

文章编号:1005-6947(2005)03-0225-03

· 简要论著 ·

MGMT 蛋白在胃癌中的表达及其临床意义

张天华¹, 邹小明¹, 刘建丰², 曹守强¹

(1. 哈尔滨医科大学第二临床医学院 普通外科, 黑龙江 哈尔滨 150086; 2. 大连医科大学, 辽宁 大连 116027)

摘要:为研究胃癌组织中 MGMT 蛋白表达及其临床意义。笔者采用免疫组化方法检测 38 例胃癌标本(胃癌组)和 11 例胃正常黏膜组织标本(对照组)中 MGMT 蛋白的表达。结果显示在胃癌标本中 MGMT 蛋白的阳性表达率为 55.26% (21/38), 对照组中 MGMT 蛋白阳性表达率为 90.91% (10/11), 组间差别显著 ($P = 0.038$)。胃癌组中 MGMT 蛋白的阳性表达与癌组织浸润深度 ($P = 0.015$)、淋巴结转移 ($P = 0.012$)、远处器官转移 ($P = 0.005$)、临床病理分期 ($P = 0.048$) 有显著相关。提示 MGMT 蛋白表达可作为判定胃癌预后的指标。

关键词:胃肿瘤/病理学; 癌基因蛋白 MGMT

中图分类号: R735.2; R730.231

文献标识码: B

胃癌是全世界最常见的恶性肿瘤, 1980 年全世界约有 67 万胃癌新发病例, 居全部恶性肿瘤的首位。随着人们对胃癌的发病机制和生物学行为不断深入的研究, 发现人类肿瘤形成和发展必有癌基因激活和抑癌基因的失活。MGMT 是抑癌基因, 是 DNA 修复蛋白—O⁶ ↑ 甲基鸟嘌呤 ↑ DNA ↑ 甲基转移酶的简称。研究发现, MGMT 基因异常表达可以激活癌基因或者使抑癌基因失活, 这在肿瘤形成过程中起到了重要作用^[1]。国内外学者^[2~4] 近年研究发现 MGMT 基因及其蛋白表达与一些恶性肿瘤发生、发展、生物学行为和预后有密切联系。作者应用 SP 免疫组化法研究了 38 例胃癌组和 11 例正常胃组织中 MGMT 蛋白表达情况, 探讨其在胃癌临床病理中的意义。

1 材料与方 法

1.1 标本来源及分组

收稿日期:2004-08-17; 修订日期:2004-12-30。

作者简介:张天华(1977-), 男, 黑龙江哈尔滨人, 哈尔滨医科大学第二临床医学院医师, 硕士, 主要从事胃癌的诊断与治疗方面的研究。

通讯作者:张天华 电话:0451-86992918(手机); E-mail: hunt-rezth@sohu.com。

1.1.1 胃癌组 38 例。选用哈尔滨医科大学第二临床医学院 2003 年 1~6 月胃癌根治术切除的标本。其中男 29 例, 女 9 例, 男女比例为 3.2:1; 年龄 30~77(平均年龄 56.9)岁。高~中分化胃癌 8 例, 低分化胃癌 30 例。早期原发癌 7 例, 进展期胃癌 31 例。

1.1.2 对照组 11 例。标本取自上述胃癌根治术中, 肉眼所见距肿瘤边缘 6cm 以外胃黏膜组织。组织标本均经 10% 甲醛固定, 石蜡包埋, 常规切片。

1.2 实验试剂

鼠抗人 MGMT 单克隆抗体、SP 免疫组化试剂盒及 DAB 显色试剂盒等均购自福州迈新(Maixin)生物技术开发公司。

1.3 免疫组化方法及阳性结果判定

采用链霉素亲生物素-过氧化物酶法(SP法)。采用高温、高压修复抗原, 组化染色按 SP 试剂盒提供的说明书进行。阳性细胞判定标准:呈棕色颗粒, 着色主要位于细胞核、细胞浆或两者都着色(图 1, 2)。MGMT 蛋白表达结果判断:每张切片中阳性细胞数 < 10% 为阴性(-), > 10% 为阳性(+)

图1 MGMT 蛋白阳性表达,阳性物质定位于细胞核(SP × 400)

图2 MGMT 蛋白阳性表达,阳性物质定位于细胞浆(SP × 400)

1.4 统计学分析

采用统计学软件包 SPSS11.0 进行统计学分析,应用非参数检验(Mann-Whitney Test)对临床病理分期(pTNM 分期)的组间差异进行检验;对性别、年龄等的组间差异用 χ^2 检验(Fisher 精确概率检验法)进行检验;应用 logistic 回归进行多因素分析; $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 正常组织和胃癌组织中 MGMT 蛋白的表达

对照组胃黏膜组织中, MGMT 蛋白阳性表达 10 例(90.91%);而 38 例胃癌组织中,阳性 21 例(55.26%),二者差异显著($P < 0.05$)(表1)。

2.2 MGMT 蛋白的表达与临床病理特征的关系

MGMT 蛋白表达与年龄、性别、分化程度等无关($P > 0.05$);而 MGMT 蛋白表达与癌组织浸润深度、淋巴转移、远处转移及临床分期(pTNM 分期)有密切联系($P < 0.05$)(表1)。

应用 logistic 逐步回归分析方法筛选相关因素,最终进入 logistic 回归模型的危险因素有 3 个,分别是浸润深度、淋巴转移和远处转移,且此 3 个参数与 MGMT 蛋白表达相关程度甚高;该 3 个参数间的相对重要性依次是:淋巴转移、浸润深度、远处转移(表2)。

表1 MGMT 蛋白的表达与临床特征的关系(含正常胃黏膜组织中的表达)(n, %)

临床病理参数	n	MGMT 蛋白表达		P
		阳性	阳性率	
组织				
正常胃黏膜	11	10	90.91	<0.05
胃癌组织	38	21	55.26	
性别				
男	29	15	51.72	>0.05
女	9	6	66.67	
年龄(岁)				
<60	23	13	56.52	>0.05
≥60	15	8	53.33	
浸润深度				
未到浆膜	13	11	84.62	<0.05
浸及浆膜	25	10	40.00	
分化程度				
高分化	8	4	50.00	>0.05
低分化	30	17	56.67	
临床病理分期(pTNM 分期)				
I+II	17	13	76.47	<0.01
III+IV	21	8	38.10	
淋巴结转移				
有	28	12	42.86	<0.05
无	10	9	90.00	
远处转移				
有	9	1	11.11	<0.01
无	29	20	68.97	

表2 进入 logistic 回归方程中的自变量及有关参数的估计值

进入变量	B	S. E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)
浸润深度	-1.410	1.063	1.759	1	.185	.244
淋巴转移	-1.417	1.274	.811	1	.386	.317
远处转移	-2.389	1.188	4.042	1	.044	.092
常数项 (constant)	2.623	1.165	5.070	1	.024	13.77

3 讨论

研究发现,在胃癌的发生发展过程中,多种肿瘤标志物有不同程度的改变^[5]。在各种诊断手段中,肿瘤标志物的测定有其简便、痛苦小、经济等特点。但在临床上单一检测特异性较低,因此根据各标志物的特性选用适当的标志物联合检测,动态观察,有助于提高诊断率^[6]。人MGMT基因定位于10q26上,全长约170kb^[7],被I-kilohase mRNA编码^[8]其抵抗细胞毒的作用主要取决于肽链145位上的半胱氨酸位点。含有5个外显子,其中第一个外显子不翻译,而是参与基因的表达调控。由于MGMT能将甲基、二氯乙基等一大类烷化基团转移到本身的半胱氨酸上使它们失活,而本身也发生不可逆损伤。因此MGMT在保护细胞免受烷基类物质的毒性、突变性和致癌活性中具有决定性作用。Esteller等^[1]研究表明,如果组织中MGMT异常,不能发挥正常的作用或作用不足时, O^6 ↑甲基鸟嘌呤没被及时移走,在DNA复制中,该加合物与胸腺嘧啶错配,发生G:C→A:T突变,导致癌基因激活,进一步发展则可产生肿瘤。

最近的研究表明,MGMT蛋白表达的缺失或突变与许多恶性肿瘤有关,包括胰腺癌^[9]、结肠癌^[1]、神经胶质瘤^[10]、睾丸的非精原细胞瘤^[11]等。但MGMT蛋白表达与胃癌的临床病理特征之间的关系少有报道。本实验证实表明,与对照组胃组织相比,胃癌的MGMT蛋白表达显著下降,提示MGMT蛋白表达缺失与胃癌的发生有关。本研究还显示,MGMT蛋白表达与胃癌的浸润深度、临床病理分期(pTNM分期)密切相关,即肿瘤的恶性程度越高,MGMT蛋白阳性表达率越低,提示该基因亦在肿瘤的发展过程中起重要作用。同时,MGMT蛋白阳性表达与胃癌的浸润深度、淋巴结转移、远处转移呈高度相关,提示MGMT蛋白可以作

为评价胃癌预后的一个生物学指标。有学者^[12]证明,MGMT等基因甲基化亦可作为在血清中探测肿瘤细胞的标志物,从而开辟了用这种新标志物探测肿瘤的血行转移情况的方法。同时,阻断MGMT的作用还可以明显增强烷化剂化疗药的疗效^[13]。

参考文献:

- [1] Esteller M, Toyota M, Sanchez-CM Hamilton, *et al.* Inactivation of the DNA Repair Gene O^6 -Methylguanine-DNA Methyltransferase by promoter hypermethylation is associated with G to A mutations in K-ras in colorectal tumorigenesis [J]. *Cancer Res*, 2000, 60(9): 2368-2371.
- [2] Pruss I, Eberhagen I, Haas S, *et al.* O^6 -methylguanine-DNA methyltransferase activity in breast and brain tumors [J]. *Int J Cancer*, 1995, 61(3): 321-326.
- [3] Wang Y, Kato T, Ayaki H, *et al.* Correlation between DNA methylation and expression of O^6 -methylguanine-DNA methyltransferase gene in cultured human tumor cells [J]. *Mutat Res*, 1992, 273(2): 221-230.
- [4] Bae SI, Lee HS, Kim SH, *et al.* Inactivation of O^6 -methylguanine-DNA methyltransferase by promoter CpG island hypermethylation in gastric cancers [J]. *Br J Cancer*, 2002, 86(12): 1888-1892.
- [5] 沙文,僧国珍,侯鹏飞,等.血清急性时相蛋白在胃癌复发中的临床意义[J].*中国普通外科杂志*, 2003, 12(1): 9-11.
- [6] 王怀志,赵玉亭,赵国强,等.胃癌患者血清CA19-9, CA242联合检测[J].*中国普通外科杂志*, 2004, 13(9): 711-712.
- [7] Natarajan AT, Vermeulen S, Darroudi F, *et al.* Chromosomal localization of human O^6 -methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT) gene by in situ hybridization [J]. *Mutagenesis*, 1992, 7(1): 83-85.
- [8] Fornace AJ, Jr Papanthasiou MA, Hollander MC, *et al.* Expression of the O^6 -methylguanine DNA methyltransferase gene MGMT in MER+ and MER- human tumor cells [J]. *Cancer Res*, 1990, 50(24): 7908-7911.
- [9] Kokkinakis DM, Ahmed MM, Delgado R, *et al.* Role of O^6 -methylguanine-DNA methyltransferase in the resistance of pancreatic tumors to DNA alkylating agents [J]. *Cancer Res*, 1997, 57(23): 5360-5368.
- [10] Esteller M, Garcia-Foncillas J, Andion E, *et al.* Inactivation of the DNA-repair gene MGMT and the clinical response of gliomas to alkylating agents [J]. *New Eng J Med*, 2000, 343(19): 1350-1354.
- [11] Smith-Sorensen B, Lind GE, Skotheim RI, *et al.* Frequent promoter hypermethylation of the O^6 -methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT) gene in testicular cancer [J]. *Oncogene*, 2002, 21(57): 8878-8884.
- [12] Sanchez-Cspedes M, Esteller M, Wu L, *et al.* Gene promoter hypermethylation in tumors and serum of head and neck cancer patients [J]. *Cancer Res*, 2000, 60(4): 892-895.
- [13] Rhines LD, Sampath P, Dolan ME, *et al.* O^6 -benzylguanine potentiates the antitumor effect of locally delivered carmustine against an intracranial rat glioma [J]. *Cancer Res*, 2000, 60(22): 6307-6310.