

β -catenin、cyclinD1 在胸腺肿瘤中的表达及意义

赵荣磊 徐林浩[△] 沈毅 江玉华 李发恩

(青岛大学医学院附属医院胸外科 山东青岛 266003)

摘要 目的：研究 β -catenin、cyclinD1 在胸腺肿瘤的表达及其意义。**方法：**采用免疫组化 pv6000 法检测 69 例胸腺肿瘤中 β -catenin 及 cyclinD1 的表达。**结果** β -catenin 与 cyclinD1 在胸腺肿瘤中的阳性表达率均为 (53.62%) 明显高于正常胸腺组织 (0%) ($P=0.027$)。 β -catenin 的阳性表达的差异在 A、AB、B1、B2、B3 及 C 型胸腺肿瘤各型之间存在统计学意义 ($X^2=24.676, P<0.01$)。其表达的在 A、AB 及 B1 型与 B2、B3 及 C 型 (无/低度危险组肿瘤与中/高度危险组肿瘤) 之间表达的差异存在统计学意义 ($X^2=21.955, P<0.01$)。CyclinD1 在 A、AB、B1、B2、B3 及 C 型胸腺肿瘤中的阳性表达的差异存在统计学意义 ($X^2=14.393, P=0.013$)。其表达在 A、AB 及 B1 型与 B2、B3 及 C 型 (无/低度危险组肿瘤与中/高度危险组肿瘤) 之间表达的差异存在统计学意义 ($X^2=10.470, P=0.001$)。在胸腺肿瘤中, β -catenin 的表达与 cyclinD1 表达呈正相关关系 ($r=0.449, P<0.01$)。**结论** β -catenin、cyclinD1 对于判定胸腺肿瘤的恶性程度可能有重要的参考价值。Wnt/ β -catenin 信号传导通路在胸腺肿瘤的发生过程中可能发挥重要作用。

关键词 β -catenin cyclinD1 胸腺肿瘤 免疫组化

中图分类号 R734.5, R655.7 **文献标识码** A **文章编号** 1673-6273 (2011) 09-1737-04

Expression and Significance of β -catenin and CyclinD1 in Thymic Tumor

ZHAO Rong-lei, XU Lin-hao[△], SHEN Yi, Jiang Yu-hua, Li Fa-en

(Thoracic Surgery of Affiliated Hospital of Qingdao University Medical College, Qingdao 266003, China)

ABSTRACT Objective: The objective of this experiment is to explore the expression and significance of β -catenin and cyclinD1 in thymic tumor. **Methods:** Immunohistochemical pv6000 was used to detected the expression of β -catenin and cyclinD1 in 69 cases of thymic tumor. **Results:** The positive expression ratio of β -catenin and cyclinD1 in thymic tumor both were 53.26%, which were significantly higher than of normal thymus (0%) ($P=0.027$). The positive expression ratio of β -catenin in thymic tumor were significantly different among type A, AB, B1, B2, B3 and C of thymic tumor ($X^2=24.676, P<0.01$). The positive expression ratio of β -catenin was significantly higher in B2, B3 and C types than in A, AB, and B1 types ($X^2=21.955, P<0.01$). The positive expression ratio of cyclinD1 in thymic tumor were significantly different among type A, AB, B1, B2, B3 and C of thymic tumor ($X^2=14.393, P=0.013$). The positive expression ratio of cyclinD1 was significantly higher in B2, B3 and C types than in A, AB, and B1 types ($X^2=10.470, P<0.01$). The expression of β -catenin can be positively correlated with that of cyclinD1 ($r=0.449, P<0.01$). **Conclusion:** β -catenin and cyclinD1 maybe have important reference value for determining the malignancy of thymic tumors. Wnt/ β -catenin signaling pathway may play important roles in the tumorigenesis of thymic tumors.

Key words: β -catenin cyclinD1 thymic tumor immunohistochemistry

Chinese Library Classification: R734.5, R655.7 **Document Code:** A

Article ID: 1673-6273(2011)09-1737-04

胸腺瘤作为最常见的纵隔肿瘤, 约占原发性纵隔肿瘤的 15%, 前纵隔肿瘤的 50%, 其镜下结构较为复杂, 同时存在病理与预后的矛盾, 发生机制目前不十分清楚。Wnt 信号传导途径是肿瘤发生的经典转导途径之一^[1], 受到了越来越多的国内外学者的重视。 β -catenin 作为其中的关键调节因子, 其在胞浆内乃至胞核内的异常积聚, 不仅与多数肿瘤的发生有关, 并与肿瘤的侵袭有关^[2]; cyclinD1 是 Wnt 通路中异常激活的下游靶基因, 已被证实是与肿瘤有最直接关系的癌基因^[3], 其的过度表达将引起细胞增殖周期失调, 从而导致肿瘤发生。本研究采用免疫组织化学方法研究 Wnt 通路中的 β -catenin、cyclinD1 等

的表达情况及其相互关系, 探讨其表达与胸腺瘤临床病理学特征的关系, 为胸腺瘤的诊断、恶性程度的判断、治疗方法的选择及预后的评价提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 标本

收集了 2003-2010 年间青岛大学医学院附属医院胸外科手术切除的胸腺瘤石蜡标本 69 例, 其中男性 35 例, 女性 34 例, 年龄 20-81 岁, 平均年龄 52 岁。按 WHO 标准分型^[4]: A 型 6 例, AB 型 13 例, B1 型 14 例, B2 型 13 例, B3 型 9 例, C 型 14 例。用 5 例先天性心脏病手术患者正常胸腺组织作对照, 其中男 3 例, 女 2 例, 年龄 2-14 岁, 平均年龄 5 岁。

1.2 试剂和方法

采用免疫组织化学 pv6000 法, 鼠抗人 β -catenin 单克隆

作者简介 赵荣磊 (1985), 男, 学士, 硕士研究生, 主要研究方向:

胸腺肿瘤, 电话: 15154437033, Email: 280831062@qq.com

[△]通讯作者 徐林浩, Email: honghuang_1108@yahoo.com.cn

收稿日期 2011-02-08 接受日期 2011-03-06

抗体,鼠抗人 cyclinD1 单克隆抗体及 pv6000 免疫组织化学试剂盒均购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.3 方法

操作步骤严格按 pv6000 免疫组织化学试剂盒说明进行。以磷酸盐缓冲液(PBS)代替一抗作阴性对照。

1.4 结果判定

高倍镜下观察细胞着色情况及着色部位。β -catenin 正常表达为细胞膜中出现棕黄色颗粒,以细胞质和细胞核出现棕黄色颗粒为异常表达,随机选取高倍镜下 100 个细胞,异常表达 <10%为阴性,≥ 10%为阳性,胞膜表达≤ 70%亦为阳性^[5]。CyclinD1 以细胞核中出现棕黄色颗粒为异常表达,≥ 5%为阳性,<5%为阴性^[6]。实验数据的分析采用统计学软件 SPSS17.0 中的 X² 检验。

2 结果

2.1 β -catenin 在胸腺肿瘤各种病理分型中的表达

β -catenin 在胸腺肿瘤中的表达分别为 :A 型 ,33.33% (2/6) ;AB 型 ,15.38% (2/13) ;B1 型 ,28.57% (4/14) ;B2 型 ,76.92% (10/13) ;B3 型 ,77.78% (7/9) ;C 型 85.71 (12/14) 。其表达在各型之间的差异存在统计学意义 (X²=24.676,P<0.01) 其中 A 型与 AB 型、A 型与 B1 型及 AB 型与 B1 型之间的表达差异不存在统计学意义 (Fisher 精确概率法 ,P=0.373,0.613,0.362) ;B2 型与 B3 型、B2 型与 C 型、B3 型与 C 型之间的表达差异不存在统计学意义 (Fisher's 精确概率法,P=0.684,0.462,0.517) ；而 AB 型与 B2 型、AB 型与 B3 型、AB 型与 C 型之间的表达差异及 B1 型与 B2 型、B1 型与 B3 型、B1 型与 C 型之间的表达差异皆存在统计学意义 (Fisher 精确概率法,P=0.002,0.006,<0.01,0.016,0.029,0.003) ；A 型、AB 型和 B1 型与 B2 型、B3 型和 C 型之间的表达差异存在统计学意义 (X²=21.955,P<0.01) 。

表 1.1 β -catenin 在胸腺肿瘤各型中的表达
Table 1.1 The expression of β -catenin in thymic tumor

WHO Classification	Cases	β -catenin			X ²	P
		+	-	Positive (%)		
A	6	2	4	33.33	24.676	<0.01
AB	13	2	11	15.38		
B1	14	4	10	28.57		
B2	13	10	3	76.92		
B3	9	7	2	77.78		
C	14	12	2	85.71		

表 1.2 β -catenin 在无 / 低度危险组胸腺肿瘤与中 / 高度危险组胸腺肿瘤中的表达
Table 1.2 The expression of β -catenin in low risk group and high risk group of thymic tumor

Groups	Cases	β -catenin			X ²	P
		+	-	Positive (%)		
A+AB+B1	33	8	25	24.24	21.955	<0.01
B2+B3+C	36	29	7	80.56		

2.2 CyclinD1 在胸腺肿瘤各种病理分型中的表达

CyclinD1 在胸腺肿瘤中的表达分别为 :A 型 ,33.33% (2/6) ;AB 型 ,30.77% (4/9) ;B1 型 ,35.71% (5/14) ;B2 型 ,46.15% (6/13) ;B3 型 ,77.78% (7/9) ;C 型 ,85.71% (12/14) 。其表达在各型之间的差异存在统计学意义 (X²=14.625,P=0.012,P<0.05)。其中 A 型与 AB 型、A 型与 B1 型及 AB 型与 B1 型之间的表达差异不存在统计学意义 (Fisher 精确概率法,P=0.

652,0.664,0.555) ;B2 型与 B3 型、B2 型与 C 型、B3 型与 C 型之间的表达差异不存在统计学意义 (Fisher 精确概率法,P=0.06,0.246,0.517) ；A 型与 C 型、AB 型与 C 型、B1 型与 C 型及 AB 型与 B3 型之间的表达差异存在统计学意义 (Fisher 精确概率法,P=0.037,0.005,0.009,0.04) ；A 型、AB 型和 B1 型与 B2 型、B3 型和 C 型之间的表达差异存在统计学意义 (X²=10.470,P=0.001) 。

表 1.3 cyclinD1 在胸腺肿瘤各型中的表达
Table 1.3 The expression of cyclinD1 in thymic tumor

WHO Classification	Cases	CyclinD1			X ²	P
		+	-	Positive (%)		
A	6	2	4	33.33	14.393	0.013
AB	13	4	9	30.77		
B1	14	5	9	35.71		
B2	13	7	6	53.85		
B3	9	7	2	77.78		
C	14	12	2	85.71		

表 1.4 cyclinD1 在无 / 低度危险组胸腺肿瘤与中 / 高度危险组胸腺肿瘤中的表达
Table 1.4 The expression of cyclinD1 in low risk group and high risk group of thymic tumor

Groups	Cases	cyclinD1			X ²	P
		+	-	Positive (%)		
A+AB+B1	33	11	22	33.33	10.470	0.001
B2+B3+B4	36	26	10	72.22		

表 1.5 β -catenin 与 cyclinD1 在胸腺肿瘤中表达的关系
Table 1.5 The relation of expressions of β -catenin and cyclinD1 in thymic tumor

β -catenin	Cases	cyclinD1		r	P
		+	-		
+	37	26	11	0.592	<0.01
-	32	11	21		

3 讨论

Wnt 信号传导通路不仅参与胚胎过程中背腹轴的形成,而且与细胞的极性以及细胞分化过程有关,目前已经证实了在多种肿瘤,如食管癌^[7]、结肠癌^[8]等中 Wnt 信号传导通路的异常激活^[9],在 wnt 信号通路中,β -catenin 是正向调节因子,而 cyclinD1 可能是核内受异常 wnt 通路调控的重要靶癌基因。

β -catenin(β -连环素、也称 β -连环蛋白或 β -链蛋白)是一种细胞骨架蛋白,不仅参与细胞间粘附,而且在生长发育和肿瘤生长、侵袭、转移具有重要作用。本研究应用的 β -catenin 是黏附分子家族中的成员之一,正常情况下位于细胞膜下,具有介导细胞间黏附及信号转导两大功能。对于组织的形态结构和器官形成有重要作用,并且是 Wnt 信号转导通路中关键的调节因子,调节细胞的分化和增殖。β -catenin 调节作用的实现是在细胞质及核内游离的 β -catenin 保持在低水平来实现的。在正常的细胞中 β -catenin 的蛋白质水平的调控是由位于氨基端的 Gsk-3 p 复合体的磷酸化来完成的,使 β -catenin 在细胞内处于动态平衡。当 Wnt 信号通道被激活后或 β -catenin 出现变异导致 Gsk-3β 活性的抑制,而致使 β -catenin 移位进入细胞核内^[10]。已有许多研究表明,β -catenin 在乳腺癌^[11]、结直肠癌^[12]等肿瘤中表达异常。本研究结果显示随着肿瘤恶性程度的增加,β -catenin 的异常表达率逐渐增加 (P <0.05)。因此,对 β -catenin 异常表达的分析有助于客观判断胸腺瘤的恶性程度。β -catenin 核内的异常增多可能是恶性胸腺瘤的特点之一。CyclinD1 是 Wnt 信号通道的一个靶体,其表达失控会引起细胞周期失调,从而导致肿瘤的发生^[13]。β -catenin 移位进入细胞核后与 Tcf / Lef 家族中的转录因子发生反应,β -catenin / Tcf 复合体激活靶基因如 cyclinD1、c-myc^[14],cyclinD1 是 G1 期细胞周期素,驱动细胞由 G1 期进入 S 期,促进细胞增殖^[15],而当 cyclinD1 表达失控时,则会引起细胞增殖周期失调,使细胞异常增殖与分化,从而导致肿瘤发生。本研究结果显示 cyclinD1 在胸腺肿瘤中的阳性表达率为 53.62%,明显高于正常胸腺组织,且随着细胞恶性程度的增加有逐渐升高,提示 cyclinD1 的异常表达可能参与了胸腺瘤的发生和发展。本研究结果还显示 β -catenin 和 cyclinD1 表达呈显著正相关关系 (P<0.01),提示

在胸腺肿瘤中,β -catenin 在胞浆内的异常积聚诱发或促进了 cyclinD1 的异常表达,从而导致正常组织向恶性肿瘤方向发展。因此,本研究结果提示 β -catenin 和 cyclinD1 的异常表达可能与胸腺肿瘤的形成有一定关系,并为判断胸腺肿瘤乃至其恶性程度提供客观标准。

综上所述,β -catenin 与 cyclinD1 在胸腺肿瘤中的阳性表达率均为 53.62%,且在肿瘤各分型中的表达,随着其恶性程度的增加有升高趋势,二者在胸腺肿瘤中的表达显著正相关,以上结果显示,wnt 信号通路可能在胸腺肿瘤的发生、发展中发挥重要的作用。

参考文献(References)

[1] Macheda M L, Stacker S A. Importance of Wnt signaling in the tumor stroma microenvironment [J]. Curr Cancer Drug Targets, 2008,8(6): 454

[2] 申思宁,李印,王家祥,李克等.E-cadherin 和 β -catenin 在食管鳞癌组织中的表达及其临床病理学意义 [J]. 中国癌症杂志,2010,20(6): 427-430

Shen Si-ning,Li Yin,Wang Jia-xiang,Li Ke et al.Expression and clinical pathological significance of E-cadherin and β -catenin in esophageal squamous cell carcinoma [J].China Oncology,2010,20(6): 427-430

[3] 史慧星,陈云,游庆朋等.β -连环蛋白与细胞周期蛋白 D1 在宫颈鳞癌中的表达及意义 [J].Chinese General Practice,2010,13 (11B): 3642-3645

Shi Hui-yun, Chen Yun, You Qing-peng, et al. Expression of β -catenin and cyclinD1 in Squamous Carcinoma of Uterine Cervix and Its Significance [J]. Chinese General Practice, 2010,13 (11B): 3642-3645

[4] Rosai J, SobinLH. Histological typing of tumors of the thymus. In: World Health Organization. International histological classification of tumors[M]. 2nd ed.New York:Springer-Verlag, 1999:65

[5] MaruyamaK, Ochiai A, Akimoto S, et al. Cytoplasmic beta-catenin accumulation as a predictor of hematogenous metastasis in human colorectal cancer[J]. Oncology, 2000,59(4):302-309

[6] Zhang YJ, Jiang W, Chen CJ, et al. Amplification and overexpression of cyclinD1 in human hepatocellular carcinoma [J]. Chem Biophys Res Commun, 1993,29;196(2):1010-1016

- [7] Clement G, Jablons D M, Benhattar J. Targeting the Wnt signaling pathway to treat Barrett's esophagus [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2007,11(3):375
- [8] Chen J Z, Huang X F. β -catenin Pathway in Ulcerative Colitis Associated Colorectal Cancer and Therapeutic Implication [J]. *Gastrointestinal Cancer*, 2009,40(1-2):64
- [9] Zambrano P, Segura-Pacheco B, Perez-Cardenas E, et al. A phase I study of hydralazine to demethylate and reactivate the expression of tumor suppressor genes[J]. *BMC Cancer*, 2005,5:44-55
- [10] Tetsu O, Mc Cormick F. Beta-catenin regulates expression of cyclinD1 in colon carcinoma cells[J]. *Nature*, 1999,398(6726):422-426
- [11] Maatta M, Soini Y, Liakka A, Auto-Harmanen H. Differential expression of matrix metalloproteinaseMMP-2, MMP-9, and membrane type 1-MMP inhepatocellular and pancreatic adenocarcinoma: implications for tumor progression and clinical prognosis [J].*Clin Cancer Res*, 2000,6:2726-2734
- [12] Brabletz T, Jung A, Dag S, et al. Beta-catenin regulates the expression of the matrixmetalloproteinase-7 in human colorectal cancer [J]. *AmJ Pathol*, 1999,155:1033-1038
- [13] Le Marchand I, Seifried A, Lum-Jones A, et al. Association of the cyclinD1,A870G polymorphism with advanced colorectal cancer [J]. *JAMA*, 2000,290(21):2843-2848
- [14] Behrens J. Cadherins and catenins: role in signal transduction and tumor progression[J]. *Cancer Metastasis Rev*, 1999,18(1):15-30
- [15] Donnellan R, Chetty R. CyclinD1 and human neoplasia [J]. *Mol Pathol*, 1998,51(1):1-7

(上接第 1722 页)

- [11] Park JY, Park SH, Choi JE, et al. Polymorphisms of the DNA repair gene xeroderma pigmentosum group A and risk of primary lung cancer [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2002,11 (10 Pt 1): 993-997
- [12] Sun X, Li F, Sun N, et al. Polymorphisms in XRCC1 and XPG and response to platinum-based chemotherapy in advanced non-small cell lung cancer patients [J]. *Lung Cancer*, 2009,65(2):230-236
- [13] Gowda S, Kumaran M, Suma BS, et al. Single nucleotide polymorphism analysis of the nucleotide excision repair genes XPC,XPA,and XPG in the Indian population [J]. *Hum Biol*, 2007,79(5):545-562
- [14] Carles J, Monzo M, Amat M, et al. Single-nucleotide polymorphisms in base excision repair,nucleotide excision repair,and double strand break genes as markers for response to radiotherapy in patients with Stage I to II head-and-neck cancer [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2006,66 (4):1022-1030
- [15] Schiller JH, Harrington D, Belani CP, et al. Comparison of four chemotherapy regimens for advanced non-small-cell lung cancer [J]. *N Engl J Med*, 2002,346:92-98
- [16] Sekido Y, Fong KM, Minna JD. Progress in understanding the molecular pathogenesis of human lung cancer [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1998, 1378(1):F21-59
- [17] Chen S, Huo X, Lin Y, Ban H, et al. Association of MDR1 and ERCC1 polymorphisms with response and toxicity to cisplatin-based chemotherapy in non-small-cell lung cancer patients.*Int J Hyg Environ Health*, 2010,213(2):140-145
- [18] Kalikaki A, Kanaki M, Vassalou H, et al. DNA repair gene polymorphisms predict favorable clinical outcome in advanced non-small-cell lung cancer [J]. *Clin Lung Cancer*, 2009,10(2):118-123
- [19] Sun X, Li F, Shukui Q, et al. Polymorphisms in XRCC1 and XPG and response to platinum-based chemotherapy in advanced non-small cell lung cancer patients [J]. *Lung Cancer*, 2009,65(2):230-236
- [20] Sun Xin-chen, Sun Ning, Cheng Hong-yan, et al. XPA A23G polymorphism and clinical response to platin-based chemotherapy in advanced non-small cell lung cancer [J]. *Journal ofMedical Postgraduates*, 2007,20(12):1271-1273