



## ZNF217肿瘤基因在卵巢浆液性囊腺癌20号染色体的表达及其临床意义

肿瘤是一种体细胞遗传病，多数恶性肿瘤都伴有染色体数目或结构的异常，染色体改变在卵巢癌的发生、发展中起重要作用。卵巢癌中最常见的特征性、非随机性改变的染色体有4、8、17、20等，而20号染色体常常出现基因扩增，尤以ZNF217肿瘤基因(锌指蛋白217，定位于20 q13.2)上为频[1][2]。本研究拟通过荧光原位杂交技术(FISH)检测卵巢浆液性囊腺癌蜡块组织的ZNF217基因在20号染色体的表达情况，并分析扩增与临床分期和预后的关系。

### 1 材料和方法

#### 1.1 材料

选用2003~2005年卵巢浆液性上皮癌石蜡切片23例(其中I期11例、III~IV期12例)，年龄21~67岁。对照组浆液性囊腺瘤10例，正常卵巢组织7例。所有病理切片均作HE染色核实。20号染色体特异序列探针LSI ZNF217(含锌指蛋白，定位于20 q13.2)及18号着丝粒探针均购于Vysis公司。

#### 1.2 方法

石蜡连续切片12  $\mu\text{m}$ ×6张，二甲苯脱蜡20 min×3次；无水乙醇、85%、70%酒精梯度水化，各5 min；1%胃蛋白酶K(20 mg/ml)1  $\mu\text{l}$ ，Tris调节pH=8.0，37  $^{\circ}\text{C}$ 消化90 min；离心洗涤后提取细胞悬液制片，60  $^{\circ}\text{C}$ 烤片1 h；PBS洗涤，3 min×3次；梯度酒精脱水，室温干片。按探针、Buffer、水为1:2:7的比例配置，滴加探针，封片；75  $^{\circ}\text{C}$ 变性2 min；37  $^{\circ}\text{C}$ 恒温箱中杂交16~18 h；杂交后给予0.3% NP40/2×SSC，75  $^{\circ}\text{C}$ 洗涤2 min；0.1% NP40/2×SSC 室温漂洗1 min；DAPI复染15~20 min后，在NIKONE600荧光显微镜下通过三色滤光块(DAPI/TRITC/FITC)观察杂交信号，用Macprobe 4.0荧光图像处理系统(美国PSI公司)进行图像分析，每份间期核标本计数100个不重叠细胞，并记录杂交信号。

#### 1.3 信号判断标准

红色荧光信号为ZNF217基因，绿色荧光为18号染色体的着丝粒探针(起参照作用)。正常为2个红色和2个绿色信号，当红色信号超过绿色信号时，判断为基因发生扩增。

#### 1.4 统计学处理

采用SPSS10.0统计软件行Pearson  $\chi^2$ 检验。

### 2 结果

正常卵巢组织均为2个杂交信号(图1)；卵巢浆液性囊腺瘤基本上为2个红色荧光信号(图2)，有1例出现3个红色杂交信号；23例卵巢浆液性囊腺癌(图3)出现ZNF217基因扩增总共有12例，占52.17%。ZNF217基因在卵巢癌与卵巢良性肿瘤、正常卵巢组织中的拷贝数有显著性差异( $P<0.05$ )。在不同病理分期中(FIGO)，I期(早期)卵巢浆液性囊腺癌红色杂交信号超过2个有3例，占27.27%，III~IV期(晚期)有9例，占75.00%，晚期与早期卵巢癌ZNF217基因扩增具有显著性差异( $P<0.05$ )。

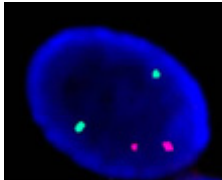


图1 正常卵巢组织  
Fig.1 Normal ovary tissue

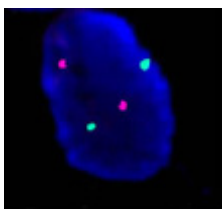


图2 卵巢浆液性囊腺瘤  
Fig.2 Ovarian serous cystadenoma

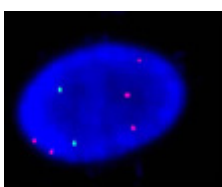


图3 卵巢浆液性囊腺癌  
Fig.3 Ovarian serous cystadenocarcinoma

### 3 讨论

ZNF217在上皮性肿瘤中出现扩增，表示预后极度不良，ZNF217能够减弱细胞凋亡信号，导致端粒异常，促进致瘤性转化[3]。Nonet等[4]将ZNF217基因转染到人类乳腺上皮细胞后，发现该基因可致细胞端粒转移酶活性增强，端粒长度稳定，并同时对抗TGF- $\beta$ 生长抑制作用，抑制细胞老化，从而呈现乳腺细胞无限增值、永生化特征，导致乳腺癌的发生。Collins等[5]发现该基因是参与乳腺癌发生的始动因子之一。在淋巴结阴性的乳腺癌中，ZNF217基因扩增可导致病人的预后极度不良，并与乳腺癌的早发事件、病理分级有关[6]。Suzuki等[7]发现在胃癌中ZNF217的扩增导致病人预后不良，与肿瘤的侵袭性有关。

我们通过FISH技术，发现肿瘤基因ZNF217在浆液性卵巢癌上亦出现扩增，该基因扩增占52.17%，其中分化晚期卵巢癌9例(75.00%)，早期卵巢癌3例(27.27%)，良性肿瘤只有1例发生扩增，可能为偶发事件，而正常卵巢组织未发现ZNF217基因扩增。晚期卵巢癌与早期有显著性差异，考虑ZNF217基因与卵巢癌临床分期及预后不良有关。该基因在卵巢癌与良性肿瘤、正常组织亦有显著性差异，可能参与了卵巢癌发生机制，促进致瘤性转化，但是否为参与卵巢癌发生的始动因子之一，有待于进一步研究。虽然在我们的研究中，发现ZNF217基因扩增没有像乳腺癌那样普遍存在，可能该基因仅在部分卵巢癌中发挥作用或与其他基因有协同效应。但从以上的研究结果中，我们发现ZNF217基因随着肿瘤的恶性程度增加，病人出现腹水、癌细胞发生转移，该基因发生扩增的机率明显增加，而基因的扩增是某些癌基因过表达的机制之一，可以赋予癌基因选择性生长优势，或癌基因对化疗药产生抵抗并预后不佳的一种机制，这也提示ZNF217基因与卵巢癌的临床分期、预后不良甚至侵袭性有关。另外，在分化早期的卵巢癌发生ZNF217基因扩增的病例中，3例病人的年龄均在30岁以下，是否与卵巢癌的早发事件有关，因样本量少，尚不能下结论，需要扩大样本量作进一步探讨。

## 参考文献:

- [1]Lambros MB, Fiegler H, Jones A, et al. Analysis of ovarian cancer cell lines using array-based comparative genomic hybridization[J]. J Pathol, 2005, 205(1): 29-40.
- [2]Bar-Shira A, Pinthus JH, Rozovsky U, et al. Multiple genes in human 20q13 chromosomal region are involved in an advanced prostate cancer xenograft[J]. Cancer Res, 2002, 62(23): 6803-7.
- [3]Huang G, Krig S, Kowbel D, et al. ZNF217 suppresses cell death associated with chemotherapy and telomere dysfunction[J]. Hum Mol Genet, 2005, 14(21): 3219-25.
- [4]Nonet GH, Stampfer MR, Chin K, et al. The ZNF217 gene amplified in breast cancers promotes immortalization of human mammary epithelial cells[J]. Cancer Res, 2001, 61(4): 1250-4.
- [5]Collins C, Volik S, Kowbel D, et al. Comprehensive genome sequence analysis of a breast cancer amplification[J]. Genome Res, 2001, 11(6): 1034-42.
- [6]Shimada M, Imura J, Kozaki T, et al. Detection of Her2/neu, c-MYC and ZNF217 gene amplification during breast cancer progression using fluorescence in situ hybridization [J]. Oncol Rep, 2005, 13(4): 633-41.
- [7]Suzuki S, Egami K, Sasajima K, et al. Comparative study between DNA copy number aberrations determined by quantitative microsatellite analysis and clinical outcome in patients with stomach cancer[J]. Clin Cancer Res, 2004, 10(9): 3013-9.