转移相关。本研究显示,cyclinD1 在鼻咽黏膜慢性炎中仅表达 8.0%,而在癌前病变和鼻咽癌组织中表达分别为 63.6%和 72.1%,表明 cyclinD1 基因的突变可能发生在鼻咽黏膜上皮癌变的早期阶段,是癌变主要的促发因素。本研究还显示,鼻咽癌恶性程度越高,cyclinD1

蛋白表达水平越高,但其表达水平与 TNM 分期和淋巴结转移无相关性。提示检测 cyclinD1 蛋白的表达水平可能作为潜在的早期诊断鼻咽癌的免疫学标志。

综上所述,PTTG、cyclinD1 蛋白的高表达在鼻咽癌的发生、发展中具有重要意义。但这两种蛋白的表达并无相关性,提示这两种蛋白可能通过不同的机制影响肿瘤的发生、发展、侵袭和转移。肿瘤的发生、浸润、转移是多基因、多步骤的调控过程,是多因素共同作用的结果,因此,多种指标联合检测更有重要参考价值,PTTG 蛋白的异常表达可作为判断鼻咽癌恶性程度、侵袭性及评估预后的一个重要指标。而 cyclinD1 蛋白的过表达是鼻咽黏膜癌变的早期事件,在癌前病变组织中作 cyclinD1 蛋白的检测可以预测其癌变倾向。

参考文献

- [1] HAMID T, KAKAR S S. PTTG and cancer[J]. *Histol Histopathol*, 2003, 18(1): 245-251.
- [2] ZHANG X, HORWITZ G A, PREZANT T R, et al. Structure, expression, and function of human pituitary tumor-transforming gene(PTTG)[J]. *Mol Endocrinol*, 1999, 13(1): 156-166.
- [3] 王先丽, 莫维光. PTTG 基因的结构、功能及其与肿瘤的关系[J]. *医学文选*, 2006, 25(1): 128-130.
- [4] HUI A B, LO K W, LEUNG S F, et al. Detection of recurrent chromosomal gains and losses in primary nasopharyngeal carcinoma by comparative genomic hybridization[J]. *Int J Cancer*, 1999, 82(4): 498-503.
- [5] 厉浩, 刘保安. 鼻咽癌中 PTTG 的表达及其临床病理意义[J]. *湖南师范大学学报(医学版)*, 2008, 5(2): 10-13.
- [6] UMEKITA Y, OHI Y, SAGARA Y, et al. Overexpression of cyclinD1 predicts for poor prognosis in estrogen receptor-negative breast cancer patients[J]. *Int J Cancer*, 2002, 98(3): 415-418.
- [7] 梁朝晖, 胡少为, 何青莲. P16 和 cyclin D1 在鼻咽癌及癌前病变中表达的临床意义[J]. *国际医药卫生导报*, 2009, 15(12): 18-21.
- [8] 钟守军, 姚运红, 李飞虹, 等. EGR-1 与 p53, p16, CyclinD1 在鼻咽癌中的表达及意义[J]. *肿瘤研究与临床*, 2006, 18(10): 664-666.

(收稿日期: 2018-08-12 修回日期: 2018-12-11)