

文章编号 1006-8147(2016)06-0483-04

论 著

NF- κ B 和 eIF4E 在子宫内膜上皮内瘤变和子宫内膜样癌中的表达及意义

赵庆庆, 宋文静

(天津医科大学病理学教研室, 天津 300070)

摘要 目的:探讨核转录因子- κ B(NF- κ B)和 eIF4E 在子宫内膜上皮内瘤变(EIN)和子宫内膜样癌(EC)中的表达规律及意义。方法:免疫组织化学 SP 法检测 NF- κ B 和 eIF4E 在增殖期子宫内膜、子宫内膜增生、EIN 及 EC 中的表达,应用 Mann-Whitney *U* 检验及 Wilcoxon 检验进行数据统计分析。结果:(1)NF- κ B 在 4 组中呈递增性表达,EIN 组与 EC 组间无显著差异性($P>0.05$),与其余两组组间表达均有统计学意义($P<0.05$)。(2)eIF4E 在 EC 中的表达明显高于增殖期子宫内膜、子宫内膜增生及 EIN,且 EIN 组与各组间差异有统计学意义($P<0.05$)。(3)NF- κ B 和 eIF4E 在 EIN 及相关病变中的表达有显著相关性($r=0.949, P<0.05$)。结论:NF- κ B 和 eIF4E 在 EIN 及 EC 中高表达,在 EIN 发展为 EC 的过程中逐渐被激活,进而加速转录、翻译,增大 EIN 进展为子宫内膜样癌的可能性。

关键词 子宫内膜上皮内瘤变;子宫内膜样癌;NF- κ B;eIF4E;免疫组化

中图分类号 R737.33

文献标志码 A

Expression and significance of NF- κ B and eIF4E in endometrial intraepithelial neoplasia and endometrioid carcinoma

ZHAO Qing-qing, SONG Wen-jing

(Department of Pathology, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

Abstract Objective: To investigate the expressions and roles of NF- κ B and eIF4E in the endometrial intraepithelial neoplasia (EIN) and endometrioid carcinoma (EC). **Methods:** Immunohistochemical SP method was used to detect the expressions of NF- κ B and eIF4E in the proliferative stage of endometrium, hyperplasia endometrium, EIN and EC. The statistical data were analyzed Using MannWhitney *U* test and Wilcoxon test. **Results:** (1) The expression levels of NF- κ B increased gradually, and there was no statistically significant difference between EIN and EC ($P>0.05$). However, difference between the EIN and other groups was significance. (2)The positive rate of eIF4E was significantly higher in EC than in proliferative stage of endometrium, hyperplasia endometrium and EIN($P<0.05$). (3)NF- κ B and eIF4E had a strong correlation between EIN and associated lesions($r=0.949, P<0.05$). **Conclusion:** NF- κ B and eIF4E are highly expressed in EIN and EC. They may be gradually activated in the process of EIN development to EC, and then accelerate transcription or translation, and increase the possibility of endometrial carcinoma.

Key words endometrial intraepithelial neoplasia; endometrioid carcinoma; NF- κ B; eIF4E; immunohistochemistry

子宫内膜癌在发达国家女性生殖系统恶性肿瘤中最常见,约占有所有肿瘤的4%^[1]。随着我国经济的发展、人们生活水平的不断提高,我国子宫内膜癌的发病率也逐年上升。一直以来,子宫内膜癌病因学及发病机制始终是研究的重点和难点。2000年,该领域出现一重大突破, Mutter 及其子宫内膜协作组提出子宫内膜上皮内瘤变(endometrial intraepithelial neoplasia, EIN)的概念^[2],将子宫内膜增生分为良性子宫内膜增生、EIN,并认为 EIN 是子宫内膜样癌(endometrioid carcinoma, EC)癌前病变的组织形态学改变。关于 EIN 的相关研究报告已陆续

见诸于国外文献,但国内涉及 EIN 的研究报告却很少。本研究采用免疫组化 SP 法分析了核转录因子- κ B (NF- κ B) 和真核细胞翻译起始因子 4E (eukaryotic translation initiation factor 4E, eIF4E) 在 EIN 及其相关病变中的表达,探讨 NF- κ B 和 eIF4E 在 EIN 进展为子宫内膜样癌过程中的作用和意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集天津医科大学总医院病理科 2013 年 1 月-2014 年 12 月刮宫标本 85 例,年龄 29~80 岁,平均年龄 45.15 岁。选取增殖期子宫内膜 10 例、子宫内膜增生 30 例(包括单纯性增生 15 例、复杂性增生 15 例),子宫内膜样癌 20 例,按照 EIN 诊断标准^[3]筛选出 EIN 25 例。所有标本经 10%福尔

作者简介 赵庆庆(1990-),女,硕士在读,研究方向:女性生殖系统肿瘤;通信作者:宋文静, E-mail: songwenjing2004@aliyun.com。

马林固定,石蜡包埋,连续切片,厚度 4 μm 。

1.2 试剂 鼠抗人 NF- κ B(ZS-8008)(北京中杉金桥生物技术有限公司)、鼠抗 eIF4E 单克隆抗体(BM1738)(武汉博士德生物技术有限公司),免疫组化 SP 试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司)。用磷酸盐缓冲液(PBS)代替一抗作阴性对照。

1.3 方法 组织标本(蜡块)做 4 μm 厚连续切片,贴附于载玻片上,置于 66~70 $^{\circ}\text{C}$ 烤箱中烤蜡 1 h,经二甲苯脱蜡,梯度酒精脱苯至水,PBS 冲洗,3 min \times 2 次,将切片放入盛有枸橼酸盐缓冲液的容器中,置于微波炉内,中火,3 min \times 2 次,自然冷却至室温,PBS 冲洗,3 min \times 2 次,3% H_2O_2 室温孵育 10 min,PBS 冲洗,3 min \times 2 次,滴加一抗,置于湿盒中,4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱过夜,翌日,4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱取出,恢复至室温,PBS 冲洗,3 min \times 3 次,滴加二抗工作液,37 $^{\circ}\text{C}$ 温箱孵育 40 min,PBS 冲洗,3 min \times 3 次,DAB 显色系统显色,统一时间滴加 DAB 工作液,显微镜下观察,统一时间终止显色,充分水洗、苏木素复染细胞核、梯度酒精脱水、二甲苯透明、中性树胶封片。

1.4 结果判定 NF- κ B 及 eIF4E 阳性染色均位于细胞浆,呈棕黄色颗粒。采用双盲法随机观察 10 个高倍视野($\times 400$),每个高倍视野计数 100 个细胞。先根据阳性细胞数所占的百分数计分: $<5\%$ 为 0 分,5%~25% 为 1 分,26%~50% 为 2 分,51%~75% 为 3 分, $>75\%$ 为 4 分;再根据阳性细胞染色强度计分:无着色为 0 分,淡黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分;两者评分相乘,0 分为“-”;1~3 分为“+”;4~6 分为“2+”;7~12 分为“3+”。

1.5 统计学分析 应用 Mann-Whitney U 检验及 Wilcoxon 检验进行分析,相关分析应用 Spearman 秩相关;采用 SPSS 17.0 统计软件包进行数据分析。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

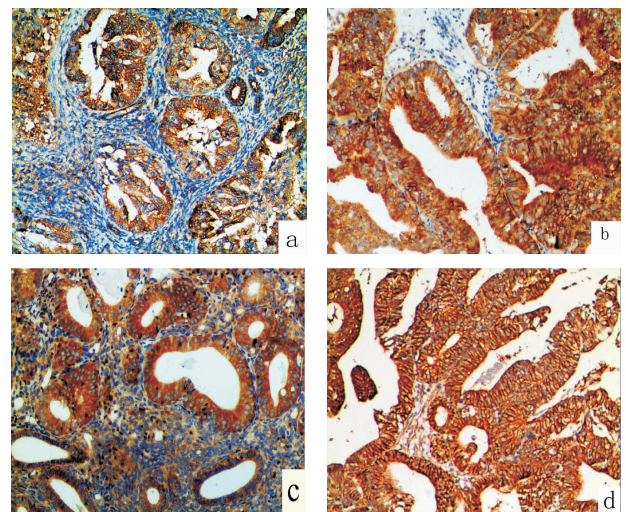
2 结果

2.1 NF- κ B、eIF4E 在 EIN 及其相关病变的表达 NF- κ B 及 eIF4E 阳性表达均定位于细胞浆,呈棕黄色颗粒。NF- κ B 在子宫内膜样癌组的阳性率达 90%,明显高于 EIN 组(80%)、子宫内膜增生组(53.33%)和增殖期子宫内膜组(30%),EIN 组与子宫内膜样癌组间差异无统计学意义($Z=-1.653, P=0.098$),与其余两组组间差异显著($P<0.05$)。eIF4E 在增殖期子宫内膜、子宫内膜增生、EIN 及子宫内膜样癌中表达呈递增趋势,且 EIN 组与各组组间差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 1 和图 1。

表 1 NF- κ B 及 eIF4E 在 EIN 及其相关病变的表达(n)

Tab 1 The expressions of NF- κ B and eIF4E in EIN and associated lesions(n)

组别	n	NF- κ B				eIF4E			
		-	+	2+	3+	-	+	2+	3+
增殖期子宫内膜	10	7	3	0	30.00	6	4	0	40.00
子宫内膜增生	30	14	12	4	53.33	12	13	5	60.00
EIN	25	5	15	5	80.00	4	17	4	84.00
子宫内膜样癌	20	2	10	8	90.00	2	11	7	90.00
合计	85	28	40	17		24	45	16	



a.NF- κ B 在 EIN 的表达;b.NF- κ B 在子宫内膜样癌的表达;c.eIF4E 在 EIN 的表达;d.eIF4E 在子宫内膜样癌的表达

图 1 NF- κ B、eIF4E 在 EIN 和子宫内膜样癌的表达(SP, $\times 100$)

Fig 1 The expressions of NF- κ B and eIF4E in EIN and endometrioid carcinoma (SP, $\times 100$)

2.2 NF- κ B、eIF4E 表达的相关性 Spearman 相关分析显示,NF- κ B 和 eIF4E 在 EIN 及相关病变中的表达呈显著相关性($r=0.949, P<0.05$)。

3 讨论

2000 年 Mutter 提出的 EIN 一直是妇科病理学界关注的热点。目前认为 EIN 是一种肿瘤性的单克隆增生,具有癌的一些遗传学特征(如单克隆性,PTEN、K-ras 和 MLH 等基因的改变),被视为子宫内膜样癌的癌前病变,但不具备癌的全部特征,其本质是上皮内肿瘤的形成,且不再分级^[4]。EIN 早期多为局灶性病变,进展后可形成弥漫性病变。本研究病例中,局灶性病变 21 例,弥漫性病变 4 例。

3.1 NF- κ B、eIF4E 在 EIN 和子宫内膜样癌中的表达及意义 NF- κ B 是近年来发现的一种多向性、多功能的核转录因子,主要以具有活性的多肽 p50/p65 异源性二聚体形式存在。当细胞受到胞外刺激时,NF- κ B 的内源性抑制因子 I κ B 激活,介导 p50/

p65 与 κ B 位点结合,发挥调节细胞功能的作用,尤其是对肿瘤形成相关蛋白的调控,如 Cyclin D1、CDK、c-myc、VCAM-1 等^[5]。NF- κ B 不仅调控免疫细胞的激活、细胞的发育,而且炎症反应、免疫应答、细胞凋亡、肿瘤形成及转移等多种病理生理过程都有 NF- κ B 的参与^[6]。有研究表明,在胃癌、肺非小细胞癌、胰腺癌、前列腺癌、乳腺癌等多种恶性肿瘤中,出现了 NF- κ B 异常活化及高表达。NF- κ B 在实体肿瘤发生中有很中心的地位,在乳腺癌^[7]中 NF- κ B 转录激活加强乳腺癌癌前病变向癌的转变,借助上调相应基因 NOS、COX-2、VEGE 来调节血管生成,促进乳腺癌远处转移。Jin^[8]研究发现,NF- κ B 在胃癌中的激活能够促进下游蛋白的表达,进而促进肿瘤的生长、侵袭,应用 NF- κ B 抑制剂对减缓肿瘤进展有一定作用。但是,NF- κ B 在 EIN 或子宫内膜样癌中的作用国内外报道很少。Surazynski^[9]研究发现,子宫内膜样癌组织中存在 NF- κ B 的高表达,提示 NF- κ B 激活后表达上调,进而影响子宫内膜癌的病情进展,依此推测子宫内膜癌的发生、发展极有可能与 NF- κ B 激活有关。而 Carlos 等^[10]研究却显示相反结果,在这项研究中,NF- κ B 在子宫内膜样癌低表达,正常子宫内膜组织高表达,推测可能因为子宫内膜周期性剥脱涉及炎症反应,NF- κ B 通过调控一些基因转录间接参与炎症反应,因此正常子宫内膜呈现高水平。陈丽平^[11]用免疫组化法检测正常子宫内膜和子宫内膜癌中 NF- κ B 的表达,结果显示 NF- κ B 在子宫内膜癌组织中高表达。本研究中,NF- κ B 在 EIN 中的表达高于增殖期子宫内膜和子宫内膜增生 ($Z=-2.129, P=0.033, Z=-1.998, P=0.046$);低于子宫内膜样癌,且 EIN 组与子宫内膜样癌组间差异无统计学意义 ($P>0.05$),显示出 NF- κ B 在子宫内膜样癌的癌前病变 EIN 及子宫内膜样癌中的异常表达十分相近,提示 NF- κ B 在 EIN 及子宫内膜样癌的形成发展中具有相似的作用。NF- κ B 在增殖期子宫内膜中表达弱,推测 NF- κ B 可能处于失活的有序调控中,随着病变进展,NF- κ B 被激活,并不断累积,进而在 EIN 及子宫内膜样癌中高表达,充分体现 NF- κ B 与肿瘤发生的密切相关性。

eIF4E 定位于 4q21~4q25 染色体,是真核细胞翻译起始因子 eIFs 家族的一员,在蛋白质合成起始阶段起调控作用,并通过调控肿瘤相关 mRNAs 的翻译参与肿瘤的发生发展^[12]。有人提出,eIF4E 表达受自身磷酸化、翻译抑制蛋白家族活性(如 4EBP1)及其基因转录(如 ras、c-myc 基因)等因素的调节,各种因素导致 eIF4E 过度表达,介导大量与肿瘤生长

分化及浸润转移相关的蛋白质,如细胞周期素 Cyclin D1、Rb 蛋白、血管形成因子(FGF2、VEGF)、生存素 survivin 和 Bcl-2 等^[13]。近年来研究显示,eIF4E 在多种肿瘤中有过度表达,如鼻咽癌、宫颈癌、前列腺癌、乳腺癌等,并与肿瘤的转移、侵袭密切相关。Filippa 等^[14]研究报道 eIF4E 在乳腺原发性肿瘤和转移瘤中高表达,提示 eIF4E 能够促进肿瘤的转移,而低表达的 eIF4E 能够降低乳腺肿瘤细胞的侵袭和迁移。eIF4E 在 EIN 或子宫内膜样癌中的作用国内外报道尚少。Darb-Esfahani 等^[15]通过 m-TOR 抑制剂雷帕霉素来抑制 eIF4E 的过度表达,发现子宫内膜癌细胞生长增殖明显被抑。Choi 等^[16]研究发现 eIF4E 蛋白在子宫内膜腺癌中过度表达,Ⅲ~Ⅳ期明显高于 I~Ⅱ期,而正常内膜未发现过度表达,提示 eIF4E 蛋白过度表达与子宫内膜腺癌分期相关。国内有实验发现,eIF4E 在正常子宫内膜组织中低表达,与子宫内膜癌中的表达差异显著^[17]。本研究中 eIF4E 在增殖期子宫内膜、子宫内膜增生、EIN 及子宫内膜样癌中表达逐渐递增,且 EIN 组与子宫内膜增生及子宫内膜样癌组间均有显著差异性 ($Z=-2.349, P=0.019; Z=-2.521, P=0.012$)。提示 eIF4E 的过度表达参与了子宫内膜样癌的发生发展过程,而在 EIN 的高表达,从分子水平上显示 EIN 不同于普通子宫内膜增生,并在一定程度上提示 EIN 进展为子宫内膜样癌的风险性加大。

3.2 NF- κ B 与 eIF4E 的相关性 子宫内膜癌的发生发展是一个多基因、多步骤的复杂过程,分子遗传学研究证据表明,子宫内膜癌的发生可能是细胞调节通路相关基因(如原癌基因的激活,肿瘤抑制基因的失活)异常改变并逐步积累,引起细胞生长功能失调的结果^[18]。有研究表明癌基因 c-myc 与子宫内膜癌的发生密切相关,而 NF- κ B 作为细胞核转录的重要因子,可调控 c-myc 的表达和活性,同时 eIF4E 作为恶性蛋白质翻译过程中关键因子,c-myc 可与 eIF4E 启动序列结合,激活 eIF4E 的转录翻译。Hariri 等^[19]在研究中发现,在主要的造血干细胞系中,eIF4E 水平可影响 NF- κ B 活化,同时内源性 eIF4E 基因可以促进 NF- κ Bp65 和 cRel 定位在 κ B 位点上,引起 κ B 位点磷酸化进而导致 NF- κ B 的活化,影响细胞转录水平。在本研究中,NF- κ B 与 eIF4E 的表达存在显著相关性 ($r=0.949, P<0.05$),推测 NF- κ B 与 eIF4E 在子宫内膜样癌的发生发展中可能具有某种协同作用。

综上,NF- κ B 与 eIF4E 在 EIN 及子宫内膜样癌中高表达,表明 EIN 进展为子宫内膜样癌的过程中

细胞转录、翻译加快,细胞增殖逐渐失控,推测 NF- κ B 和 eIF4E 共同影响 EIN 发展为子宫内膜样癌的进程,其中更深入的分子机制尚需进一步的研究。

参考文献:

- [1] Evans T, Sany O, Pearmain P, et al. Differential trends in the rising incidence of endometrial cancer by type: data from a UK population-based registry from 1994 to 2006[J]. Br J Cancer, 2011, 104(9): 1505
- [2] Mutter G L. The EIN working group. endometrial intraepithelial neoplasia(EIN): will it bring order to chaos[J]. Gynecol Oncol, 2000, 76(3): 287
- [3] Trimble C L, Method M, Leitao M, et al. Management of endometrial precancers[J]. Obstet Gynecol, 2012, 120(5): 1160
- [4] Zaino R, Matias-Guiu X, Carinelli S G, et al. Tumors of the uterine corpus: epithelial tumors and precursors [M].// Kurman R J, Carcangiu M L, Herrington C S, et al. WHO Classification of tumors of female reproductive organs. Lyon: IARC Press, 2014: 125-126
- [5] Mitchell S, Vargas J, Hoffmann A. Signaling via the NF- κ B system [J]. Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med, 2016, 8(3): 227
- [6] Baldwin A S. Regulation of cell death and autophagy by IKK and NF- κ B: critical mechanisms in immune function and cancer[J]. Immunol Rev, 2012, 246(1): 327
- [7] Eskandari-Nasab E, Hashemi M, Ebrahimi M, et al. The functional 4-bp insertion/deletion ATTC polymorphism in the promoter region of NF- κ B1 reduces the risk of BC[J]. Cancer Biomark., 2016, 16(1): 109
- [8] Jin R, Xia Y Q, Chen Q X, et al. Da0324, an inhibitor of nuclear factor- κ B activation, demonstrates selective antitumor activity on human gastric cancer cells[J]. Drug Des Devel Ther, 2016, 10(Issue 1): 979
- [9] Surazynski A, Jarzabek K, Mityk W, et al. Estrogen-dependent regulation of PPAR- γ signaling on collagen biosynthesis in adenocarcinoma endometrial cells[J]. Neoplasia, 2009, 56(5): 448
- [10] Faloppa C C, Baiocchi G, Cunha I W, et al. NF- κ B and COX-2 expression in nonmalignant endometrial lesions and cancer[J]. Am J Clin Pathol, 2014, 141(2): 196
- [11] 陈丽平, 卢丹, 孔祥. 子宫内膜癌组织中 YKL-40、NF- κ B 的表达及临床意义[J]. 实用临床医药杂志, 2011, 15(19): 55
- [12] Feoktistova K, Tuvshintogs E, Do A A. Human eIF4E promotes mRNA restructuring by stimulating eIF4A helicase activity[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2013, 110(33): 13339
- [13] Bhat M, Robichaud N, Hulea L, et al. Targeting the translation machinery in cancer[J]. Nat Rev Drug Discov, 2015, 14(4): 261
- [14] Filippa P, Rincon S D, Audrey E, et al. Genetic and pharmacologic inhibition of eIF4E reduces breast carcinoma cell migration, invasion, and metastasis[J]. Cancer Res, 2015, 75(6): 1102
- [15] Darb-Esfahani A, Faggad A, Noske A, et al. PhosphomTOR and phospho-4EBP1 in endometrial adenocarcinoma: association with stage and grade in vivo and Link with response to rapamycin treatment in vitro[J]. Cancer Res Clin Oncol, 2009, 135(7): 933
- [16] Choic H, Leej S, Kim S R, et al. Direct inhibition of eIF4E reduced cell growth in endometrial adenocarcinoma[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2011, 137(3): 463
- [17] 王海燕, 丁燕. eIF-4E 和 PDGF 在子宫内膜癌中的表达及临床意义[J]. 实用妇产科杂志, 2014, 30(4): 287
- [18] Liu T B, Tan S, Xu Y, et al. Increased NUCKS expression is a risk factor for poor prognosis and recurrence in endometrial cancer[J]. Am J Cancer Res, 2015, 5(12): 3659
- [19] Hariri F, Arguello M, Volpon L, et al. The eukaryotic translation initiation factor eIF4E is a direct transcriptional target of NF- κ B and is aberrantly regulated in acute myeloid leukemia[J]. Leukemia, 2013, 27(10): 2047

(2016-05-16 收稿)

欢迎投稿 欢迎订阅