DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.17.030
第25卷第17期 第三军医大学学报 Vol. 25, No. 17
2003年9月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Sep. 2003

文章编号:1000-5404(2003)17-1567-03

论著

PTTG表达与垂体腺瘤侵袭性关系

田 刚[1],许民辉[1],杨继乐[2],罗 超[1],吕胜青[3] ([1]第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所神经外科,重庆 400042;[2]解放军第273医院神经科,库尔勒 841000;[3]第三军医大学附属新桥医院神经外科,重庆 400037)

提 要:目的 探讨垂体瘤转化基因(Pituitary tumor transforming gene, PTTG)表达与腺瘤侵袭性的关系及其临床意义。方法 回顾近年我科经手术切除的44例垂体腺瘤标本及6例正常垂体组织,均经10%的福尔马林固定、石蜡包埋。联合运用Knosp影像学标准及任祖渊标准,参考术中情况,将肿瘤标本分为侵袭组与非侵袭组;运用免疫组化的方法检测这50例标本中PTTG蛋白表达情况;分析PTTG表达与垂体腺瘤侵袭性的内在关系。结果 免疫组化实验结果显示PTTG蛋白在侵袭性垂体腺瘤组中显著高表达,在非侵袭性腺瘤组中有一定表达,在正常垂体组织中未见表达。结论 原癌基因PTTG表达水平和垂体腺瘤侵袭性密切相关,可作为腺瘤侵袭性的标志物。

关键词:垂体瘤转化基因;垂体腺瘤;侵袭性
中图法分类号:R394.2;R73-37;R736.4 文献标识码:A

The relationship between invasiveness and expression of PTTG in human pituitary adenomas

TIAN Gang, XU Min-hui, YANG Ji-le, LUO Chao, LU Sheng-qing (Department of Neurosurgery, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: Objective To explore the relationship between pituitary tumor transforming gene (PTTG) expression and invasiveness of pituitary adenomas and its clinical value. Methods A total of 44 pituitary adenoma specimens surgically removed in our department and 6 normal pituitary tissue samples were collected. All the samples were fixed with 10% formalin and then embedded with paraffin. Every case history was reviewed in detail. All the specimens were divided into invasive group(35 cases) and noninvasive group(9 cases) by the combined application of Knosp imaging diagnosis standard and Renzuyuan's standard and referring to all operation records. Expressions of PTTG protein in 50 slices of specimens were examined by immunohistochemistry. The relation between expression of PTTG protein and invasiveness of the pituitary adenomas was analyzed. Results Immunohistochemistry showed that there was significantly high PTTG protein expression in invasive group and low in noninvasive group but no expression in normal pituitary tissue. There was a significant correlation between the expression level of PTTG protein and invasiveness of the pituitary adenomas($P<0.01$). Conclusion High PTTG protein expression in protooncogene is associated with the invasiveness of pituitary adenomas, suggesting PTTG can serve as the molecule marker of adenoma invasiveness.

Key words: PTTG; pituitary adenoma; invasiveness

侵袭性垂体腺瘤因全切率相对低,复发率较高,而备受重视。2000年WHO新的肿瘤分类中已将垂体腺瘤归为内分泌系统良性肿瘤。自1940年Jefferson首次提出侵袭性垂体腺瘤的概念,垂体腺瘤侵袭率从初期报道的5%~20%,逐渐增加,1986年Selman等[1]报道的比例高达85%,结果相差较大,与判定标准不一有关。

1990年Herman等运用X-染色体非活化型分析,证明垂体腺瘤是单克隆发生的,可能由原始干细胞的基因突变(癌或抑癌基因)导致细胞增殖引起。PTTG[2]是近年新发现的一种垂体瘤转化基因,目前认为它是第一个在多数垂体腺瘤中高表达的细胞转化基因,与垂体瘤的形成及侵袭性密切相关[3]。

本研究采用免疫组化的方法研究垂体腺瘤中PTTG原癌基因表达情况与垂体腺瘤侵袭性的内在关系,评价其指导临床价值,说明对侵袭性腺瘤采取综合治疗的必要性。

作者简介:田 刚(1971-),男,河南省许昌市人,硕士,主治医师,主要从事脑肿瘤的基础与临床方面的研究。现在解放军新疆乌鲁木齐总医院,乌鲁木齐 830000. 电话:(023)68757263
通信作者:许民辉,电话:(023)68757243
收稿日期:2002-07-17;修回日期:2002-09-04

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

1 材料与方法

1.1 材料

44 例垂体腺瘤选自第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所病理科 1998 年 5 月至 2001 年 7 月存档的手术标本。其中男性 17 例，年龄 32～64(46.1±9.5)岁；女性 27 例，年龄 16～57(37.7±10.0)岁。病程 1 个月～10 年，平均(30.3±31.0)个月。MRI 片测量肿瘤最大径＜20 mm 者 3 例，20～40 mm 者 29 例，＞40 mm 者 12 例。6 例正常垂体组织选自同期同年龄组非垂体腺疾病患者尸检标本作为对照。

1.2 垂体腺瘤分型

主要依照 Knosp[4] 影像学标准并参考任祖渊[5] 所述判定标准，结合对术中情况回顾，将肿瘤分为侵袭性组(35 例)和非侵袭性组(9 例)。

1.3 试剂

一抗为 PTTG 山羊抗兔多克隆抗体 IgG，来自美国 Santa Cruz 生物技术有限公司。

1.4 PTTG 蛋白表达检测

所有标本随机编号后，实验步骤按美国 ZYMED 公司 SP-9003 试剂盒提供的操作步骤进行；二抗：为生物素化生物素化兔抗山羊 IgG，以磷酸盐缓冲液(Phosphate buffered solution，PBS)代替一抗作阴性对照。

1.5 结果判定

PTTG 染色标准：瘤细胞浆出现棕黄色颗粒，背景清晰者为阳性，应用美国 Tiger920 细胞图象分析仪进行定量处理。取固定检测光源强度，每张切片随机选取三个高倍视野(×400)，每个视野总测量面积为 $2.9658\times10^4\ \mu m^2$，分别测得这 3 个视野的积分光密度(Integral optical density，IOD)值后取其平均值。

1.6 统计学处理

选用 SPSS10.0 包统计分析软件进行统计分析，免疫组化实验测得的数据为计量资料，用 $\bar{x}\pm s$ 表示，采用方差分析，完全随机设计及均数间两两比较。

2 结果

PTTG 蛋白阳性染色为棕黄色颗粒，定位于细胞浆及细胞膜中，细胞核内也有少量表达，在侵袭性垂体腺瘤组中显著高表达，见图 1，在非侵袭性腺瘤组中有一定表达，在正常垂体组织中未见表达，PTTG 表达水平与垂体腺瘤侵袭性密切正相关($P<0.01$)，见表 1。

表 1 侵袭性和非侵袭性腺瘤组 **PTTG** 表达 **IOD** 值比较($\bar{x}\pm s$)

Tab 1 Comparison of the IOD of PTTG expression between invasive and noninvasive adenoma groups($\bar{x}\pm s$)

Group	n	IOD
Invasive adenomas	35	9 654.88±2 104.55★★
Noninvasive adenomas	9	6 087.06±1 707.26 **
Normal pituitary tissue	6	1 556.60±114.56

★★：$P<0.01$ *vs* noninvasive adenomas；**：$P<0.01$ *vs* normal pituitary tissue

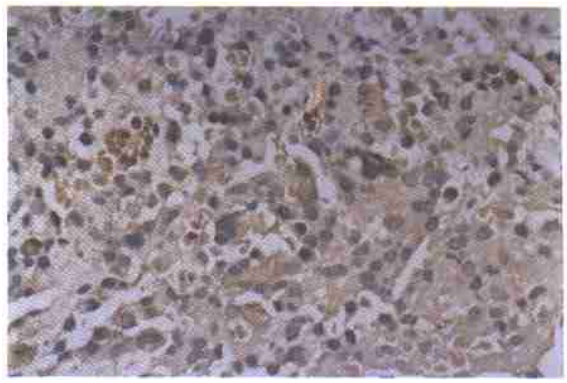


图 1 侵袭性垂体腺癌 **PTTG** 抗体免疫组化染色 (S-P×400)

Fig 1 Immunohistochemical staining of invasive pituitary adenomas using PTTG antibody (S-P×400)

3 讨论

PTTG 最早于 1997 年由 Pei 等[2] 首次用 RNA 差异显示聚合酶链反应(Polymerase chain reaction，PCR)方法从大鼠 GH4 垂体瘤中克隆分离出来的一个新的癌基因，鼠的 PTTG 有两种同形基因，分别存在于成年鼠睾丸系细胞、胚肝组织及垂体瘤细胞。将转化 PTTG 基因的成纤维细胞对无胸腺裸鼠皮下注射能在 3 周内快速诱发成瘤[2,6]，它在体内和体外均有很强的使细胞向恶性转化的能力，因此得名。PTTG 这一肿瘤启动基因具有单独作用使细胞转化和成瘤能力，不需要其他癌基因的同时存在和作用[6]。Zhang 等[3] 发现人类 PTTG 基因与鼠的 PTTG 基因序列有高度同源性，可能至少有 3 种亚型，其中与垂体腺瘤有关的 $PTTG_1$ 定位于染色体 5q33 上，由 5 个外显子和 4 个内含子组成，编码的蛋白质含 201 个氨基酸，分子量为 26×10^3。PTTG 表达并不仅限于垂体腺瘤细胞中，在肺癌、黑色素瘤、白血病、淋巴瘤等肿瘤系细胞均发现鼠样 PTTG-mRAN 表达[7]，在肾上腺、肝、肾、子宫、尿道、卵巢、乳腺等人体肿瘤组织中发现 PTTG 表达[8,9]；通过 Northern blot 分析发现在正常垂体组织中有极低水平 $PTTG_1$ mRNA[9]。肿瘤细胞中 PTTG cDNA 的序列分析未发现有活性突变，表明其癌基因作用主要依赖其表达水平。PTTG 蛋白序列中包含一段可能与细胞内信号传导有关的脯氨酸富集区和一段可能与核内定位有关的碱性氨基酸富集区[2]，其脯氨酸富集区可能参与了 Src 癌基因家族同源区(Src homology region-3，SH-3)介导的细胞内信号传递通路[10]。SH3 是一个介导细胞内信号传导蛋白相互识别和结合的区域，此脯氨酸富集区是 SH3 蛋白的选择性结合位点，破坏此区则 PTTG 转化效率大大降低，其成瘤活性及刺激碱性成纤维细胞生长因子(Basic fibroblast growth Factor，bFGF)分泌作用消

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

失, 此区对 PTTG 的功能至关重要, PTTG 很可能参与了细胞内信号传导。

本实验结果表明: ①侵袭性垂体腺瘤组的 PTTG 表达较非侵袭性腺瘤组增高非常显著; ②非侵袭性垂体腺瘤组的 PTTG 表达较正常垂体组增高非常显著, 其差异均具有统计学上的意义; ③PTTG 癌蛋白表达与内分泌类型无明显相关性。从 PTTG 表达的分子机制分析: PTTG 所显示的强烈离体、在体细胞转化作用可能是通过刺激 bFGF 分泌实现, 在成功切除垂体瘤后, 患者血清中 bFGF 水平显著下降[6], 在高表达 PTTG 的 NIH3T3 转染细胞有大量 bFGF 表达和分泌, 而 bFGF 在垂体功能调控中有重要作用: 促细胞有丝分裂、血管生成、调控激素分泌[11]。最近 Pei[12] 发现, 在 PTTG 的细胞转化转录调节过程中, 它可以激活 *c-myc* 癌基因, 促进细胞增殖及成瘤, 起着细胞恶性转化的启动作用。Yu[13] 总结了人类 PTTG 诱导垂体腺瘤发生的 3 个可能机制: ①PTTG 与 bFGF 形成正反馈环路并刺激肿瘤血管生成; ②PTTG 激活 *c-myc* 或其它脯氨酸增殖基因; ③PTTG 的过表达带来非整倍性细胞分裂, 导致遗传不稳定性。PTTG 在多数人体恶性肿瘤、特别是侵袭力强的恶性肿瘤及多数垂体腺瘤、特别是侵袭性者中高表达, PTTG 的高表达是肿瘤侵袭性行为的分子标志。最近 Heaney[14] 论证人类垂体 PTTG 是由雌激素及 bFGF 诱导表达的, 雌激素抗体在体外能减少 PTTG 表达, 并抑制实验肿瘤生长。

PTTG 在人类垂体腺瘤中表达比正常垂体组织显著增高, 且与侵袭性密切相关, 说明 PTTG 的高表达与垂体腺瘤的发生、发展侵袭行为有关。

通过检测腺瘤组织中 PTTG 表达水平, 可能为临床判定腺瘤侵袭性提供了一个分子标志, 为垂体腺瘤综合治疗提供依据。

(致谢: 感谢第三军医大学附属西南医院病理研究所卞修武教授的鼎力支持。)

参考文献:

[1] Selman W R, Law E R, Scheithauer B W, *et al*. The occurrence of dural invasion in pituitary adenoma[J]. J Neurosurg, 1986, 64(3): 402—407.

[2] Pei L, Melmed S. Isolation and characterization of a pituitary tumor transformation gene(PTTG)[J]. Mole Endocrinol, 1997, 11(4): 433—441.

[3] Zhang X, Horwitz G A, Heaney A P, *et al*. Pituitary tumor transforming gene(PTTG) expression in pituitary adenomas[J]. Clin Endocrinol Metab, 1999, 84(2): 761—767.

[4] Knosp E, Steiner E, Kitz K, *et al*. Pituitary adenomas with invasion of the cavernous sinus space: a magnetic resonance imaging classification compared with surgical findings[J]. Neurosurgery, 1993, 33(4): 610—618.

[5] 任祖渊. 侵袭性垂体腺瘤的研究现状及展望[J]. 中华神经外科杂志, 2000, 16(增刊): 112—115.

[6] McCabe C J, Git toes N J. PTTG-a new pituiary tumor transforming gene [J]. J Endocrinol, 1999, 162(2): 163—166.

[7] Pei L. Genomic organization and identification of an enhancer element containing binding sites for multiple proteins in rat pituitary tumor— transforming gene[J]. J Biol Chem, 1998, 273(9): 5219—5225.

[8] Kakar S S. Molecular cloning, genomic organization, and identifica-tion of the promoter for the human pituitary tumor transforming gene (PTTG)[J]. Gene, 1999, 240(2): 317—324.

[9] Saez C, Japon M A, Romos Morales F, *et al*. hPTTG is over-expressed in pituitary adenomas and other primary epithelial neoplasias[J]. Oncogene, 1999, 18(39): 5473—5476.

[10] Yu H. Structure basis for the binding of proline-rich peptides to SH3 domain[J]. Cell, 1994, 76(6): 933—945.

[11] Abbass S A, Asa S L, Ezzal S, *et al*. Altered expression of fibroblast growth growth' factor receptors in human pimitaryadenomas[J]. Clin Endocrinol Metab, 1997, 82(4): 1160—1166.

[12] Pei L. Identification of c-myc as a down-stream target for pituitary tumor-transforming gene[J]. J Biol Chem, 2000, 276(11): 8484—8491.

[13] Yu R, Melmed S. Oncogene activation in pituitary tumors[J]. Brain Pathol, 2001, 11(3): 328—341.

[14] Heaney A P, Fernando M, Melmed S. Functional role of extrogen in pituitary tumor pathogenesis[J]. J Clin Invest, 2002, 109(2): 277—283.

(编辑　陈聪连)

(上接 1566 页)

二者腹水超声表现见表 1。肝性腹水多由肝硬化失代偿引起, 腹膜炎并腹水量可多可少, 量多者游离性较好, 量越少游离性越差, 分隔越多, 部分有腹膜增厚, 肠管粘连。胃癌及结肠癌腹膜转移者可见腹内肿块、肠管粘连及腹膜增厚。腹腔假性粘液瘤患者腹水分隔最显著如蜂窝状, 抽吸出粘液状物。2 例盆腔炎液性回声局限于盆腔, 探头压迫盆腔疼痛明显。布-加综合征肝静脉、门静脉增宽, 其内示疏密不等实质回声。

综上所述, 肝病性腹水是患者有腹水的同时伴肝硬化、肝癌、急性重症肝炎等严重肝脏疾病, 肝脏呈局灶性或弥漫性病变, 门静脉高压, 脾肿大, 胆囊壁增厚呈多层, 但无粘连成团的肠袢[1]。B 超检查时不难作出正确提示。但慢性肝病甚至肝硬化患者出现了腹水, 并非绝对是肝功能失代偿引起, B 超检查时如发现以下超声特征: 腹水患者, 肝脏声像无典型肝硬化结节增生样改变, 无明显门脉高压及脾肿大; 腹水游离性差, 无回声区内有分隔或肠袢粘连; 腹膜增厚, 肠管粘连成团块状; 腹腔内发现包块、"假肾征"或广泛淋巴结肿大; 肝静脉、下腔静脉增宽或发现管腔内异常回声等, 应高度怀疑其他肝外原因引起腹水。总之, B 超检查可以根据腹水声像特点结合腹腔各脏器声像表现为临床诊断提供有价值的影像学依据[2], 充分发挥 B 超在诊断慢性肝病非肝性腹水中的作用。

关键词: 慢性肝病; 非肝性腹水; 超声表现
中图法分类号: R575.045.1　　文献标识码: B

参考文献:

[1] 张青萍, 李泉水. 现代超声显像鉴别诊断学[M]. 南昌: 江西科学技术出版社, 1999. 319—321.

[2] 曹海根, 王金锐. 实用腹部超声诊断学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1994. 608—609.

(编辑　薛国文)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net