

分化抑制因子-1,-3 在宫颈上皮内瘤变及宫颈鳞状细胞癌组织中的表达及其意义

陈艳艳 张声 江忠清

【摘要】 目的 探讨 Id-1,-3 在宫颈上皮内瘤变(CIN)及宫颈鳞状细胞癌(CSCC)中的表达及其意义。**方法** 选择于福建医科大学附属第一医院病理科经组织病理学检查确诊为 CIN 与 CSCC 患者的组织标本分别为 22 例与 67 例为研究对象。采用 SP 免疫组化染色 EnVision 二步法检测标本组织中 Id-1,-3 蛋白表达水平(本研究遵循的程序符合福建医科大学附属第一医院人体试验委员会所制定的伦理学标准,得到该委员会批准)。按照国际妇产科联盟(FIGO)对 CSCC 的临床分期标准进行 CSCC 临床分期。本组 CSCC 患者中,FIGO I_A、I_B、II_A、II_B 期分别为 4,29,28 及 6 例。本组 CIN 标本中,CIN I~III 级分别为 3 例,5 例和 14 例。**结果** 在 CIN I~III 级标本中,CIN III 级($n=14$)较 CIN I~II 级($n=8$)的 Id-1,-3 表达水平均显著升高,且差异有统计学意义($P<0.05$)。若 CSCC 标本来源于年龄 ≤ 40 岁、FIGO I~II 期、有脉管浸润、有淋巴结转移患者时,则 Id-1 蛋白表达水平分别显著高于 >40 岁、FIGO III 期、无脉管浸润、无淋巴结转移患者,且差异均有统计学意义($P<0.05$);而在 CSCC 标本中癌组织分化程度、肌层浸润与癌灶直径对 Id-1 蛋白表达水平无影响($P>0.05$)。若 CSCC 标本来源于伴淋巴结转移患者,则 Id-3 表达水平显著高于无淋巴结转移者,且差异有统计学意义($P<0.05$);而患者年龄、CSCC 的 FIGO 分期、组织分化程度、脉管浸润、肌层浸润及癌灶直径等对 Id-3 表达水平无影响($P>0.05$)。**结论** Id-1,-3 在 CIN、CSCC 中均有表达,表达水平与 CIN 级别及 CSCC 的发生发展、侵袭转移有关。Id-1,-3 或许可作为 CIN、CSCC 基因治疗的候选靶基因位点。

【关键词】 宫颈上皮内瘤样病变; 肿瘤,鳞状细胞; 宫颈肿瘤,原发性; 子宫颈; Id-1; Id-3

Expression and Clinical Significance of Id-1,-3 in Cervical Intraepithelial Neoplasia and Cervical Squamous Cell Cancer Chen Yanyan, Zhang Sheng, Jiang Zhongqing. Department of Obstetrics and Gynecology, Quanzhou Obstetric Maternity and Children's Health Care Centers, Quanzhou 362000, Fujian Province, China. (Corresponding author: Chen Yanyan, Email: sanren8@126.com)

【Abstract】 Objective To explore expression and clinical significance of Id-1,-3 in cervical intraepithelial neoplasia (CIN) and cervical squamous cell carcinoma (CSCC). **Methods** Pathological tissue samples of CIN ($n=22$) and CSCC ($n=67$) in Department of Pathology, First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, which were confirmed diagnosis by histopathological examination were collected. By SP immunohistochemistry staining using the EnVision method to detect levels of Id-1, -3 protein in tissue samples. The study protocol was approved by the Ethical Review Board of Investigation in Human Being of Affiliated Hospital of Fujian Medical University. According to International Federation of gynecology and Obstetrics (FIGO) clinical stage standard, among 67 CSCC samples, they were I_A (4 cases), I_B (29 cases), II_A (28 cases), II_B (6 cases), respectively. Among 22 cases CIN samples, they were CIN I (3 cases), CIN II (5 cases), and CIN III (14 cases), respectively. **Results** There had significance difference between tissue samples of CIN III ($n=14$) and CIN I-II ($n=8$) in levels of Id-1, -3 protein ($P<0.05$), levels of Id-1, -3 protein tissue samples of CIN III were much higher than those in tissue samples of CIN I-II. There had significance difference of levels of Id-1 protein between tissue samples from CSCC patients of ≤ 40 years old, CSCC of FIGO I-II stages, complicating vascular invasion, complicating lymph node

DOI:10.3877/cma.j.issn.1673-5250.2014.02.011

基金项目:福建省科技厅资助项目(005Z17)

作者单位:362000,泉州市妇幼保健院产科(陈艳艳);福建医科大学附属第一医院病理科(张声),妇产科(江忠清)

通信作者:陈艳艳,Email:sanren8@126.com

metastasis and those >40 years old, CSCC of FIGO III stages, no complicating vascular invasion, no complicating lymph node metastasis ($P < 0.05$). There had no significance difference of levels of Id-1 protein among degree of differentiation of cancer tissue, muscular invasion or not and diameters of cancer tissue ($P > 0.05$). There had significance difference of levels of Id-3 protein between complicating lymph node metastasis and those no complicating lymph node metastasis ($P < 0.05$). There had no significance difference of levels of Id-3 protein among ages, tissue FIGO stages, degree of differentiation of cancer tissues, complicating vascular invasion or not, muscular invasion or not, and diameters of cancer tissue ($P > 0.05$).

Conclusions Id-1,-3 are expression in both tissues of CIN and CSCC. Expression levels of Id-1,-3 have related with CIN grades and development of CSCC, such as invasion or metastasis, especially with invasion and metastasis. Id-1,-3 may be as targets of gene for therapy of CSCC.

【Key words】 Cervical intraepithelial neoplasia; Neoplasm, squamous cell; Cervical neoplasm, primary; Cervix uteri; Id-1; Id-3

* Project No. 005Z17, supported by the Department of Science and Technical in Fujian Province

宫颈癌是妇科最常见恶性肿瘤之一,全球范围内其发病率居女性恶性肿瘤的第2位,仅次于乳腺癌^[1]。宫颈上皮内瘤变(cervical intra-epithelial neoplasia, CIN)是一组与宫颈浸润癌密切相关的癌前病变,是宫颈上皮从非典型增生到原位癌连续发展过程,一般约需10年。CIN与宫颈浸润癌密切相关,可反映宫颈癌发生发展中的连续过程^[2]。对CIN等癌前病变的早发现、早治疗,对预防宫颈癌至关重要。分化抑制因子(inhibitors of differentiation, Id)又称为DNA结合抑制因子(inhibitors of DNA binding),属于螺旋-环-螺旋(helix-loop-helix, HLH)转录家族成员之一,其无碱性区(碱性区为DNA结合所必须,能与E-框基序或相关的N-框基序相结合)。Id可通过与碱性螺旋-环-螺旋蛋白(base HLH protein, bHLH)转录因子形成亲和性很高的异二聚体,而与靶基因特异DNA调控区结合,调控基因表达,抑制bHLH与DNA及其他组织特异性bHLH结合成异二聚体,对bHLH转录因子活性起负调节作用,从而可抑制细胞分化^[3]。Id对细胞分化起负调节作用,在促进肿瘤细胞增殖方面亦起重要作用^[4]。研究证实,Id-1在食管鳞癌、口腔鳞癌、结肠及直肠癌、肝细胞癌、胰腺癌、神经胶质瘤、甲状腺髓样癌、乳腺癌及子宫内膜癌中高表达,与多种肿瘤的发生发展、侵袭及血管生成密切相关,因此具有癌基因的某些特性。本研究通过采用SP免疫组化技术检测Id-1,-3蛋白在CIN及子宫颈鳞状细胞癌(cervical squamous cell carcinoma, CSCC)中的表达,旨在为CIN及CSCC的早发现、早诊断和早治疗提供依据及新的靶基因治疗位点。现将研究结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

选择于福建医科大学附属第一医院病理科经组织

病理学检查确诊为CIN与CSCC患者的组织标本分别为22例,67例为研究对象。所选择标本来源患者于标本收集前均未接受化疗、放疗及免疫治疗。标本来源于宫颈组织活检、子宫颈锥切术、子宫全切术及广泛性子官切除术,对患者有完整随访资料。对本组CSCC的临床分期标准按照国际妇产科联盟(International Federation of Gynecology and Obstetrics, FIGO)对CSCC的临床分期标准进行。67例子CSCC患者年龄为24~72岁,中位年龄为42.5岁,其中 ≤ 40 岁者为27例, >40 岁者为40例;组织病理学分级I及II级分别为33,34例;FIGO I_A、I_B、II_A、II_B期分别4,29,28及6例;盆腔淋巴结转移、脉管浸润者分别为16例及8例;镜下癌细胞早期浸润及浅肌层浸润者为23例,深肌层及全层浸润者分别为44例;对其平均随访时间为(1 225.76 ± 559.83)d。随访期间14例子CSCC患者复发,9例死亡,58例存活(存活者生活质量良好)。14例子CIN标本中,CIN I~III级分别为3例,5例和14例(本研究遵循的程序符合福建医科大学附属第一医院人体试验委员会所制定的伦理学标准,得到该委员会批准)。

1.2 方法

1.2.1 试剂 浓缩型兔抗人多克隆抗体Id-1,-3(C-22)标准品(Santa Cruz公司,美国)1:50稀释;浓缩型鼠抗人Ki-67单克隆抗体(克隆号MIB.1)与CD₃₄单克隆抗体(克隆号QBEND/10)(DAKO公司,美国)1:100稀释;EnVision免疫组化试剂盒及DAB试剂(DAKO公司,美国)。浓缩型鼠抗人克隆抗体Laminin(克隆号LAM-89)(NeoMarkers公司,美国)1:50稀释。

1.2.2 Id-1,-3蛋白检测方法 采用SP免疫组化染色EnVision二步法,检测两组标本组织中Id-1,-3蛋白表达水平,操作严格按照EnVision免疫组化试剂盒

说明书进行。

1.2.3 结果判定 Id-1,-3 蛋白表达呈阳性染色者在细胞质可见棕黄色颗粒沉着,采用 Motic 6.0A 病理图像分析系统测定每张切片 9 个 200 倍视野 Id-1,-3 阳性染色区的相对灰度值,以相对平均吸光度值表示 Id-1,-3 的表达水平。

1.3 统计学分析方法

本研究数据采用 SPSS 13.0 统计学软件进行统计学分析。对呈正态分布计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间计量资料比较采用 *t* 检验、方差分析(*F* 检验)。以 *P* < 0.05 示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Id-1,-3 在宫颈上皮内肉瘤变中的表达

CIN I ~ III 级中,Id-1,-3 表达水平比较(表 1)。

表 1 在 CIN I - II 与 CIN III 中 Id-1,-3 表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of expression levels of Id-1,-3 protein among CIN I - II and CIN III ($\bar{x} \pm s$)

CIN 级别	<i>n</i>	Id-1	Id-3
CIN I ~ II	8	0.290 923 ± 0.0224 873	0.214 650 ± 0.010 103
CIN III	14	0.291 929 ± 0.041 232	0.228 944 ± 0.027 913
<i>t/F</i>		5.271	8.783
<i>P</i>		<0.05	<0.05

2.2 Id-1,-3 在宫颈鳞状细胞癌中的表达

Id-1,-3 表达水平与 CSCC 患者的年龄及 FIGO 临床分期、组织分化程度、癌灶直径及是否存在淋巴结转移、肌层浸润关系比较,如表 2 所示。

表 2 Id-1,-3 的表达水平与宫颈鳞状细胞癌临床病理学参数间的关系比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of relationship between expression levels of Id-1,-3 protein and clinicopathological parameters of cervical squamous cell carcinoma($\bar{x} \pm s$)

相关参数	<i>n</i>	Id-1	<i>t/F</i>	<i>P</i>	Id-3	<i>t/F</i>	<i>P</i>
年龄(岁)							
≤40	27	0.247 954 ± 0.036 771	3.712	0.042	0.220 867 ± 0.045 116	4.145	0.853
>40	40	0.239 617 ± 0.024 500			0.231 700 ± 0.038 184		
FIGO 临床分期							
I ~ II 期	31	0.246 962 ± 0.034 721	3.795	0.034	0.226 553 ± 0.042 121	3.637	0.902
III 期	36	0.239 145 ± 0.024 621			0.228 701 ± 0.040 220		
分化程度							
低分化	38	0.244 592 ± 0.031 279	2.791	0.666	0.233 031 ± 0.040 524	2.887	0.842
中、高分化	29	0.240 364 ± 0.027 972			0.220 732 ± 0.040 831		
淋巴结转移							
无	51	0.242 509 ± 0.028 541	3.045	0.281	0.223 869 ± 0.034 330	3.193	0.035
有	16	0.2435 66 ± 0.034 313			0.239 942 ± 0.056 490		
肌层浸润							
微小/浅肌层	23	0.245 510 ± 0.035 187	3.121	0.221	0.223 331 ± 0.037 210	3.452	0.787
深/全肌层	44	0.242 294 ± 0.027 475			0.228 869 ± 0.043 430		
脉管浸润							
无	59	0.241 915 ± 0.027 491	5.133	0.005	0.224 751 ± 0.037 519	5.418	0.278
有	8	0.249 005 ± 0.045 061			0.249 508 ± 0.058 512		
癌灶直径(cm)							
<3	24	0.240 810 ± 0.031 897	2.871	0.469	0.226 078 ± 0.042 725	2.965	0.741
≥3	43	0.243 801 ± 0.028 815			0.228 616 ± 0.040 190		

3 讨论

Id 的分子质量为 13~22 kD,为 HLH 转录因子家族成员。本研究应用 SP 免疫组化技术检测本组病理性标本的 Id-1,-3 表达水平发现,在 CIN I ~ III 级中,CIN III 级的 Id-1,-3 水平较 CIN I ~ II 级显著升高,且差异有统计学意义(*t* = 5.271, 8.783; *P* < 0.05)。然而,若 CSCC 标本来源于年龄 ≤ 40 岁、FIGO I ~ II 期、有脉管浸润患者时,则 Id-1 蛋白表达水平分别显著高于 >40 岁、FIGO III 期、无脉管浸润患者,且差异均有统计学意义(*P* < 0.05);而癌组织分化程度、有无淋巴转移、肌层浸润与癌灶直径对 Id-1 蛋白表达水平无影响(*P* > 0.05)^[5]。本研究结果还显示,若 CSCC 标本来源于伴有淋巴结转移患者的 Id-3 表达水平显著高于无淋巴结转移者,且差异有统计学意义(*P* < 0.05);而患者年龄、CSCC 的 FIGO 分期、组织分化程度、脉管浸润、肌层浸润及癌灶直径等对 Id-3 表达水平无影响(*P* > 0.05)^[6]。从 CIN I ~ II → CIN III → CSCC 的发展过程中,Id-3 表达水平呈上升趋势,但至浸润癌后,Id-3 表达水平无明显差异。

Yokota 等^[7]认为,Id 蛋白促进细胞增殖进入 S 期,是通过 CDK2 与 Id-bHLH 相互作用于细胞增生和分化期,而不是单纯调整异源二聚体依赖基因表达,即 Id 蛋白通过与 A 类 bHLH E2A 结合,抑制受 E2A 调节的 *CDK1sp21Cip1/Waf1* 基因表达,解除 p21 对周

期蛋白-A/E-CDK2 的抑制活性,促进视网膜母细胞瘤蛋白(pRB)磷酸化,激活 S 期进程所需基因的表达,使细胞从 G1 期向 S 期发展^[8],促进肿瘤细胞增殖。因此推断,Id-1,-3 在促进 CIN 与 CSCC 的细胞增殖方面,可能不是关键因子。综上所述,Id-1,-3 在 CIN 与 CSCC 中均有表达,并与 CIN 级别及 CSCC 的发生发展及侵袭、转移有关。Id-1,-3 或许可作为 CIN 及 CSCC 基因治疗的一个候选的靶基因位点。

参 考 文 献

- 1 渠力平,于小玲. 宫颈癌组织细胞分化抑制因子-1 表达及其意义[J]. 齐鲁医学杂志,2011, 26(6):486-488.
- 2 Maw MK, FU JJ, Amaya TT. Overexpression of inhibit or of DNA-binding (Id)-1 protein related to angiogenesis in tumor advancement of ovarian cancers[J]. BMC Cancer, 2009, 10(9) : 430-436.

陈艳艳,张声,江忠清. 分化抑制因子-1,-3 在宫颈上皮内瘤变及子宫颈鳞状细胞癌组织中的表达及其意义[J/CD]. 中华妇幼临床医学杂志:电子版,2014,10(2):177-180.

- 3 高璐,卫立辛,吴孟超. 分化抑制因子的表达与恶性肿瘤的预后[J]. 第二军医大学学报,2010,31(1):97-100.
- 4 张程玲,李金科,张程琬,等. 分化抑制因子 Id-1 与 VEGF 及 MVD 在宫颈瘤变中的相关性分析[J]. 现代妇产科进展,2013,22(1):10-12.
- 5 Shi YR, Geng J, Gan HY, *et al.* Cytochrome P4501A1 expression in cervical squamous cell carcinoma tissue and its clinical significance [J]. J Bengbu Medi College, 2013, 38 (8) : 929-931.
- 6 江忠清,连成瑛,郑秀,等. 替拿素在子宫颈鳞状细胞癌组织表达及临床意义初步研究[J]. 中国医药,2009,4(4):244-247.
- 7 Yokota Y, Mori S. Role of Id family proteins in growth control[J]. J Cell Physiol, 2002, 190(1):21-28.
- 8 Ni YZ, Liu F, Zhu KC, *et al.* Xinjiang uygur women cervical squamous cell carcinoma of human papilloma virus 16 and p33ING1b and telomerase reverse transcriptase catalytic subunit correlation [J]. J Chin Acad Med Sci, 2009, 29 (5) : 592-596.

(收稿日期:2013-11-20 修回日期:2014-03-10)

中华医学会儿科学分会
CHINESE MEDICAL ASSOCIATION
1915
中华医学会儿科学分会