

· 论 著 ·

PTEN 基因外显子片段缺失表达在鼻咽癌中的临床意义

梁艳芳¹, 曾今诚^{2,3}, 阮建波¹, 康东平¹, 陈灿¹, 王玲梅¹, 张士明¹, 许卫华^{4*}

摘要 目的 探讨鼻咽癌组织中 PTEN 基因外显子片段缺失表达的临床意义。方法 应用 RT-PCR 检测 50 例鼻咽癌组织、20 例癌旁黏膜组织和 15 例黏膜慢性炎组织中 PTEN 基因外显子 1-8、5-9 和 5-8 片段,并分析其临床病理意义。结果 鼻咽癌组织中 PTEN 基因外显子缺失率为 64.0%,癌旁黏膜组织中 PTEN 基因外显子缺失率为 40.0%,鼻咽黏膜慢性炎中 PTEN 基因外显子缺失率为 33.3%,差异有统计学意义($\chi^2=6.113$ $P<0.05$)。鼻咽癌组织中,外显子 1-8、5-8 和 5-9 片段缺失率为 32.0%(16/50)、20.0%(10/50)和 18.0%(9/50),差异无统计学意义($\chi^2=3.867$ $P>0.05$)。PTEN 基因外显子片段缺失与鼻咽癌的组织学分型及淋巴结转移相关($P<0.05$),与临床分型、患者年龄及性别无关($P>0.05$)。结论 PTEN 基因外显子片段在鼻咽癌中存在异常,PTEN 转录水平的异常在鼻咽癌的发生发展中起着重要作用。

关键词 PTEN, 鼻咽癌, 外显子

中图分类号 R739.63 **文献标识码** A **文章编号** 1009-9727(2012)5-574-03

Clinical significance of loss expression of PTEN mRNA in nasopharyngeal carcinoma. LIANG Yan-fang, ZENG Jin-cheng, RUAN Jian-bo et al. (1 Department of Pathology, Taiping People's Hospital, Dongguan Hospital Affiliated to Medical College of Jinan University, Dongguan, 523905, China. 2 Institute of Laboratory Medicine, Guangdong Medical College, Dongguan, 523808, China)

Abstract Objective To investigate the clinical significance of loss expression of PTEN mRNA in nasopharyngeal carcinoma (NPC). Methods Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) method was used to determine the expression of PTEN mRNA in 50 cases of NPC, 20 cases of nearby mucosa of the carcinoma and 15 cases of chronic inflammation of nasopharyngeal mucosa. Results The loss expression of PTEN mRNA in NPC, nearby mucosa of the carcinoma and chronic inflammation of nasopharyngeal mucosa was 64.0%, 40.0% and 33.3% ($\chi^2=6.113$ $P<0.05$). Of the 50 cases of NPC, the loss expression of PTEN mRNA was 32.0% with exon 1~8, 20.0% with exon 5~8 and 18.0% with exon 5~9. The loss expression of PTEN mRNA were positively correlated with tissue types and neck lymph node metastasis in NPC ($\chi^2=3.867$ $P>0.05$). Conclusion There is a higher incidence of loss expression of PTEN mRNA in nasopharyngeal carcinoma, which indicates that PTEN gene inactivation may play an important role in the carcinogenesis and development of nasopharyngeal carcinoma.

Key words Nasopharyngeal carcinoma, PTEN, Exon

PTEN 是 1997 年发现的第一个具有磷酸酯酶活性的抑癌基因,定位于染色体 10q23.3,含有 9 个外显子、8 个内含子,编码由 403 个氨基酸组成的酪氨酸磷酸酶^[1,2]。PTEN 通过参与 PTEN/PI3K/AKT、PTEN/FAK/P130cas、PTEN/ERK、p53/MDM2、FRAP/mTOR 等多条信号途径,诱导肿瘤细胞周期停止及程序性细胞死亡,在肿瘤细胞浸润、血管发生和肿瘤转移等方面发挥重要作用^[3]。目前有关 PTEN 在鼻咽癌肿瘤组织中的表达研究较少,在鼻咽癌组织中 PTEN 基因外显子片段缺失表达的研究仍无文献报道。本研究采用 RT-PCR 技术,对 50 例鼻咽癌和 20 例癌旁黏膜组织和 15 例鼻咽黏膜慢性炎组织中 PTEN 基因外显子片

段进行检测,旨在探讨 PTEN 基因转录水平异常与鼻咽癌发生发展的关系。

1 材料与方法

1.1 临床资料 实验组收集东莞市太平人民医院 2010 年 3 月~2011 年 4 月病理科确诊为鼻咽癌标本 50 例。男性 25 例,女性 25 例,年龄 20~76 岁,平均(50±7)岁。按 WHO 肿瘤组织学分型标准分为:角化型鳞状细胞癌 19 例、非角化型鳞状细胞癌 31 例;颈部淋巴结转移者 35 例、无颈部淋巴结转移者 15 例。按 TNM 分期法分为:T1 期 5 例、T2 期 9 例、T3 期 26 例和 T4 期 10 例。取同期癌旁黏膜组织 20 例和鼻咽黏膜慢性炎组织 15 例作为对照组。所有标本收集后,

基金项目 广东省社会发展领域科技计划项目基金资助(No.粤科函社字(2010)1096 号)

作者单位 1.东莞市太平人民医院、暨南大学医学院附属东莞医院病理科,广东 东莞 523808; 2.广东医学院检验医学研究所,广东 东莞 523808; 3.广东省医学分子诊断重点实验室,广东 东莞 523808; 4.广东医学院附属医院耳鼻喉科,广东 湛江 524023

作者简介 梁艳芳(1984-),女,硕士,医师,主要从事肿瘤病理诊断研究。

* 通讯作者 E-mail: xwhua302@tom.com

置于液氮中保存备用。

1.2 主要试剂 PTEN 基因外显子片段检测引物按文献^[1]由 Sangon 公司合成。Trizol 试剂购自 invitrogen 公司, 逆转录 PCR 试剂盒购自 TaKaRa 公司, RNA 提取试剂盒购自 Qiagen 公司。组织内 RNA 提取及 cDNA 合成按说明书进行。PCR 反应条件: 95℃ 预变性 5min, 94℃ 变性 30s, 51℃ 退火 50s, 72℃ 延伸 80s, 循环 35 次, 最后 72℃ 延伸 10min。Image J 软件分析 PTEN 基因外显子片段和 GAPDH 基因电泳条带吸光度值, 两者比值作为 PTEN 基因外显子片段的相对表达量。

1.3 统计学处理 SPSS17.0 软件进行统计学分析, 阳性率的比较采用卡方检验及四格表确切概率法, 具有统计学意义检测水准为 $P<0.05$ 。

2 结果

2.1 PTEN 基因外显子片段缺失与鼻咽癌发生发展 RT-PCR 检测 50 例鼻咽癌组织、20 例癌旁黏膜组织和 15 例鼻咽黏膜慢性炎组织中 PTEN 基因外显子 1-8、5-9 和 5-8 片段缺失情况, 结果见表 1。在鼻咽癌

组织、癌旁黏膜组织和鼻咽黏膜慢性炎组织中出现 PTEN 基因外显子片段缺失的比率分别为 64.0% (32/50)、40.0% (8/20) 和 33.3% (5/15), 差异有统计学意义 ($\chi^2=6.113$, $P<0.05$)。鼻咽癌组织中外显子 1-8、外显子 5-8 和外显子 5-9 的缺失率分别为 32.0% (16/50)、20.0% (10/50) 和 18.0% (9/50), 差异无统计学意义 ($\chi^2=3.867$, $P>0.05$)。

2.2 PTEN 基因外显子片段缺失与鼻咽癌临床病理特征 RT-PCR 检测 50 例鼻咽癌标本 PTEN 基因外显子片段缺失情况, 结果见表 2。显示 PTEN 基因外显子片段缺失与鼻咽癌的组织学分型相关。角化型鳞癌中 PTEN 基因外显子片段总缺失率 84.2% (16/19) 高于非角化型鳞癌 PTEN 基因外显子片段总缺失率 51.6% (16/31), $\chi^2=7.579$, $P<0.05$ 。角化型鳞癌中 PTEN 基因外显子 1-8 片段缺失率 52.6% (10/19) 高于非角化型鳞癌 PTEN 基因外显子 1-8 缺失率 19.4% (6/31), 差异有统计学意义 ($\chi^2=0.267$, $P<0.05$)。有淋巴结转移患者中 PTEN 基因外显子片段总缺失率 74.3% (26/35) 高于无淋巴结转移者 40.0% (6/15), 差

表 1 3 种检材组织中 PTEN 基因外显子 1-8、5-8、5-9 片段缺失情况

Table 1 Loss status of exon 1-8, 5-8, 5-9 in 3 different groups

组 别 Groups	例数 Cases	缺失情况 Loss status		外显子 1-8 缺失 Loss of exon 1-8		外显子 5-8 缺失 Loss of exon 5-8		外显子 5-9 缺失 Loss of exon 5-9	
		例数 Cases	比率 ratio	例数 Cases	比率 ratio	例数 Cases	比率 ratio	例数 Cases	比率 ratio
鼻咽癌 NPC	50	32	64.0%	16	32.0%	10	20.0%	9	18.0%
癌旁黏膜	20	8	40.0%*	5	25.0%	4	20.0%	4	20.0%
Nearby mucosa of the carcinoma									
鼻咽黏膜慢性炎	15	5	33.3%*	2	13.3%	3	20.0%	2	13.3%
Chronic inflammation of nasopharyngeal mucosa									

注: * $P<0.05$, vs 鼻咽癌组织 NPC

异有统计学意义 ($\chi^2=0.267$, $P<0.05$)。T1- T2 期 PTEN 外显子 1-8 缺失率 57.1% (8/14) 高于 T3- T4 期 22.2% (8/36), 差异有统计学意义 ($\chi^2=0.071$, $P<0.05$)。PTEN 外显子 5-8 和 5-9 缺失率均与鼻咽癌临床分型、组织学分型、淋巴结转移、年龄及性别无关, $P>0.05$ 。

3 讨论

近年来, 越来越多的研究发现多数肿瘤的发生发展与 PTEN 异常相关^[3]。PTEN 通过基因突变、缺失或甲基化等, 使 PTEN mRNA 或蛋白表达降低, 甚至不表达, 从而使 PTEN 失活^[2-4]。本研究通过合成 PTEN 基因外显子 1-8、5-9 和 5-8 片段 RT-PCR 引物, 探讨 PTEN 基因表达缺失与鼻咽癌发生发展的关系。结果显示, 鼻咽癌组织中 PTEN 表达缺失率明显高于癌旁组织及正常鼻咽组织, 表明在鼻咽癌发生、发展过

程中伴随有 PTEN 基因表达缺失。研究认为, PTEN 可通过多种信号途径参与肿瘤细胞浸润和转移, 与多种肿瘤的发生发展相关。Amant 等^[6]采用 PCR 技术对癌肉瘤 (21 例)、平滑肌肉瘤 (21 例) 及子宫内膜间质肉瘤 (5 例) 外显子进行研究, 发现 PTEN 基因外显子突变与内膜样癌型的子宫癌肉瘤发生有关。国内 Xu 等^[7]研究发现, 鼻咽癌中 PTEN 蛋白缺失率为 47.8%, 明显高于正常组 (13.3%), 说明 PTEN 的失活或降低与鼻咽癌发生及临床分期有关, 是鼻咽癌发生发展的早期事件。姚等^[8]研究报道, 在子宫内膜癌中 PTEN 表达缺失率也明显高于癌旁及正常组织, 但与子宫内膜癌的临床病理分期无关。本研究显示, PTEN 基因外显子片段缺失与鼻咽癌的组织学分型及有无淋巴结转移相关 ($P<0.05$), 与临床分型、年龄及性别

表 2 不同鼻咽癌临床病理特征的 PTEN 基因外显子片段缺失率
Table 2 Loss rates of PTENmRNA with different clinical pathological features

组别 Groups	总缺失率 Total rate of loss	外显子 1-8 缺失率 Loss rate of exon 1-8	外显子 5-8 缺失率 Loss rate of exon 5-8	外显子 5-9 缺失率 Loss rate of exon 5-9
临床分型 Clinical typing				
T1~T2	71.4%	57.1%	21.4%	21.1%
T3~T4	61.1%	22.2%	19.4%	30.8%
组织学分型(鳞癌类型)histological differentiation(squamous carcinoma)				
角化 keratinized	84.2%	52.6%	26.3%	21.1%
非角化 Non-keratinized	51.6%	19.4%	16.1%	16.1%
淋巴结转移 lymph node metastasis				
有 Positive	74.3%	40.0%	22.9%	14.3%
无 Negative	40.0%	13.3%	13.3%	26.7%
年龄 Age				
<50	60.0%	32.0%	16.0%	16.0%
≥ 50	68.0%	32.0%	23.1%	20.0%
性别 Sex				
男 Male	76.0%	36.0%	24.0%	20.0%
女 Female	52.0%	28.0%	16.0%	16.0%

无关 $P>0.05$ 。PTEN 基因外显子 1-8 缺失率与临床分型及组织学分型相关($P<0.05$)，与淋巴结转移、年龄及性别无关 $P>0.05$ 。PTEN 外显子 5-8 和 5-9 缺失率均与鼻咽癌临床分型、组织学分型、淋巴结转移、年龄及性别无关 $P>0.05$ 。因此我们认为 PTEN 基因外显子片段缺失与鼻咽癌发生发展相关，PTEN 在鼻咽癌上皮细胞恶性转化过程中发生缺失突变，并且主要以外显子 1-8 缺失突变为主，而外显子 5-8 和 5-9 缺失突变是不均匀的；在角化型和非角化型鳞癌中，PTEN 基因外显子片段缺失存在显著性差异，说明在这两种类型鼻咽癌中，PTEN 基因外显子片段可能具有不同的缺失发生机制，PTEN 基因外显子 1-8 在低分化角化型鼻咽癌中存在较高的突变率还有待进一步探讨，淋巴结转移过程中伴有 PTEN 基因外显子片段缺失。本研究发现 PTEN 基因转录水平异常在鼻咽癌发生及发展过程中发挥着重要作用。检测术后鼻咽癌组织中 PTEN 基因外显子片段缺失情况对深入了解鼻咽癌发病机制、开发新型基因治疗药物和指导鼻咽癌临床治疗及预后判断具有重要意义。

参考文献：

[1] Li J, Yen C, Liaw D et al. PTEN a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain breast and prostate

cancer[J]. Science, 1997, 275(5308): 1943-1947.
[2] Steck PA, Pershouse MA, Jasser SA et al. Identification of a candidate tumour suppressor gene, MMAC1, at chromosome 10q23.13 that is mutated in multiple advanced cancers [J]. Nat Genet, 1997, 15(4): 356-363.
[3] Zeng JC, Lin GP, Zhou KY. PTEN signaling pathways and tumor-related research progress[J]. Journal of Guangdong Medical College, 2010, 32(2): 193-196. (In Chinese)
(曾今诚, 林观平, 周克元. PTEN 信号途径与肿瘤相关研究进展[J]. 广东医学院学报, 2010, 32(2): 193-196.)
[4] Tamguney T, Stokoe D. New insights into PTEN [J]. J Cell Sci, 2007, 120(23): 4071-4079.
[5] Tamura G. Alterations of tumor suppressor and tumor-related genes in the development and progression of gastric cancer [J]. World J Gastroenterol, 2006, 12(2): 192-198.
[6] Amant F, de la Rey M, Dorfling CM et al. PTEN mutations in uterine sarcomas[J]. Gynecol Oncol, 2002, 85(1): 165-169.
[7] Xu X, Yang H, Huo X. Expression and significance of PTEN in nasopharyngeal carcinoma [J]. Journal of Clinical Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, 2004, 18(11): 658-659.
[8] Yao QD, Shu Z, Che YC et al. Mutation and protein expression of PTEN Gene in endometrial carcinoma and their significance [J]. Chinese Journal of Clinical Oncology, 2003, 30(11): 797-801. (In Chinese)
(姚勤戴, 淑真, 车艳辞, 等. PTEN 基因在子宫内膜癌中的突变表达及其临床意义[J]. 2003, 30(11): 797-801.)

收稿日期 2011-12-05 编辑 谢永慧