

FHIT 及 Ki67 在膀胱尿路上皮癌中的表达及与意义

张春霆¹, 刘冉录², 徐 勇²

摘要 目的: 观察 FHIT 及 Ki67 蛋白在膀胱尿路上皮癌组织中的表达及相关性。**方法:** 采用免疫组织化 SP 法检测 66 例膀胱癌和 42 例正常膀胱组织中 FHIT 及 Ki67 蛋白表达情况, 利用 Spearman 相关性分析对 FHIT 与 Ki67 蛋白进行相关性分析。**结果:** FHIT 蛋白在正常膀胱组织中的阳性率为 92.85%, 在膀胱尿路上皮癌中的阳性表达率为 39.39%; 而 Ki67 则相反; 在膀胱尿路上皮癌中的表达率为 90.91%; 在正常膀胱组织中表达率为 11.90%; FHIT 和 Ki67 蛋白的异常表达与膀胱尿路上皮癌临床分期、分化程度有关。Spearman 相关性分析显示, FHIT 与 Ki67 蛋白表达呈负相关。**结论:** 联合检测 FHIT 和 Ki67, 有助于提高膀胱尿路上皮癌侵袭能力的评估, 有助于膀胱尿路上皮癌临床预后判断。

关键词: 膀胱尿路上皮癌; FHIT; Ki67; 免疫组织化学

中图分类号: R737.14 **文献标识码:** A **文章编号:** 1007-6948(2019)03-0267-04

doi: 10.3969/j.issn.1007-6948.2019.03.004

Expression and Significance of FHIT and Ki67 in Bladder Urothelial Carcinoma ZHANG Chun-ting, LIU Ran-lu, XU Yong *Department of Urology, Jinhua People's Hospital, Jinhua (321000), China*

Abstract: Objective To observe the expression and correlation of FHIT and Ki67 protein in bladder urothelial carcinoma tissue. **Methods** The expression levels of FHIT and Ki67 protein in 66 cases of bladder cancer and 42 cases of normal bladder tissue were detected by immunohistochemical SP. Spearman correlation analysis was used to analyze the correlation between FHIT and Ki67 protein. **Results** The positive rate of FHIT protein was 92.85% in normal bladder tissue, and the positive rate in bladder urothelial carcinoma was 39.39%; Ki67 was the opposite, the expression rate in bladder urothelial carcinoma tissue was 90.91%, the expression rate in normal bladder tissue was 11.90%, while the abnormal expression of Ki67 and FHIT protein was related to the clinical stage and differentiation of bladder urothelial carcinoma. Spearman correlation analysis showed that FHIT was negatively correlated with Ki67 protein expression. **Conclusion** FHIT combined with Ki67 is detected helpful to evaluate the invasion ability and clinical prognosis of bladder urothelial carcinoma.

Key words: Bladder urothelial carcinoma; FHIT; Ki67; immunohistochemistry

多基因参与了膀胱尿路上皮癌的发生、发展^[1], 抑癌基因 FHIT 在多种肿瘤组织中表达缺失和下调^[2-3], 且与肿瘤的发生、发展和预后密切相关^[4-5]。Ki67 与肿瘤增殖有关的基因, 上升表达表明肿瘤恶性增殖, 但 FHIT 在膀胱尿路上皮癌中的作用机制远未阐明。本研究采用免疫组化 SP 法检测膀胱尿路上皮癌中 FHIT 与 Ki67 蛋白的表达

状况, 探讨 FHIT 与膀胱尿路上皮癌的临床、病理特征之间及 Ki67 之间的关系, 报道如下。

1 临床资料

1.1 一般资料 选取浙江省金华市人民医院和天津医科大学第二医院 2010 年 1 月—2015 年 1 月标本库中手术切除并经病理证实的膀胱尿路上皮癌标本 66 例, 男 41 例, 女 25 例; 年龄 42~75 岁, 平均 58.5 岁。肿瘤分期按 UICC -TNM 标准, T_{is}~T₁ 期 38 例, T₂~T₄ 期 28 例。病理分级按 WHO 方案, I 级 41 例, II 级 13 例, III 级 12 例。病理类型均为膀胱尿路上皮癌, 术前未接受放疗、化疗或免疫治疗。另取 42 例患者, 距肿瘤边缘 3 cm 以上癌旁正常膀胱进行对照。

基金项目: 浙江省医学会临床科研基金项目(2012ZYC-A83); 浙江省金华市科技局社会发展重点项目(2017-03-16); 浙江省卫生计生科技计划资助项目(2019-KY766)

1. 浙江省金华市人民医院泌尿外科(金华 321000)

2. 天津医科大学第二医院泌尿外科(天津 300211)

通信作者: 张春霆, E-mail: chuntingzhang11@163.com

1.2 免疫组化染色方法 所有标本经 10% 甲醛固定, 石蜡包埋。采用 S-P 免疫组化染色 (S-P 试剂盒及兔抗人 FHIT、Ki67 多克隆抗体购于北京中杉金桥生物技术有限公司), 免疫组化步骤严格按照说明书进行。用已知阳性切片作为阳性对照, 以磷酸盐缓冲液代替一抗作为阴性对照。

1.3 结果判定 评判标准: 按 FHIT 蛋白的分布阳性强度和阳性率。先按细胞染色强度评分: 染色强度与背景着色相对比, 无色为 0 分; 浅黄色为 1 分; 棕黄色为 2 分; 棕褐色为 3 分。再按阳性细胞所占百分比评分: 阴性为 0 分; 阳性细胞数 $\leq 10\%$ 为 1 分; 阳性细胞数 $11\% \sim 50\%$ 为 2 分; 阳性细胞数 $51\% \sim 75\%$ 为 3 分; 阳性细胞数 $> 75\%$ 为 4 分。Ki67 以细胞核出现棕黄色颗粒为阳性 (染色的内皮细胞不记入), 比较同一标本癌组织和正常组织中 FHIT 和 Ki67 蛋白的表达状况, 同时进行 FHIT 和 Ki67 蛋白的阳性细胞计数。染色强度与阳性细胞百分比的成积 ≥ 2 分为免疫反应 (+)。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 18.0 统计软件包进行统计分析。计数资料采用 χ^2 检验及精确概率法, 两者相关性分析采用 Spearman 相关性分析, 以 $P < 0.05$ 为统计学有显著性差异的标准。

2 结果

2.1 膀胱尿路上皮癌组织中 FHIT 和 Ki67 蛋白染色 FHIT 表现主要为细胞浆着色, 呈棕黄色或棕褐色颗粒; Ki67 表现主要为细胞核着色, 呈棕褐色颗粒, 见图 1、图 2。

2.2 FHIT 蛋白在膀胱尿路上皮癌中的表达 FHIT 蛋白在膀胱尿路上皮癌中表达的阳性率明显低于正常膀胱组织, 在膀胱尿路上皮癌 I 期

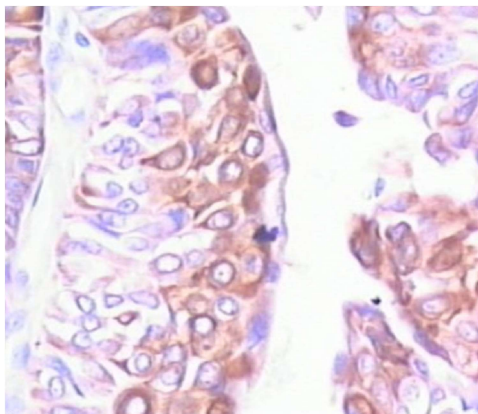


图 1 UCI 级 FHIT 蛋白表达 ($\times 200$)

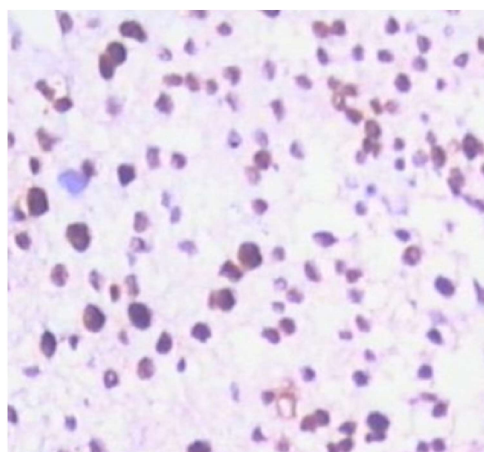


图 2 UCIII 级 Ki67 蛋白表达 ($\times 200$)

和 II~III 期相比, 差异有显著性。在表浅性膀胱尿路上皮癌中的阳性率是 50.05%, 在浸润性膀胱尿路上皮癌中是 24.00% ($P < 0.05$)。Ki67 蛋白在膀胱尿路上皮癌中表达的阳性率高于正常膀胱组织, 在膀胱尿路上皮癌 I 级低于 II~III 级, 在浸润性膀胱癌中表达高于表浅性膀胱癌。见表 1。

2.3 FHIT 与 Ki67 在膀胱尿路上皮癌组织中表达的相关性 在 26 例 FHIT 阳性病例中, Ki67 阴性表达 21 例。在 42 例 Ki67 阳性病例中, FHIT 阴性表达 24 例。两者都为阳性 5 例, 都为阴性 2 例。两者呈负相关 $r_s = -0.924$, $P < 0.05$ 。见图 3。

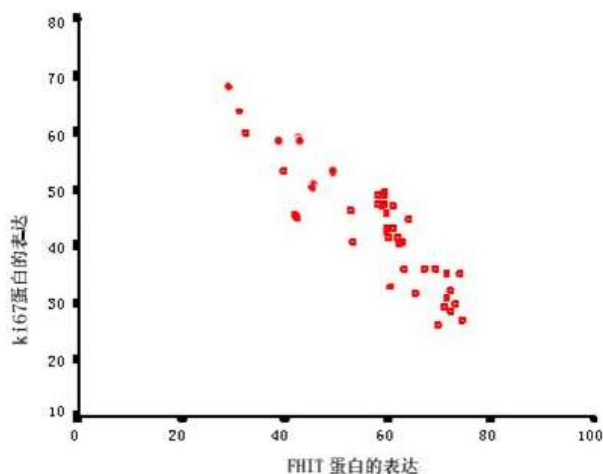


图 3 膀胱尿路上皮癌中 FHIT 蛋白表达与 Ki67 蛋白表达的相关性

3 讨论

肿瘤抑制基因 FHIT 包含脆性区域 FRA3B 位点, 其翻译的蛋白质通过与 Ap3A 结合成 FHIT-

表 1 FHIT 和 Ki67 蛋白与膀胱尿路上皮癌临床病理特征之间的关系

病理特征	n	FHIT 蛋白		χ^2	P	Ki67 蛋白		χ^2	P
		-	+			-	+		
组织类型									
癌组织	66	40	26	28.425	0.000	6	60	66.855	0.000
正常组织	42	3	39			37	5		
性别									
男	41	28	13	2.679	0.102	1	40	3.865	0.049
女	25	12	13			5	20		
年龄									
> 65 岁	42	30	12	5.666	0.017	2	40	1.377	0.241
< 65 岁	24	10	14			4	20		
吸烟史									
有	38	33	5	25.824	0.000	2	36	0.684	0.408
无	28	7	21			4	24		
TNM 分期									
T _{is} ~T ₁ 期	38	18	20	6.574	0.010	3	35	0.000	1.000
T ₂ ~T ₄ 期	28	22	6			3	25		
淋巴结转移									
有	15	14	1	7.025	0.008	1	10	0.000	1.000
无	51	26	25			5	50		
分化程度									
I	41	18	23	10.870	0.001	2	39	1.174	0.279
II~III	25	22	3			4	21		
肿瘤大小									
> 3 cm	18	16	2	6.743	0.009	1	17	0.017	0.896
< 3 cm	48	24	24			5	43		

Ap3A 复合物, 促使肿瘤细胞凋亡而发挥抑癌作用^[6]。也可与微管蛋白结合干扰微管形成, 干扰细胞有丝分裂, 阻止细胞过度增殖^[7]。还可通过 APO-1 (凋亡蛋白-1) 依赖凋亡途径, 阻止了 P53 有关的 MDM2 的活性, 使 P53 稳定表达而抑制肿瘤细胞增殖^[8]。

本研究采用免疫组化 SP 法, 对 66 例膀胱尿路上皮癌及 42 例正常膀胱上皮进行研究, 发现在膀胱尿路上皮癌组织中的 FHIT 表达阳性率显著低于正常膀胱尿路上皮, FHIT 表达阳性率随细胞分化程度降低和临床分期上升而逐渐降低。FHIT 表达与年龄、吸烟、肿瘤 > 3 cm 均有关, 表明 FHIT 表达随着年龄增长而下降, 烟草中的某种有害物引起 FHIT 基因的表达缺失。肿瘤大、恶性程度 FHIT 表达降低更加显著, 提示 FHIT 蛋白失活在诱导肿瘤细胞发展。Ki67 是细胞周期相关的肿瘤增殖核抗原, 是常用的细胞增殖标志物^[9-10]。Ki67 在膀胱尿路上皮癌组织中显著高于正常膀胱尿路上皮组织。Ki67 蛋白表达阳性率随细胞分化程度降低有逐渐增高的趋势, 中高分化组明显低于低分化组。表浅性肿瘤 T_{is}~T₁ 期明显高于 T₂~T₄ 期, 浸润性肿瘤阳性率高于非浸润

性。提示 Ki67 表达增高可能与肿瘤发生发展有关, 促进肿瘤的异常分化和浸润发展。有研究表明, Ki67 的表达与肿瘤的预后有关^[11-12]。本组资料显示, 膀胱尿路上皮癌组织中 FHIT 蛋白下降表达与 Ki67 表达增强相关性, 且二者呈负相关。FHIT 作为肿瘤抑制基因, 可能通过多种方式失活致使膀胱尿路上皮癌发生发展, 也可能通过抑制肿瘤细胞周期抑制多种肿瘤相关基因而抑制肿瘤细胞增殖。

FHIT 基因失活与多种肿瘤相关, FHIT 基因在膀胱尿路上皮癌中作用机制可能抑制肿瘤细胞周期的进展而抑制肿瘤细胞的增殖。但要了解 FHIT 基因在膀胱尿路上皮癌中确切作用的分子机制, 尚需进一步深入研究。

参考文献:

- [1] Lim YW, Chen-Harris H, Mayba O, et al. Germline genetic polymorphisms influence tumor gene expression and immune cell infiltration[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2018, 115(50): E11701-E11710.
- [2] Ohta M, Inoue H, Coticelli MG, et al. The FHIT gene, spanning the chromosome 3p14.2 fragile site and renal carcinoma associated t(3;8) breakpoint, is abnormal in digestive tract cancers [J]. Cell, 1996, 84(4): 587-597

- [3] Shumway BS, Kresty LA, Larsen PE, et al. Effects of a Topically Applied Bioadhesive Berry Gel on Loss of Heterozygosity Indices in Premalignant Oral Lesions[J]. Clin Cancer Res, 2008, 14(8):2421-2430.
- [4] Czyzewska J, Guzińska-Ustymowicz K, Pryczynicz A, et al. Immunohistochemical assessment of Fhit protein expression in advanced gastric carcinomas in correlation with Helicobacter pylori infection and survival time[J]. Folia Histochem Cytobiol, 2009, 47(1):47-53.
- [5] Burrow AA, Williams LE, Pierce LC, et al. Over half of breakpoints in gene pairs involved in cancer-specific recurrent translocations are mapped to human chromosomal fragile sites[J]. BMC Genomics, 2009, 10(1):59-61.
- [6] Syeed N, Husain SA, Sameer AS, et al. Mutational and promoter hypermethylation status of FHIT gene in breast cancer patients of Kashmir[J]. Mutat Res, 2011, 707(12):1-8.
- [7] Liu XP, Yin XH, Yan XH, et al. The Clinical Relevance of Fragile Histidine Triad Protein (FHIT) in Patients with Bladder Cancer[J]. Med Sci Monit, 2018, 24(12): 3113-3118.
- [8] Paluszczak J, Misiak P, Wierzbicka M, et al. Frequent hypermethylation of DAPK, RARBeta, MGMT, RASSF1A and FHIT in laryngeal squamous cell carcinomas and adjacent normal mucosa[J]. Oral Oncol, 2011, 47(2):104-107.
- [9] Toyoda T, Totsuka Y, Matsushita K, et al. γ -H2AX formation in the urinary bladder of rats treated with two norharman derivatives obtained from o-toluidine and aniline[J]. J Appl Toxicol, 2018, 38(4): 537-543.
- [10] Hurst CD, Alder O, Platt FM, et al. Genomic Subtypes of Non-invasive Bladder Cancer with Distinct Metabolic Profile and Female Gender Bias in KDM6A Mutation Frequency[J]. Cancer Cell, 2017, 32(5): 701-715, e7.
- [11] Xu C, Yang X, Wang Y, et al. An analysis of the polymorphisms of the GLUT1 gene in urothelial cell carcinomas of the bladder and its correlation with p53, Ki67 and GLUT1 expressions[J]. Cancer Gene Ther, 2017, 24(7): 297-303.
- [12] Eskaros AR, Egloff SA, Boyd KL, et al. Larger core size has superior technical and analytical accuracy in bladder tissue microarray[J]. Lab Invest, 2017, 97(3): 335-342.

(收稿: 2018-12-27 修回: 2019-01-22)

(责任编辑: 张亚强)

