文章编号:1000-5404(2010)23-2549-03

论著

mTOR/eIF4E信号通路在不同级别人脑胶质瘤组织中的表达及临床意义

李进军[1],刘献志[1],万学峰[2],徐 斌[1] (450052 郑州,郑州大学第一附属医院神经外科[1];463000 河南 驻马店,驻马店市中心医院神经外科[2])

【摘要】 目的 研究mTOR/eIF4E信号通路在不同级别人脑胶质瘤组织中的表达情况及临床意义。方法 采用免疫组化S-P法分别检测在31例低级别胶质瘤(Ⅰ、Ⅱ级)和33例高级别胶质瘤(Ⅲ、Ⅳ级)以及10例正常脑组织中mTOR和eIF4E蛋白的表达情况,并分析mTOR和eIF4E蛋白表达与相关临床参数的关系。结果 与正常脑组织相比,mTOR和eIF4E在人脑胶质瘤中的表达均显著增加;在高级别胶质瘤中,两者的阳性表达率(78.79%、78.79%)显著高于低级别组(35.48%、45.16%,$P<0.05$),且mTOR和eIF4E蛋白表达具有显著正相关性($r=0.449$,$P<0.01$)。结论 mTOR和eIF4E在脑胶质瘤中的表达明显增加,mTOR/eIF4E信号通路可能在脑胶质瘤的发生、发展中起一定作用。

【关键词】 人脑胶质瘤;mTOR;eIF4E;免疫组化
【中图法分类号】 R394.2;R730.23;R739.41 【文献标志码】 A

Expression of mammalian target of rapamycin and eIF4E signal pathway in cerebral glioma and its clinical significance

Li Jinjun[1], Liu Xianzhi[1], Wan Xuefeng[2], Xu Bin[1] ([1]Department of Neurosurgery, First Affiliated Hospital, Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan Province, 450052; [2]Department of Neurosurgery, Zhumadian Central Hospital, Zhumadian, Henan Province, 463000, China)

【Abstract】 **Objective** To study the expression of mammalian target of rapamycin (mTOR) and eIF4E signal pathway in human cerebral glioma and its clinical significance. **Methods** Expression of mTOR and eIF4E was detected in 31 glioma tissue samples, 33 advanced glioma tissue samples, and 10 normal brain tissue samples by S-P immunohistochemistry. Correlation between mTOR and eIF4E expressions and related clinical data was analyzed. **Results** The expression level of mTOR and eIF4E was significantly higher in human cerebral glioma tissue samples than in normal cerebral tissue samples. The expression rate of mTOR and eIF4E was significantly higher in advanced glioma tissue samples in mild and moderate glioma tissue samples (78.79% and 78.79% *vs* 35.48% and 45.16%, $P<0.05$). There was a positive correlation between mTOR gene and eIF4E expressions in human glioma ($r=0.449$, $P<0.01$). **Conclusion** Expression of mTOR and eIF4E in human cerebral glioma is significantly increased. mTOR/eIF4E signal pathway may play a certain role in the occurrence and development of cerebral glioma.

【Key words】 human glioma; mammalian target of rapamycin; eIF4E; immunohistochemistry

Corresponding author: Liu Xianzhi, Tel: 86-371-66862242, E-mail: lxz@zzu.edu.cn

颅内肿瘤中最常见的恶性肿瘤是脑胶质瘤,可发生于任何年龄。据全国各地脑肿瘤的统计资料显示,脑胶质瘤占颅内肿瘤的35.26%~60.96%[1],其侵袭性和复发率都明显高于颅内其他肿瘤。由于人脑胶质瘤呈侵袭性生长[2,3],手术难以全切,术后复发率、病死率均较高[4]。本文研究哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)[5]和真核细胞翻译起始因子(eIF4E)[6]在人脑胶质瘤中的表达情况及与人脑胶质瘤病理级别之间的关系和其相关性,从而进一步阐明人脑胶质细胞瘤分裂增殖以及侵袭性的分子机制,为其诊疗提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 标本来源

研究对象为郑州大学第一附属医院神经外科2006年7月至2009年3月住院患者手术切除且保存完好的胶质瘤组织石蜡包埋标本64例,其中男性35例,女性29例,患者年龄3.5~88岁。组织学分级根据2000年修改的WHO神经系统肿瘤分

【通信作者】 刘献志,电话:(0371)66862242,E-mail:lxz@zzu.edu.cn

级标准对其进行组织学的分类分级，其中Ⅰ级10例，Ⅱ级21例（低级别胶质瘤组31例），Ⅲ级22例，Ⅳ级11例（高级别胶质瘤组33例）。另取10例患者正常脑组织作对照，均来自郑州大学第一附属医院神经外科同期因颅脑损伤行内减压术切除的脑组织，并经病理检验证实为正常脑组织。患者均知情同意。选取标准：所有患者无肥胖、糖尿病等代谢性疾病，术前行CT或MRI检查，均为第1次手术治疗，术前未行化疗和/或放疗。所有标本在手术切除后去除出血、坏死、电灼的组织，用生理盐水冲洗，10%福尔马林固定，1周内用石蜡包埋，备用。

1.2 实验试剂

兔抗人多克隆抗体mTOR和eIF4E均购自美国Signalway antibodys公司，S-P通用型免疫组化试剂盒购于北京博奥森生物公司，DAB试剂购于郑州宝信生物公司。

1.3 实验方法

采用S-P免疫组织化学法，免疫组化染色过程按试剂盒操作说明进行，兔抗人多克隆抗体mTOR和eIF4E均按照1∶100浓度进行稀释。mTOR、eIF4E免疫组化均采用PBS代替一抗作为空白对照，采用已知有阳性表达的肿瘤标本作为阳性对照。

1.4 结果判定

mTOR和elF4E蛋白定位于细胞质，部分位于细胞膜，阳性表达为细胞质染色为淡黄色、棕黄色或棕褐色。采用半定量积分法判定结果。阳性细胞计数：根据阳性细胞在5个高倍显微镜视野中所占的比例计数，阳性细胞百分率评分：0分（0%～4%），1分（5%～25%），2分（26%～50%），3分（51%～75%）和4分（>75%）。染色强度分类：无色为0分、浅黄色为1分、棕黄色为2分、棕褐色为3分。二者计分相乘为免疫组化染色指数，0分为阴性（－），1～4分为弱阳性（＋），5～8分为中等阳性（＋＋），9～12分为强阳性（＋＋＋）。结果采取双盲法进行计分[7]。

1.5 统计学分析

实验数据应用SPSS 13.0进行统计学处理，采用χ^2检验、Fisher精确概率法、Spearman等级相关分析方法。

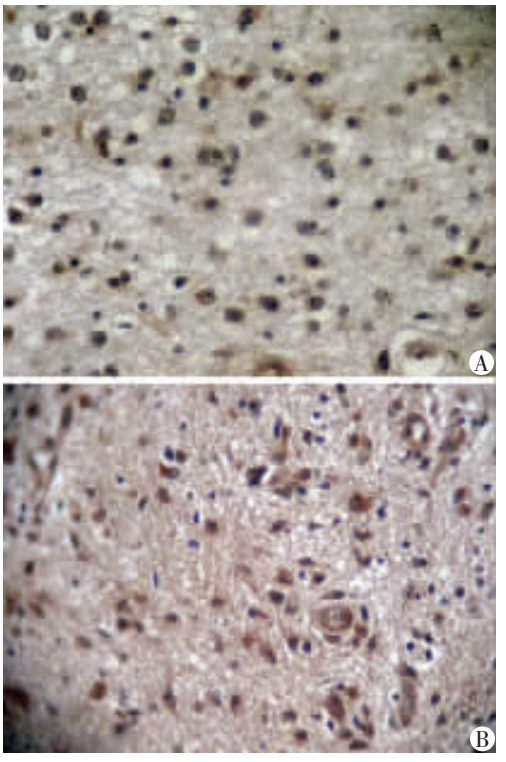
2 结果

2.1 mTOR和eIF4E蛋白在各组人脑胶质瘤中的表达

在10例正常脑组织中，mTOR蛋白和eIF4E蛋白均无阳性表达。mTOR蛋白在64例脑胶质瘤标本中，37例呈阳性表达，占57.81%。mTOR在低级别胶质瘤组的阳性率明显低于高级别胶质瘤组的阳性率（$P<0.05$）。eIF4E蛋白在64例脑胶质瘤标本中，40例呈阳性表达，占62.50%。eIF4E在低级别胶质瘤组的阳性率明显低于高级别胶质瘤组的阳性率（$P<0.05$）。见表1，图1、2。

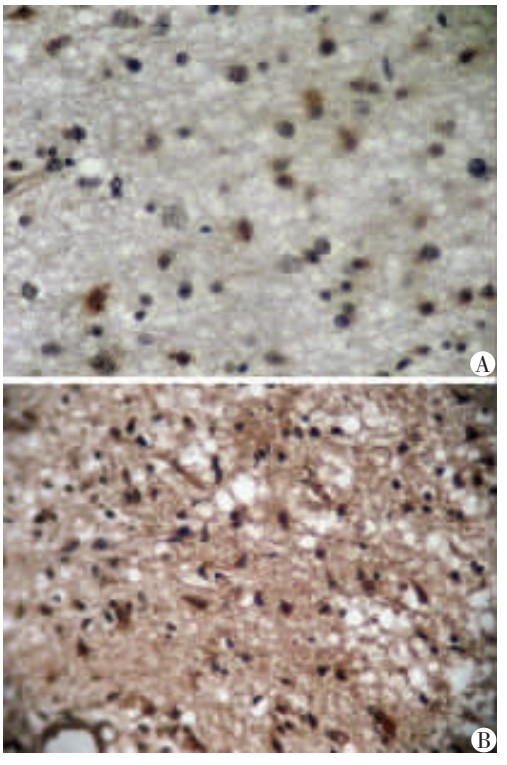
表1 mTOR和eIF4E蛋白在各组人脑胶质瘤中的表达

组别	例数	mTOR			eIF4E		
		阴性（例）	阳性（例）	阳性率（%）	阴性（例）	阳性（例）	阳性率（%）
正常脑组织组	10	10	0	0	10	0	0
低级别胶质瘤组	31	20	11	35.48	17	14	45.16
高级别胶质瘤组	33	7	26	78.79	7	26	78.79



A：低级别胶质瘤组；B：高级别胶质瘤组

图1 免疫组化染色检测mTOR在2组人脑胶质瘤中的表达（S-P ×400）



A：低级别胶质瘤组；B：高级别胶质瘤组

图2 免疫组化染色检测eIF4E在2组人脑胶质瘤中的表达（S-P ×400）

2.2 mTOR与eIF4E蛋白在人脑胶质瘤中表达的相关性

在64例脑胶质瘤标本中mTOR蛋白和eIF4E蛋白在人脑

胶质瘤中的阳性表达率分别为57.81%和62.50%，其中30例为同时阳性表达。行Spearman相关分析，胶质瘤组织中，mTOR与eIF4E的表达之间具有明显正相关（$r=0.449$，$P<0.01$）。

3 讨论

人脑胶质瘤细胞中，激活的mTOR可以磷酸化4EBP1，使eIF4E与其解离并活化，解离出来的eIF4E可以激活一些位于5′-UTR区的特殊的调控元件，进而促使翻译起始复合物形成，开始或者加速蛋白质的翻译合成。这个时期mTOR和eIF4E的活性同时增高，共同作用于蛋白质的翻译起始控制因子，促进蛋白质的合成。相反，当生长因子或营养素缺乏，或者有mTOR的抑制物存在时，4EBP1就会出现去磷酸化，与eIF4E结合，从而抑制eIF4E的活性，阻止蛋白质的翻译[8]。这个过程是mTOR和eIF4E的活性同时降低，对翻译启动的一些因子的作用消失，抑制细胞蛋白质的合成，从而促进细胞的凋亡。抗癌药物雷帕霉素就是通过抑制mTOR的活性，进而阻断4EBP1的去磷酸化和蛋白质翻译，达到抑制肿瘤的发生以及增殖的作用。

本实验所选病例中已排除可影响mTOR和eIF4E表达的情况。通过使用免疫组织化学的方法对mTOR和eIF4E蛋白在人脑胶质瘤组织中的表达进行检测，结果显示，mTOR和eIF4E蛋白在人脑胶质瘤的阳性表达具有正相关性（$r=0.449$，$P<0.01$），随着mTOR表达的增高，eIF4E的表达也是增加的，这就印证了一些实验的结果：mTOR活化以后，通过磷酸化4EBP1，激活eIF4E。说明在肿瘤的发生、发展过程中，mTOR和eIF4E共同协调，调控肿瘤细胞的分裂，对人脑胶质瘤的恶性程度的判断和患者预后的预测可能起着非常重要作用，也为我们在治疗脑胶质瘤过程中提供了一些实验支持。

目前，可以通过抑制mTOR的活性来治疗肿瘤，常用的药物是雷帕霉素及其衍生物。雷帕霉素是最早被发现的mTOR特异性抑制剂，是从细菌中分离出来的一种大环内酯类的抗生素。开始仅用于器官移植中，后被FDA批准用于药物洗脱支架。在随后的研究中，研究者发现雷帕霉素对T淋巴细胞增殖有抑制作用，因此引导人们将其用于抗肿瘤细胞治疗中，用以控制肿瘤的生长[9]。研究发现雷帕霉素能结合FKBP（FK506结合蛋白），进而抑制mTOR，阻断细胞蛋白质的翻译起始，因此具有抗菌、免疫抑制和抗肿瘤作用[10]。近期的研究还发现雷帕霉素可以显著减少胰腺癌的小鼠模型中肿瘤淋巴管的生成，从而抑制肿瘤的淋巴转移途径[11]。雷帕霉素还可以明显地抑制烟草致癌物诱导肺癌的小鼠模型肿瘤的生长[12]。由于雷帕霉素对mTOR的作用是特异性的，对正常细胞的影响很小，所以，雷帕霉素对肿瘤的治疗具有很好的前景。在20世纪90年代后期又继续研发雷帕霉素的衍生物，这有望成为晚期肿瘤患者治疗的新选择。

随着对mTOR研究的不断深入，以mTOR为靶点，抑制mTOR的活性，从而抑制细胞蛋白质的合成，遏制肿瘤细胞的分裂，促进肿瘤细胞的凋亡，将可能成为抗脑胶质瘤治疗的又一重要途径。

参考文献：

[1] 王忠诚. 王忠诚神经外科学[M]. 武汉：湖北科学技术出版社，2005：512－518.

[2] Nakada M, Nakada S, Demuth T, *et al*. Molecular targets of glioma invasion[J]. Cell Mol Life Sci, 2007, 64(4)：458－478.

[3] 赵林涛，卞修武，姜建勇，等. 下调CXCR4表达对胶质瘤干细胞侵袭能力和VEGF分泌量的影响[J]. 第三军医大学学报，2009，31(11)：1049－1052.

[4] Franceschi E, Tosoni A, Bartolini S, *et al*. Treatment options for recurrent glioblastoma：pitfalls and future trends [J]. Expert Rev Anticancer Ther, 2009, 9(5)：613－619.

[5] 郑鹏生，冀静. mTOR信号通路与肿瘤的研究进展[J]. 西安交通大学学报：医学版，2010，31(1)：1－9.

[6] 吕红琼，周林静，王平，等. 真核翻译起始因子eIF4E与恶性肿瘤的研究进展[J]. 实用肿瘤学杂志，2007，21(1)：88－91，69.

[7] 王晓澍，游潮，孙晓川. MCT1、CD147在人胶质瘤中的表达、相关性及其与预后的关系[J]. 第三军医大学学报，2010，32(9)：985－988.

[8] Heesom K J, Denton R M. Dissociation of the eukaryotic initiation factor-4E/4E-BP1 complex involves phosphorylation of 4E-BP1 by an mTOR-associated kinase[J]. FEBS Lett, 1999, 457(3)：489－493.

[9] Abraham R T, Wiederrecht G J. Immunopharmacology of rapamycin [J]. Annu Rev Immunol, 1996, 14：483－510.

[10] 黄嘉佳，林桐榆. mTOR通路及其抑制剂抗肿瘤的研究进展[J]. 癌症，2007，26(12)：1397－1403.

[11] Kobayashi S, Kishimoto T, Kamata S, *et al*. Rapamycin, a specific inhibitor of the mammalian target of rapamycin, suppresses lymphangiogenesis and lymphatic metastasis[J]. Cancer Sci, 2007, 98(5)：726－733.

[12] Granville C A, Warfel N, Tsurutani J, *et al*. Identification of a highly effective rapamycin schedule that markedly reduces the size, multiplicity, and phenotypic progression of tobacco carcinogen-induced murine lung tumors[J]. Clin Cancer Res, 2007, 13(7)：2281－2289.

（收稿 2010-07-14 修回 2010-09-08）

（编辑 王 红）