

## Twist 在中晚期宫颈癌组织中的表达及临床意义研究

魏洁, 徐勤, 杨丽华  
(昆明医科大学第二附属医院, 云南昆明 650101)

**[摘要]** **目的** 研究 Twist 在中晚期宫颈癌组织中的表达及其与临床病理特征的关系, 探讨 Twist 在宫颈癌侵袭、转移和进展中的作用. **方法** 采用免疫组化法检测中、晚期宫颈癌组织微阵列芯片 78 例组织标本中 Twist 的表达情况; 分析其表达与临床病理间的关系. **结果** (1) 78 例宫颈癌组织中 Twist 的阳性表达率为 56/78 (71.8%); (2) Twist 在宫颈癌组织中表达与肿瘤组织学类型、FIGO 分期、淋巴转移、分化程度密切相关, 随着 FIGO 分期的变晚、淋巴转移的出现、分化程度的降低其表达逐渐增高 ( $P < 0.05$ ). **结论** Twist 在宫颈癌组织中表达可能与宫颈癌的侵袭、转移和进展密切相关.

**[关键词]** Twist; 宫颈癌; 中晚期; 表达; 临床意义

**[中图分类号]** R737.33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095 - 610X (2014) 01 - 0025 - 03

## Expression of Twist in Middle and Advanced Stages Cervical Cancer and Its Clinical Significance

WEI Jie, XU Qin, YANG Li - hua

(The Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650101, China)

**[Abstract]** **Objective** The purpose of this study was to research the expression of Twist in cervical cancer tissues and the relationship between its expression and clinicopathologic characteristic, and to investigate the role of twist in cervical cancer invasion, metastasis and progress. **Methods** Immunohistochemistry was used to detect the expression of the Twist in 78 cases of middle and advanced stages cervical cancer tissue microarray chip. The relationship between its expression and clinicopathological characteristic was analyzed. **Results** (1) The positive expression of twist in cervical cancer was 56/78 (71.8%); (2) The expression of Twist in cervical cancer was significantly related to tumor histology type, FIGO stage, lymph node metastasis and differentiation degree. With the increase of FIGO stage, the emergence of lymph node metastasis and the decrease of differentiation degree, the expression of Twist increased gradually ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The expression of Twist may be closely related to the invasion, metastasis and progress of cervical cancer.

**[Key words]** Twist; Cervical cancer; Middle and advanced stages; Expression; Clinical significance

宫颈癌是女性最常见的恶性肿瘤之一, 发病率和死亡率均居女性肿瘤第二位<sup>[1]</sup>. 侵袭、转移被认为是宫颈癌患者死亡的重要原因, 是影响患者预后的独立因素<sup>[2]</sup>. 因此研究与宫颈癌侵袭、转移的相关因素具有重要意义. Twist 在多种肿瘤的发展过程中可以通过抑制黏附蛋白的表达来刺激肿瘤侵袭和转移<sup>[3]</sup>, 本研究采用免疫组织化学方法检测

Twist 在中、晚期宫颈癌组织中的表达, 分析 Twist 与中晚期宫颈癌临床病理之间的关系, 探讨 Twist 在宫颈癌侵袭、转移和进展中的作用.

### 1 资料与方法

#### 1.1 组织芯片

**[基金项目]** 云南省应用基础研究基金资助项目 (2012FB162)

**[作者简介]** 魏洁 (1989~), 女, 山东菏泽市人, 在读硕士研究生, 主要从事妇科肿瘤临床工作.

**[通讯作者]** 杨丽华. E-mail: yanglihua0628@163.com

购自西安艾丽娜生物科技有限公司的宫颈癌组织微阵列芯片, 每张芯片共含 78 例组织标本, 每例取一点, 共 3 张芯片. 组织芯片的病理学诊断由 2 个独立的病理科医师一致得出. 芯片组织标本宫颈活检病理确诊为宫颈癌, 按照国际妇产科联盟 (FIGO) 2009 年修订的宫颈肿瘤分期标准, II 期 43 例, III 期 22 例, IV 期 13 例, 其中淋巴转移 31 例, 鳞癌 72 例, 腺癌 6 例. 患者平均年龄 ( $45.34 \pm 3.21$ ) 岁.

### 1.2 主要试剂

Twist 基因多克隆抗体和 S-P 免疫组化试剂盒、DAB 辣根过氧化物酶显色试剂盒均购自北京博奥森公司.

### 1.3 实验方法

应用 SP 免疫组化染色方法检测宫颈癌组织 Twist 的表达. 切片常规脱蜡、水化、微波炉修复抗原、封闭内源性过氧化物酶后每张切片滴加兔抗人 Twist 一抗 300  $\mu\text{L}$  (1:100 稀释), 4 $^{\circ}\text{C}$  过夜, 滴加生物素标记的二抗 300  $\mu\text{L}$ , 室温避光孵育 30 min, 滴加 DAB 显色液 300  $\mu\text{L}$ , 苏木素复染、常规脱水、透明、中性树胶封片、读片. 已知阳性片为阳性对照, PBS 代替一抗作为阴性对照.

### 1.4 Twist 表达评判标准

参照相关文献<sup>[4]</sup>, 在 Leica 光学显微镜 200 倍放大倍数观察切片, Twist 以细胞核或细胞质呈淡黄色至棕褐色颗粒为阳性. 随机选择 5 个视野, 每个视野计数 200 个细胞. 评分标准按 Shimizu 方

法, 根据阳性细胞百分比和染色强度评分: 根据染色强度分别记为 0 分 (阴性反应), 1 分 (淡黄色), 2 分 (棕黄色) 和 3 分 (棕褐色); 根据阳性细胞数目分别记为 0 分 (阳性细胞 < 10%), 1 分 (阳性细胞数 < 40%), 2 分 (阳性细胞数 40% - 70%), 和 3 分 (强阳性: 阳性细胞数 > 70%). 两类分值相乘, 5 个视野评分结果取均值. 0~3 分为 (-), 4~5 分为 (+), 6~分为 (++) , 9 分为 (+++). 得到各组的平均分数算得阳性表达率后进行统计分析比较.

### 1.5 统计学处理

采用 SPSS 软件对数据进行统计分析处理, 计数资料采用  $\chi^2$  检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义.

## 2 结果

Twist 在宫颈癌组织中的表达及与临床病理特征的关系, Twist 免疫组化阳性产物呈淡黄色至棕褐色颗粒, 主要定位于细胞核或细胞质 (图 1). 78 例宫颈癌组织中 Twist 的阳性表达率为 56/78 (71.8%). Twist 在宫颈癌组织中的表达均与肿瘤组织学类型、FIGO 分期、淋巴转移、分化程度密切相关, 随着 FIGO 分期的变晚、淋巴转移的出现、分化程度的降低 Twist 的表达均逐渐增高 ( $P < 0.05$ ), 见表 1.

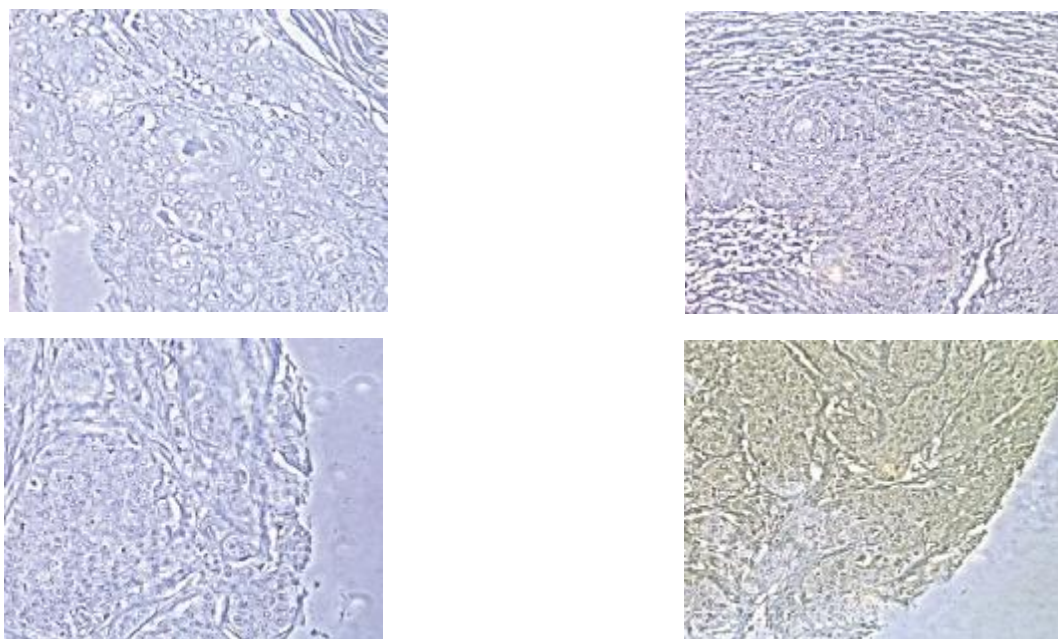


图 1 Twist 在宫颈癌组织中的表达 ( $\times 100$ , DAB)

Fig. 1 Expression of Twist in cervical cancer tissues ( $\times 100$ , DAB)

表 1 宫颈癌组织中 Twist 的表达与临床病理特征的关系  
Tab. 1 The relationship between the expression of Twist and the clinicopathological characteristic in cervical cancer

病理特征	n	Twist 表达 [n (%)]	P
组织学类型			
鳞癌	72	52(72.2)	< 0.05
腺癌	6	4(66.7)	
FIGO 分期			
II 期	43	29(67.4)	< 0.05
III 期	22	15(68.2)	
IV 期	13	12(92.3)	
淋巴转移			
有	31	25(80.6)	< 0.05
无	47	31(66.0)	
分化程度			
高	18	12(66.7)	< 0.05
中	51	38(74.5)	
低	8	6(75.0)	

### 3 讨论

中晚期宫颈癌患者高死亡率的原因是肿瘤细胞的广泛扩散、局部侵袭和淋巴转移, 有研究认为肿瘤细胞获得侵袭转移的能力是因为激活了体内与胚胎发育相关的转录因子所致。Twist 是一种在果蝇以及各种动物和人类胚胎发育中起关键调控作用的转录因子, 在细胞运动和组织重建中起主要作用<sup>[9]</sup>。Twist 在胎盘和胚胎中胚层以及某些中胚层来源的未分化组织中高表达, 在出生后降至低水平<sup>[6,7]</sup>。近年来的研究发现 Twist 表达异常与恶性肿瘤的发生发展有着密切的关系。Vesuna 等<sup>[8]</sup>发现, Twist 可以抑制 E-cad 的表达, 使细胞间粘附功能丧失或削弱, 使肿瘤细胞易于脱离原发灶向周围组织侵袭, 为肿瘤转移提供必要条件。

本研究应用免疫组化方法检测了宫颈癌 II 期、III 期和 IV 期的 78 例患者 twist 的表达以及其表达与临床病理特征的关系, 以研究 Twist 与宫颈癌进展的关系, 发现 Twist 主要定位于细胞核和细胞质中, 其阳性表达率为 71.8%, 晚期宫颈癌组织中的 Twist 表达高于早期; 腺癌组织中阳性率虽较低但其表达强度显著高于鳞癌组; 低分化组中表达显著高于中、高分化组; 有淋巴转移的患者其组织表达高于无淋巴转移组, 说明 Twist 可能与宫颈癌的发生、发展、侵袭转移有关。既往亦有学者曾报道 Twist 在宫颈癌组织中的表达, 如 Shibata K<sup>[9]</sup>等报道 Twist 高表达与宫颈癌患者生存率下降有关, 认为

Twist 是宫颈癌的一个独立预后指标。汪雯雯等<sup>[10]</sup>的研究亦发现 Twist 表达与 E-cad 表达程度呈负相关, 认为 Twist 的表达上调与淋巴结转移潜能正相关, 这些研究多是针对早期宫颈癌组织标本的研究, 晚期标本较少, 对于 Twist 与宫颈癌进展的关系多为推测而来。这是因为宫颈癌的治疗有手术、放疗和化疗, 而手术治疗主要局限于 I ~ II a 期患者, 对于 II b 以后的患者主要采用放射治疗或化学治疗, 因此难以得到中晚期宫颈癌患者组织标本, 本课题针对中晚期宫颈癌组织标本的研究能提供 Twist 在不同进展阶段宫颈癌组织中的表达, 为 Twist 与宫颈癌进展的关系提供直接证据。

综上所述, Twist 可能作为一个重要基因参与了宫颈癌进展的全过程, 有望成为宫颈癌疾病进展的良好预测指标, 作为抑制宫颈癌进展的靶基因, 逆转宫颈癌进展、侵袭转移的发生。

### [参考文献]

- [1] 李霓. 2003 ~ 2007 年中国宫颈癌发病与死亡分析[J]. 中国肿瘤, 2012, 21(11):801 - 804.
- [2] UNOT I, ITAMI J. Postoperative radiation therapy for stage IB-II B carcinoma of the cervix with poor prognostic factors [J]. Anticancer Res, 2000, 20(3B):2 235 - 2 239.
- [3] LEETK P, YUENAP. Twist over expression correlates with carcinoma metastasis through induction of epithelial-mesenchymal transition [J]. Clin Cancer Res, 2006, 12(18):5 369 - 5 376.
- [4] 许慧. Twist 在宫颈癌中的表达及其与 E-Cadherin 相关性的研究[D]. 长沙: 中南大学, 2012.
- [5] HAMAMORI Y, WHUNG-Y I, V. Sartorelli. The basic domain of myogenic basic helix-loop-helix (bHLH) proteins is the novel target for direct inhibition by another bHLH protein-Twist [J]. Mol Cell Biol, 1997, 17(11):6 563 - 6 573.
- [6] MAESTRO R DTA, HAMAMORI Y, MAESTRO R, et al. Twist is a potential oncogene that inhibits apoptosis [J]. Genes Dev, 1999, 13(17):2 207 - 2 217.
- [7] CASTANON I B M. A Twist in fate: Evolutionary comparison of Twist structure and function [J]. Gene, 2002, 287(1/2):11 - 22.
- [8] VESUNA F V D P, CHEN J H. Twist is a transcriptional repressor of E-cadherin gene expression in breast cancer [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2008, 367(2): 235 - 241.
- [9] SHIBATA K K H, INO K, SHIBATA K, et al. Twist expression in patients with cervical cancer is associated with poor disease outcome [J]. Ann Oncol, 2008, 19(1):81 - 85.
- [10] 汪雯雯. Twist 介导的上皮间质转化与宫颈癌发生发展相关性的研究[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2012, 18(22): 1 741 - 1 745.

(2013 - 11 - 11 收稿)