

子宫内膜癌中 c-Myc 和 cyclin E 的表达及临床意义

530001 南宁 广西民族医院病理科

莫秋荣, 梁科庆, 农勤高, 苏 赓, 温 伟

【摘要】 **目的** 探讨 c-Myc 和细胞周期素 E (cyclin E) 蛋白在子宫内膜癌 (EC) 中的表达及其与临床病理特征的关系。**方法** 采用免疫组织化学法分别检测 c-Myc、cyclin E 蛋白在正常增生期子宫内膜、非典型增生子宫内膜和 EC 中的表达, 并分析两种蛋白在子宫内膜不同病变中表达的相关性。**结果** c-Myc 蛋白在正常子宫增生期内膜、非典型增生子宫内膜和 EC 中的阳性表达率分别为 20.0% (3/15)、73.3% (22/30) 和 81.0% (47/58), cyclin E 蛋白的阳性表达率分别为 13.3% (2/15)、56.7% (17/30) 和 84.5% (49/58)。EC 中 c-Myc 蛋白表达与组织分化、临床分期和浸润深度相关 ($P < 0.05$), 而 cyclin E 蛋白表达与各临床病理参数均无关。EC 中 c-Myc 蛋白与 cyclin E 蛋白表达呈正相关 ($r = 0.400, P = 0.002$)。c-Myc、cyclin E 蛋白在轻度与重度非典型增生子宫内膜中的表达差异均有统计学意义 ($P = 0.021, P = 0.002$)。**结论** c-Myc 和 cyclin E 在激素依赖型的 EC 的发生、发展中有协同作用, c-Myc 和 cyclin E 蛋白在重度非典型增生子宫内膜和 EC 中的异常表达可能成为癌前病变筛查指标之一。

【关键词】 子宫内膜癌; c-Myc; 细胞周期素 E; 免疫组织化学

中图分类号: R737.33 文献标识码: A 文章编号: 1009-0460(2013)11-0986-04

The expressions of c-Myc and cyclin E in endometrial carcinoma and their clinical significances

MO Qiu rong, LIANG Ke qing, NONG Qing gao, SU Geng, WEN Wei. Department of Pathology, Minzu Hospita of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530001, China

【Abstract】 Objective To investigate the expressions of c-Myc and cyclin E protein in endometrial carcinoma and their association with clinicopathologic features. **Methods** The specimens from 15 normal endometrial tissue, 30 atypical endometrial hyperplasia and 58 endometrial carcinoma were collected. Immunohistochemical methods were used to detect the expressions of c-Myc and cyclin E protein. **Results** The positive rates of c-Myc protein in the normal endometrial, atypical endometrial hyperplasia and endometrial carcinomas tissues were 20.0% (3/15), 73.3% (22/30) and 81.0% (47/58), respectively. The positive rates of cyclin E protein in the normal endometrial, atypical endometrial hyperplasia and endometrial carcinomas tissues were 13.3% (2/15), 56.7% (17/30) and 84.5% (49/58), respectively. The expression of c-Myc protein in endometrial carcinoma was associated with histologic grade, clinical stage, and the depth of myometrial tumor ($P < 0.05$). There was no correlation between the expression of cyclin E protein and all of clinicopathologic characteristics. In the endometrial carcinoma, a positive relationship was found between the expressions of c-Myc and cyclin E protein. The differences between the expression of c-Myc and cyclin E protein in the low grade atypical endometrial hyperplasia and that of high grade atypical endometrial hyperplasia were statistically significant ($P = 0.021, P = 0.002$). **Conclusion** c-Myc and cyclin E protein may cooperate in the occurrence and development of hormone-dependent endometrial carcinoma. The abnormal expressions of c-Myc and cyclin E protein in the high grade atypical endometrial hyperplasia and endometrial carcinoma should be treated as one of screening indices of precancerous lesions.

【Key Words】 Endometrial carcinoma; c-Myc; Cyclin E; Immunohistochemistry

子宫内膜癌 (endometrial carcinoma, EC) 是女性生殖系统三大恶性肿瘤之一, 近年来随着人们生活习惯、饮食结构的改变、非正规激素治疗和性激素的滥用, EC 的发生率增高且趋于年轻化。早期研究显示 EC 的发生、发展涉及多个癌基因的突变及细

胞周期失常, 在细胞周期中存在 3 个主要的调控点, 即 G_1/S 、 G_2/M 和有丝分裂中后期调控点, 其中 G_1/S 调控点被认为是至关重要的。Eric 等^[1]认为 c-Myc 蛋白主要通过调节 p27 蛋白来提高 cyclin E/CDK2 复合物的活性, 而该复合物的活性在 G_1/S 转

换中起着重要的作用。本研究应用免疫组织化学法检测子宫正常内膜、非典型增生子宫内膜和 EC 中的 c-Myc 和 cyclin E 蛋白表达情况及相关性,以探讨 c-Myc、cyclin E 蛋白与 EC 的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集广西民族医院 2005 年 1 月至 2011 年 6 月正常增生期子宫内膜 15 例、非典型增生子宫内膜 30 例和 EC 58 例。其中正常增生期子宫内膜患者的年龄范围 28 ~ 47 岁,平均年龄 39 岁;非典型增生子宫内膜分为轻度 10 例、中度 12 例和重度 8 例,患者年龄范围 25 ~ 46 岁,平均年龄 42 岁;EC 患者的年龄范围 35 ~ 68 岁,平均年龄 58 岁,均为激素依赖型腺癌;高、中、低分化各为 10、26、22 例;浸润深度:限于内膜 8 例, < 1/2 肌层 34 例, > 1/2 肌层 16 例;有淋巴结转移 8 例,无淋巴结转移 50 例;按照 FIGO 2000 临床分期: I、II、III 和 IV 期分别为 12、20、22 和 4 例;术前均未行化疗或放疗;对 58 例 EC 患者进行回顾性随访,死亡 3 例,失访 8 例,随访率为 86.2%。

1.2 方法

1.2.1 标本制备方法 正常子宫内膜标本多采用子宫肌瘤和子宫脱垂的手术切除标本,非典型增生子宫内膜采用宫腔镜下刮出标本,EC 标本均为手术切除标本,标本切除离体马上用 4% 中性福尔马林固定。常规脱水浸蜡制成蜡块。

1.2.2 免疫组织化学法 采用免疫组化 SP 法检测,c-Myc 和 cyclin E 蛋白染色方法均按即用型试剂盒说明书步骤进行,均为 4℃ 过夜,经 DAB 显色。均设阴性和阳性对照,试剂购自福州迈新试剂公司。

1.2.3 染色结果判定 双盲阅片法,由 2 名经验丰富的副高级职称医师分别阅片。采用半定量法,随机选取 10 个高倍视野,每个高倍视野观察 100 个细胞,c-Myc 和 cyclin E 蛋白均可在细胞核和胞浆表达,故细胞核阳性按每个高倍视野阳性细胞数的百分比计数:阳性细胞数 < 5% 计为 0 分,5% ~ 25% 计 1 分,26% ~ 50% 计 2 分,51% ~ 75% 计 3 分, > 75% 计 4 分;胞质按色强弱计分:淡黄色计为 1 分,黄色计 2 分,棕黄色计 3 分。两种记分方法的乘积即为阳性强度:0 分设为阴性,1 ~ 4 分为弱阳性(+),5 ~ 8 分为中度阳性(++),9 ~ 12 分为强阳性(+++)。

1.3 统计学分析 采用 SPSS 13.0 版软件进行处

理。率的比较用卡方检验或 Fisher's 确切概率法,相关性分析用 Spearman 等级相关检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 c-Myc 和 cyclin E 蛋白在子宫内膜不同病变中的表达情况 c-Myc 蛋白在正常子宫内膜中个别腺体细胞浆呈阳性,在非典型增生子宫内膜和 EC 中细胞大部分呈胞浆阳性;c-Myc 蛋白在正常增生子宫内膜、非典型增生子宫内膜和 EC 中的阳性表达率分别为 20.0% (3/15)、73.3% (22/30) 和 81.0% (47/58)。cyclin E 蛋白在正常增生子宫内膜、非典型增生子宫内膜和 EC 中的阳性表达率分别为 13.3% (2/15)、56.7% (17/30) 和 84.5% (49/58),大部分呈胞核阳性。见图 1、图 2。

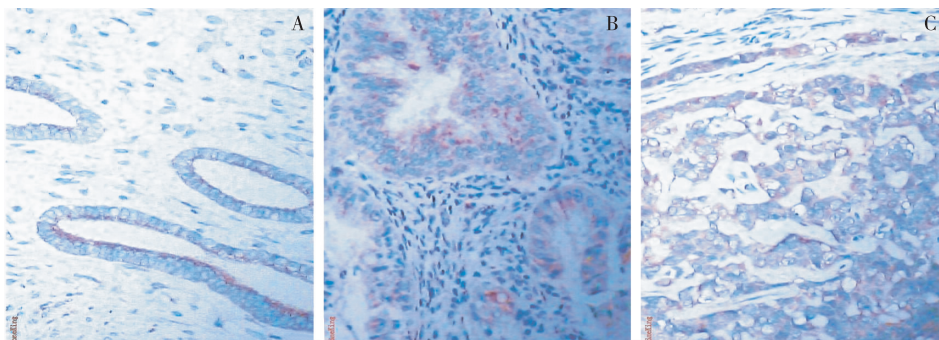
2.2 c-Myc 和 cyclin E 蛋白的表达与 EC 临床病理特征的关系 c-Myc 蛋白的表达与 EC 的组织分化、临床分期和浸润深度有关($P < 0.05$);而 cyclin E 蛋白的表达与各临床病理参数均无关。见表 1。

表 1 c-Myc 和 cyclin E 蛋白表达与 EC 临床病理特征的关系[例(%)]

病理参数	n	c-Myc +	P	cyclin E +	P
组织分化			0.011		0.153
高、中	36	25(69.4)		28(77.8)	
低	22	22(100.0)		21(95.5)	
临床分期			0.003		0.263
I、II	32	21(65.6)		25(78.1)	
III、IV	26	26(100.0)		24(92.3)	
浸润深度			0.007		0.736
无浸润	8	3(37.5)		6(75.0)	
< 1/2 肌层	34	29(85.3)		29(85.3)	
> 1/2 肌层	16	15(93.8)		14(87.5)	
淋巴结转移			0.987		0.436
无	50	40(80.0)		41(82.0)	
有	8	7(87.5)		8(100.0)	

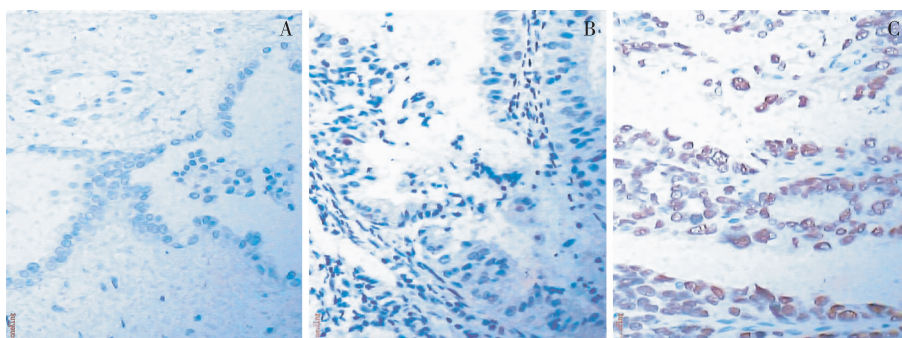
2.3 c-Myc 与 cyclin E 蛋白在子宫内膜不同病变中表达的相关性 c-Myc 和 cyclin E 蛋白的表达在 EC 中呈正相关($r = 0.400, P = 0.002$),而在正常增生期子宫内膜和非典型增生子宫内膜中均无明显相关性($r = -0.196, P = 0.484; r = -0.071, P = 0.709$)。见表 2。

2.4 非典型增生子宫内膜中 c-Myc 和 cyclin E 蛋白的表达 在不同分级(轻度、中度、重度)的非典型



A: 正常增生期子宫内膜; B: 非典型增生子宫内膜; C: EC

图 1 c-Myc 蛋白在子宫内膜不同病变中的阳性表达(SP × 200)



A: 正常增生期子宫内膜; B: 非典型增生子宫内膜; C: EC

图 2 cyclin E 蛋白在子宫内膜不同病变中的阳性表达(SP × 200)

表 2 子宫内膜不同病变中 c-Myc 与 cyclin E 表达的相关性

项目	cyclin E		r	P
	+	-		
正常增生期子宫内膜			-0.196	0.484
c-Myc +	0	3		
c-Myc -	2	10		
非典型增生子宫内膜			-0.071	0.709
c-Myc +	12	10		
c-Myc -	5	3		
EC			0.400	0.002
c-Myc +	43	4		
c-Myc -	6	5		

增生子宫内膜病变中, c-Myc 蛋白的阳性表达率分别为 9.09%、22.72% 和 68.18%, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); cyclin E 蛋白的阳性表达率分别为 5.88%、17.64% 和 76.47%, 差异亦有统计学意义 ($P < 0.05$)。c-Myc 蛋白在轻度与重度非典型增生子宫内膜中的表达差异有统计学意义 ($P = 0.021$), 且 cyclin E 蛋白的表达差异亦有统计学意义 ($P =$

0.002)。

3 讨论

近年来, 许多学者已注意到原癌基因蛋白与细胞周期的调控密切相关, 多种原癌蛋白在肿瘤组织中均有异常表达, 细胞周期调控机制的异常是肿瘤发生发展的共同机制。早期研究显示, c-Myc 原癌基因蛋白在细胞周期的 G_0 期调控中起着重要的作用, 在静止期 c-Myc 保持在一个极低的水平, 当细胞受到各种信号刺激后, 细胞由 G_0 期进入 G_1 期, 此时 c-Myc 的表达水平迅速升高。c-Myc 是通过过表达、基因高度扩增或重排参与肿瘤的形成过程^[2], 不同肿瘤中可能涉及不同的机制, 例如在滤泡性淋巴瘤和伯基特淋巴瘤中表现为染色体易位, 在小细胞肺癌、结肠癌中则表现为基因扩增。细胞周期素是周期素依赖激酶的调节因子。不同的细胞周期素控制着细胞周期中不同的特定阶段。cyclin E 是细胞周期中 G_1 期进入 S 期的一个主要调控因子。

目前国内外应用免疫组化技术研究 c-Myc 与 cyclin E 相关性的报道较少, 早期有学者研究 c-Myc

和 cyclin E 在乳腺癌中的表达情况,认为不同组织类型的乳腺癌中 c-Myc 和 cyclin E 之间相关性不同,在乳腺浸润性导管癌中两者存在正相关性,但在其他组织学类型的乳腺癌中,两者无相关性。张翠玲等^[3]在绝经前期子宫内膜息肉中发现 c-Myc 和 cyclin E 的表达呈正相关。本研究结果显示,在 EC 中 c-Myc、cyclin E 的阳性表达率分别 81.0% (47/58)、84.5% (49/58),经 Spearman 相关分析,两者呈正相关($r = 0.400, P = 0.002$),这一结论与文献相似;在非典型增生子宫内膜中 c-Myc 和 cyclin E 蛋白的表达无相关性。以上提示 c-Myc 和 cyclin E 在 EC 的发生、发展中有协同作用。

EC 根据发病原因可分为:(1) 其发生、发展与雌激素有关的子宫内膜样癌;(2) 以浆液性乳头状癌和透明细胞癌为主,与雌激素刺激无关的非子宫内膜样癌。本研究对象为激素依赖型 EC, c-Myc 与 EC 的组织分化、临床分期和浸润深度有关。与此结论不同,梁英等^[4]研究发现 c-Myc 与病理分型、有无淋巴结转移有关。两者结论的差异考虑可能是后者对两种类型 EC 中的 c-Myc mRNA 进行检测,从分子水平探讨 c-Myc mRNA 与 EC 的生物学特征;而前者本研究的对象较局限,只对激素依赖型 EC 进行研究,从蛋白水平分析 c-Myc 与 EC 的生物学行为。黄德年等^[5]认为 c-Myc 与 EC 的组织分化、临床分期有关,但因该研究并未对 EC 进行具体分型,所以 c-Myc 与临床病理特征的关系会因不同的对象及不同的研究方法而有所差异。本研究中 cyclin E 与 EC 各临床病理特征均无关,这一结果与罗新等^[6]的研究结果相一致,即在早期的乳腺癌研究中发现 cyclin E 与各临床病理参数之间无关。Cheng 等^[7]认为 c-Myc 在雌激素介导的雌激素受体转录中起重要作用;Yang 等^[8]认为 c-Myc 通过阻止 p27^{Kip1}与 cyclin E/CDK2 复合物的结合,抑制 cyclin E 的活性,阻止细胞进入 S 期,使细胞停滞于 G₁ 期,最终肿瘤形成。由此推论 c-Myc、cyclin E 的协同作用对与激素相关的 EC 的发生、发展起着关键性作用。由于本研究对象为激素依赖型子宫内膜腺癌,EC 的其他组织学类型中 c-Myc 和 cyclin E 是否相关以及与各个临床病理参数间的关系,尚需大样本资料进一步论证。

在非典型增生子宫内膜中, c-Myc 和 cyclin E 在

轻度与重度非典型增生组织中的表达差异有统计学意义。c-Myc 在诱发有丝分裂信号和细胞周期生长应答中起着重要的作用, cyclin E 是细胞周期调控机制中的一个关键的成分,两者的协同作用促进非典型增生子宫内膜进一步发展,组织局部的雌激素受体表达过高,最终使其转录的 c-Myc 基因扩增^[3];而作为雌激素受体靶基因之一的 c-Myc^[9],同时调节 cyclin E 的活性,最终导致了细胞过度增殖。罗新等^[6]认为 cyclin E 过度表达是 EC 常见并且是早期出现分子水平异常的指标。

综上所述, c-Myc 和 cyclin E 在激素依赖型 EC 的发生、发展中有协同作用,提示 c-Myc 蛋白引起的细胞周期调控异常在 EC 发病中为重要的分子事件。c-Myc 和 cyclin E 在重度非典型增生内膜和 EC 中高表达,提示 c-Myc 和 cyclin E 有可能成为子宫内膜癌前病变的筛查指标之一。

参考文献

- [1] Santoni-Rugiu E, Falck J, Mailand N, et al. Involvement of Myc activity in a G₁/S-promoting mechanism parallel to the pRb/E2F pathway[J]. MCB, 2000, 20(10): 3497-3509.
- [2] 何迎春, 柳景红, 曹建雄, 等. 壮骨镇痛胶囊对乳腺癌细胞 nm23-H1 和 C-myc 基因表达的影响[J]. 临床肿瘤学杂志, 2010, 15(9): 774-778.
- [3] 张翠玲, 王树鹤, 孙 黎. C-Myc、cyclin E 在绝经前期子宫内膜息肉中的表达[J]. 武警医学, 2013, 24(1): 29-32.
- [4] 梁 英, 董 颖. 子宫内膜癌中 c-myc 与 p53 表达[J]. 内蒙古医学杂志, 2008, 40(7): 797-780.
- [5] 黄德年, 施公胜, 黄建飞. c-myc 在子宫内膜癌中的表达及临床意义[J]. 九江医学, 2003, 18(3): 142-143.
- [6] 罗 新, 史玉霞, 余远萍. 子宫内膜癌组织中 cyclin E 和 P27 表达的相关性及其临床预后的关系[J]. 微循环学, 2003, 13(4): 32-34.
- [7] Cheng PC, Chang HK, Chen SH. Quantitative nanoproteomics for protein complexes(QNanoPX) related to estrogen transcriptional action[J]. Mol Cell Proteomics, 2010, 9(2): 209-224.
- [8] Yang W, Shen J, Wu M, et al. Repression of transcription of the p27(Kip1) cyclin-dependent kinase inhibitor gene by c-Myc[J]. Oncogene, 2001, 20(14): 1688-1702.
- [9] Guo P, Dong XY, Zhao KW, et al. Estrogen-induced interaction between KLF5 and estrogen receptor(ER) suppresses the function of ER in ER-positive breast cancer cells[J]. Int J Cancer, 2010, 126(1): 81-89.

收稿日期: 2013-06-05; 修回日期: 2013-08-07