

· 临床研究 ·

EZH2 和 PTEN 蛋白表达与卵巢浆液性囊腺癌的相关性研究

宋大平¹, 方仔羽²

(1. 湖北省武汉市蔡甸区中医院妇产科 430100; 2. 广西医科大学附属第四医院妇产科, 广西柳州 545005)

摘要:目的 探讨 EZH2 和 PTEN 蛋白在卵巢浆液性囊腺癌中的表达和意义。方法 采用免疫组化 SABC 法对 73 例卵巢浆液性囊腺癌标本和 39 例卵巢浆液性囊腺瘤组织标本中 EZH2 和 PTEN 蛋白的表达进行检测。结果 EZH2 在卵巢浆液性囊腺癌组织中表达阳性率为 71.2%, 高于卵巢浆液性囊腺瘤组织的阳性率 12.8% ($P < 0.01$), 且随着病理分级和临床分期的增加而升高 (r_s 分别为 0.246、0.251, $P < 0.05$); PTEN 蛋白在卵巢浆液性囊腺癌组织中表达阳性率为 45.2%, 低于卵巢浆液性囊腺瘤组织的阳性率 76.9% ($P = 0.0013$), 且随着病理分级和临床分期的增加而降低 (r_s 分别为 -0.330、-0.247, $P < 0.05$); 两者存在负相关 ($r = -0.903$, $P = 0.005$)。结论 EZH2 和 PTEN 蛋白可能参与卵巢浆液性囊腺癌发生、发展过程, 有望作为早期诊断和判断预后的指标。

关键词: 卵巢肿瘤; 免疫组织化学; EZH2; PTEN

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.27.016

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)27-2834-02

Study on correlation between expression of EZH2 and PTEN with ovarian serous cystadenocarcinoma

Song Daping¹, Fang Ziyu²

(1. Department of Gynecology and Obstetrics, Caidian District Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wuhan, Hubei 430100, China; 2. Department of Gynecology and Obstetrics, Fourth Affiliated Hospital, Guangxi Medical University, Liuzhou, Guangxi 545005, China)

Abstract: Objective To investigate the expression and significance of EZH2 and PTEN protein in the patients with ovarian serous cystadenocarcinoma. **Methods** The expression of EZH2 and PTEN in 73 samples of ovarian serous cystadenocarcinoma and 39 samples of ovarian serous cystadenoma tissues was detected with immunohistochemistry technique (SABC). **Results** The positive rate of EZH2 protein expression in ovarian serous cystadenocarcinoma was 71.2%, which was sharply higher than 12.8% in ovarian serous cystadenoma tissues and elevated with the pathological grade and clinical stage increase (r_s 0.246, 0.251, respectively, $P < 0.05$). The positive rate of PTEN protein expression in ovarian serous cystadenocarcinoma was 45.2%, which was sharply lower than 76.9% in ovarian serous cystadenoma tissues and dropped with the pathological grade and clinical stage decrease. (r_s -0.330, -0.247, respectively, $P < 0.05$). A negative correlation was found between EZH2 and PTEN ($r = -0.903$, $P = 0.005$). **Conclusion** EZH2 and PTEN may participate in the tumorigenesis and progression process of ovarian serous cystadenocarcinoma, which could be expected as the indicators of early diagnosis and prognostic judgment.

Key words: ovarian neoplasms; immunohistochemistry; EZH2; PTEN

恶性肿瘤中普遍存在表观遗传学的改变, EZH2 是表观遗传学中重要的因子^[1]。有研究表明 EZH2 在卵巢癌组织中高表达, 与卵巢浆液性囊腺癌的进展与转移密切相关, 但具体机制不清^[2]。PTEN 基因是一种抑癌基因, 对细胞生长和凋亡有重要调控作用。有研究表明 EZH2 和 PTEN 基因在膀胱癌和前列腺癌中存在负相关, 且与癌症的不同病理分级和临床分期有关^[3-4]。本研究拟通过采用免疫组化 SABC 法检测卵巢浆液性囊腺癌标本中 EZH2 和 PTEN 蛋白的表达水平, 探讨其在卵巢浆液性囊腺癌早期诊断中的价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2006 年 8 月至 2011 年 7 月武汉市江夏区第一人民医院和广西医科大学附属第四医院妇产科行卵巢浆液性囊腺癌手术切除且临床资料完整的标本 73 例(观察组), 所有病例术前均未接受放疗或化疗, 术后均经病理确诊, 年龄 20~70 岁, 平均(47.2±5.2)岁。按国际妇产科联盟(FIGO)2000 年标准进行临床分期, I~IV 期分别 13、16、34、10 例; 病理分化程度: 低分化 35 例, 中分化 21 例, 高分化 17

例; 其中 44 例伴有腹水, 16 例伴有淋巴结转移, 32 例伴有癌瘤播散; 全子宫和双附件切除 16 例, 行肿瘤细胞减灭术 57 例。选择同期在两院行手术治疗的卵巢浆液性囊腺瘤标本 39 例作为对照(对照组), 年龄 23~68 岁, 平均(48.5±6.1)岁。

1.2 方法

1.2.1 检测方法 免疫组化检测方法(SABC 法)按常规方法染色, 先经固定、脱水、包埋、切片、脱蜡、脱水、灭活、修复等步骤后, 分别滴加 1:200 兔抗人 EZH2 多克隆抗体(美国 Cell Signaling 公司)和 1:100 鼠抗人 PTEN 多克隆抗体(北京中山生物技术有限公司), 在 4℃ 冰箱中存放 24 h, 再分别滴加生物素二抗, 最后经 DAB 显色、脱水、透明、封片。用 PBS 代替抗体作阴性对照, 用已知的阳性标本作阳性对照。

1.2.2 判定结果 每张切片由两位病理学专家分别读片, 存在争议的经两位专家讨论后决定。EZH2 主要以细胞核和细胞质均无着色或只有细胞质着色者判为阴性; 细胞核内出现棕褐色、棕黄色或黄色颗粒者判为阳性。PTEN 蛋白则以细胞质内出现棕褐色、棕黄色或黄色颗粒者判为阳性。每张切片随机

选取 5 个高倍视野($\times 400$),计数 1 000 个细胞,计算着色细胞所占百分比,若小于 25%为阴性(-);25%~50%为弱阳性(+);>50%~75%为阳性(++);>75%为强阳性(+++)。

1.3 统计学处理 采用 SAS9.2 软件进行统计分析。2 组间 EZH2 或 PTEN 蛋白表达阳性率比较用 χ^2 检验, EZH2 或 PTEN 蛋白表达与卵巢浆液性囊腺癌患者临床病理特征的关系用 Spearman 等级相关分析, EZH2 和 PTEN 蛋白阳性表达率相关性用直线相关分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者 EZH2 和 PTEN 蛋白的表达情况 EZH2 在卵巢浆液性囊腺癌组织中表达阳性率为 71.2%,高于卵巢浆液性囊腺瘤组织的阳性率 12.8% ($P < 0.01$);而 PTEN 蛋白在卵巢浆液性囊腺癌组织中表达阳性率为 46.2%,低于卵巢浆液性囊腺瘤组织的阳性率 76.9% ($P = 0.0013$),见表 1。

2.2 EZH2 和 PTEN 蛋白表达与卵巢浆液性囊腺癌患者临床病理特征的关系 EZH2 的总表达阳性率在高、中、低分化患

者中分别为 58.8%、71.4%、77.1%,随着病理分级的增加而升高($r_s = 0.246, P = 0.036$);在临床分期 I~IV 期患者中分别为 53.8%、68.8%、73.5%、90.0%,随着临床分期的增加而升高($r_s = 0.251, P = 0.032$)。PTEN 蛋白的总表达阳性率在高、中、低分化患者中分别为 64.7%、57.1%、28.6%,随着病理分级的增加而降低($r_s = -0.330, P = 0.035$);在临床分期 I~IV 期患者中分别为 61.5%、56.2%、41.2%、20.0%,随着临床分期的增加而降低($r_s = -0.247, P = 0.004$)。具体见表 2。EZH2 和 PTEN 蛋白在不同临床分期和病理分级患者中的阳性表达率存在负相关($r = -0.903, P = 0.005$)。

表 1 两组患者 EZH2 和 PTEN 蛋白的表达比较[n(%)]

组别	n	EZH2 阳性	PTEN 蛋白阳性
观察组	73	52(71.2)	33(45.2)
对照组	39	5(12.8)	30(76.9)
χ^2		34.7038	10.3913
P		<0.01	0.0013

表 2 EZH2 和 PTEN 蛋白表达与卵巢浆液性囊腺癌患者临床病理特征的关系

项目	n	EZH2					PTEN 蛋白						
		-	+	++	+++	r_s	P	-	+	++	+++	r_s	P
病理分级													
高分化	17	7	6	3	1	0.246	0.036	6	7	3	1	-0.330	0.004
中分化	21	6	9	4	2			9	8	3	1		
低分化	35	8	10	8	9			25	8	1	1		
FIGO 分期													
I 期	13	6	4	2	1	0.251	0.032	5	5	2	1	-0.247	0.035
II 期	16	5	6	3	2			7	7	1	1		
III 期	34	9	10	8	7			20	10	3	1		
IV 期	10	1	3	4	2			8	1	1	0		

3 讨论

卵巢恶性肿瘤早期症状常不明显,发现时多为晚期,是病死率最高的妇科恶性肿瘤,其中最常见的是卵巢浆液性囊腺癌^[5-7]。EZH2 是表观遗传学中的重要成员,具有多潜能性^[8-9],PTEN 蛋白是近年来发现的一种具有磷酸酶活性抑癌基因,大量研究表明,EZH2 在肺癌、乳腺癌、宫颈癌等多种恶性肿瘤中明显高表达^[10-12],在脑癌、前列腺癌、子宫内膜腺癌等组织中 PTEN 蛋白呈现低表达^[13-15]。本研究同样发现 EZH2 在卵巢浆液性囊腺癌组织中存在高表达,表达阳性率约是卵巢浆液性囊腺瘤组织 5.6 倍,PTEN 蛋白在卵巢浆液性囊腺癌组织中存在低表达,说明 EZH2 和 PTEN 蛋白可能在卵巢浆液性囊腺癌发生过程中起一定作用。

李海波等^[16]的研究发现 EZH2 和 PTEN 蛋白在肾癌中的表达存在负相关,且 EZH2 的表达随肾癌的临床分期升高而增加,PTEN 蛋白的表达随肾癌的临床分期及病理分级的升高而降低,与本研究结果基本一致。本研究发现,EZH2 的表达随卵巢浆液性囊腺癌患者的临床分期和病理分级的升高而升高,PTEN 蛋白的表达随卵巢浆液性囊腺癌患者的临床分期和

病理分级的升高而降低,说明 EZH2 和 PTEN 蛋白的表达可能与卵巢浆液性囊腺癌发展有关,有望作为卵巢浆液性囊腺癌早期诊断和判断预后的指标。二者存在负相关($r = -0.903, P = 0.005$),说明它们在卵巢浆液性囊腺癌的发生、发展过程中可能存在协同作用,具体作用机制还有待于进一步研究。

总之,EZH2 和 PTEN 蛋白作为卵巢浆液性囊腺癌相关因子,对 EZH2 和 PTEN 蛋白的检测有助于早期发现卵巢浆液性囊腺癌并判定病情进展,同时也为卵巢浆液性囊腺癌的基因治疗提供了新思路。

参考文献:

[1] Bird A. Perception of epigenetics[J]. Nature, 2007, 447 (7143):396-398.
 [2] Guo JF, Cai J, Yu LL, et al. EZH2 regulates expression of p57 and contributes to progression of ovarian cancer in vitro and in vivo[J]. Cancer Sci, 2011, 102(1):530-539.
 [3] 宋力, 崔小健, 苏大军, 等. EZH2 和 PTEN 基因在前列腺癌组织中表达及其相关性[J]. 第四军医(下转第 2838 页)

查存在的不足。若病理提示支气管黏膜的重度鳞状上皮化生或不典型增生等癌前病变,应采取定期检查,或多次、多点活检,才能有助于发现早期支气管黏膜内微小肺癌病灶。及时手术治疗是延长患者生存期最为重要的因素^[10,16]。

(志谢:本文承蒙第三军医大学西南医院呼吸科主任熊玮教授的悉心指导,谨此志谢)

参考文献:

- [1] Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics[J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61(2): 69-90.
- [2] 肖旭阳, 宋庆平, 王晓东. 肺癌早期诊断方法研究进展[J]. 山东医药, 2010, 50(3): 111-112.
- [3] 韩冰, 吴倩, 谢汝佳, 等. 早期肺鳞癌患者与正常人血清表达差异蛋白筛选[J]. 重庆医科大学学报, 2011, 36(5): 542-546.
- [4] Zhang YW, Miar YF, Yi J, et al. Transcriptional inactivation of secreted frizzled-related protein 1 by promoter hypermethylation as a potential biomarker non-small cell lung cancer[J]. Neoplasma, 2010, 57(3): 228-233.
- [5] 关宪延, 杨欣, 张自力. 238 例女性肺癌纤维支气管镜检查的早期诊断探讨[J]. 中国肿瘤临床, 2010, 37(4): 223-225.
- [6] 张勇, 金美玲, 白春学. 平扫 CT 未见异常的肺癌的早期诊断[J]. 复旦学报医学版, 2009, 36(4): 457-460.
- [7] 许远帆, 刘华, 刘建军. 18F-FDG PET/CT 在基于不同影像的肺孤立性结节中的诊断效率比较[J]. 重庆医学, 2011, 40(8): 769-770.
- [8] Song JW, Oh YM, Shim TS, et al. Efficacy comparison between (18) F-FDG PET/CT and bone scintigraphy in de-

tecting bony metastases of non-small-cell lung cancer[J]. Lung Cancer, 2009, 65(3): 333-338.

- [9] 吴涛, 杨康, 熊刚, 等. 肺良性病变的 PET/CT 显像及其与葡萄糖转运蛋白的关系[J]. 重庆医学, 2011, 40(12): 1174-1175.
- [10] 陈良安, 杨震, 王平. 肺癌早期诊断的新方法与评价[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2012, 35(2): 83-86.
- [11] Cassidy A, Balsan J, Vesin A, et al. Cancer diagnosis in first-degree relatives and non-small cell lung cancer risk; results from a multi-centre case-control study in Europe [J]. Eur J Cancer, 2009, 45(17): 3047-3053.
- [12] 王勳, 潘毅, 苏延军, 等. I 期非小细胞肺癌预后的影响因素分析[J]. 中华胸心血管外科杂志, 2010, 26(6): 420-421.
- [13] Kawaguchi T, Takada M, Kubo A, et al. Performance status and smoking status are independent favorable prognostic factors for survival in non-small cell lung cancer: a comprehensive analysis of 26,957 patients with NSCLC[J]. Thorac Oncol, 2010, 5(7): 620-630.
- [14] 伍燕兵, 童朝晖. 荧光支气管镜的临床应用[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2010, 33(10): 787-788.
- [15] Steinfort DP, Khor YH, Manser RL, et al. Radial probe endobronchial ultrasound for the diagnosis of peripheral lung cancer: systematic review and meta-analysis[J]. Eur Respir J, 2011, 37(4): 902-910.
- [16] 刘书林, 沈水杰. 早期纤维支气管镜检查诊断肺结核合并肺癌临床研究[J]. 山东医药, 2010, 50(32): 74-75.

(收稿日期: 2012-02-09 修回日期: 2012-05-22)

(上接第 2835 页)

大学学报, 2006, 27(11): 994-996.

- [4] 刘飞, 彭鄂军, 李有元, 等. EZH2 和 PTEN 在膀胱癌的表达及预后分析[J]. 中国肿瘤临床, 2010, 27(21): 1220-1223.
- [5] 迟雪东, 周宝森, 李联昆, 等. 影响卵巢癌发生的相关因素研究[J]. 重庆医学, 2009, 38(10): 1198-1199, 1201.
- [6] Visintin I, Feng Z, Longton G, et al. Diagnostic markers for early detection of ovarian cancer[J]. Clin Cancer Res, 2008, 14(4): 1065-1072.
- [7] Permuth-Wey J, Sellers TA. Epidemiology of ovarian cancer [J]. Methods Mol Biol, 2009, 472(2): 413-437.
- [8] Tang X, Milyavsky M, Shats I, et al. Activated p53 suppresses the histone methyl transferase EZH2 gene[J]. Oncogene, 2004, 23(34): 5759-5769.
- [9] Kondo Y. Epigenetic cross-talk between DNA methylation and histone modification in human cancers [J]. Yonsei, 2009, 50(4): 455-463.
- [10] 吕怡静, 任敏, 王博, 等. EZH2 和 CTGF 在肺腺癌中的表达和意义[J]. 山东大学学报: 医学版, 2011, 49(5): 94-97.
- [11] Shi B, Liang J, Yang X, et al. Integration of estrogen and

Wnt signaling circuits by the polycomb group protein EZH2 in breast cancer cells[J]. Mol Cell Biol, 2007, 27(14): 5105-5119.

- [12] 方静, 薛艳, 周党侠, 等. EZH2 基因在宫颈癌中的表达及其意义[J]. 西安交通大学学报: 医学版, 2011, 32(6): 758-760.
- [13] 薛伟明, 王占祥, 马永会, 等. EGFL7 和 PTEN 在人类胶质瘤中的表达[J]. 中华神经外科疾病研究杂志, 2011, 10(6): 489-493.
- [14] 肖芹, 顾学文, 蒋记心, 等. FHIT 和 PTEN 在前列腺腺癌中的表达及其意义[J]. 中华男科学杂志, 2011, 17(2): 136-139.
- [15] 沈美娜, 李世金, 张爱臣, 等. PTEN 蛋白在子宫内膜腺癌中的表达及其临床意义[J]. 中国实验诊断学, 2012, 16(2): 262-264.
- [16] 李海波, 王禾, 武国军, 等. EZH2 和 PTEN 蛋白联合检测与肾透明细胞癌的相关性研究[J]. 山西医科大学学报, 2009, 40(3): 199-201.

(收稿日期: 2012-01-09 修回日期: 2012-04-22)