

Bmi-1 蛋白在食管鳞状细胞癌中表达及临床意义

吴 健 张 昶 朱亚宁

摘要 目的:观察Bmi-1蛋白在食管鳞状细胞癌组织中的表达,探讨Bmi-1与食管鳞状细胞癌的相关性。方法:应用免疫组织化学法检测南京医科大学附属淮安第一医院2005年1月至2006年2月间168例食管鳞状细胞癌组织和30例正常食管黏膜组织Bmi-1蛋白的表达。结果:食管鳞状细胞癌组织和正常食管黏膜组织中Bmi-1蛋白的阳性表达率分别为66.1%(111/168)、23.3%(7/30),Bmi-1蛋白阳性表达率在食管鳞状细胞癌组织和正常食管黏膜组织中差异具有统计学意义($P < 0.001$),Bmi-1蛋白表达与食管鳞状细胞癌组织学分级、TNM分期和淋巴结转移具有相关性($P = 0.016, P = 0.004, P < 0.001$),Bmi-1阴性组的5年生存率显著优于Bmi-1阳性组($P < 0.001$)。结论:Bmi-1表达异常在食管鳞状细胞癌发生发展中具有重要作用,检测Bmi-1的表达对判断食管鳞状细胞癌的预后具有重要意义。

关键词 食管肿瘤 鳞状细胞癌 Bmi-1 免疫组织化学法

doi:10.3969/j.issn.1000-8179.2012.13.009

Expression and Clinical Significance of Bmi-1 Protein in Esophageal Squamous Cell Carcinoma

Jian WU, Chang ZHANG, Ya'ning ZHU

Correspondence to: Jian WU, E-mail: wujn77@126.com

Department of Pathology, Huai-an No. 1 Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Huaian 223300, China

Abstract Objective: To observe the expression and clinical significance of Bmi-1 protein in esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) and to discuss the correlation between the Bmi-1 expression and ESCC. **Methods:** The expression of Bmi-1 protein in 168 cases with the ESCC tissue and 30 with normal esophageal mucosa was determined through immunohistochemistry. **Results:** The expression rates of Bmi-1 were 66.1% (111/168) and 23.3% (7/30) in the ESCC tissues and normal esophageal mucosa, respectively. Statistically significant differences were observed in the positive expression of Bmi-1 between the ESCC and the normal mucosal tissues of the esophagus ($P < 0.001$). The positive expression of Bmi-1 in ESCC has been found to be related to the histological differentiation, TNM stages, and lymphatic metastases ($P = 0.016, P = 0.004, and P = 0.001$). Moreover, the 5-year survival was superior in the Bmi-1-negative group than that in the Bmi-1-positive group ($P < 0.001$). **Conclusion:** Bmi-1 may play an important role in oncogenesis and progression of ESCC. Detection of the Bmi-1 expression is important in evaluating the prognosis of ESCC.

Keywords Esophageal neoplasm; Squamous cell carcinoma; Bmi-1; Immunohistochemistry

Bmi-1 (B-cell specific moloney murine leukemia virus insertion site 1, Bmi-1) 基因属于 PcG (Polycomb group) 家族成员,也属于一种原癌基因。Bmi-1 是一种广泛表达的核蛋白,直接参与细胞生长、增殖的调节,研究发现 Bmi-1 基因表达异常与人类多种肿瘤的发生发展过程有关^[1-3],本研究应用免疫组织化学法检测 Bmi-1 蛋白在食管鳞状细胞癌中的表达,旨在探讨 Bmi-1 在食管鳞状细胞癌发生发展中的作用。

1 材料与方法

1.1 材料

收集南京医科大学附属淮安第一医院2005年1月至2006年2月间行根治手术切除食管鳞状细胞癌标本168例,患者术前未经任何治疗。其中男103

例,女65例;年龄44~78岁,中位年龄58岁。组织学分级(WHO标准):高分化42例,中分化75例,低分化51例。按UICC(2009年)第7版TNM分期标准:I期26例,II期72例,III期54例,IV期16例。淋巴结有转移82例,淋巴结无转移86例。取正常食管黏膜(距肿块>4 cm)30例作为对照。全部标本经10%福尔马林固定,石蜡包埋,4 μm连续切片。

1.2 试剂及方法

鼠抗人Bmi-1单克隆抗体购自武汉博士德生物工程技术有限公司,采用免疫组织化学两步法,操作严格按照说明书进行,用已知阳性切片作为阳性对照,用TBS代替一抗作阴性对照。

1.3 结果判断

Bmi-1蛋白阳性信号定位于细胞核。采用免疫组织化学半定量积分法,选择具有代表性的10个高倍视野($\times 400$)进行观察记数,根据染色强度和染色细胞百分率进行评分:不着色为0分,淡黄色为1分,黄色为2分,棕黄色为3分;着色细胞占记数细胞的百分率 $\leq 10\%$ 为0分,11%~25%为1分,26%~50%为2分,51%~75%为3分,76%~100%为4分。将每张切片平均着色程度与平均着色细胞百分率得分各自相乘为其最后得分:0分为阴性(-),1~4分为弱阳性(+),5~8分为阳性(++),9~12分为强阳性(+++)。

1.4 统计学方法

实验数据应用SPSS13.0统计学软件进行 χ^2 检验(两样本率的比较及多样本率的比较)。Bmi-1与术后生存期的关系以Kaplan-Meier生存曲线分析,并进行Log-Rank检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Bmi-1蛋白的表达情况

30例正常黏膜组织中Bmi-1蛋白阳性表达率为23.3%(7/30);168例食管鳞状细胞癌Bmi-1蛋白阳性表达率为66.1%(111/168)。食管鳞状细胞癌组织中Bmi-1蛋白阳性表达率显著高于正常黏膜组织($P < 0.001$);Bmi-1在食管鳞状细胞癌中的表达与患者性别、年龄无关($P = 0.187$, $P = 0.288$);与组织学分级、TNM分期与是否发生淋巴结转移相关($P = 0.016$, $P = 0.004$, $P = 0.001$,表1)。

表1 Bmi-1蛋白在食管鳞状细胞癌的表达与临床病理因素关系

组别	例数	Bmi-1 阳性/%	χ^2	P
癌旁食管粘膜组织	30	7(23.3)	19.309	<0.001
食管鳞癌组织	168	111(66.1)		
性别				
男	103	72(69.9)	1.743	0.187
女	65	39(60.0)		
年龄/岁				
≤ 60	95	66(69.5)	1.129	0.288
> 60	73	45(61.6)		
组织学分级				
高分化	42	21(50.0)	8.327	0.016
中分化	75	50(66.7)		
低分化	51	40(78.4)		
TNM分期				
I+II	98	56(57.1)	8.364	0.004
III+IV	70	55(78.6)		
淋巴结转移				
无	86	47(54.7)	10.251	0.001
有	82	64(78.0)		

2.2 Bmi-1表达对术后生存时间的影响

以Bmi-1表达情况对患者术后生存期进行Kaplan-Meier生存曲线分析(图1),Bmi-1蛋白阳性组和阴性组生存率比较有显著性差异($\chi^2 = 27.828$, $P < 0.001$)。

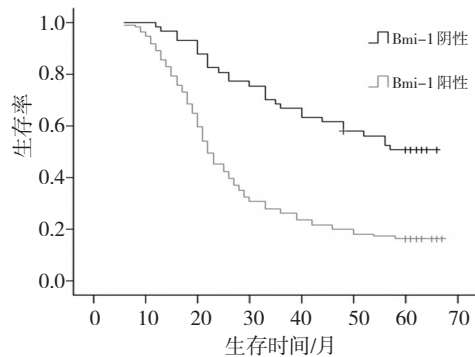


图1 食管鳞状细胞癌Bmi-1表达阴性和阳性者5年生存率曲线

Figure 1 Disease-specific 5-year survival curves of patients with Bmi-1 negative and positive expression

3 讨论

食管癌的确切病因目前尚不清楚,一般认为是多种因素综合作用所致,近年对食管癌发生的分子机制的研究显示,多种基因相互激活与失活、各种信号转导通路的相互作用与食管癌的发生发展有关。Bmi-1是一种转录抑制因子,是多梳基因家族的重要成员,直接参与细胞的生长、增殖的调节,并且为人体干细胞和造血系统细胞的自我更新所必需。众多的研究证实,Bmi-1在多种人的肿瘤中均有表达,证明其可作为一种癌基因。本研究发现食管鳞状细胞癌组织中Bmi-1蛋白显著高表达,而在正常食管黏膜中低表达,推测可能与以下几个方面有关:Bmi-1在染色体水平作为转录抑制因子可负性调控INK4a2ARF位点编码的两种抑癌基因p16ink4a和p19arf转录产物的表达,Bmi-1高表达可通过p16ink4a/细胞周期素(cyclin)D/Rb和p19arf/MDM2/p53通路加速细胞生长和增殖,阻止细胞周期停滞和细胞凋亡,从而促进肿瘤发生^[4]。Bmi-1基因可诱导下游基因hTERT基因的表达,从而激活端粒酶,使细胞获得无限增殖能力,阻止细胞衰老,导致永生^[5]。过表达Bmi-1可与HOXC13启动子区的Bmi-1结合区域相结合,使HOXC13 mRNA表达水平显著下降,进而抑制细胞分裂,阻止细胞凋亡^[6]。当Bmi-1基因发生改变而导致Bmi-1过表达时,将使上述通路永无休止地进行,最终可能导致细胞癌变并维持癌细胞不断更新。

已有研究显示,Bmi-1在很多常见的恶性肿瘤如胃癌、肝癌、鼻咽癌等肿瘤中均存在异常表达,并且

认为Bmi-1蛋白的高表达是预后差的一个危险因素。Song等^[7]研究证实,Bmi-1阳性表达的鼻咽癌患者5年生存率明显低于Bmi-1阴性者,其过表达可能是预后不良的标志。黄开红等^[8]检测胃癌组织中Bmi-1基因及其蛋白的表达,认为Bmi-1基因在胃癌组织中的表达状态与肿瘤体积大小、浸润深度、临床分期、淋巴结转移关系密切,Bmi-1基因表达的测定有助于判断肿瘤的预后。Wang等^[9]研究发现在肝癌患者Bmi-1蛋白高表达也是预后差的一个危险因素。本研究发现Bmi-1蛋白表达与食管状细胞癌组织学分级、TNM分期和淋巴结转移情况具有相关性,Bmi-1阳性表达的食管状细胞癌患者5年生存率明显低于Bmi-1阴性者,这些研究结果均提示Bmi-1基因极有可能成为一种判断恶性肿瘤进展和预后新的分子标志物。

Bmi-1在肿瘤中高表达为肿瘤基因治疗提供了新思路。Yu等^[10]通过质粒将反义Bmi-1导入RA549肺癌细胞株,发现Bmi-1蛋白水平明显地下调,细胞增殖明显地被抑制,细胞大部分处于G₀/G₁期,S期细胞显著地减少。Kang等^[11]应用RNAi技术干扰细胞内源性的Bmi-1,鳞状细胞癌SSC4细胞增殖被显著地抑制。因此,Bmi-1有可能成为食管癌基因治疗新的靶标。

参考文献

- 1 Cao L, Bombard J, Cintron K, et al. BMI1 as a novel target for drug discovery in cancer[J]. *J Cell Biochem*, 2011, 112(10): 2729-2741.
- 2 朱爱华,陆华,肖新如,等.人脑胶质瘤中BMI1的表达及其意义[J]. *中国肿瘤临床*, 2009, 36(11): 640-643.
- 3 Sasaki M, Ikeda H, Itatsu K, et al. The overexpression of polycomb group proteins Bmi1 and EZH2 is associated with the progression and aggressive biological behavior of hepatocellular carcinoma[J]. *Lab Invest*, 2008, 88(8): 873-882.
- 4 Xu CR, Lee S, Ho C, et al. Bmi1 functions as an oncogene independent of Ink4A/Arf repression in hepatic carcinogenesis[J]. *Mol Cancer Res*, 2009, 7(12): 1937-1945.
- 5 Dimri GP, Martinez JL, Jacobs JJ, et al. The Bmi-1 oncogene induces telomerase activity and immortalizes human mammary epithelial cells[J]. *Cancer Res*, 2002, 62(16): 4736-4745.
- 6 Cao R, Tsukada Y, Zhang Y. Role of Bmi-1 and ring1A in H2A ubiquitylation and Hox gene silencing[J]. *Mol Cell*, 2005, 20(6): 845-854.
- 7 Song LB, Zeng MS, Liao WT, et al. Bmi-1 is a novel molecular marker of nasopharyngeal carcinoma progression and immortalizes primary human nasopharyngeal epithelial cells[J]. *Cancer Res*, 2006, 66(12): 6225-6232.
- 8 黄开红,刘建化,李学先,等.Bmi-1在胃癌组织中的表达及相关性研究[J]. *中国肿瘤临床*, 2007, 34(17): 961-965.
- 9 Wang H, Pan K, Zhang HK, et al. Increased polycomb-group oncogene Bmi-1 expression correlates with poor prognosis in hepatocellular carcinoma[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2008, 134(5): 535-541.
- 10 Yu Q, Su B, Liu D, et al. Antisense RNA-mediated suppression of Bmi-1 gene expression inhibits the proliferation of lung cancer cell line A549[J]. *Oligonucleotides*, 2007, 17(3): 327-335.
- 11 Kang MK, Kim RH, Kim SJ, et al. Elevated Bmi-1 expression is associated with dysplastic cell transformation during oral carcinogenesis and is required for cancer cell replication and survival[J]. *Br J Cancer*, 2007, 96(1): 126-133.

(2011-09-11 收稿)

(2012-02-01 修回)

(本文编辑:邢颖)

《中国肿瘤临床》被荷兰《文摘与引文数据库》(Scopus)收录

《中国肿瘤临床》(ISSN1000-8179, CN 12-1099/R)系中国科协主管,中国抗癌协会主办,天津医科大学附属肿瘤医院、肿瘤研究所承办出版的全国性学术期刊,由“中国肿瘤医学之父”金显宅教授于1963年创办,是中国第一本肿瘤学术期刊,2004年变更为半月刊,现任主编为郝希山院士。2011年在作者、编者、审者、读者的共同努力下,期刊影响力进一步提升,被中国科学技术信息研究所评选为“2011年度中国精品科技期刊”称号。秉承“引导创新、关注前沿、突出临床、讲求实用”的办刊宗旨,致力于快、精、高、细地报道国内肿瘤学创新性研究成果与国际肿瘤学前沿进展,立足国内,面向国际,为肿瘤临床医师、研究人员及医学生搭建学术交流平台,提供对临床实践有指导价值的专业信息,促进肿瘤学临床与基础研究的相互转化,为推动肿瘤学科发展与人才培养服务。

荷兰《文摘与引文数据库》(Scopus)数据库是由世界上最大的学术期刊出版商荷兰Elsevier出版公司于2004年与全球21家研究机构设计而成的文摘索引数据库。它是目前全世界最大的自然科学和生物医学文摘型数据库,学科覆盖数学、物理学、化学、生物学、生命科学、农业、地球和环境科学、工程、心理学、社会科学等领域。通过Scopus数据库简洁直观的界面可以检索到来自全球4 000家科学出版公司的16 000种科学期刊、500余种会议录、超过600种的商业出版物以及超过125种的丛书或系列图书。