PTEN 和 MDM2 在非小细胞肺癌中的表达及临床意义

张红蕊 王晓红△ 白淑平 郭 莉 赵 玲

(哈尔滨医科大学附属肿瘤医院 黑龙江 哈尔滨 150081)

摘要 目的:研究 PTEN 和 MDM2 在非小细胞肺癌(NSCLC)发生发展中的临床意义。**方法:**采用免疫组化 SP 法检测 56 例非小细胞肺癌组织及 20 例正常肺组织中 PTEN 和 MDM2 蛋白的表达。**结果:**56 例肺癌组织中 PTEN 表达率为 48.21%(27/56),20 例正常肺组织中 PTEN 表达率为 95%(19/20),二者有统计学意义($p<0.05$)。PTEN 表达率与肿瘤的分化程度、临床分期、淋巴结转移有关($p<0.05$)。56 例肺癌组织中 MDM2 表达率为 53.57%(30/56),20 例正常肺组织 MDM2 表达率为 10%(2/20),二者有统计学意义($p<0.05$),MDM2 表达率与肿瘤的分化程度、临床分期、淋巴结转移有关($p<0.05$)。在 NSCLC 中,PTEN 和 MDM2 的表达呈负相关($p<0.05$)。**结论:**PTEN 和 MDM2 的异常表达在非小细胞肺癌的发生发展过程中起着重要的作用。

关键词:PTEN;MDM2;非小细胞肺癌;免疫组化

中图分类号:R735.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2011)06-1128-04

The Expression and Clinical Significance of PTEN and MDM2 in Non-small Cell Lung Cancer

ZHANG Hong-rui, WANG Xiao-hong△, BAI Shu-ping, GUO Li, ZHAO Ling

(The cancer hospital of Haerbin Medical Univisity Haebin 150081, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the expression of PTEN and MDM2 in transitional non-small cell lung cancer(NSCLC). Methods: The expressions of PTEN and MDM2 were determined by immunohistochemical method in 56 cases of primary lung cancer and 20 case of normal lung tissue. Results: The expression of PTEN in 56 cases of lung carcinoma was 48.21% while which was 95% in 20 cases of normal lung tissues ($p<0.05$). The expression of PTEN was related to the degree of cell differentiation, clinical stage and lymph node metastasis. The expression of MDM2 in 56 cases of pulmonary carcinoma was 53.57%, while which was10% in 20 cases of normal lung tissues ($p<0.05$). The expression of MDM2 was related to the degree of tumor cell differentiationclinical stage and lymph node metastasis ($p<0.05$). There was negative correlation between expression of the PTEN and MDM2 in NSCLC ($p<0.05$). Conclusion: Abnormal expression of PTEN, MDM2 may play an important role in the malignant progression of NSCLC.

Key words: PTEN; MDM2; Non-small cell lung cancer; Immunohistochemisty

Chinese Library Classification(CLC): R735.2 Document code: A

Article ID:1673-6273(2011)06-1128-04

前言

肺癌是我国最常见的恶性肿瘤之一,其发病率逐年升高,已跃居各类恶性肿瘤之首。非小细胞肺癌占所有肺癌的 80%[1],其发生、演变过程是一个多因素、多阶段的复杂过程,大量的研究证实癌基因的激活及抑癌基因的缺失或突变是导致肺癌发生的主要原因。小鼠双微体基因(murine double minute, MDM2)是最近新发现的一种凋亡抑制蛋白基因,为凋亡抑制家族(I-AP)的新成员,是迄今发现最强的凋亡抑制因子,在人类大多数肿瘤组织中都有表达[2-3]。PTEN 是一种抑癌基因,研究发现,许多肿瘤中存在 PTEN 基因突变、缺失、甲基化等遗传学改变,提示 PTEN 基因异常在肿瘤发生、发展中具有重要作用。本研究采用免疫组织化学方法检测 PTEN 及 MDM2 蛋白在非小细胞肺癌中的表达情况,并探讨它们在非小细胞肺癌发生发展中的意义及其与临床病理因素和预后的关系。

作者简介:张红蕊(1984-)女,硕士研究生,研究方向:肺癌的化疗、靶向治疗。电话:15124578218,

E-mail: zhanghongrui8412@163.com

△通讯作者:王晓红,副教授,硕士研究生导师,主任医师,

E-mail: zhanghongrui8412@163.com

(收稿日期:2010-12-07 接受日期:2010-12-31)

1 材料和方法

1.1 材料

随机选取哈尔滨医科大学附属肿瘤医院 2009 年 6 月至 2010 年 5 月手术切除并经病理确诊的 56 份 NSCLC 组织标本(NSCLC 组)及 20 份正常肺组织标本(对照组)。NSCLC 组患者中,男 33 例,女 23 例;年龄 17～81 岁,大于 55 岁 40 例,小于 55 岁 16 例;鳞癌 27 例,腺癌 29 例;高中分化 24 例,低分化 32 例;有淋巴结转移者 21 例,无淋巴结转移 35 例。I、II 期 40 例,III、IV 期 16 例。肿瘤大小 T1+T2 38 例,T3+T4 18 例。

1.2 检测方法

采用免疫组织化学 S-P 法,所有标本经 10%甲醛固定,石蜡包埋,4um 厚连续切片。操作按试剂盒说明书进行。鼠抗人 PTEN 单克隆抗体及 MDM2 单克隆抗体均由福州迈新公司提

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

供。

1.3 结果判断标准

MDM2 蛋白以细胞核出现棕黄色颗粒为阳性，阳性细胞少于 10%为阴性(-)；10%—30%为弱阳性(+)；31%～50%为中度阳性(++)；超过 50%为强阳性(+++)。PTEN 蛋白以出现棕黄色颗粒为阳性，定位在胞核或(和)胞浆。采用半定量体系：强阳性为 3 分，中度阳性 2 分，弱阳性 1 分和阴性 0 分；小于 10%为 0 分，11~25%为 1 分，26~50%为 2 分，大于 50%为 3 分。两者相加≤ 2 分为阴性，＞2 分为阳性。

1.4 统计学分析

应用 SPSSl7.0 统计学软件进行数据处理，采用 x^2 检验分析各组计数资料，采用 spearman 等级相关分析 MDM2 与 PTEN 蛋白的相关性。P<0.05 为有统计学意义。

2 结果

2.1 PTEN、MDM2 蛋白在 NSCLC 中表达

免疫组化结果显示，PTEN 蛋白表达主要位于细胞核，呈棕黄色（图 1）。PTEN 蛋白在 NSCLC 中的阳性表达率为 48.21%，正常肺组织组织中阳性率为 95%，二者有统计学意义(p<0.05)。MDM2 蛋白表达主要在细胞核，呈棕黄色（图 2）。MDM2 蛋白在 NSCLC 中的阳性表达率为 53.57%，20 例正常肺组织中 2 例呈弱阳性，阳性率为 10.00%，二者有统计学意义(p<0.05)。见表 1。

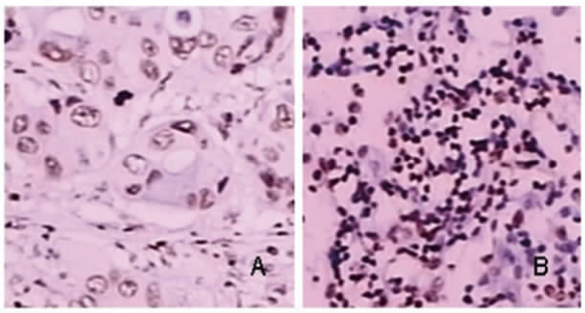

图 1 PTEN 蛋白在 NSCLC (A) 和正常肺组织 (B) 中的表达

Fig 1 Expression of PTEN in NSCLC and normal lung tissue

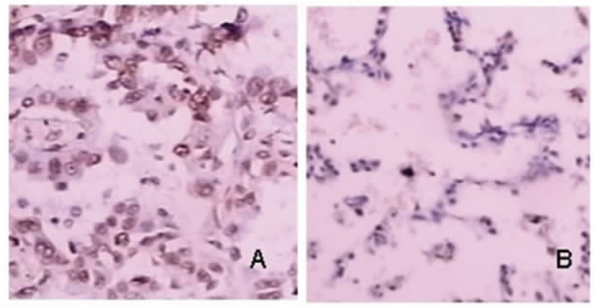

图 2 MDM2 蛋白在 NSCLC (A) 和正常肺组织 (B) 中的表达

Fig 2 Expression of PTEN in NSCLC and normal lung tissue

表 1 PTEN 和 MDM2 在 NSCLC 和正常肺组织中的表达

Table 1 The expression of PTEN and MDM2 in NSCLC and normal lung tissue

Groups	n	PTEN			MDM2		
		+	-	P	+	-	P
NSCLC	56	27	29		30	26	
Normal tissue	20	19	1	0.000	2	18	0.001

2.2 PTEN、MDM2 蛋白的表达与 NSCLC 临床病理特征的关系

PTEN 蛋白表达率与肿瘤的分化程度、临床分期及淋巴结转移有关(p<0.05)，而与患者年龄、性别、病理类型及肿瘤大小无关(p>0.05)。MDM2 蛋白表达率与肿瘤的分化程度、临床分期及淋巴结转移有关(p<0.05)，而与患者年龄、性别、病理类型及肿瘤大小无关(p>0.05)。见表 2。

表 2 NSCLC 组织中 PTEN 和 MDM2 的表达与临床病理学特征的关系

Table 2 Relationship between PTEN,MDM2 expression and clinicopathological characteristics of NSCLC patients

Characteristics	n	PTEN			MDM2		
		+	%	P	+	%	P
Age							
＞55	40	22	55.0		22	55.0	
≤ 55	16	5	31.3	0.108	8	50.0	0.735
Gender							
male	33	17	51.5		19	57.6	
femal	23	10	43.5	0.554	11	47.9	0.472
Tumor size							
T1+T2	38	21	55.3		22	57.9	
T3+T4	18	6	33.3	0.125	8	44.4	0.346

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

Histology							
SCC	27	16	59.3		12	44.4	
The expression and							
clinical significance	29	11	37.9	0.110	18	62.1	0.186
Differentiation							
high/middle	24	17	70.8		8	33.3	
low	32	10	31.3	0.003	22	68.8	0.009
stage grouping							
I、II	40	24	60.0		16	40.00	
III、IV	16	3	18.8	0.005	14	87.5	0.001
Lymph node status							
positive	21	6	28.6		15	71.4	
negative	35	21	60.0	0.023	15	42.9	0.038

SCC.squamous cell carcinoma

2.3 PTEN、MDM2 蛋白在 NSCLC 组织中表达的相关性

PTEN 与 MDM2 蛋白的表达呈负相关 ($p<0.05$) (表 3) 。

表 3 PTEN 与 MDM2 蛋白在 NSCLC 中表达的关系

Table 3 The realation between PTEN and MDM2 proten expression in NSCLC

MDM2	PTEN		n	r	p
	+	-			
+	10	20	30		
-	17	9	26		
n	27	29	56	-0.320	0.016

3 讨论

PTEN 是迄今为止发现的第一个具有双重特异性磷酸酶活性的抑癌基因,定位于人类染色体 10q23, 主要通过使第二信使 PIP3 脱磷酸而抑制 P13K / Akt 信号传导通路，从而抑制细胞生长,迁移和增殖等抑癌作用。PTEN 失活促进肿瘤进行性生长和肿瘤细胞增殖活性增加[4]。近年,国外学者广泛研究了 PTEN 基因及蛋白产物在多种恶性肿瘤和正常组织中的表达,发现 PTEN 蛋白表达与一些恶性肿瘤的发生、发展、生物学行为和预后密切相关,阳性表达者分化好、生长速率低、不易发生转移和预后良好[5,6]。本研究中 PTEN 蛋白在 NSCLC 组织中表达率为 48.21%,低于正常肺组织表达率 95.00%($p<0.05$),表明 PTEN 蛋白的表达缺失在肺癌的发生、发展中可能起着重要的作用,这与 Tang JM[7]的研究一致。Goncharuk VN[8]通过免疫组化方法检测了 51 例肺腺癌和 53 例肺鳞状细胞癌中 PTEN 的表达,发现 PTEN 缺失与肿瘤临床分期、远处转移和患者的预后显著相关,并且是独立的预后因子。Wang C[9]通过检测 172 例肺腺癌组织中 PTEN 的表达认为 PTEN 与肿瘤分化、淋巴结转移和远处转移有关($p<0.05$)。本研究结果显示 PTEN 蛋白表达与 NSCLC 的分化程度、淋巴结转移及临床分期有关,低分化组 PTEN 蛋白表达低于高中分化组,有淋巴结转移组明显低于无淋巴结转移组,III、IV期组低于 I 、II 期组,提示 PTEN 蛋白水平的表达缺失对肺癌的进展有促进作用。以上分析结果显示 PTEN 蛋白表达水平越低,其恶性程度越高,预后越差,因此,检测 PTEN 蛋白的表达水平可作为 NSCLC 恶性程度及预后的指标之一。

MDM2 是一种原癌基因,该基因定位在染色体 12q13～14 ,其生物学作用是增强细胞活力,使细胞生存期延长,促进细胞增生及肿瘤的生长[10-13],其基因表达产物 p90 与 p53 粘合并阻抑 p53 基因调节的转录活性,MDM2 基因的扩增使 p53 基因正常功能失活,使细胞周期失调,细胞异常增生,导致肿瘤发生[14]。MDM2 基因在恶性肿瘤中有明显的扩增与表达[15-17]。Gorgoulis VG 等对 87 例非小细胞肺癌进行检测,MDM2 阳性率为 68%[18]。Aikawa H 等对 112 例非小细胞肺癌手术标本进行检测 MDM2 阳性率为 45%,且进展期肺癌 MDM2 阳性率较早期高，认为 MDM2 表达与肺癌的发展有关 [19]。本研究中 MDM2 蛋白阳性率为 53.57% ,与上述研究结果相一致,表明 MDM2 蛋白的过度表达可能是肺癌发生的一个重要标志。本研究结果显示 MDM2 蛋白表达率与 NSCLC 的临床分期、淋巴结转移及分化程度有关($p<0.05$),与性别、年龄、病理类型无关($p>0.05$),这一结果与国内高艳华研究结果一致[20]。本研究中 MDM2 蛋白表达在III、IV期组和有淋巴结转移组高于 I、II 期

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

组和无淋巴结转移组，高中分化组低于低分化组，以上分析提示检测 MDM2 蛋白对判断 NSCLC 的恶性程度、预测预后和潜在淋巴结转移有一定的指导意义。

在分析 PTEN 与 MDM2 蛋白的关系时发现，两者呈负相关。PTEN 的低表达与 MDM2 的高表达有一定的相关性，MDM2 表达升高可能与 PTEN 表达缺失有密切关系。MAO 研究小组发现 PTEN 与 MDM2 的信号传导通路 PTEN→PI3K→AKT/PKB→MDM2→p53 /PRb/E2F [21]。首先是 PTEN 基因缺失，失去抑制功能，进而原癌基因 MDM2 激活，使 p53 功能丧失，细胞停留在某一阶段并异常增殖，最终导致肿瘤发生。两者的异常在 NSCLC 发生发展中有一定的作用，因此联合测定 PTEN、MDM2 对判定 NSCLC 的恶性程度、指导 NSCLC 的治疗及判断预后有重要意义。

参 考 文 献(References)

[1] Wu Y, Zhong Z, Huber J. et a1. Anti-vascular endothelial growth factor receptor-1 antagonist antibody as a therapeutic agent for cancer [J]. Clin Cancer Res, 2006,12(21).6573-6584

[2] 杨海霞,米建强,徐继业,等. 胃癌组织中 mdm2 和 Rb 基因表达及临床意义 [J]. 第四军医大学学报, 2007, 28 (23)2122 - 2125
Yang Hai-xia, Mi Jian-qiang, Xu Ji-ye, et al. The expression and clinical significance of mdm2 and Rb gene in gastric carcinoma tissue[J]. Journal of the Fourth Military Medical Univresity, 2007, 28 (23): 2122-2125

[3] 任义,吴逸明,董海燕, 等.肺癌组织中 MDM2、p53 蛋白的表达[J].郑州大学学报:医学版, 2005, 40 (1): 67-69
Ren Yi, Wu Yi-ming, Dong Hai-yan, et al. The expression of MDM2, p53 proten in lung cancer tissue [J]. Journal of Zhengzhou University: Med Sci, 2005, 40 (1): 67 - 69

[4] Smith I, Procter M, Gellber RD, et al. 2-year follow-up of trastuzumab after Adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer; a randomized controlled trial[J] . Lancet, 2007, 369 (9555) 29-36

[5] Nahta, YUAN LX, Zhang B, et al. Insulin-like growth factor-1receptor/humanepidermal growth factor receptor 2 helerodimerization contributes to trastuzumab resistance of breast cancer cells [J]. Cancer Res, 2005;65(23) : 11118-28

[6] Robinsion AG, Turbin DT, homosone, et al. Molecular predictive factors in patients receiving trastuzumab-based chemotherapy for metastatic disease[J]. Clin Breast Cancer, 2006;7(3):254-61

[7] Tang JM, He QY, Guo RX, et a1. Phosphorylated Akt over expresssion and loss of PTEN expression in non-smann cell lung cancer confers poor prognosis[J]. Lung Cancer,2 006,5l(2):18l-191

[8] Goncharuk VN, del-Ronsario A, Kren L, el a1.Co-downregulation of PTEN,KAI-l,and nm23-Hl tumor / metastasis suppressor proteins in non-small cell lung cancer[J]. Ann Diagn Pathol, 2004,8(1): 6-16

[9] Wang C, Yang R, Yue D, et a1. Expression of FAK and PTEN in brochioloalveolar carcinoma and lung adenocarcinoma [J]. Lung, 2009, 187(2):104-109

[10] Eguehi K, Yao T, Konomoto T, et al. Discordance of p53 mutationsof synchronous coloroetal carcinolnas [J]. Mod Path, 2000,13 (2): 131-139

[11] Millon R, Muller D, Schuhz I, et al. Loss of MDM2 expression in human head and neck squamous cell carcinomas and elinical significance [J]. Oral Oncol, 200l,37(8): 620-631

[12] Compton CC. Colorectal carcinomal: diagnostic, prognostic, and molecular features[J]. Mod Pathol, 2003, 16(4): 376-388

[13] Nakashima M, Kondo S, Shimizu Y, et a1. Impact of MDM2 single nucleotide polymorphism on tumor onset in head and Beck squamous cell caxuinoala[J]. Acta Otolaryngol, 2008,128(7):808-813

[14] Shin EC, Shin JS, Park JH,et al. Expression of Fas ligand in human hepatoma cell lines : role of hepatitis-Bvirus x (HBX) in induction of Fas ligand[J]. Int J Cancer, 1999,82(4) :587

[15] Mc Queen C, Montgomey E, Dufor B, et al. Giant hypopharyngeal atypical lipomatous tumor [J]. Adv Anat Pathol, 2010, 17(1):38-41

[16] Zhang MF, Zhang ZY, Fu J, et al. Correlation between expression of p53,p21/WAF1, and MDM2 protens and their prognostic significance in primary hepatocellular carcinoma[J]. J Transl Med, 2009,7(1):110

[17] Schmidt MK, Tommiska J, Broeks A, et al. Combined effects of single nucleotide polmorphisms TP53 R72P and MDM2 SNP309,and p53 expression on survival of breast cancer patients[J]. Breast Cancer Res, 2009,11(6):89

[18] Gorgoulis VG, Zacharatos P, Kotsinas A, et al. Altered expression of the cell cycle regulatory molecules pRb, p53 and MDM2 exert a synergetic effect on tumor growth and chromosomal instability in non-small cell lung carcinomas (NSCLCs). Mol Mde, 2000, 6 (3): 208-237

[19] Aikawa H, Sato M, Fujimum S, et a1. Mdm2 expression is assoeiated with progress of disease and WAFl expression in resected lung cancer. Int J Mol Med, 2000,5(6) :631-633

[20] 高艳华,张道荣,陆平,等.TSGl01 与 MDM2 在肺鳞癌、腺癌组织中的表达及意义[J] .中国肺癌杂志,2007,10(5):433-435
Gao Yan-hua, Zhang Dao-rong, Lu Ping, et al. The expression and significance of TSGl01 and MDM2 in Squamous Cell Carcinomas and Adenocarcinomas [J]. Chinese Journal of Lung Cancer, 2007,10 (5):433-435

[21] FENG, TAMASKOVICR, YANG Z, et al. Stabilization of MDM2 via decreased ubiquitination is mediated by protein kinaseB /AKT - dependent phos phorylation[J]. Biol Chem, 2004, 279(34):35510-35517

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net