

人脑胶质瘤中 APC、 β -catenin 及 CyclinD1 表达

张 勇^{1,2}, 王 斌¹, 周幽心²

(1.淮北市人民医院,安徽 淮北 235000;2.苏州大学附属第一医院,江苏 苏州 215006)

摘 要: [目的] 探讨 APC、 β -catenin、CyclinD1 在人脑胶质瘤中的表达及意义。[方法] 采用免疫组化 Envision 二步法检测 APC、 β -catenin、CyclinD1 在 48 例胶质瘤和 11 例正常脑组织中的表达。[结果] APC、 β -catenin、CyclinD1 的表达阳性率在正常脑组织与胶质瘤组均有显著性差异(100% vs 20.8%, 0 vs 79.2%, 0 vs 87.5%, P 均 <0.05),胶质瘤中 β -catenin 与 CyclinD1 的表达呈正相关($r=0.427$, $P<0.05$), β -catenin 与 APC 表达呈负相关($r=-0.621$, $P<0.05$)。[结论] 胶质瘤中 APC 低表达, β -catenin、CyclinD1 高表达,可能在胶质瘤的发生发展中起一定作用。

关键词: 胶质瘤; APC; β -catenin; CyclinD1; 免疫组化

中图分类号: R739.41 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0242(2012)05-0368-03

The Expression of APC, β -catenin and CyclinD1 in Human Glioma

ZHANG Yong¹, WANG Bing¹, ZHOU You-xin².

(1.HuaiBei People's Hospital, HuaiBei 235000, China; 2.The First Affiliated Hospital of Suzhou University, Suzhou 215006, China)

Abstract: [Purpose] To investigate the expression of APC, β -catenin, CyclinD1 in human glioma. [Methods] The expression of APC, β -catenin and CyclinD1 in tissue samples from 48 cases with glioma and 11 cases with normal brain tissue was detected by "Envision two steps" of immunohistochemistry. [Results] There was significant difference of the positive rate of APC, β -catenin and CyclinD1 between glioma tissue and normal brain tissue (100% vs 20.8%, 0 vs 79.2%, 0 vs 87.5%, P all <0.05). There was a positive correlation between β -catenin and CyclinD1 expression ($r=0.427$, $P<0.05$), and negative correlation between β -catenin and APC expression ($r=-0.621$, $P<0.05$). [Conclusion] Low expression of APC, overexpression of β -catenin and CyclinD1 in glioma might correlate to carcinogenesis.

Key words: gliomas; APC; β -catenin; CyclinD1; immunohistochemistry

胶质瘤是颅内最常见的原发性肿瘤,国内资料统计显示其约占颅内原发性肿瘤的 35.26%~60.96%。Wnt 信号转导通路是调控细胞增殖和分化的重要通路,该通路成员各癌基因、抑癌基因的异常,激活下游相关靶基因的转录与肿瘤的发生密切相关。经典的 Wnt 通路是以 Wnt 蛋白激活时, β -catenin 在细胞质中聚集为特点的^[1]。本研究应用免疫组化方法检测正常脑组织、不同级别的人脑胶质瘤中 APC、 β -catenin、CyclinD1 蛋白的表达水平,探讨不同级别人脑胶质瘤与 Wnt 信号转导通路的相关性。

收稿日期:2012-01-20;修回日期:2012-02-28

通讯作者:张勇, E-mail: zhangyong781222@126.com

1 材料与方法

1.1 临床资料

选取 2004 年 9 月至 2008 年 8 月手术切除并经病理证实的胶质瘤标本 48 例。男性 25 例,女性 23 例,年龄 11~74 岁(中位年龄 44 岁)。按 2007 年 WHO 中枢神经系统胶质瘤分类标准进行分级,并将 I~II 级归为低级别组, III~IV 级为高级别组,低级别组 25 例,高级别组 23 例。所有标本均用 100ml/L 的福尔马林固定,石蜡包埋切片,厚 4 μ m。另取 11 例正常脑组织(脑外伤内减压获得)作为对照。

1.2 主要试剂及方法

免疫组化 Envision 二步法检测 APC、 β -catenin、CyclinD1 蛋白,APC 多克隆抗体、 β -catenin 多克隆抗体均购自 Cell Signaling Technology 公司,CyclinD1 单克隆抗体购自 DAKO 公司,工作浓度分别为 1:50、1:50、1:100;Envision 试剂盒购自 DAKO 公司,操作步骤按说明书进行。PBS 液代替一抗作阴性对照。

1.3 结果判断

免疫组化染色阳性信号为细胞出现棕黄色或棕褐色颗粒。APC 主要表达在胞浆。 β -catenin 表达只有胞质或胞核出现呈棕黄色或棕褐色颗粒为阳性表达,仅有胞膜表达时视为阴性表达。CyclinD1 阳性表达位于细胞核,胞质部位出现着色视为阴性。

由两名病理医师采用双盲法阅片和双评分半定量法进行评分:靶细胞阳性率 0 为 0 分,1%~10%为 1 分,11%~50%为 2 分,51%~80%为 3 分,>80%为 4 分;显色程度按切片中细胞显色有无及染色深浅记分,细胞无显色为 0 分,浅棕黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分。将两计分相乘,0 分为(-),1~2 分为(+),3~4 分为(++),>4 分为(+++)。

1.4 统计学处理

采用 SPSS13.0 统计软件进行统计分析,APC、 β -catenin 及 CyclinD1 在各级别胶质瘤中的表达率比较采用 χ^2 检验或 Fisher 精确概率法,APC、 β -catenin 及 CyclinD1 表达相关性分析采用 Spearman 等级相关分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 APC、 β -catenin、CyclinD1 在胶质瘤中的表达

APC 在胶质瘤组织中表达阳性率为 20.8%(10/48),在正常脑组织中表达率 100%(11/11),差异有显著性($\chi^2=21.135, P<0.01$);APC 在低级别胶质瘤中的表达率为 40.0%(10/25),在高级别胶质瘤中无阳性表达($P=0.002$)。胶质瘤组织中 β -catenin 阳性率为 79.2%(38/48),在正常脑组织中均表达阴性($\chi^2=21.135, P<0.01$); β -catenin 在低级别胶质瘤中的表达率为 64.0%(16/25),在高级别胶质瘤中的表达率为 95.7%(22/23)($P=0.019$)。CyclinD1 在正常脑组织中无表达,在胶质瘤中表达阳性率为 87.5%(42/28),差异有显著性($P<0.05$);CyclinD1 在低级别胶质瘤中的表达率为 76.0%(19/25),在高级别胶质瘤中的表达率为 100%(23/23)($P<0.05$)。见表 1,图 1~3。

2.2 胶质瘤中 β -catenin 表达与 APC、CyclinD1 表达的相关性

胶质瘤中 β -catenin 表达与 APC、CyclinD1 表达的相关性见表 2。胶质瘤中 β -catenin 与 CyclinD1 表达呈正相关($r=0.427, P<0.05$),而与 APC 表达呈负相关($r=-0.621, P<0.05$)。

表 1 APC、 β -catenin 和 CyclinD1 在不同级别胶质瘤组织中的表达

组别	总例数	APC	β -catenin	CyclinD1
		表达阳性(%)	表达阳性(%)	表达阳性(%)
正常脑组织	11	11 (100)	0 (0)	0 (0)
胶质瘤	48	10 (20.8)	38 (79.2)	42 (87.5)
低级别胶质瘤	25	10 (40.0)	16 (64.0)	19 (76.0)
高级别胶质瘤	23	0 (0)	22 (95.7)	23 (100)

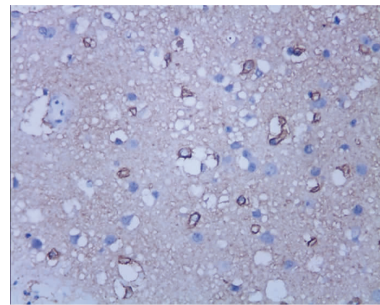


图 1 APC 在正常脑组织表达,细胞浆可见棕黄色颗粒(+++)($\times 400$)

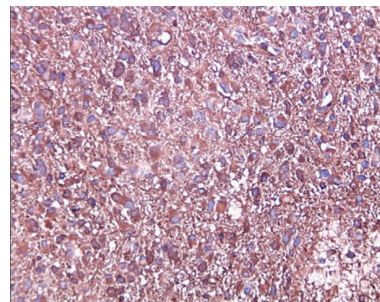


图 2 β -catenin 在Ⅲ级胶质瘤表达,细胞浆可见棕黄色颗粒(+++)($\times 400$)

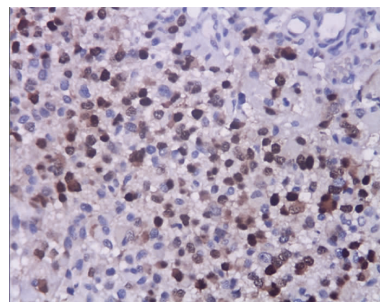


图 3 CyclinD1 在Ⅳ级胶质瘤表达,细胞浆可见棕褐色颗粒(+++)($\times 400$)

表 2 胶质瘤中 β -catenin 表达与 APC、CyclinD1 表达的相关性

β -catenin	APC		CyclinD1	
	+	-	+	-
+	3	35	36	2
-	7	3	6	4

3 讨 论

近年来,Wnt 信号传导通路作为一种既可影响基因表达又可影响细胞迁徙的信号通路,受到了极大的关注。正常情况下,过剩的 β -catenin 通过和由糖原合成酶激酶-3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β)、结肠腺瘤性息肉病 (adenomatous polyposis coli, APC) 蛋白、轴抑制蛋白 (axin inhibition protein, Axin) 组成的复合物的作用,被磷酸化,随后被泛素-蛋白酶体系统降解。Wnt 蛋白与跨膜受体 Frizzleds 结合,激活 Wnt 通路,抑制多蛋白复合物形成,从而抑制 β -catenin 的磷酸化,稳定 β -catenin 在胞浆内的聚集,并进入细胞核内与 TCF/LEF 结合激活相关靶基因如 CyclinD1、c-myc 等的转录,导致细胞癌变^[2]。

APC 基因是一个抑癌基因,调节细胞生长和自身稳定,在许多组织中均有表达,它直接参与了 Wnt 的信号转导途径,正常的 APC 与 Axin、GSK-3 β 形成复合物,保证 Wnt 信号途径对细胞增殖、极性以及迁移的正常调节。本研究发现,APC 蛋白的表达主要在细胞浆,在胶质瘤组织中表达阳性率为 20.8%,在正常脑组织中 100% 表达,在低级别胶质瘤中表达率为 40.0%,而在高级别胶质瘤中无表达。APC 蛋白在正常脑组织中高表达,在低级别胶质瘤中低表达,在高级别胶质瘤中无表达,提示 APC 的低表达可能与胶质瘤的发生、发展有关,可能是 APC 异常表达导致 β -catenin 不能进入正常的降解途径,而导致胶质瘤的发生,与文献报道一致^[3]。

Sareddy 等^[4]通过 RT-PCR 和免疫组化检测 32 例不同级别胶质瘤中 β -catenin 的表达研究显示,随胶质瘤级别升高, β -catenin 的表达水平逐渐升高,并且免疫荧光显示胶质瘤细胞中出现 β -catenin 的胞浆聚集和核转移。另外,对 β -catenin 的干扰可以抑制裸鼠中胶质瘤细胞 U251 的生长,并促进细胞的凋亡^[5]。本研究中我们观察到, β -catenin 蛋白的表达主要在细胞浆,未见胞核表达;胶质瘤中表达

阳性率为 79.2%(38/48),在正常脑组织中无表达,在低级别胶质瘤表达率为 64.0%(16/25),在高级别胶质瘤中的表达率为 95.7%(22/23), β -catenin 蛋白在正常脑组织中无表达,且随着胶质瘤恶性度的增加,表达水平逐渐升高,表明 β -catenin 可能促进胶质瘤的发生、增殖^[6]。

CyclinD1 是 Wnt 信号通路的靶基因之一,是促进细胞周期从 G₁ 期到 S 期进程的主要蛋白;CyclinD1 在 G₁ 期的诱导作用是使生长因子转录激活,其过度表达与肿瘤的发生密切相关^[7]。本研究结果显示:CyclinD1 在正常脑组织中无表达,低级别胶质瘤中 CyclinD1 在胞核表达阳性率低,而在高级别胶质瘤阳性率明显升高,这与文献报道一致^[8],提示在胶质瘤细胞中存在 G₁-S 期进展加速。

对胶质瘤中 β -catenin 表达与 APC、CyclinD1 表达的相关性分析发现,胶质瘤中 β -catenin 与 CyclinD1 表达呈正相关,而与 APC 表达呈负相关,提示 APC 蛋白表达异常和/或 β -catenin 蛋白结构异常或基因突变可能导致 β -catenin 在胞浆的异常蓄积,并进入核内从而激活 CyclinD1、c-myc 等下游靶基因,促进胶质瘤的发生、发展。

综上,胶质瘤中 APC 低表达,而 β -catenin、CyclinD1 高表达,三者相互作用,可能在胶质瘤的发生发展中起一定作用。

参考文献:

- [1] Michaelson JS, Leder P. β -catenin is a downstream effector of Wnt-mediated tumorigenesis in the mammary gland [J]. *Oncogene*, 2001, 20(37):5093-5099.
- [2] DasGupta R, Kaykas A, Moon RT, et al. Functional genomic analysis of the Wnt-wingless signaling pathway [J]. *Science*, 2005, 308 (5723):826-833.
- [3] 刘劲睿, 赵凤毛, 王帅. 脑胶质瘤中 Wnt/ β -catenin 信号通路相关蛋白 β -联蛋白, 结肠腺瘤性息肉病蛋白的表达及相关性分析 [J]. *黑龙江医学*, 2011, 35(1):1-3.
- [4] Sareddy GR, Panigrahi M, Challa S, et al. Activation of Wnt/ β -catenin/Tcf signaling pathway in human astrocytomas [J]. *Neurochem Int*, 2009, 55(5): 307-317.
- [5] Pu P, Zhang Z, Kang C, et al. Downregulation of Wnt2 and β -catenin by siRNA suppresses malignant glioma cell growth [J]. *Cancer Gene Ther*, 2009, 16(4): 351-361.
- [6] 赵尚峰, 刘向荣, 储波, 等. β -catenin 在胶质瘤中的表达及其意义 [J]. *中国卫生检疫杂志*, 2010, 20(1):15-17.
- [7] 陈玉英, 王海东, 王占祥, 等. 下调 Pygo2 抑制脑胶质瘤 U251 细胞增殖、侵袭及其 CyclinD1 的表达 [J]. *第二军医大学学报*, 2011, 32(2):128-133.
- [8] 张志强, 陈红庆, 陈映, 等. 脑胶质瘤中 β -catenin 和细胞周期素 D1 表达的意义 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2009, 25(11):1010-1012.