维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253-3626(2005)03-0402-03

Beta-Cetnin 和 APC 蛋白在卵巢上皮肿瘤中的表达及意义

林 晓, 李 昱, 张 雄

(重庆医科大学病理教研室,重庆 400016)

【摘 要】目的:探讨卵巢良性上皮肿瘤,卵巢交界性上皮肿瘤及卵巢恶性上皮肿瘤中 beta-Catenin 和 APC 蛋白的表达及意义。方法:采用 ABC 免疫组织化学染色方法检测 18 例卵巢良性上皮肿瘤,13 例卵巢交界性上皮肿瘤及 17 例卵巢恶性上皮肿瘤中 beta-Catenin 和肿瘤 APC 蛋白的表达。结果:卵巢恶性上皮肿瘤 beta-Catenin 异常表达率明显高于卵巢良性上皮肿瘤($P<0.001$),卵巢交界性上皮肿瘤 beta-Catenin 异常表达率亦明显高于卵巢良性上皮肿瘤($P<0.01$);APC 蛋白在卵巢良性上皮肿瘤的表达明显强于卵巢恶性上皮肿瘤,两者具有显著性差异($P<0.05$);卵巢上皮肿瘤中 beta-Catenin 和 APC 蛋白之间存在负相关,且具有统计学意义($r=-0.352$, $P<0.05$)。结论:beta-Catenin, APC 蛋白在卵巢上皮肿瘤的发生,发展过程中起重要作用。

【关键词】卵巢上皮肿瘤;beta-Catenin;APC 蛋白;免疫组织化学染色

【中国图书分类法分类号】R734.2 【文献标识码】A 【收稿日期】2004-10-25

Expression of beta-catenin protein APC in ovarian epithelial tumor and its implication

LIN Xiao, et al

(*Department of Pathology, College of Basic Medicine, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate the expression of beta-catenin, protein APC and its implication in ovarian epithelial tumor. *Methods*: Immunohistochemical staining with ABC method was conducted to determine the expression of beta-catenin and protein APC in 48 cases of ovarian epithelial tumors. *Results*: The rate of beta-catenin in ovarian malignant epithelial tumor was higher than that in benign epithelial tumor, and the rate in borderline epithelial tumor was higher than that in benign epithelial tumor too. There was significant difference between them. The prevalence of protein APC positive in ovarian benign epithelial tumor was significantly greater than that in ovarian malignant epithelial tumor. A significant negative correlation was found between beta-catenin and protein APC in ovarian epithelial tumor. *Conclusion*: The results suggest that beta-catenin and APC protein have important effects on pathogenesis and development of ovarian epithelial tumors.

【Key words】Ovarian epithelial tumor; Beta-catenin; APC protein; Immunohistochemistry

近年来研究显示,beta-Catenin-APC-Tcf 通路在大肠癌,甲状腺癌,肝癌等肿瘤中有异常表达,其致癌的关键可能是由于在 beta-Catenin-APC-Tcf 通路中,基因突变使 APC 蛋白,糖原合成激酶及轴蛋白与 beta-Catenin 结合减少,使细胞浆内游离的 beta-Catenin 聚积,与 T 细胞因子-4 结合形成复合物,穿梭入细胞核内,启动靶基因转录,使细胞获得持续生长的信号,进而发生恶性转化。其通路异常可能成为恶性肿瘤的共同特征,而其通路在卵巢肿瘤中的表达,国内尚未见文献报道。采用我室 1998 年~2003 年明确诊断的卵巢良性上皮肿瘤 18 例,卵巢交界性上皮肿瘤 13 例,卵巢恶性上皮肿瘤 17 例,应用免组化方法测定 beta-Catenin 和 APC 蛋白的表达,以了解它们在卵巢上皮性肿瘤中的表达及其关系。

作者介绍:林 晓(1972-),女,实验师,主要研究方向:肿瘤病理。

1 材料与方法

1.1 检测对象

选择我室 1998 年~2003 年已明确诊断的手术切除标本 48 例,其中包括卵巢良性上皮肿瘤 18 例,卵巢交界性上

维普资讯 http://www.cqvip.com

皮肿瘤 13 例，卵巢恶性上皮肿瘤 17 例。标本经福尔马林固定，石蜡包埋切片。

1.2 免疫组化试剂及方法

鼠抗人 beta－Catenin(浓缩型)抗体购自北京中山生物试剂公司；兔抗人 APC(浓缩型)抗体购自武汉博士德生物试剂公司。采用 ABC 法，具体步骤参照试剂说明书进行，DAB 显色。

1.3 结果判断

每例在显微镜下随机选择 10 个高倍镜视野(×400)，每个视野计数 100 个卵巢腺上皮细胞观察，上皮细胞 beta－Catenin 染色阳性呈棕黄色，阳性细胞数≥90% 的细胞膜表达视为 beta－Catenin 正常表达，细胞浆，细胞核表达及阳性细胞数＜90% 的细胞膜表达视为异常表达。[1] APC 染色呈现棕黄色细胞至棕褐色，位于细胞浆，结果判定标准参照 Shimizu 方法稍作修改：阳性细胞数：无阳性细胞染色＝0，阳性细胞数＜1/3＝1，阳性细胞数在 1/3 至 2/3 之间＝2，阳性细胞数＞2/3＝3；染色强度：无着色＝0，强染色＝2，中度染色(间于 0－2 之间)＝1；前述二者分值相加，则为最后结果，即 0 为(－)，2(＋)，3(＋＋)，4(＋＋＋)[2]。

1.4 统计学方法

运用 χ^2 精确检验法，秩和检验，Spearman 相关分析，采用 SPSS 统计软件进行统计学处理。

2 结 果

2.1 beta－Catenin 异常表达与卵巢上皮肿瘤的关系

卵巢良性上皮肿瘤细胞多为细胞膜表达(见图 1)(15/18)，少数为膜浆共表达(3/18)，其异常表达率为 16.67%；卵巢交界性上皮肿瘤多为细胞浆表达或膜浆共表达(10/13)，少数为细胞膜表达(3/13)，异常表达率为 58.82%；卵巢恶性上皮肿瘤全部在细胞浆表达(17/17)，部分合并细胞核表达(见图 2)，其异常表达率为 100%。卵巢恶性上皮肿瘤异常表达率较良性肿瘤间，交界性肿瘤与良性肿瘤间均有显著差异。见表 1。

2.2 APC 蛋白表达与卵巢上皮肿瘤的关系

APC 蛋白细胞浆着色，卵巢恶性上皮肿瘤 APC 蛋白表达明显强于卵巢良性上皮肿瘤(见图 3，图 4)($P<0.05$)；而卵巢交界性上皮肿瘤与良性上皮肿瘤及恶性上皮肿瘤均无显著性差异($P>0.05$)(见表 2)。

2.3 beta－Catenin，APC 蛋白在卵巢上皮肿瘤中表达的关系

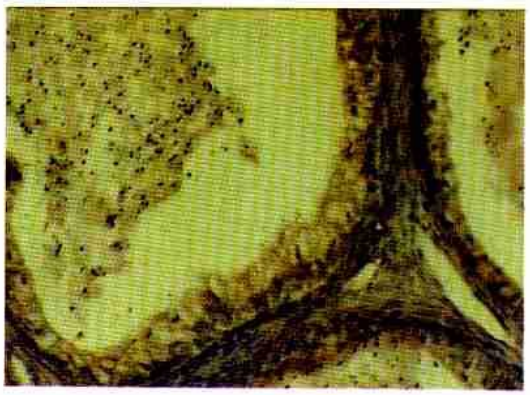


图 1 卵巢良性上皮肿瘤 beta－catenin 染色细胞膜呈阳性(×200)

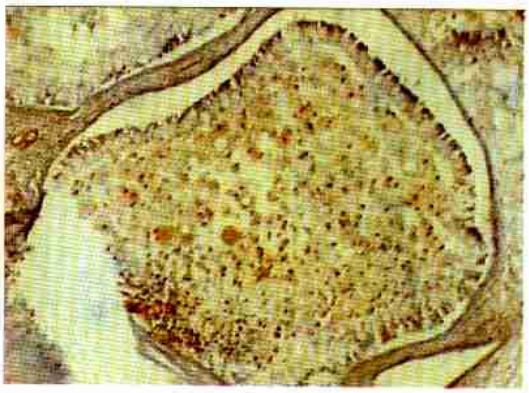


图 2 卵巢恶性上皮肿瘤 beta－catenin 染色细胞浆呈阳性(×200)

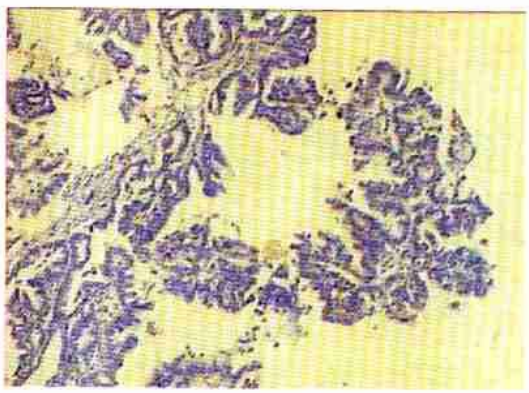


图 3 卵巢恶性上皮肿瘤 APC 蛋白阴性表达(×100)

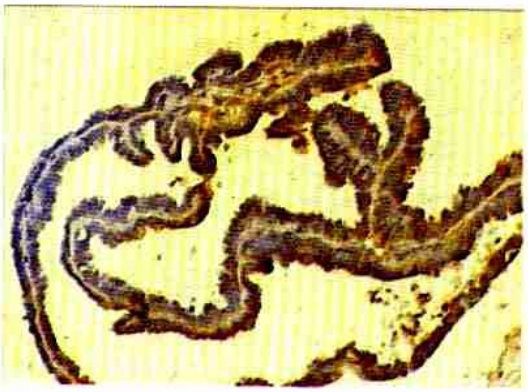


图 4 卵巢良性上皮肿瘤 APC 蛋白阳性表达(×100)

维普资讯 http://www.cqvip.com

表 1 卵巢良性上皮肿瘤,卵巢交界性上皮肿瘤及卵巢恶性上皮肿瘤中 beta－Catenin 表达

肿瘤类型	beta－Catenin 表达		P 值
	正常表达	异常表达	
卵巢良性上皮肿瘤	15	3	<0.01*
卵巢交界性上皮肿瘤	3	10	>0.05**
卵巢恶性上皮肿瘤	0	17	<0.001***

*:卵巢良性上皮肿瘤与卵巢交界性上皮肿瘤比较(χ^2=8.9242,P<0.01)

**:卵巢交界性良性上皮肿瘤与卵巢恶性上皮肿瘤比较(χ^2=2.1720,P>0.05)

***:卵巢恶性上皮肿瘤与卵巢良性上皮肿瘤比较(χ^2=21.5327,P<0.001)

表 2 卵巢良性上皮肿瘤,卵巢交界性上皮肿瘤及卵巢恶性上皮肿瘤中 APC 蛋白表达

肿瘤类型	APC 蛋白表达				P 值
	－	＋	＋＋	＋＋＋	
卵巢良性上皮肿瘤	3	2	2	11	>0.05*
卵巢交界性上皮肿瘤	3	2	1	7	>0.05**
卵巢恶性上皮肿瘤	9	0	3	5	<0.05***

*:卵巢良性上皮肿瘤与卵巢交界性上皮肿瘤比较 P=0.621

**:卵巢交界性上皮肿瘤与卵巢恶性上皮肿瘤比较 P=0.139

***:卵巢恶性上皮肿瘤与卵巢良性上皮肿瘤比较 P=0.036

Catenin 与 APC 蛋白在 48 例卵巢上皮肿瘤中的表达显示负相关,且具有统计学意义(r=－0.352,P<0.05)。

3 讨 论

近年来,Wnt 信号传导通路已成为肿瘤研究的热点。有学者认为,在此信号通路中,beta－Catenin 是正向调节因素,APC 是负向调节因素。在正常成熟细胞中,beta－Catenin 大部分与细胞膜上的钙粘蛋白(E－catherin)结合,少部分与细胞浆内 APC 蛋白(adenomatous polyposis coli protein),糖原合成酶激酶 3(gloycogen synthase kinase,GSK－3)及轴蛋白(axin)结合成多蛋白原合体,其中 APC 蛋白作为载体将 beta－Catenin 与 GSK－3 联系起来,触发细胞资浆内游离 beta－Catenin 的降解。APC 基因被认为是一种抑癌基因,位于人染色体 5P21－22,其突变可发生于任何外显子。但以 15 外显子的 5'端(654－2843 密码子)最为常见,其中 1020－1169 密码子及 1323－2075 密码子编码区域被认为是 beta－Catenin 与 APC 蛋白结合并被降解所需。因此,正常成熟细胞中,细胞浆内游离 beta－Catenin 水平极低。我们的研究也显示,beta－Catenin 在 18 例卵巢良性上皮肿瘤中,仅 16.67% 呈异常表达;而卵巢恶性上皮肿瘤中,100% 为异常表达;二者异常表达率具有显著差异(P<0.001)。交界性上皮肿瘤异常表达占 76.92%,其异常表达率与良性上皮肿瘤之间有显著性差导(P<0.01),而与恶性上皮肿瘤之间无显著性差异(P>0.05)。提示 beta－Catenin 异常与卵巢肿瘤的恶性转化密切相关。

Gamallo C[3]等在一期,三期卵巢癌的研究中也得到了类似结果。Moreno Bueno[4] G 及 wu R[5]等学者在检测 beta－Catenin 异常表达的同时,也检测出 beta－Catenin 基因的突变。其机制推测可能由于肿瘤细胞中 beta－Catenin 基因中某些密码子发生突变或却失,导致 GSK－3 不能磷酸化 beta－Catenin 氨基酸保守的丝氨酸/苏氨酸位点,影响 beta－Catenin 的降解,使之在细胞浆内积累。而其通路异常也有可能是因为 APC 基因突变,使 APC 蛋白中心区结合 beta－Catenin 的区域异常,使 APC 蛋白不能与 beta－Catenin 结合,从而不能调节 beta－Catenin 水平,使之在细胞浆内聚集。我们同时分析了 48 例卵巢上皮肿瘤中 beta－Catenin 与 APC 蛋白表达的关系。结果表明:beta－Catenin 表达与 APC 蛋白表达呈明显负相关(r=－0.352,P=0.014),具有统计学意义(P<0.05)。这进一步证实了 APC 蛋白与 beta－Catenin 降解有关。我们的研究结果还显示:卵巢恶性上皮肿瘤 APC 蛋白较卵巢良性上皮肿瘤明显缺乏,二者具有显著性差异(P<0.05)。karbova[6]等对 56 例卵巢原发性浆液性癌和 57 例转移性浆液性卵巢癌的研究也表明,两种类型的卵巢癌均有 APC 蛋白的缺乏。Wu R 等在卵巢上皮内膜样癌中检测到 APC 等位基因的失活,Jerrett CR[7]等也发现卵巢癌中常有 APC2/APCL 基因的丢失,该基因定位于 19 号染色体上,其中含有 D19S883 和 WI－19632 的 19P13－3 区域的丢失在很多肿瘤中,尤其在卵巢癌中很常见。但也有学者研究指出,在某些肿瘤中不存在 APC 基因突变和 APC 蛋白的却失。这可能是由于 APC 基因的 5'端到外显子 1 间存在 3 个外显子,它们同外显子 1,2 具有多种拼接方式,使 APC 基因在不同组织甚至同一组织的细胞中存在不同的表达形式,(下转第 408 页)

维普资讯 http://www.cqvip.com

Tissues by RT－PCR and in Situ Hybridization[J]. Biochem. Biophys. Res. Commun, 1997;232:383－387.

[4] Fantuzzi G, Faggioni R. Leptin in the regulation of immunity, inflammation, and hematopoiesis[J]. J Leukoc Biol, 2000;68:437－446.

[5] Bouloumie A, Drexler HC, Lafontan M, et al. Leptin, the product of Ob gene, promotes angiogenesis[J]. Circ Res, 1998;83:1059－1066.

[6] Chehab FF, Lim ME, Lu RH. Correction of the sterility defect in homozygous obese female mice by treatment with the human recombinant leptin[J]. Nat Genet, 1996;12:318－320.

[7] Gonzalez RR, Caballero－Campo P, Jasper M, et al. Leptin and leptin receptor are expressed in the human endometrium and endometrial leptin secretion is regulated by the human blastocyst[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2000;85:4883－4888.

[8] Alfer J, Muller－Schottle F, Classen－Linke I, et al. The endometrium as a novel target forleptin: differences in fertility and subfertility[J]. Mol Hum Reprod, 2000;6:595－601.

[9] Kitawaki J, Koshiba H, Ishihara H, et al. Expression of leptin receptor in human endometrium and fluctuation during the menstrual cycle[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2000;85:1946－1950.

[10] Fukuda J, Nasu K, Sun B, et al. Effects of leptin on the production of cytokines by cultured human endometrial stromal and epithelial cells[J]. Fertil Steril, 2003;80(s 2):783－787.

[11] Castellucci M, De Matteis R, Meisser A, et al. Leptin modulates extracellular matrix molecules and metalloproteinases: possible implications for trophoblast invasion[J]. Mol Hum Reprod, 2000;6:951－958.

[12] Wu MH, Chuang PC, Chen HM, et al. Increased leptin expression in endometriosis cells is associaed with endometrial stromal cell proliferation and leptin gene up－regulation[J]. Mol Hum Reprod, 2002;8:456－464.

(上接第 404 页)

从而产生功能上的差异所致[8]。

总之，Wnt 信号传导通路在肿瘤的发生，发展过程中起着重要的作用。但其多种组分在不同肿瘤中的改变及具体作用机制尚待进一步探讨。

参 考 文 献

[1] 张明金，王 强，王元和，等. 大肠癌组织连环蛋白的表达及其临床意义[J]. 第二军医大学学报，2000;21(3):239－241.

[2] Shimizu M, Saiton Y, Itoh H. Immunohistochemical staining of Ha－ras oncogene product in normal, benign and malignant human pancreatic tissues[J]. Hum Pathol, 1990;21:607－612.

[3] Gamallo C, Palacios J, Moreno G, et al. beta－catenin expression pattern in stage Ⅰ and Ⅱ ovarian carcinomas: relationship with beta－catenin gene mutations, clinico－pathological features, and clinical outcome[J]. Am J Pathol, 1999;155(2):527－536.

[4] Moreno－Bueno G, Gamallo C, Perez－Grallego L, et al. bete－Catenin expression pattern, bete－Catenin gene mutations, ane microsatelliteinstability in endometrioid ovarian carcinomas and synchronous endometrial carcinomas[J]. Diagn M OL Pathol, 2001;10(2):116－122.

[5] Wu R, Zhai Y, Fearon ER, et al. Diverse mechanisms of beta－catenin Deregulation in Ovarian Endometrioid Adenocarcinomas[J]. Cancer Res, 2001;61(22):8247－8255.

[6] Karbova E, Davidson, Metodiev K, et al. Adenomatous polyposis coli(APC)protein expression in primary and metastatic serous ovarian carcimoma[J]. Int J Surg Pathol, 2002;10(3):175－180.

[7] Jarrett CR, Blancoto J, Car T, et al. Humman APC2 Localization and Allelic Imbalame[J]. Cancer Res, 2001;61(21):7978－7984.

[8] Thliveris A, Samowitz W, Mastsunami N, et al. Demonstration of Promoter Activity and Alernative Splicing in the Region 5' to Exon 1 of the APC Gene[J]. Cancer Res, 1994;54(11):2991－2995.