

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.24.018

垂体瘤转化基因 1 在骨肉瘤中的表达及其与预后的关系*

吴大鹏,路坦,马超,徐海斌,赵斌,梁秋冬,董玉珍[△]

(新乡医学院第一附属医院骨外科,河南新乡 453100)

[摘要] 目的 分析垂体瘤转化基因 1(PTTG1)在骨肉瘤组织中的表达,并探讨其表达与骨肉瘤患者预后的关系。方法 采用免疫组织化学检测 71 例骨肉瘤组织和对应的 71 例正常骨组织中 PTTG1 蛋白的表达,并分析其表达与骨肉瘤患者临床病理学参数和预后之间的关系。结果 PTTG1 蛋白在骨肉瘤组织中的阳性表达率(77.46%,55/71)显著高于正常骨组织(18.31%,13/71),差异有统计学意义($P<0.05$)。PTTG1 蛋白表达与骨肉瘤患者的肺转移和临床阶段密切相关($P<0.05$)。PTTG1 高表达的骨肉瘤患者的存活时间明显低于 PTTG1 低表达的骨肉瘤患者($P<0.05$)。结论 PTTG1 蛋白在骨肉瘤组织中的表达率显著增高,且与肺转移和生存时间有一定相关性。

[关键词] 垂体瘤转化基因 1;骨肉瘤;临床病理学参数;预后

[中图分类号] R738.1

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2016)24-3366-03

Expression of pituitary transforming gene 1 in osteosarcoma tissues and its association with prognosis*

Wu Dapeng, Lu Tan, Ma Chao, Xu Haibin, Zhao Bin, Liang Qiudong, Dong Yuzhen[△]

(Department of Orthopedics, the First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453100, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the expression of pituitary transforming gene 1 (PTTG1) in osteosarcoma (OS) tissues and explore its association with the prognosis. **Methods** Expression of PTTG1 protein was detected by immunohistochemistry in 71 cases of OS tissues and 71 cases of paired normal bone tissues, and its associations with clinicopathological features and prognosis were investigated. **Results** Positive expression ratio of PTTG1 in OS tissues (77.46%, 55/71) was significantly higher than that in normal bone tissues (18.31%, 13/71), and there was significant difference ($P<0.05$). Expression of PTTG1 protein was tightly associated with lung metastasis and clinical staging of OS patients ($P<0.05$). The survival time of OS patients with high PTTG1 level was significantly lower than those with low PTTG1 level ($P<0.05$). **Conclusion** Positive expression ratio of PTTG1 protein in OS tissues is elevated significantly, and is associated with lung metastasis as well as survival time.

[Key words] pituitary transforming gene 1; osteosarcoma; clinicopathological features; prognosis

垂体瘤转化基因 1 (pituitary transforming gene 1, PTTG1) 定位于人染色体 5q33.3, 于 20 世纪 90 年代从 GH4 大鼠垂体肿瘤细胞中发现的一个新基因, 证实其促进转化和体内致瘤作用^[1]。越来越多的研究表明, PTTG1 在许多肿瘤中高表达, 牵涉到许多肿瘤的发生、发展、进展及预后^[2-6], 并可能成为肿瘤治疗的新的分子靶点^[7]。在本研究中, 采用免疫组织化学方法检测了骨肉瘤组织中 PTTG1 蛋白表达, 并分析其表达与骨肉瘤患者临床病理学参数之间的关系, 进而阐明其在骨肉瘤患者预后判定中的可能作用, 探讨以 PTTG1 为分子靶点的骨肉瘤患者的诊断、治疗及预后判定提供新的实验证据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 71 例骨肉瘤组织和 71 例正常骨组织取自新乡医学院第一附属医院 2001~2011 年手术切除标本, 并经病理组织学专家诊断并确诊。整个试验均与患者或者家属签署知情同意书, 经过医院伦理委员会审查实验方案并通过。所有骨肉瘤患者在术前均未接受任何形式的治疗, 包括放疗、化疗及免疫治疗。其中 20 例患者病理确诊时, 通过常规检查发现了肺转移灶, 单侧肺转移 13 例, 双侧肺转移 7 例; 治疗过程中出现 16 例肺转移患者。所有患者活检取材后, 均经过标准化手术和至少 3 个疗程的标准化化疗。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学 PTTG1 鼠抗人多克隆抗体购自美国 Santa Cruz 公司, 免疫组织化学 SP 试剂盒和 DAB 显色剂均购自北京中杉金桥生物技术有限公司。免疫组织化学操作步骤严格按照说明书进行。PTTG1 抗体稀释浓度为 1:50。以 PBS 代替 I 抗作为阴性对照。

1.2.2 免疫组织化学染色结果评估 免疫组织化学染色结果的评判标准是骨肉瘤细胞质和细胞核中出现棕黄色颗粒。其评判的标准参照文献[8]。随机选取 5 个高倍镜视野计数阳性细胞数(每例组织样本至少计数 1 000 个细胞), 阳性细胞数小于 10%, 计 1 分; 10%~<50%, 计 2 分; 50%~<80%, 计 3 分; ≥80%, 计 4 分。轻度染色, 计 1 分; 中度染色, 计 2 分; 强染色, 计 3 分。阳性细胞数比率与染色强度的乘积是每例骨肉瘤标本的染色总分。总分为 1~3 为阴性, 4~12 为阳性。

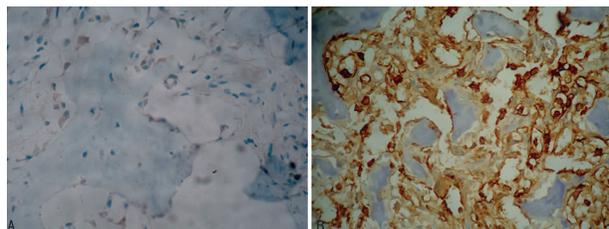
1.3 统计学处理 采用 SPSS13.0 软件进行统计学分析。计数资料用率表示, 组间比较采用 χ^2 检验, 预后分析采用 Kaplan-Meier 曲线进行, 以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PTTG1 蛋白在正常骨组织和骨肉瘤组织中的表达 PTTG1 蛋白主要定位于骨肉瘤的细胞质和细胞核中, 呈浅黄色至棕黄色颗粒(图 1)。PTTG1 在骨肉瘤组织的阳性表达率(77.46%, 55/71)显著高于正常骨组织(18.31%, 13/71), 差异

* 基金项目:河南省高校科技创新人才支持计划(2010HASTIT036)。 作者简介:吴大鹏(1980-), 硕士, 副主任医师, 主要从事关节及脊柱外科、骨肿瘤的临床与基础研究。 [△] 通讯作者, Tel:(0373)4404430; E-mail:xyxydyz@163.com。

有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。



A: 正常骨组织; B: 骨肉瘤组织。

图 1 正常骨组织和骨肉瘤组织 PTTG1 蛋白的表达($\times 400$)

表 1 PTTG1 蛋白在正常骨组织和骨肉瘤组织中的表达(n)

组别	n	PTTG1 蛋白		χ^2	P
		+	-		
正常骨组织	71	13	58	49.779	0.000
骨肉瘤组织	71	55	16		

2.2 PTTG1 蛋白的表达与骨肉瘤患者临床病理学参数之间的关系 PTTG1 蛋白表达与骨肉瘤患者肺转移和临床阶段密切相关,但与骨肉瘤患者的年龄、性别、肿瘤大小及解剖位置无关($P > 0.05$),见表 2。在 20 例具有转移的骨肉瘤患者中,PTTG1 蛋白表达的阳性率为 100%。

表 2 PTTG1 蛋白表达和骨肉瘤患者临床病理学参数之间的关系[n (%)]

组别	n	PTTG1 蛋白		χ^2	P
		+	-		
性别				0.203	0.653
男	39	31(79.5)	8(20.5)		
女	32	24(75.0)	8(25.0)		
年龄(岁)				0.161	0.688
≤ 20	43	34(79.1)	9(20.9)		
> 20	28	21(75.0)	7(25.0)		
肿瘤大小(cm)				2.131	0.144
≥ 8	38	32(84.2)	6(15.8)		
< 8	33	23(69.7)	10(30.3)		
解剖定位				1.216	0.270
胫骨/股骨	48	39(81.3)	9(18.8)		
其他	23	16(69.6)	7(30.4)		
临床分期				7.594	0.006
I + II	46	31(67.4)	15(32.6)		
III	25	24(96.0)	1(4.0)		
远处转移				8.100	0.004
是	20	20(100)	0(0)		
否	51	35(68.6)	16(31.4)		

2.3 PTTG1 蛋白表达对骨肉瘤患者预后的影响 骨肉瘤患者存活曲线分析结果显示,55 例 PTTG1 阳性染色的患者中有 34 例死亡,病死率为 61.8%,而 16 例 PTTG1 阴性染色的患者中有 4 例死亡,病死率为 25.0%。PTTG1 阳性的染色患者的

存活时间显著低于 PTTG1 阴性染色患者的存活时间,比较差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 2。

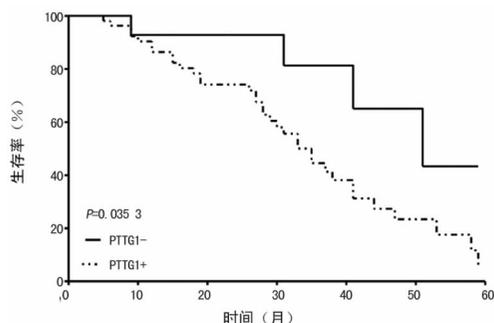


图 2 PTTG1 蛋白表达与骨肉瘤患者预后之间的关系

3 讨论

恶性肿瘤从正常组织中演变的过程牵涉到很多基因表达及其功能的变化,目前研究显示,PTTG1 是一种重要的原癌基因,在多种肿瘤的发生、发展中发挥重要的作用,并牵涉到许多肿瘤的发生和演进过程。Wongergem 等^[9] 研究报道显示,PTTG1 定位于染色体 5q 区域,肾透明细胞癌在这一区域中经常发现 PTTG1 的扩增,从而提示 PTTG1 的过表达与肾透明细胞癌的发生、发展密切相关。此外,对于 124 例的子宫内膜癌组织、28 例不典型增生组织和 35 例正常组织的表达谱分析显示,PTTG1 在子宫内膜癌组织中的表达显著上调,是正常组织向子宫内膜癌组织演进中参与的主要基因之一,因而表明 PTTG1 与子宫内膜癌发生发展之间的密切联系^[10]。Liang 等^[11] 研究表明,PTTG1 mRNA 和蛋白在肝癌组织中的表达显著高于正常组织,抑制肝癌中 PTTG1 的表达显著降低肝癌细胞的增殖和诱导细胞凋亡,并且 caspase-3、bax、p21、p53 的表达均显著增加,表明抑制 PTTG1 的表达可能是肝癌分子靶向治疗的新的策略。有研究发现,通过上调 bax 基因表达可以诱导人骨肉瘤 MG-63 细胞的凋亡^[12]。

本研究先前的研究发现,PTTG1 表达下调可以降低骨肉瘤细胞增殖、细胞周期和细胞侵袭能力^[13]。因此在本研究中,为了阐明 PTTG1 与骨肉瘤发生发展之间的可能的作用,利用免疫组织化学检测了 71 例正常骨组织和 71 例骨肉瘤组织中 PTTG1 蛋白的表达,本研究发现 71 例骨肉瘤样本中,55 例呈现 PTTG1 的阳性表达,而 71 例正常骨组织样本中,13 例为 PTTG1 的阳性表达,其阳性表达率差异有统计学意义($P < 0.05$),提示 PTTG1 可能是正常骨组织向骨肉瘤转变过程中发挥重要作用的基因之一,因而骨肉瘤中 PTTG1 水平的调控可能成为骨肉瘤分子靶向治疗的新的分子标记。

目前,许多研究已经鉴定了骨肉瘤大量的分子标记,这些标记对于预测患者的预后发挥重要的作用,包括诊断患者的临床阶段、肺转移的状态和患者总生存率等^[14]。尽管这些大量的分子标记可能在骨肉瘤诊断和预后的判定中发挥重要作用,但尚需要进一步的临床证实。鉴于上述 PTTG1 与骨肉瘤发生、发展中的可能作用,作者提出是否 PTTG1 与骨肉瘤的转移以及临床阶段密切相关,是否可能成为骨肉瘤预后判定的分子标记? 为了解决上述问题,本文进一步分析了 PTTG1 蛋白表达与骨肉瘤患者临床病理学参数和预后之间的关系,本研究发现 PTTG1 蛋白表达与骨肉瘤患者远处转移和临床阶段密切相关($P < 0.05$),但与患者的年龄、性别、肿瘤大小及解剖位置无关($P > 0.05$)。本研究发现,在所有发生转移的骨肉瘤患者中,均呈现出 PTTG1 蛋白的阳性表达,这些研究提示 PT-

TG1 可能成为骨肉瘤患者转移判定的预测因子。

进一步的骨肉瘤患者存活曲线分析结果表明, PTTG1 阳性表达的骨肉瘤患者的存活时间显著低于 PTTG1 阴性表达的骨肉瘤患者 ($P < 0.05$), 这与 PTTG1 在肾透明细胞癌预后中的作用研究报道一致^[13]。这一研究提示 PTTG1 有望成为骨肉瘤患者预后判定的重要基因。

总之, 本研究结果证实了骨肉瘤组织中 PTTG1 蛋白的高表达, 因而其在骨肉瘤中发挥癌基因的功能。PTTG1 的高表达与骨肉瘤患者的远处转移和临床阶段密切相关, 进一步的分析提示 PTTG1 可能成为骨肉瘤患者预后的分子标记。未来进一步详细阐明骨肉瘤中 PTTG1 基因的功能和分子调控机制有望为骨肉瘤患者的诊断、治疗和预后判断奠定基础。

参考文献

[1] Hamid T, Kakar SS. PTTG and cancer[J]. *Histol Histopathol*, 2003, 18(1): 245-251.

[2] Zou H, McGarry TJ, Bernal T, et al. Identification of a vertebrate sister-chromatid separation inhibitor involved in transformation and tumorigenesis[J]. *Science*, 1999, 285(5426): 418-422.

[3] Salehi F, Scheithauer BW, Sharma S, et al. Immunohistochemical expression of PTTG in brain tumors[J]. *Anticancer Res*, 2013, 33(1): 119-122.

[4] Lewy GD, Sharma N, Seed RI, et al. The pituitary tumor transforming gene in thyroid cancer[J]. *J Endocrinol Invest*, 2012, 35(4): 425-433.

[5] Xiao JQ, Liu XH, Hou B, et al. Correlations of pituitary tumor transforming gene expression with human pituitary adenomas; a meta-analysis[J]. *PLoS One*, 2014, 9(3): e90396.

[6] Zhang J, Yang Y, Chen L, et al. Overexpression of pituitary tumor transforming gene (PTTG) is associated with tumor progression and poor prognosis in patients with esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Acta Histochem*, 2014, 116(3): 435-439.

[7] Wang HT, Zhang YJ, Zhou AQ, et al. Effects of silencing connexin43 on expression of pituitary tumor-transforming gene in prolactinomas[J]. *Neurol Res*, 2015, 37(2): 153-158.

[8] Kuester D, Dar AA, Moskaluk CC, et al. Early involvement of death-associated protein kinase promoter hypermethylation in the carcinogenesis of Barrett's esophageal adenocarcinoma and its association with clinical progression[J]. *Neoplasia*, 2007, 9(3): 236-245.

[9] Wondergem B, Zhang ZF, Huang DC, et al. Expression of the PTTG1 oncogene is associated with aggressive clear cell renal cell carcinoma[J]. *Cancer Res*, 2012, 72(17): 4361-4371.

[10] Feng ZZ, Chen JW, Yang ZR, et al. Expression of PTTG1 and PTEN in endometrial carcinoma: correlation with tumorigenesis and progression[J]. *Med Oncol*, 2012, 29(1): 304-310.

[11] Liang M, Chen X, Liu W, et al. Role of the pituitary tumor transforming gene 1 in the progression of hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Biol Ther*, 2011, 11(3): 337-345.

[12] 黄煜朗, 唐毓金, 王俊利, 等. 白花蛇舌草对人骨肉瘤 MG-63 细胞 Bax 基因表达的影响[J]. *重庆医学*, 2014, 43(35): 4708-4710.

[13] 吴大鹏, 夏永华, 徐海斌, 等. 垂体肿瘤转化基因 1 表达下调对骨肉瘤细胞增殖、细胞周期和细胞侵袭能力的影响及其分子机制[J]. *中华病理学杂志*, 2014, 43(10): 695-698.

[14] Chen D, Zhang YJ, Zhu KW, et al. A systematic review of vascular endothelial growth factor expression as a biomarker of prognosis in patients with osteosarcoma[J]. *Tumour Biol*, 2013, 34(3): 1895-1899.

(收稿日期: 2016-01-15 修回日期: 2016-03-21)

(上接第 3365 页)

[2] 杨伟, 邵建林. 右美托咪定用于腹腔镜胆囊切除术中的临床观察[J]. *临床麻醉学杂志*, 2011, 27(1): 47-48.

[3] Overly FL, Wright RO, Connor FA, et al. Bispectral analysis during deep sedation of pediatric oral surgery patients[J]. *J Oral Maxillofac Surg*, 2005, 63(2): 215-219.

[4] Pavlin JD, Souter KJ, Hong JY, et al. Effects of bispectral index monitoring on recovery from surgical anesthesia in 1580 inpatients from an academic medical center[J]. *Anesthesiology*, 2005, 102(3): 566-573.

[5] 庄心良, 曾因明, 陈伯玺. 现代麻醉学[M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 1893.

[6] 杨涛, 张传汉, 田玉科. 脑电双频指数反馈调控丙泊酚靶控输注用于妇科手术患者的清醒镇静[J]. *临床麻醉学杂志*, 2004, 20(6): 341-342.

[7] 徐源, 李天佐, 陈磊. 脑电双频指数在全凭静脉麻醉中的作用[J]. *临床麻醉学杂志*, 2009, 26(7): 578-579.

[8] 曹学照, 姜艳华, 马虹. BIS 监测异丙酚靶控输注和手动

持续输注对全麻患者用药量的影响[J]. *中国药理学通报*, 2012, 28(7): 1035-1036.

[9] Weber F, Fussel U, Gruber M, et al. The use of remifentanyl for intubation in paediatric Patients during sevoflurane anaesthesia guided by Bispectral Index (BIS) monitoring[J]. *Anaesthesia*, 2003, 58(8): 749-755.

[10] 王国恩, 张晓琴, 薛荣亮. 异丙酚 TCI 与 BIS 技术用于硬膜外阻滞清醒镇静的效果[J]. *世界最新医学信息*, 2002, 1(4): 244-245.

[11] 裴丽坚, 王波, 黄宇光. 脑电双频指数监测提高麻醉管理及全麻苏醒质量 Meta 分析研究[J]. *中华麻醉学杂志*, 2010, 26(10): 880-883.

[12] 谢傲爽. 意识指数与脑电双频指数监测把控输注丙泊酚全麻诱导时的镇静深度对比分析[J]. *中国医学创新*, 2009, 26(9): 20-21.

(收稿日期: 2016-02-10 修回日期: 2016-04-25)