

文章编号:1005-6947(2005)08-0611-03

· 简要论著 ·

抑癌基因 FHIT 和 PTEN 的表达与胆囊癌临床病理因素的关系

陈钢¹, 徐迈宇², 刘峰¹, 易继林¹

(1. 华中科技大学同济医学院附属同济医院 普通外科, 湖北 武汉 430030; 2. 浙江省温州市第二人民医院 普通外科, 浙江 温州 325000)

摘要:为探讨脆性组氨酸三联体(FHIT)基因和与张力蛋白同源、第10染色体丢失的磷酸酶基因(PTEN)与胆囊癌临床病理因素之间的关系。笔者采用免疫组织化学SP法检测53例原发性胆囊癌和25例慢性胆囊炎中PTEN和FHIT蛋白的表达。结果显示在胆囊癌中,FHIT和PTEN蛋白阳性表达率分别为28.3%(15/53)和43.4%(23/53),而在25例慢性胆囊炎组织中FHIT和PTEN蛋白阳性表达率分别为88.0%(22/25)和100%(25/25),其差异均有统计学意义($P < 0.05$)。FHIT蛋白的表达与肿瘤分化程度及预后有关($P < 0.05$),而PTEN蛋白的表达则与Nevin分期、肿瘤分化程度及预后有关($P < 0.05$)。提示抑癌基因FHIT,PTEN的低表达在胆囊癌的发生、发展中起重要作用;检测FHIT,PTEN蛋白的表达有助于判断病情及预后。

关键词:胆囊肿瘤/病理学; 基因表达; 抑癌基因

中图分类号:R735.8; R730.233

文献标识码:B

胆囊癌是胆道系统常见的恶性肿瘤,其发生、发展有众多癌基因和抑癌基因的参与。1996年Ohta等^[1]采用外显子捕获法(exon trapping)于染色体3p14.2上克隆出FHIT(fragile histidine triad)基因,FHIT基因系一重要的肿瘤候选抑癌基因。近年发现的抑癌基因PTEN(phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome ten)是迄今发现的第1个具有双重特异性磷酸酶(DSP)活性和酪氨酸磷酸酶(PTP)活性的抑癌基因^[2]。本实验旨在研究胆囊癌组织中FHIT和PTEN基因蛋白的丢失与肿瘤组织学类型等临床特征的关系。

1 材料与方法

1.1 标本来源及分组

1.1.1 胆囊癌组 53例原发性胆囊癌标本取自同济医院普通外科1995年1月~2004年8月住院患者的手术切除胆囊组织。其中男23例,女30例;年龄32~78(平均 42.5 ± 16.5)岁。按Nevin分期,I期3例,II期6例,III期8例,IV期10例,V期26例。53例患者进行了1年以上随访,死亡病

例27例均死于胆囊癌及其并发症。

1.1.2 对照组 以同期住院慢性胆囊炎患者胆囊标本作为对照,共25例,男10例,女15例;年龄28~73(平均 39.5 ± 12.5)岁。标本均经HE染色和组织学观察确定。

1.2 免疫组化分析

石蜡切片常规脱蜡至水,以3%过氧化氢-甲醇室温下孵育30min封闭内源性过氧化物酶活性,在10mmol/L枸橼酸缓冲液(pH6.0)中,微波修复抗原,羊血清封闭非特异性背景,37℃孵育30min;兔抗人FHIT及兔抗人PTEN(Santa Cruz,购自福州迈新公司)抗体均稀释为1:100,4℃过夜;加入SP试剂盒,按说明书进行。用购买的阳性对照片作为阳性对照;用PBS缓冲液(pH7.4)代替第一抗体作为阴性对照。

1.3 结果判断

参考文献^[3]方法观察FHIT蛋白的分布、阳性强度和阳性率。按染色强度记分:0分为无色,1分为浅黄色,2分为棕黄色,3分为棕褐色。按阳性细胞所占百分比记分:0分为阳性细胞 $< 5\%$,1分为 $5\% \sim 25\%$,2分为 $25\% \sim 50\%$,3分为 $50\% \sim 75\%$,4分为 $> 75\%$ 。染色强度与阳性细胞百分比的乘积9~12分为强阳性(++),5~8分为弱阳性(+),0~4分为阴性(-),以此确定FHIT蛋白表达状况。PTEN结果判断以细胞质中出现棕黄色

收稿日期:2005-05-30; 修订日期:2005-07-26。

作者简介:陈钢(1979-),男,浙江温州人,华中科技大学同济医学院附属同济医院博士研究生,主要从事肝胆外科方面的研究。

通讯作者:陈钢 电话:027-86360987(H), 027-83663820(O), 13986099638(手机); E-mail:cg_2188@126.com。

并高于背景且无特异染色为阳性细胞;随机选择4个高倍视野,以阳性细胞数 $\geq 10\%$ 为阳性, $< 10\%$ 为阴性^[4]。

1.4 统计方法

采用 Fisher's 精确概率法和 χ^2 检验判断 FHIT 和 PTEN 蛋白表达的差异及其与各病理指标的关系。 $P < 0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 FHIT 和 PTEN 蛋白的表达

FHIT 和 PTEN 蛋白免疫组化染色阳性产物呈棕黄色或棕褐色。FHIT 蛋白阳性物质主要分布于细胞核,PTEN 蛋白阳性物质主要分布于细胞质。25 例慢性胆囊炎组织 FHIT 和 PTEN 蛋白阳性表达率分别为 88.0% (22/25) 和 100% (25/25)。53 例胆囊癌中, FHIT 和 PTEN 蛋白阳性表达率分别为 28.3% (15/53) 和 43.4% (23/53)。经 χ^2 检验, FHIT 和 PTEN 蛋白在胆囊癌中的表达阳性率均显著低于慢性胆囊炎 ($P < 0.05$)。

图1 PTEN 在胆囊癌组织中的阳性表达 (SP × 400)

图2 FHIT 在胆囊癌组织中的阴性表达 (SP × 200)

2.2 FHIT 和 PTEN 蛋白表达与胆囊癌临床病理指标的关系

FHIT 和 PTEN 蛋白表达均与胆囊癌患者性别、年龄、淋巴结转移及远处转移无关, FHIT 蛋白的表

达则与组织学类型及预后有关, 而 PTEN 蛋白的表达与胆囊癌患者的 Nevin 分期、组织学类型及预后有关(附表)。

附表 FHIT 蛋白的表达与胆囊癌临床病理特征的关系

临床病理特征	例数	FHIT 蛋白的表达			PTEN 蛋白的表达		
		阳性数	阳性率(%)	P 值	阳性数	阳性率(%)	P 值
性别							
男	23	7	30.4	0.763	9	39.1	0.140
女	30	8	27.6		14	60.9	
年龄(岁)							
<55	24	7	29.2	0.899	13	54.2	0.150
≥ 55	29	8	27.6		10	34.5	
淋巴结转移							
无	22	5	22.7	0.448	8	36.4	0.384
有	31	10	32.3		15	48.4	
Nevin 分期							
I~II	9	2	22.2	0.885	8	88.9	0.009
III~IV	18	5	27.8		7	38.9	
V	26	8	30.8		8	30.8	
组织学类型							
高分化	13	9	69.2	0.000	10	76.9	0.015
中分化	18	5	27.8		7	38.9	
低分化	22	1	4.5		6	27.3	
远处转移							
无	29	6	20.7	0.176	14	48.3	0.431
有	24	9	37.5		9	37.5	
术后生存期(年)							
<1	27	3	11.1	0.005	6	22.2	0.002
≥ 1	26	12	46.2		17	65.4	

3 讨论

FHIT 基因蛋白是三联组氨酸 (histidine triad, HIT) 蛋白家族的成员,其抑制肿瘤的作用机制至今尚未完全明确,可能与以下方面有关:(1)具有 Ap3A 水解酶的作用。Ap3A 为 ATP 类似物,能以底物方式提供磷酸基团从而提高蛋白激酶的活性。因此 FHIT 表达下降时 Ap3A 水平升高可增强生长信号传导途径,阻断抑制途径或凋亡通道导致肿瘤的发生和发展。(2)mRNA 脱帽功能。FHIT 蛋白能作用于 mRNA 帽类似物,影响重要基因 mRNA 的翻译。(3)FHIT 底物复合物作用。FHIT 蛋白还可与其底物结合通过 FHIT 底物复合物产生抑癌作用;这种复合物可能是一种信号物质,其抑癌作用可能比其水解酶作用更重要。本研究应用 SP 免疫组化方法探讨了 FHIT 蛋白在原发性胆囊癌中的表达。结果显示: FHIT 蛋白在胆囊癌组织中呈低表达,阳性率为 28.3% (15/53),而在慢性胆囊炎中的表达为 88.0% (22/25),差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。此结果与国外报道^[5]的仅 21.2% (7/33) 胆囊癌组织表达 FHIT 蛋白结果相似。进一步观察发现胆囊癌组织中 FHIT 蛋白的表达与肿瘤组织的分化程度有关;低分化组织中 FHIT 蛋白表达阳性率 4.5% (1/22) 明显低于中分化组的 27.8% (5/18) 和高分化组的 69.2% (9/13) ($P < 0.05$)。表明胆囊癌组织中确实存在 FHIT 蛋白,且肿瘤分化越好, FHIT 蛋白阳性率表达越高,提示 FHIT 基因异常表达在胆囊癌的发生发展中起重要作用。由附表可见, FHIT 蛋白表达与术后生存时间有关,术后 1 年内死亡组 FHIT 蛋白阳性率为 11.1% (3/27),存活 1 年以上死亡组阳性率为 46.2% (12/26)。Mady 等^[6]研究表明 FHIT 蛋白的表达的降低与结肠癌的不良预后呈正相关。故笔者认为 FHIT 的低表达可作为判断胆囊癌患者预后的一个有用指标。

最近发现的抑癌基因 PTEN 在多种肿瘤如胶质母细胞瘤、前列腺癌及乳腺癌中频繁突变^[2],这种基因突变导致其磷酸酶活性剧降,肿瘤细胞恶性

增殖能力增强^[7]。此外,PTEN 可通过调节细胞的黏附功能,影响肿瘤的浸润和转移。本实验显示,在慢性胆囊炎组织中 PTEN 蛋白阴性表达率为 0% (0/25),而在胆囊癌组织中却存在着高比率 56.6% (30/53) 的 PTEN 蛋白阴性表达。提示在胆囊癌的发生发展中,PTEN 蛋白的阴性表达可能起着重要作用。此外,本结果还显示,PTEN 蛋白在高、中、低分化型胆囊癌组织中的阳性表达率有显著的统计学差异 ($P < 0.05$),且与 Nevin 分期、及预后有明显关系。

综上所述,胆囊癌组织中 FHIT 和 PTEN 基因蛋白的失表达均与原发性胆囊癌的发生、发展有关,二者均有望成为指导临床治疗及判断患者预后的重要参考指标。

参考文献:

- [1] Ohta M, Inoue H, Cotticelli MG, *et al.* The human FHIT gene, spanning the chromosome 3p14.2 fragile site and renal carcinoma associated translocation breakpoint, is abnormal in digestive tract cancers [J]. *Cell*, 1996, 84 (4): 587 - 597.
- [2] Steck PA, Pershouse MA, Jasser SA, *et al.* Identification of candidate tumour suppressor gene, MMAC1, at chromosome 10q23.3 that is mutated in multiple advanced cancer [J]. *Nat Genet*, 1997, 15 (4): 356 - 362.
- [3] Masaharu K, Kazuo Y, Koichirou K, *et al.* Expression of FHIT, Mlh1, and p53 protein in human gallbladder carcinoma [J]. *Cancer Letters*, 2003, 199 (2): 131 - 138.
- [4] Torres J, Navarro S, Roglá I, *et al.* Heterogeneous lack of expression of the tumour suppressor PTEN protein in human neoplastic tissues [J]. *Eur J Cancer*, 2001, 37 (1): 114 - 121.
- [5] Wistuba II, Ashfaq R, Maitra A, *et al.* Fragile Histidine Triad Gene Abnormalities in the Pathogenesis of Gallbladder Carcinoma [J]. *Am J Pathol*, 2002, 160 (6): 2073 - 2079.
- [6] Mady HH, Melhem MF. FHIT protein expression and its relation to apoptosis, tumor histologic grade and prognosis in colorectal adenocarcinoma: an immunohistochemical and image analysis study [J]. *Clin Exp Metastasis*, 2002, 19 (4): 351 - 358.
- [7] Myers MP, Stolarov P, Eng C. PTEN, the tumor suppressor form human 10q23, is a dual specificity phosphatase [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94 (17): 9052 - 9057.