

文章编号:1005-6947(2005)02-0100-04

· 肝癌专题研究 ·

原发性肝癌中 STAT1, STAT2 与 hMLH1, hMSH2 的表达关系

周钧, 钟德珩, 华颂文, 戴卫东, 易石坚

(中南大学湘雅二医院 普通外科, 湖南 长沙 410011)

摘要:目的 探讨肝细胞癌中 STAT1, STAT2 与 hMLH1, hMSH2 的表达关系及意义。方法 利用 SABC 免疫组织化学方法检测 37 例原发性肝癌及癌旁组织标本中的 STAT1, STAT2, hMLH1, hMSH2 蛋白的表达。结果 HCC 组织中 STAT1, STAT2 ($2.30 \pm 1.81, 2.49 \pm 2.13$) 和 hMSH1, hMSH2 ($2.24 \pm 1.77, 1.65 \pm 1.70$) 蛋白阳性率和阳性信号显著低于癌旁肝组织 ($3.73 \pm 0.99, 3.62 \pm 1.85, 3.38 \pm 1.32, 3.30 \pm 1.37$) ($P < 0.05$); 4 种蛋白活性在癌组织的分化程度中高分化阳性表达 ($4.15 \pm 2.45, 4.35 \pm 2.45, 3.52 \pm 1.73, 4.39 \pm 1.50$) 显著高于低分化者 ($1.80 \pm 2.20, 2.03 \pm 2.14, 1.78 \pm 1.62, 1.58 \pm 1.84$) ($P < 0.05$), 癌旁组织中 STAT1 与 hMSH2, STAT2 与 hMLH1, hMSH2 表达呈正相关 ($P < 0.05, P < 0.01$)。结论 STAT1, STAT2 和 hMLH1, hMSH2 均可能在细胞早期的恶性转化中起重要作用。

关键词: 肝肿瘤/病理学; 肝细胞癌/病理学; 基因表达; 信号传导和转录激活因子; 错配修复蛋白
中图分类号: R735.7; R730.261 **文献标识码:** A

Relationship of expression between STAT1, STAT2 and hMLH1, hMSH2 in hepatocellular carcinoma

ZHOU Jun, ZHONG De-wu, HUA Song-wen, DAI Wei-dong, YI Shi-jian

(Department of Hepatobiliary, The Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410011, China)

Abstract: Objective To study the significance and expression relationship among STAT1, STAT2 and hMLH1, hMSH2 proteins in hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods** SABC immunohistochemistry method was used to detect the expression of STAT1, STAT2, hMLH1 and hMSH2 proteins in cancer tissues and paracancer tissue from 37 patients of HCC. **Results** The positive rates and expressive levels of STAT1, STAT2, and hMLH1, hMSH2 in HCC was significantly lower than those in paracancer liver tissues ($P < 0.05$). The level of expression of the 4 proteins in well-differentated cancer tissue was significantly higher than that in poorly differentiated cancer tissue ($P < 0.05$). A positive correlation was found for STAT1 and hMSH2, STAT2 and hMLH1, hMSH2 ($P < 0.05$) in paracancer liver tissues. **Conclusions** The data suggest that STAT1, STAT2 and hMLH1, hMSH2 may play an important role in the early stage of malignant transformation of hepatocytes.

Key words: LIVER NEOPLASMS/pathol; HEPATOMY/pathol; GENES EXPRESSION; STAT; hMLH1; hMSH2
CLC number: R735.7; R730.261 **Document code:** A

在正常情况下细胞分裂和增殖与大量细胞外信号向核内传导的信号传导通路密切相关,与大多

数肿瘤一样,肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)亦促生长和抑生长的信号级联成分异常,导致肝细胞生长失控^[1]。错配修复(mismatch repair, MMR)是细胞复制后一种修复机制,起着维持 DNA 复制保真度、控制基因突变的作用。错配修复每一基因突变都会导致细胞错配修复功能缺陷,结果产生遗传不稳定,表现为复制错误成微卫星不稳,可

收稿日期:2004-07-08; 修订日期:2004-01-04。

作者简介:周钧(1974-),男,湖南岳阳人,中南大学湘雅二医院主治医师,主要从事肝胆胰方面的研究。

通讯作者:周钧 电话:13975806930(手机)。

因此发生肿瘤^[2]。信号传导和转录活化因子,1,2 (signal transducer and activation of transcription, STAT1, 2), 是重要的信号级联成分,参与细胞生长、发育分裂,分化和细胞恶性转化起重要作用^[3]。作者应用免疫组织化学方法研究 HCC 及其癌旁组织中信号传导和转录活化因子(STAT1, STAT2)及错配修复蛋白(hMLH1, hMSH2)表达及其相互关系和临床病理意义,报告如下。

1 材料与方法

1.1 标本

1.1.1 HCC 组 收集 2002 年 3 月~2002 年 11 月在我院行手术并病理证实为 HCC 的患者 37 例,男 36 例,女 1 例;年龄 25~73 (平均 44.8 ± 14.2) 岁。术前未行化疗及放疗,切除的标本取癌块组织。37 例癌组织其分化程度按刘复生标准^[4],分为高分化 4 例(10.9%),中分化 15 例(40.5%)及低分化 18 例(48.6%),30 例有不同程度肝硬化和 7 例肝纤维化(其中 15 例呈不典型增生)。

1.1.2 癌旁组 切取 HCC 患者距癌肿边缘 ≥ 1 cm 的非癌组织^[5]。

1.1.3 对照组 慢性胆囊炎手术切除取正常肝组织组(对照组):男 9 例,女 8 例;年龄 21~53 (平均 33 ± 11.2) 岁。

所有组织均经 10% Formalin 固定,常规石蜡包埋,5 μ m 连续切片。

1.2 主要试剂

兔抗人 hMLH1 (1:100), hMSH2 (1:100), STAT1 (1:100), STAT2 (1:100), 多克隆抗体及 SABC 免疫组化试剂盒均购武汉自武汉博士德公

司。

1.3 检测

STAT1, STAT2, hMLH1, hMSH2 均采用 SABC 法,具体操作按试剂盒说明书进行,用 PBS 代替一抗、二抗和 Streptavidin - peroxidase 作阳性对照。

1.4 结果判定

据胡琼玲^[3]的综合评分法:着色强度+阳性细胞率为该标本的评分值。着色强度评分:0 分,无;1 分,弱;2 分,中;3 分,强。阳性细胞率评分:0 分, < 5%; 1 分, 5%~10%; 2 分, 10%~20%; 3 分, 20%~50%; 4 分, $\geq 50\%$ 。

1.5 统计处理

将所得数据输入 SPSS 10.0 软件包进行 χ^2 检验、*t* 检验, Fisher's 精确概率法及等级相关分析,检验水准 $\alpha = 0.05$, $\alpha = 0.01$ 。

2 结果

2.1 STAT1, STAT2 的表达

STAT1, STAT2 阳性反应物质为棕黄色颗粒,主要表现为细胞浆阳性,少数细胞核染色(图 1)。STAT₁、STAT₂ 在癌中心组织,与癌旁组织及正常肝组织之间比较差异有显著性($P < 0.01$),癌旁组织与正常肝组织的表达差异无显著性($P > 0.05$)(表 1)。

2.2 hMLH1, hMSH2 的表达

hMLH1, hMSH2 阳性反应物为棕黄色颗粒,主要表现为胞浆阳性(图 2)。hMLH1, hMSH2 在癌中心组织中阳性评分值明显低于癌旁及正常肝组织($P < 0.01$),而癌旁组织及正常肝组织的表达差异无显著性($P > 0.05$)(表 2)。

表1 STAT1, STAT2 在三种组织中的表达情况

项目	n	评分($\bar{x} \pm s$)
STAT1		
癌中心	37	2.30 ± 1.81
癌旁	37	3.73 ± 0.99 [†]
正常	17	4.47 ± 1.66 [†]
STAT2		
癌中心	37	2.49 ± 2.13
癌旁	37	3.62 ± 1.85 [†]
正常	17	3.82 ± 1.98 [†]

注:†与癌组织比较, $P < 0.01$

表2 hMLH1, hMSH2 在三种组织中的表达情况

项目	n	评分($\bar{x} \pm s$)
hMLH1		
癌中心	37	2.24 ± 1.77
癌旁	37	3.38 ± 1.32 [†]
正常	17	3.94 ± 1.66 [†]
hMSH2		
癌中心	37	1.65 ± 1.70
癌旁	37	3.30 ± 1.37 [†]
正常	17	3.88 ± 1.98 [†]

注:†与癌组织比较, $P < 0.01$

2.3 STAT1, STAT2 和 hMLH1, hMSH2 与肝癌临床病理分型的关系

STAT1, STAT2 和 hMLH1, hMSH2 的表达与 HCC 的分化程度有关 ($P < 0.05$); hMLH1 在 AFP 阳性者, 其表达明显高于 AFP 阴性者 ($P < 0.05$) (表3)。

表3 STAT1, STAT2 与 hMLH1, hMSH2 与肝癌临床病理分型的关系

特征	n	STAT1	STAT2	hMLH1	hMSH2
病理分型					
HCC	33	3.39 ± 1.82	2.52 ± 2.20	1.76 ± 1.71	2.42 ± 1.89
MHC	4	1.50 ± 1.73	2.25 ± 1.71	0.75 ± 1.50	1.25 ± 2.50
分化程度					
高分化	4	4.15 ± 2.45 ¹⁾	4.35 ± 2.45 ^{1), 2)}	3.52 ± 1.73 ^{1), 2)}	4.39 ± 1.50 ^{1), 2)}
中分化	15	3.29 ± 1.29 ¹⁾	2.54 ± 2.17	1.20 ± 1.78	2.60 ± 1.99
低分化	18	1.80 ± 2.20	2.03 ± 2.14	1.78 ± 1.62	1.58 ± 1.84
癌栓					
无	20	1.50 ± 1.73	1.80 ± 1.79	1.60 ± 1.90	2.25 ± 2.17
有	17	2.68 ± 1.84	2.67 ± 1.74	1.65 ± 1.50	2.35 ± 1.73
AFP					
阳性	5	2.20 ± 1.30	1.80 ± 1.79	3.00 ± 1.73 ³⁾	2.40 ± 2.19
阴性	32	2.68 ± 1.75	2.67 ± 1.74	1.44 ± 1.63	2.28 ± 1.95

注:1)与低分化比, $P < 0.05$; 2)与中分化癌比, $P < 0.05$; 3)与阴性比, $P < 0.05$

表4 HCC 和癌旁组织中 STAT1, STAT2 表达强度与 hMLH1, hMSH2 的关系

分组	r	P 值
HCC		
STAT1 / hMLH1	0.242	0.150
STAT1 / hMSH2	0.138	0.416
STAT2 / hMLH1	-0.016	0.926
STAT2 / hMSH2	0.178	0.291
癌旁		
STAT1 / hMLH1	-0.210	0.213
STAT1 / hMSH2	0.516	0.01
STAT2 / hMLH1	-0.430	0.008
STAT2 / hMSH2	-0.368	0.025

2.4 HCC 和癌旁组织中 STAT1 表达强度与 hMLH1 和 hMSH2 的表达强度的关系

HCC 中 STAT1, STAT2 与 hMLH1, hMSH2 无相关性, 癌旁组织中 STAT1 和 hMSH2 的表达呈显著正相关 ($P < 0.01$), STAT2 与 hMLH1, hMSH2 的表达呈正相关 ($P < 0.01, P < 0.05$) (表4)。

3 讨论

信号传导和转录活化因子 (signal transducer and activator of transcription, STAT) 是一组能与 DNA 结合的蛋白质。在某些细胞外信号 (如 Jak 激酶、生长因子、IFN 等) 作用产生同源或异常二聚体, 选择性激活下游底物: 信号传导和转录活化因子 (STAT), 使之转位到细胞核, 与细胞核内特异的靶基因位点结合, 发挥其转录调控作用^[6,7]。

hMLM1 为 E Coli mutL 的高度同源基因,位于人类染色体 3p21,与酿酒酵母 MLH1 高度同源,二者编码的氨基酸产物同源性 41% hMSH2 是与细菌的 Muts 同源,位于人类染色体 2p22-21 或 2p16 上,此种错配结合因子是由两种不同的蛋白质组成的异聚二源体,能特异性的结合错配的 DNA 序列^[8,9],DNA 错乱修复系统缺陷在许多肿瘤的发生过程中起重要作用。

本研究发现 STAT1, STAT2, hMLH1, hMSH2 在癌中心组织表达显著性降低,而在癌旁组织及正常肝组织的表达显著性增高,因此考虑 STAT1 和 STAT2 可能在癌肿的早期由于酪氨酸残基位点的点突变或缺失造成激活功能的丧失,不能使信号转位于核内,导致基因调控失调而致肿瘤的发生。而 hMLH1 和 hMSH2 可能在早期表达降低引致肝细胞错配修复的缺陷,进而导致复制错误和微卫星的不稳定,最终导致肝细胞的突变。本研究发现 STAT1, STAT2, hMLH1, hMSH2 癌中心组织中的表达肿瘤高分化者明显高于低分化者 ($P < 0.05$)。hMLH1 在 AFP 阳性者表达显著高于 AFP 阴性者。另外癌旁组织中 hSTAT1 与 hMSH2 表达呈正相关 ($P < 0.01$), STAT2 与 hMLH1, hMSH2 在癌旁组织中表达呈正相关 ($P < 0.01$, $P < 0.05$),考虑在肝细胞恶变中 STAT 蛋白, hMLH1, hMSH2 在 HCC 发生中起重要作用,并且癌症早期中可能由于信号传导通路异常以及错配修复功能

缺陷,导致基因突变致肿瘤发生。其详细机制有待进一步研究。临床上慢性肝病者其表达对预防和防止早期发生肝癌有重要意义。

参考文献:

- [1] Darnel JE, Kerr IM, Stark GR, JAK - STAT pathways and transcriptional activation in response to IFNs and other extracellular signaling proteins [J]. Science, 1994, 264 (6): 1415 - 1421.
- [2] Lu CD, Altieri DC, Tanigawa N, *et al.* Expression of a novel antiapoptosis gene, survivin, correlated with tumor cell apoptosis and p53 accumulation in gastric carcinomas [J]. Cancer Res, 1998, 58(9): 1808 - 1812.
- [3] 胡琼玲, 喻伦银, 陈德芬, 等. 大鼠试验肝癌癌变各阶段间质微血管密度及 VEGF、FLK-1 表达的动态变化 [J]. 癌症, 2001, 20(10): 713.
- [4] 刘复生. 肝胆肿瘤 [A]. 见: 肿瘤病理学 [M]. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1997. 930.
- [5] 郑岩松, 吕新生, 林永堃, 等. Rhoc 基因在原发性肝癌中的表达及其意义 [J]. 中国普通外科杂志, 2002, 11 (12): 737 - 740.
- [6] Watson CJ, Miller WR. Elevated levels of members of the STAT family of transcription in breast carcinoma nuclear extracts [J]. Br J Cancer, 1995, 71(4): 840 - 844.
- [7] Spiekermann K, Biethahns, Wilde S, *et al.* Constitutive activation of stat trasduccion factors in acute mydogenous leukemia [J]. Eur J Haematol, 2001, 67(8): 63 - 67.
- [8] Papadopoulous N, Ncolaidis NC, Wei YF, *et al.* Mutation of a mutL homology in hereditary colon cancer [J]. Science, 1994, 263(3): 1625 - 9.
- [9] Fishel R, Evel A, Lee S, *et al.* Binding of mismatched microsatellite DNA sequences by the human MSH2 protein, Science 1994, 266(11): 1043 - 1051.

本刊荣获第二届湖南省“双十佳期刊”

2005 年 1 月 18 日由中共湖南省委宣传部、省新闻出版局、省科学技术厅联合组织的第二届湖南省“双十佳期刊”评选揭晓,这次共评选出“十佳社科期刊”及“十佳科技期刊”。《中国普通外科杂志》荣获“十佳科技期刊”。

这次获奖是继本刊获“全国高校优秀科技期刊”之后的又一喜讯。在此,我们向多年来关心我刊的各级领导、向多年来为我刊逐步成熟与提高付出辛勤劳动的全体编委及专家、向多年来一如既往地支持我刊工作的广大作者、读者深表谢意。