

Bmi-1 在卵巢癌组织中的表达与临床病理意义

黄小杏¹, 陈杰伟², 李梅², 曹云², 侯景辉², 吴秋良², 罗容珍^{2*}

(1.广东省阳江市人民医院病理科, 2.华南肿瘤国家重点实验室//中山大学肿瘤防治中心病理科, 广东 广州 510060)

摘要:【目的】探讨多梳基因家族成员 Bmi-1 在卵巢上皮性肿瘤中的表达及其临床病理意义。【方法】运用免疫组化 SP 法检测 Bmi-1 蛋白在 12 例正常卵巢、20 例卵巢囊腺瘤、28 例卵巢交界性肿瘤和 124 例卵巢癌患者中的表达情况。【结果】免疫组化检测结果显示, 分别有 1/20 (5.0%) 的卵巢良性囊腺瘤、4/28 (14.3%) 的交界性肿瘤和 49/124 (39.5%) 的卵巢癌出现 Bmi-1 蛋白过表达, 而 12 例正常卵巢组织均未见 Bmi-1 过表达; 而且 Bmi-1 蛋白过表达与本组卵巢癌的临床 FIGO 分期, pT 分期, pN 分期以及组织学 Silverberg 分级均呈显著正相关 ($P < 0.05$)。Kaplan-Meier 生存分析显示 Bmi-1 蛋白高表达卵巢癌患者生存时间明显低于低表达组 (104.0 月; 50.3 月, $P < 0.001$)。多因素 Cox 回归分析结果显示: Bmi-1 表达是影响卵巢癌预后的独立因素 ($P = 0.006$)。【结论】Bmi-1 蛋白过度表达与卵巢癌的发展, 淋巴结转移及预后密切相关, 是卵巢癌患者独立的预后指标。

关键词: 卵巢肿瘤; Bmi-1; 免疫组织化学; 转移; 预后

中图分类号: R737.31

文献标识码: A

文章编号: 1672-3554(2010)06-0862-05

Expression of Bmi-1 in Ovarian Carcinoma and Its Clinicopathological Significance

HUANG Xiao-xing¹, CHEN Jie-wei², LI Mei², CAO Yun², HOU Jing-hui², WU Qiu-liang², LUO Rong-zhen^{2*}

(1. Department of Pathology, Yangjiang People's Hospital, Yangjiang 510000, china; 2. State Key Laboratory of Oncology in South China//Department of Pathology, Cancer Center, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510060, China)

Abstract: 【Objective】To investigate the expression of Polycomb-group (PcG) family gene Bmi-1 in epithelial ovarian neoplasm and its clinicopathological significance. 【Methods】Immunohistochemistry were performed to examine the protein expression in 12 normal ovaries, 20 ovarian cystadenomas, 28 borderline tumors, and 124 ovarian carcinomas using a standard streptavidin-biotin-peroxidase complex method. 【Results】In immunohistochemistry study, none of normal ovarian tissues, 1/20 (5.0%) benign ovarian adenomas, 4/28 (14.3%) borderline tumors and 49/124 (39.5%) ovarian carcinomas were detected overexpression of Bmi-1 protein. A significant positive correlation between Bmi-1 overexpression and tumors FIGO stage, T stage, N stage and Silverberg's grade was observed in ovarian carcinoma cohorts ($P < 0.05$). Kaplan-Meier survival analysis demonstrated that the survival rate of the patients with intensive Bmi-1 expression was significantly lower than those with low expression (104.0 months vs 50.3 months, $P < 0.001$). Bmi-1 expression provided significant independent prognostic parameters in multivariate Cox regression analysis ($P = 0.006$). 【Conclusion】Expression of Bmi-1 protein is associated closely with the development, lymph node metastasis, and prognosis of ovarian carcinomas, and is an independent parameter of patient with ovarian carcinoma.

Key words: Ovarian neoplasm; Bmi-1; immunohistochemistry; metastasis; prognosis

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2010, 31(6): 862-866]

卵巢癌(ovarian cancer)是女性生殖器官三大恶性肿瘤之一, 发病年龄以 45 岁以上为高峰^[1], 其发生是一个多基因改变多步骤发展的复杂过程^[2]。Bmi-1(B cell-specific murine leukemia virus integra-

tionsite-1)基因为多梳基因(PcG)家族成员之一, 与 c-myc 协同引起细胞的转化和肿瘤的形成, 并参与细胞增殖的调控^[3]。Bmi-1 是一种广泛表达的核蛋白, 近年来, 研究发现 Bmi-1 蛋白在卵巢癌组

收稿日期: 2010-06-25

基金项目: 国家自然科学基金(30901709)

作者简介: 黄小杏, 医学本科, 主治医师; * 通信作者: 罗容珍, 医学硕士, 主治医师; 研究方向: 妇科肿瘤病理。E-mail: luorzh@susucc.org.cn.

织中呈现高表达,在卵巢癌的发生发展中起重要的作用,并且 Bmi-1 表达跟卵巢癌的组织学分级及临床分期密切相关^[4-6]。然而,Bmi-1 在卵巢良性和交界性肿瘤中的表达情况及其在卵巢癌预后中的作用,国内外研究甚少。本研究以 172 例卵巢良恶性上皮性肿瘤患者为研究对象,运用免疫组化方法,探讨 Bmi-1 在卵巢良恶性肿瘤中的表达情况,结合患者的临床与病理学资料,分析它们之间的相关性以及在卵巢患者预后中的作用。

1 材料与方法

1.1 材料

20 例卵巢腺瘤、28 例卵巢交界性肿瘤和 124 例卵巢癌患者选自阳江市人民医院和中山大学附属肿瘤医院病理科 1996 年 9 月至 2005 年 8 月的手术标本,124 例卵巢癌患者平均年龄为 50.6 岁,且均有完整的随访资料,平均随访时间 40.9 月(0 ~ 155 月),临床病理资料的收集还包括卵巢癌的组织学分型、Silverberg 组织学分级和 FIGO(国际妇产科联盟)分期。另外,选取 12 例非卵巢肿瘤病人的手术切除正常卵巢组织作为实验对照。

1.2 免疫组织化学染色

Bmi-1 蛋白的免疫组化染色应用标准 SP 法。抗原修复条件为:10 mmol/L 柠檬酸钠缓冲液(pH = 6.0)中微波煮沸 15 min。兔抗人单克隆抗体 Bmi-1(上海生物技术公司,武汉)的工作浓度分别为 1:2 000,抗体孵育条件为 4 ℃过夜。实验设置阳性和阴性对照,分别用已知阳性组织作为阳性对照,用 PBS 代替 I 抗作为阴性对照。

1.3 免疫组化结果的判断

Bmi-1 蛋白阳性反应为胞核内染色;染色结果采用 Thomas 综合计分法计算,即随机选取 5 个视野计数阳性细胞占肿瘤细胞的平均数,阳性细胞 < 10%计 0 分,11% ~ 25%计 1 分,26% ~ 50%计 2 分,51% ~ 75%计 3 分,76% ~ 100%计 4 分。染色强度以多数阳性细胞呈现的染色特性计分,淡黄色计 1 分,棕黄色计 2 分,棕褐色计 3 分。将阳性细胞数和着色强度两者的计分相乘,以中位数作为低表达和高表达的截断值。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 13.0 统计软件进行统计处理。各因素间相关分析采用 χ^2 检验;生存分析采用 Kaplan-

Meier 法,预后分析采用多因素 Cox 回归模型。双侧 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 Bmi-1 蛋白在良恶性卵巢上皮性肿瘤中的表达

免疫组化结果显示:Bmi-1 阳性反应主要表达于细胞核,虽然有极少量细胞浆也出现了棕黄色颗粒(图 1)。本组研究中,在 124 例卵巢癌组织中,有 49 例呈现 Bmi-1 高表达,而 28 例交界性肿瘤只有 4 例(占 14.3%)呈高表达和 1/20(5%)的卵巢囊腺瘤出现 Bmi-1 蛋白呈过度表达;20 例正常的卵巢组织中均未观察到 Bmi-1 蛋白的过表达。Bmi-1 蛋白在卵巢良恶性肿瘤及正常组织的差异表达具有统计学意义($P < 0.001$,表 1)。

2.2 卵巢癌中 Bmi-1 蛋白表达与临床病理参数之间的关系

在 124 例卵巢癌中,Bmi-1 蛋白表达与肿瘤的 Silverberg 分级,T 分期,N 分期和临床 FIGO 分期均有显著的相关性($P < 0.05$, χ^2 检验),其中 60.0% 的 Silverberg G3 级的卵巢癌出现 Bmi-1 蛋白的过度表达,其阳性率明显高于 G1/G2 级的卵巢癌;在 pT,pN 和 FIGO 分期中,临床晚期卵巢癌的 Bmi-1 蛋白过表达率也明显高于 I/II 期的肿瘤(表 2)。本研究中卵巢癌 Bmi-1 蛋白表达与病人年龄,肿瘤组织学分型及 pM 分期均未显示有统计学意义上的相关性(表 2)。

2.3 Bmi-1 蛋白的表达及卵巢癌患者预后关系

Kaplan-Meier 生存分析表明,Bmi-1 表达水平明显上调的患者,其平均生存时间明显短于那些低表达的患者(104 月:50 月, $P < 0.001$,图 2、表 3),其他一些与预后相关统计学有意义的临床病理参数还有组织学分级、pT、pN、pM 及 FIGO 分期($P < 0.05$,表 3)。多因素 Cox 回归分析,结果发现 Bmi-1 蛋白表达是卵巢癌患者的独立预后因素(相对危险度:2.488,可信区间 1.416,4.371; $P = 0.006$,表 4)。

3 讨论

Bmi-1 基因为多梳基因家族(polycomb of genes, PcG)成员之一,它与 c-myc 协同作用可以引起细胞转化和肿瘤形成,并参与细胞增殖的调控。Bmi-1

表 1 良恶性卵巢上皮性肿瘤中 Bmi-1 蛋白表达情况

Table 1 The expression patterns of Bmi-1 protein in ovarian benign and malignant epithelial tumors n(%)

	Cases	Bmi-1 low expression	Bmi-1 high expression
Normal ovaries	12	12(100)	0(0)
Benign cystadenomas	20	19(95.0)	1(5.0)
Borderline tumors	28	24(85.7)	4(14.3)
Ovarian carcinomas	124	75(60.5)	49(39.5)

表 2 卵巢癌 Bmi-1 蛋白表达与其临床病理学参数的相关性

Table 2 Association of Bmi-1 expression with ovarian patients' clinicopathologic variables n(%)

	Cases	Bmi-1 low expression	Bmi-1 high expression	P ¹⁾
Age(years)				0.400
≤ 50.6	64	41(64.1)	23(35.9)	
> 50.6	60	34(56.7)	26(43.3)	
Histological type				0.703
Serous	84	52(61.9)	32(38.1)	
Mucinous	19	12(63.2)	7(36.8)	
Others	21	11(52.4)	10(47.6)	
Silveberg grade				0.005
G1	26	21(80.8)	5(19.2)	
G2	65	41(63.1)	24(36.9)	
G3	33	13(39.4)	20(60.6)	
pT stage				0.041
pT1	37	28(75.7)	9(24.3)	
pT2	20	13(65.0)	7(35.0)	
pT3	67	34(50.7)	33(49.3)	
pN stage				0.000
pN0	67	51(76.1)	16(23.9)	
pN1	57	24(42.1)	33(57.9)	
pM stage				0.122
pMX	104	66(63.5)	38(36.5)	
pM1	20	9(45.0)	11(55.0)	
FIGO stage				0.017
I	23	19(82.6)	4(17.4)	
II	11	7(63.6)	4(36.4)	
III	70	42(60.0)	28(40.0)	
IV	20	7(35.0)	13(65.0)	

1) χ^2 test

对于造血干细胞自我更新及分化潜能维持起着极其重要的角色,并在部分血液系统恶性疾病,包括白血病及淋巴瘤的发生和发展中发挥重要作用^[3]。近些年,有文献报道 Bmi-1 基因在中心体复制扩增中起着重要的作用^[7]。最近研究发现 Bmi-1 在大部分人体正常组织中都不表达或呈低表达,而其 mRNA 和蛋白在很多肿瘤组织或细胞中却表

达上调,并且患者预后不良相关,因此被认为是一种潜在的癌基因^[8-10]。

本研究发现 Bmi-1 在正常卵巢组织和良性及交界性肿瘤中均呈阴性或低水平的表达,而在卵巢癌组织则有 39.5% 出现 Bmi-1 蛋白的过度表达。进一步的分析发现,多数的临床晚期(Ⅲ/Ⅳ期)卵巢癌呈 Bmi-1 蛋白过度表达,而只有少数临

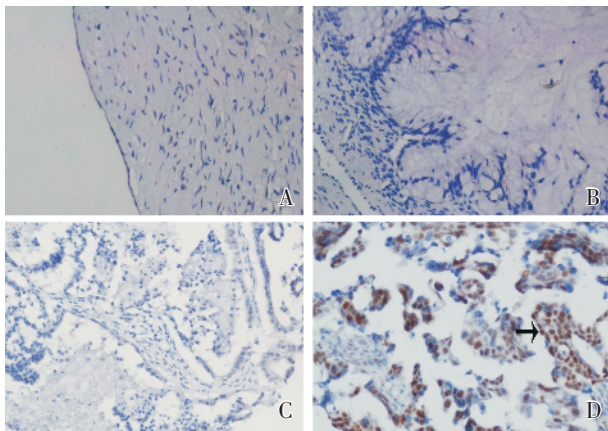


图 1 卵巢组织中 Bmi-1 蛋白表达情况

Fig.1 Expression of Bmi-1 protein in ovarian tissues

A: Negative expression of Bmi-1 was seen in a normal surface epithelium of ovary; B: Negative expression of Bmi-1 protein was shown in an ovarian cystadenoma; C: A ovarian borderline tumor demonstrated low expression of Bmi-1 protein, in which less than 5% of tumor cells showed positive staining of Bmi-1 in nuclei; D: High expression of Bmi-1 was observed in an ovarian carcinoma, where more than 90% carcinoma cells demonstrated positive staining of Bmi-1 in nuclei. IHC ×200.

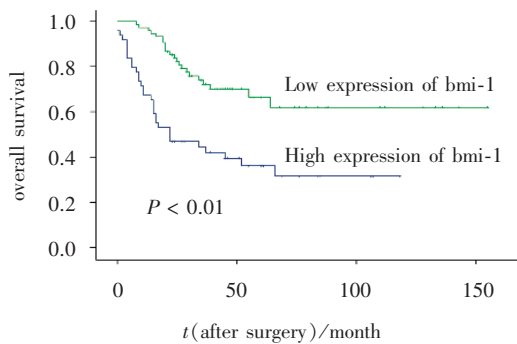


图 2 卵巢癌中不同 Bmi-1 表达水平患者的生存曲线 (Kaplan-Meier 检验)

Fig.2 Survival curve of ovarian cancer patients according to differently expressed Bmi-1 protein (Kaplan-Meier test)

床早期 (I / II 期) 的肿瘤过度表达 Bmi-1。最近, 荧光原位杂交方法也显示 Bmi-1 蛋白在 32% 卵巢癌组织呈高表达^[11], 而且有报道 Bmi-1 的高表达跟肿瘤的低分化和晚的临床分期呈现正相关^[4-6]。这些结果均提示, Bmi-1 蛋白的过度表达可能在卵巢癌发生发展中担当重要的作用, 参与了部分肿瘤的浸润和淋巴结转移等恶性进程。

Kaplan-Meier 生存分析显示 Bmi-1 蛋白高表达的患者, 其平均生存时间明显短于低表达的患

表 3 单因素生存分析 124 例卵巢癌患者预后与临床病理参数和 Bmi-1 表达的关系 (log-rank test)

Table 3 Relationship between clinicopathological parameters, Bmi-1 expression and 124 ovarian carcinomas survival by univariate survival analysis (log-rank test)

Variable	All cases	Mean survival time(months)	P
Age(years)			0.574
≤ 50.6	64	83.4	
> 50.6	60	85.4	
Histological type			0.867
Serous	84	78.7	
Mucinous	19	74.4	
Others	21	98.1	
Silveberg grade			0.011
G1	26	104.0	
G2	65	91.8	
G3	33	39.6	
pT stage			0.020
pT1	37	101.3	
pT2	20	95.9	
pT3	67	69.4	
pN stage			0.000
pN0	67	100.0	
pN1	57	43.0	
pM stage			0.000
pMX	104	95.6	
pM1	20	26.3	
FIGO stage			0.000
I	23	134.2	
II	11	115.0	
III	70	71.5	
IV	20	21.5	
Bmi-1 expression			0.000
Low expression	75	104.0	
High expression	49	50.3	

者。进一步的多变量 Cox 回归分析发现 Bmi-1 蛋白表达是卵巢癌患者的独立预后因素之一。关于 Bmi-1 的表达与肿瘤预后之间的关系, 目前国内外报道均较少, 尤其是在卵巢癌预后中的作用。在鼻咽癌研究中, 发现 Bmi-1 蛋白阳性表达着的 5 年生存率明显低于 Bmi-1 阴性的患者, 多因素分析也发现 Bmi-1 表达上调是鼻咽癌预后不良的指标^[12]。在对胃癌的研究中也发现 Bmi-1 基因 mRNA 表达也与胃癌大小、淋巴结转移及浸润深度密切相关,

表 4 多变量 Cox 回归分析影响总体生存率的独立预后因素

Table 4 Independent prognostic factors of ovarian carcinoma overall survival: multivariate Cox regression analysis

Variable	β	Relative risk	95% confidence interval	P
Bmi-1 ¹⁾	0.911	2.488	1.416 ~ 4.371	0.006
FIGO stage ²⁾	1.890	6.618	1.735 ~ 25.243	0.002
pN stage ³⁾	0.592	1.808	0.985 ~ 3.318	0.043

1) low expression vs high expression; 2) stage I vs stage II vs stage III vs stage IV; 3) grade 1 vs grade 2 vs grade 3

Bmi-1 mRNA 阳性表达患者生存率明显低于阴性者^[13];另外,也有文献报道 Bmi-1 在胃癌细胞的侵袭和增殖中起着重要的角色^[14]。在对舌癌研究中,发现 Bmi-1 高表达跟舌癌的复发密切相关^[15]。本研究结果与文献的报道基本是一致的,Bmi-1 蛋白表达与患者恶性生物学参数密切相关,是卵巢癌患者预后不佳的预后标记之一。据此推测 Bmi-1 蛋白在部分卵巢癌细胞中的表达上调,可能与肿瘤的恶性组织学表型密切相关,可以作为判断卵巢癌预后独立的分子标记之一,对指导卵巢癌的个体化治疗具有一定的临床意义。

综上所述,卵巢癌组织中 Bmi-1 蛋白与肿瘤的某些生物学参数密切相关,研究 Bmi-1 在卵巢癌中的表达对于患者的预后估计和指导治疗具有一定的临床价值。

参考文献:

[1] Freund KM, Dolan NC, Nelson HD. Update in women's health [J]. Ann Int Med, 2003, 138(2): 119-127.
 [2] 梁立治,颜笑健,熊 樱,等. 卵巢上皮性癌组织中 WAF1 基因的表达[J]. 中山大学学报:医学科学版, 2003,24(6):581-584.
 [3] Haupt Y, Bath ML, Harris AW, et al. Bmi-1 transgene induces lymphomas and collaborates with myc in tumorigenesis [J]. Oncogene, 1993, 8(11): 3161-3164.
 [4] Zhang F, Sui L, Xin T. Correlations of BMI-1 expression and telomerase activity in ovarian cancer tissues [J]. Exp Oncol, 2008, 30(1): 70-74.

[5] Bhattacharya R, Nicoloso M, Arvizo R, et al. MiR-15a and MiR-16 control Bmi-1 expression in ovarian cancer [J]. Cancer Res, 2009, 69(23): 9090-9095.
 [6] Honig A, Weidler C, Häusler S, et al. Overexpression of polycomb protein BMI-1 in human specimens of breast, ovarian, endometrial and cervical cancer [J]. Anticancer Res, 2010, 30(5): 1559-1564.
 [7] 宋立兵,张 玲,曾木圣,等. 癌基因 BMI-1 对中心体复制的调节作用[J]. 中山大学学报:医学科学版, 2005,26(4):377-379.
 [8] Wang H, Pan K, Zhang HK, et al. Increased polycomb-group oncogene Bmi-1 expression correlates with poor prognosis in hepatocellular carcinoma [J]. Cancer Res Clin Oncol, 2008, 134(5): 535-541.
 [9] Kim JH, Yoon SY, Kim CN, et al. The Bmi-1 oncoprotein is overexpressed in human colorectal cancer and correlates with the reduced p16INK4a/p14ARF proteins [J]. Cancer Letters, 2004, 203(2): 217-224.
 [10] Van Lohuizen M, Frasch M, Wientjens E, et al. Sequence similarity between the mammalian bmi-1 proto-oncogene and the Drosophila regulatory genes Psc and Su(z)2 [J]. Nature, 1991, 353(6342): 353-355.
 [11] Yang GF, He WP, Cai MY, et al. Intensive expression of Bmi-1 is a new independent predictor of poor outcome in patients with ovarian carcinoma [J]. BMC Cancer, 2010, 10(133): 1741-2407.
 [12] 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.
 [13] 黄开红,刘建化,李学先,等. Bmi-1 基因过度表达与胃癌分化? 转移及预后的关系[J]. 南方医科大学学报,2007,27(7):973-979.
 [14] Li W, Li Y, Tan Y, et al. Bmi-1 is critical for the proliferation and invasiveness of gastric carcinoma cells [J]. J Gastroenterol Hepatol, 2010, 25(3): 568-575.
 [15] Häyry V, Mäkinen LK, Atula T, et al. Bmi-1 expression predicts prognosis in squamous cell carcinoma of the tongue [J]. Br J Cancer, 2010, 102(5): 892-897.

(编辑 张恩健)