

文章编号 1006-8147(2017)05-0412-03

论著

子宫内膜样癌及其前驱病变 YAP1、PTEN 和 eIF4E 的表达及意义

宋露露, 宋文静

(天津医科大学病理学教研室, 天津 300070)

摘要 目的: 观察子宫内膜样癌及其前驱病变 Yes 相关蛋白 1(YAP1)、张力蛋白同源基因(PTEN)和真核细胞翻译起始因子 4E(eIF4E)的表达变化, 探讨三者子宫内膜样癌发生发展中的作用。方法: 采用免疫组化 SP 法分别检测增殖期子宫内膜、单纯性增生、复杂性增生、子宫内膜上皮内瘤变(EIN)及子宫内膜样癌中的 YAP1、PTEN 和 eIF4E 的表达水平。结果: YAP1 和 eIF4E 在子宫内膜样癌中的阳性表达显著高于单纯性增生和复杂性增生子宫内膜($P < 0.05$), PTEN 在子宫内膜样癌中的缺失率显著高于单纯性增生和复杂性增生子宫内膜($P < 0.05$)。YAP1 与 PTEN 阳性表达呈负相关关系($r = -0.420, P < 0.05$), YAP1 与 eIF4E 阳性表达呈正相关关系($r = 0.818, P < 0.05$)。结论: 从单纯性增生、复杂性增生、EIN 到子宫内膜样癌, YAP1 和 eIF4E 的阳性表达率和 PTEN 的缺失率逐渐增高, 三者可能协同参与了子宫内膜样癌的发生发展。

关键词 子宫内膜样癌; 免疫组织化学; Yes 相关蛋白; 张力蛋白同源基因; 真核细胞翻译起始因子 4E

中图分类号 R365

文献标志码 A

Expression and significance of YAP1, PTEN and eIF4E in endometrioid carcinoma and precursor lesions

SONG Lu-lu, SONG Wen-jing

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

Abstract Objective: To examine the expression of YAP1, PTEN and eIF4E in endometrioid carcinoma and precursor lesions, and to explore their role in the occurrence and development of endometrioid carcinoma. **Methods:** Immunohistochemistry SP method was performed to detect the expressions of YAP1, PTEN and eIF4E in proliferative endometrium, simple hyperplasia, complex hyperplasia, endometrial intraepithelial neoplasia (EIN) and endometrioid carcinoma. **Results:** The expression of YAP1 and eIF4E in endometrioid carcinoma was significantly higher than that in simple hyperplasia and complex hyperplasia endometrium ($P < 0.05$). The loss rate of PTEN in endometrioid carcinoma was significantly higher than that in simple hyperplasia and complex hyperplasia of endometrium ($P < 0.05$). There was a negative correlation between the positive expression of YAP1 and PTEN ($r = -0.420, P < 0.05$), and a positive correlation was found between YAP1 and eIF4E ($r = 0.818, P < 0.05$). **Conclusion:** The positive rate of YAP1 and eIF4E and the loss rate of PTEN gradually increase from simple hyperplasia, complex hyperplasia, EIN to endometrioid carcinoma, all of which may be involved in the development of endometrioid carcinoma.

Key words endometrioid carcinoma; immunohistochemistry; Yes-associated protein; PTEN; eIF4E

子宫内膜癌是女性生殖系统三大恶性肿瘤之一, 近年来发病率和死亡率在世界范围内呈上升趋势, 其发生、发展过程漫长, 受多种基因调控。细胞过度增殖而导致的细胞增生与凋亡的失衡, 是子宫内膜癌发展的一个关键因素。近年来发现一种控制细胞增生及凋亡平衡的 Hippo 信号通路, 在调节组织生长、干细胞活动和癌的形成中起重要作用^[1]。Sudol^[2] 于 1994 年发现 Yes 相关蛋白(YAP1), 它可以与 Yes (原癌基因) 基因的 SH3 结构域结合, 是 Hippo 信号通路下游关键效应因子。正常情况下, YAP1 可以易位至细胞核, 激活基因表达, 调节多种

细胞功能, 包括增殖、凋亡、迁移和分化^[3-4], 在肿瘤组织中 YAP1 通常过表达^[5-7]。PI3K/AKT/mTOR 通路主要调节细胞生长、增殖、代谢和血管生成, 在恶性肿瘤发生、发展过程中至关重要^[8]。在哺乳动物细胞, Hippo-YAP 和 mTOR 是调节细胞生长的两条关键信号转导通路, 有研究显示 YAP 通过 miR-29 和张力蛋白同源基因(PTEN)来调节 mTOR 通路^[9]。真核细胞翻译起始因子 4E(eIF4E)是 mRNA 翻译起始阶段的限速调节因子, 对蛋白质的合成起重要调控功能^[10]。本研究观察了子宫内膜增生和子宫内膜样癌中 YAP1、PTEN 和 eIF4E 的表达变化及相关性, 探讨三者子宫内膜样癌发生发展中的作用和影响。

1 材料和方法

1.1 标本来源 选取 2011 年 12 月-2016 年 3 月

作者简介 宋露露(1990-), 女, 硕士在读, 研究方向: 病理学与病理生理学妇科肿瘤基础研究; 通信作者: 宋文静, E-mail: songwenjing2004@aliyun.com。

存档于天津医科大学总医院病理科的子宫内膜组织标本 122 例,包括增殖期子宫内膜 15 例(患者中位年龄 43 岁),单纯性增生 27 例(患者中位年龄 46 岁),复杂性增生 20 例(患者中位年龄 49 岁),子宫内膜上皮内瘤变(EIN)30 例(患者中位年龄 55 岁),子宫内膜样癌 30 例(患者中位年龄 56 岁)。所有病例严格参照《女性生殖器官肿瘤 WHO 分类》(2014 年第 4 版)相关诊断标准重新阅片复诊。

1.2 YAP1、PTEN、eIF4E 检测方法 石蜡包埋组织 4 μm 连续切片,常规 HE 染色及免疫组化 SP 法染色,选用通用型二抗 PV-6000,枸橼酸钠缓冲液(pH 6.0)微波热修复,3 min×2 次。以 PBS 代替一抗作阴性对照。YAP1、PTEN 和 eIF4E 以细胞浆中呈现棕黄色颗粒为阳性信号;每例选取 5 个具有代表性的高倍视野,阳性细胞数百分比 ≤10% 计 1 分、11%~50% 计 2 分、51%~75% 计 3 分、>75% 计 4 分;无特异性着色计 0 分,浅棕色计 1 分、棕黄色计 2 分、棕褐色计 3 分;将阳性细胞百分比得分与染色强度得分相乘,≥2 判定为阳性。

1.3 统计学方法 采用 SPSS20.0 统计软件进行统计分析。计数资料比较采用 χ^2 检验;相关性分析采

用 Pearson 相关分析法。

2 结果

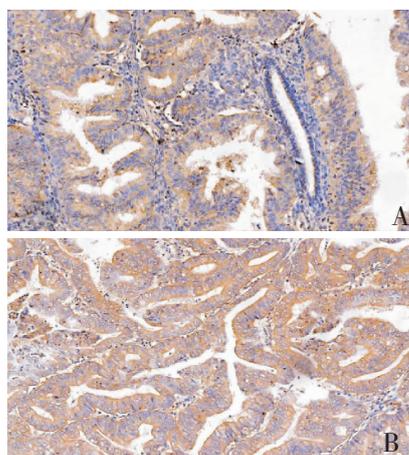
2.1 YAP1 从子宫内膜单纯性增生(40.74%)、复杂性增生(50%)、EIN(76.67%)到子宫内膜样癌(80%)阳性表达率逐渐增高,在 EIN 的阳性表达与单纯性增生、复杂性增生组间差异均有统计学意义($P<0.05$),但 YAP1 在 EIN 中与子宫内膜样癌组织中的阳性表达差异无统计学意义($P>0.05$)。eIF4E 从子宫内膜单纯性增生(51.85%)、复杂性增生(70%)、EIN(80%)到子宫内膜样癌(83.33%)阳性表达率逐渐增高,在 EIN 的阳性表达与单纯性增生、复杂性增生组间差异均有统计学意义($P<0.05$),但 eIF4E 在 EIN 中与子宫内膜样癌组织中的阳性表达差异无统计学意义($P>0.05$)。PTEN 在增殖期子宫内膜中均呈阳性表达,而在子宫内膜增生及癌中均有不同程度的表达缺失,从单纯性增生(70.37%)、复杂性增生(70%)、EIN(63.33%)到子宫内膜样癌(46.67%),PTEN 表达阳性率逐渐降低,PTEN 在 EIN 的阳性表达与单纯性增生、复杂性增生组间差异均有统计学意义($P<0.05$),而 EIN 与子宫内膜样癌的阳性表达差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1、图 1~3。

表 1 子宫内膜增生、EIN 及子宫内膜样癌中 YAP1、PTEN 和 eIF4E 表达情况(例)

Tab 1 The expressions of the YAP1, PTEN and eIF4E in endometrial hyperplasia, EIN and endometrioid carcinoma (case)

组别	n	YAP1(+)			PTEN(+)			eIF4E(+)		
		n1	χ^2	P	n2	χ^2	P	n3	χ^2	P
增殖期	15	3			15			5		
单纯性增生	27	8	12.674	0.000 ^{a*}	19	6.475	0.011 ^{a*}	14	5.067	0.024 ^{a*}
复杂性增生	20	10	5.223	0.022 ^{b*}	14	5.333	0.021 ^{b*}	14	4.963	0.026 ^{b*}
EIN	30	23	0.098	0.754 ^c	19	1.684	0.194 ^c	24	0.111	0.739 ^c
子宫内膜样癌	30	24			14			25		

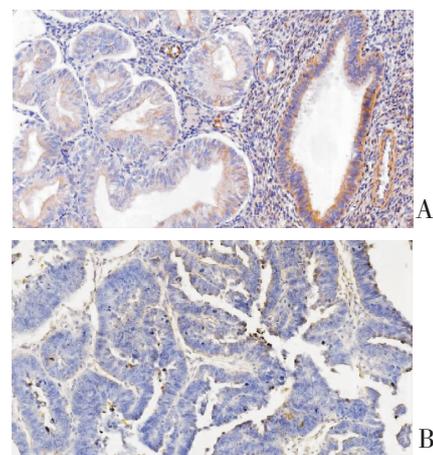
a:单纯性增生与 EIN 相比;b:复杂性增生与 EIN 相比 ;c:子宫内膜样癌与 EIN 相比;* $P<0.05$



A.EIN;B.子宫内膜样癌

图 1 YAP1 在 EIN 和子宫内膜样癌中的表达(IHC×20)

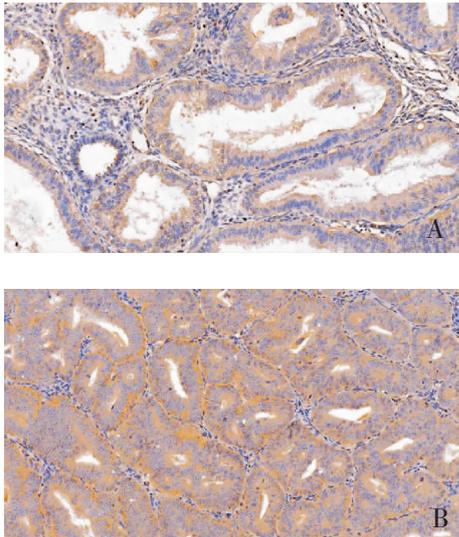
Fig 1 Expression of YAP1 in EIN and endometrioid carcinoma (IHC×20)



A.EIN;B.子宫内膜样癌

图 2 PTEN 在 EIN 和子宫内膜样癌中的表达(IHC×20)

Fig 2 Expression of PTEN in EIN and endometrioid carcinoma (IHC×20)



A.EIN;B.子宫内膜样癌

图 3 eIF4E 在 EIN 和子宫内膜样癌中的表达 (IHC×20)

Fig 3 Expression of eIF4E in EIN and endometrioid carcinoma (IHC × 20)

2.2 经 Pearson 相关性分析, 显示子宫内膜样癌中 YAP1 与 PTEN 的阳性表达呈负相关关系 ($r=-0.420$, $P<0.05$), YAP1 与 eIF4E 的阳性表达呈正相关关系 ($r=0.818$, $P<0.05$)。

3 讨论

大量实验数据证实, 与细胞增殖和凋亡有关的分子信号通路的异常激活参与了子宫内膜样癌的发生发展^[11]。近年来发现 Hippo 信号通路在调节细胞增殖与凋亡平衡和维持内环境稳定中扮演重要角色^[12], 研究显示 Hippo 信号通路的异常可诱发肺癌、结直肠癌、卵巢癌和肝癌的发生^[4], 发现其核心分子 YAP1 的调控异常参与了此类恶性肿瘤的发生发展^[13]。近年研究显示, YAP1 在子宫内膜样癌中也有异常表达^[14], 且有研究发现 miR-29 家族作为活化 YAP 的靶向基因, 以 PTEN 的 3'UTR 为靶点来抑制 PTEN 的表达, mTOR 通路激活^[9], 从而促进了癌症的进展。

正常情况下, YAP1 高度保守, Hippo 信号通路保持稳定状态, 而在 YAP1 高表达的情况下, Hippo 信号通路调控异常, 通过促进细胞增殖和抑制细胞凋亡, 细胞进入恶性增殖, 促进肿瘤发生^[15]。研究发现, YAP1 在多种实体肿瘤组织过表达 (如卵巢癌、肝癌、结直肠癌、胃癌、前列腺癌等)^[16]。

PTEN 是 PI3K/AKT/mTOR 信号通路中上游的抑癌基因, 如果 PTEN 突变或缺失将导致 mTOR 信号活性增高, 游离的 eIF4E 与 eIF4G、eIF4B 和 eIF4A 结合, 形成了 eIF4F 复合物, 促进帽结构依赖的翻译起始, 使 CyclinD1 等基因表达增加, 从而促

进细胞的过度增殖^[10]。有研究表明, PTEN 的功能丧失和 eIF4E 的高表达在癌症中常见, 并且在肿瘤的进展中起重要作用^[17]。Tapia 等^[18]研究显示, 在胃癌中, PI3K/AKT/mTOR 激活, PTEN 的低表达和 eIF4E 的高表达与胃癌的发生发展相关。

本研究通过免疫组织化学 SP 法检测了子宫内膜样癌及其前驱病变的 YAP1、PTEN 和 eIF4E 的表达水平, 结果显示 YAP1 和 eIF4E 在 EIN 及子宫内膜样癌组织中阳性表达显著高于单纯性增生及复杂性增生子宫内膜。PTEN 在 EIN 及子宫内膜样癌中的阳性表达显著低于单纯性增生、复杂性增生子宫内膜, 提示 YAP1 和 eIF4E 的高表达与 PTEN 的缺失均与子宫内膜样癌的发生发展有关。我们通过 Pearson 相关分析还发现, 子宫内膜样癌中 YAP1 与 PTEN 呈负相关关系、YAP1 与 eIF4E 呈正相关关系, 推断 YAP1 可能通过抑制 PTEN 的表达来激活 mTOR 通路, eIF4F 翻译起始复合物形成, 促进蛋白合成和细胞增殖, 进一步促进子宫内膜样癌的发生发展。

综上所述我们推测, Hippo 信号通路可能通过 mTOR 信号通路促进子宫内膜样癌的发生发展, 进一步研究 Hippo-YAP 及 mTOR 信号通路之间的关系及具体机制有望为子宫内膜样癌的预后判断及临床治疗提供帮助, 其中 YAP1 通过促进肿瘤细胞增殖发挥促癌作用, 有可能成为子宫内膜样癌靶向治疗的潜在靶点。

参考文献:

- [1] Galli G G, Carrara M, Yuan W C, et al. YAP drives growth by controlling transcriptional pause release from dynamic enhancers [J]. Mol Cell, 2015, 60(2): 328
- [2] Sudol M. Yes-associated protein (YAP65) is a proline-rich phosphoprotein that binds to the SH3 domain of the Yes proto-oncogene product [J]. Oncogene, 1994, 9(8): 2145
- [3] Guo L, Teng L. YAP/TAZ for cancer therapy: opportunities and challenges (review) [J]. Int J Oncol, 2015, 46(4): 1444
- [4] Harvey K F, Zhang X, Thomas D M. The Hippo pathway and human cancer [J]. Nat Rev Cancer, 2013, 13(4): 246
- [5] Overholtzer M, Zhang J, Smolen G A, et al. Transforming properties of YAP, a candidate oncogene on the chromosome 11q22 amplicon [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2006, 103(33): 12405
- [6] Muramatsu T, Imoto I, Matsui T, et al. YAP is a candidate oncogene for esophageal squamous cell carcinoma [J]. Carcinogenesis, 2011, 32(3): 389
- [7] Zender L, Spector M S, Xue W, et al. Identification and validation of oncogenes in liver cancer using an integrative oncogenic approach [J]. Cell, 2006, 125(7): 1253
- [8] 于宝华. PI3K/Akt/mTOR 的信号传导通路在恶性肿瘤中的研究进展 [J]. 中华病理学杂志, 2005, 35(10): 69

可能与入种差异及本研究纳入病例数较少有关。此外, Demir 等^[13]研究表明, FIB-4 ≥ 1.25 的乙肝患者发生 HCC 的概率显著增加, 而 Suh 等^[5]研究则认为 FIB-4 ≥ 2.4 。这与本研究结果不尽相同, 主要考虑本研究纳入的乙肝患者均有肝硬化基础, 从而导致 FIB-4 整体较高。

综上所述, 无创肝纤维化指标与乙肝相关 HCC 密切相关, 且 AFP 结合上述个别无创肝纤维化指标对乙肝相关 HCC 预测的灵敏度优于单独使用 AFP, 可提高 HCC 临床早期诊断率, 对 HCC 的发生做到早发现、早治疗。

参考文献:

- [1] 吕桂帅, 陈磊, 王红阳. 我国肝癌研究的现状与背景[J]. 生命科学, 2015,27(3):237
- [2] Gupta S, Bent S, Kohlwe J. Test characteristics of alpha-fetoprotein for detecting hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis C. A systematic review and critical analysis[J]. Ann Intern Med, 2003, 139(1):46
- [3] Hann H W, Wan S, Lai Y, et al. Aspartate aminotransferase to platelet ratio index as a prospective predictor of hepatocellular carcinoma risk in patients with chronic hepatitis B virus infection[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2015,30(1):131
- [4] Lin Y J, Lee M H, Yang H I, et al. Predictability of liver-related seromarkers for the risk of hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis B patients[J]. PLoS One, 2013,8(4):e61448
- [5] Suh B, Park S, Shin D W, et al. High liver fibrosis index FIB-4 is highly predictive of hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis B carriers[J]. Hepatology, 2015,61(4):1261
- [6] Abdelgawad I A. Clinical utility of simple non-invasive liver fibrosis indices for predicting hepatocellular carcinoma (HCC) among Egyptian patients[J]. J Clin Pathol, 2015,68(2):154
- [7] 中华医学会肝病学会, 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南 (2015 更新版)[J]. 中华肝脏病杂志, 2015,23(12): 888
- [8] 沈锋, 张小峰. 原发性肝癌肝切除术质量控制若干问题[J]. 中国实用外科杂志, 2016,36(1):11
- [9] Colombo M. Screening for cancer in viral hepatitis[J]. Clin Liver Dis, 2001,5(1):109
- [10] Sebastiani G, Tempesta D, Fattovich G, et al. Prediction of oesophageal varices in hepatic cirrhosis by simple serum non-invasive markers: Results of a multicenter, large-scale study[J]. J Hepatol, 2010,53(4):630
- [11] Schiff E R, Lee S S, Chao Y C, et al. Long-term treatment with entecavir induces reversal of advanced fibrosis or cirrhosis in patients with chronic hepatitis B[J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2011, 9(3):274
- [12] Alsebaey A, Ahmedy E A. Talin-1 and non-invasive fibrosis models in the assessment of patients with hepatocellular carcinoma [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2016,17(8):4077
- [13] Demir M, Grunewald F, Lang S, et al. Elevated liver fibrosis index FIB-4 is not reliable for HCC risk stratification in predominantly non-Asian CHB patients[J]. Medicine (Baltimore), 2016,95(38): e4602

(2016-10-18 收稿)

(上接第 414 页)

- [9] Tumaneng K, Schlegelmilch K, Russell R C, et al. YAP mediates crosstalk between the Hippo and PI (3)K - TOR pathways by suppressing PTEN via miR-29[J]. Nat Cell Biol, 2012, 14(12): 1322
- [10] Richter J D, Sonenberg N. Regulation of cap-dependent translation by eIF4E inhibitory proteins[J]. Nature, 2005, 433(7025): 477
- [11] Markowska A, Pawlowska M, Lubin J, et al. Signalling pathways in endometrial cancer[J]. Contemp Oncol (Pozn), 2014, 18(3): 143
- [12] Codellia V A, Irvine K D. Hippo signaling goes long range[J]. Cell, 2012, 150(4): 669
- [13] Abylkassov R, Xie Y. Role of Yes-associated protein in cancer: An update[J]. Oncol Lett, 2016, 12(4): 2277
- [14] Tsujiura M, Mazack V, Sudol M, et al. Yes-associated protein (YAP) modulates oncogenic features and radiation sensitivity in endometrial cancer[J]. PLoS One, 2014, 9(6): e100974
- [15] Barron D A, Kagey J D. The role of the Hippo pathway in human disease and tumorigenesis[J]. Clin Transl Med, 2014, 3: 25
- [16] Steinhardt A A, Gayyed M F, Klein A P, et al. Expression of Yes-associated protein in common solid tumors[J]. Hum Pathol, 2008, 39 (11): 1582
- [17] Moschetta M, Reale A, Marasco C, et al. Therapeutic targeting of the mTOR-signalling pathway in cancer: benefits and limitations[J]. Br J Pharmacol, 2014, 171(16): 3801
- [18] Tapia O, Riquelme I, Leal P, et al. The PI3K/AKT/mTOR pathway is activated in gastric cancer with potential prognostic and predictive significance[J]. Virchows Arch, 2014, 465(1): 25

(2016-12-06 收稿)