

## Bmi-1 基因在不同类型上皮性卵巢癌组织中的表达及临床意义

杨 涵<sup>1)</sup>, 黄学惠<sup>2)</sup>

(1) 昆明市妇幼保健院; 2) 昆明医科大学第一附属医院, 云南昆明 650032)

**[摘要]** **目的** 探讨 Bmi-1 基因表达与不同类型上皮性卵巢癌恶性生物学行为的相关性. **方法** 采用免疫组化 SABC 法检测 10 例浆液性囊腺癌、8 例粘液性囊腺癌、6 例子宫内膜样癌, 28 例良性卵巢肿瘤和 30 例正常卵巢组织中 Bmi-1 基因的表达情况, 并对其表达与患者年龄、组织学类型和临床分期之间的关系进行统计学分析. **结果** (1) Bmi-1 基因在浆液性癌中的阳性率是 60.00%, 在粘液性癌中的阳性率是 62.50%, 在恶性子宫内膜样癌中的阳性率是 50.00%, 均显著高于良性卵巢上皮性肿瘤组织 (7.14%) 和正常卵巢组织 (6.67%), 具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 但在卵巢上皮性癌各组间组织学差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); (2) 24 例卵巢上皮性癌中, Bmi-1 基因在 III 期患者组织中的阳性表达率 (100%) 显著高于 I ~ II 期患者组织 (41.48%), 其阳性表达随国际妇产科联盟 (FIGO 2000 年) 临床分期增高而增强, 具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 但其表达与卵巢上皮性癌患者的年龄差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ). **结论** Bmi-1 基因与上皮性卵巢癌的发生、发展、进展中起重要作用.

**[关键词]** 卵巢上皮性癌; Bmi-1; 免疫组化

**[中图分类号]** R737.31 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095 - 610X (2014) 05 - 0052 - 05

## Bmi-1 Expression in Different Types of Epithelial Ovarian Cancer Tissues and Its Clinical Significance

YANG Han<sup>1)</sup>, HUANG Xue-hui<sup>2)</sup>

(1) Kunming City Maternal and Child Health Hospital; 2) The 1st Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650032, China)

**[Abstract]** **Objective** The aim was to investigate the correlation of Bmi-1 gene expression with the malignant behavior of different types of epithelial ovarian cancer. **Methods** Immunohistochemical stains SABC method was used to detect the expression of Bmi-1 in epithelial ovarian cancer tissues, including 10 cases of serous adenocarcinoma, 8 cases of mucinous adenocarcinoma, 6 cases of endometrioid carcinoma, 28 cases of benign ovarian tumor and 30 cases of normal ovarian tissue. And the relationship of the expression with age of patients, histological type and clinical stage were statistically analyzed. **Results** (1) The positive rate of Bmi-1 gene in serous adenocarcinoma, mucinous adenocarcinoma and endometrioid carcinoma was 60.00%, 62.50% and 50.00%, respectively. All rates were significantly higher than those in benign epithelial ovarian tumor (7.14%) and normal ovarian tissue (6.67%), with statistical significance ( $P < 0.05$ ), but there was no statistical difference among the ovarian epithelial carcinoma histological groups ( $P > 0.05$ ). (2) In 24 cases of epithelial ovarian cancer, the positive expression rate of Bmi-1 (100%) in the tissue of stage III patients was significantly higher than that in the cancer tissue of stage I - II (41.48%). And the expression was enhanced with the increased clinical stage of International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO 2000), with statistical significance ( $P < 0.05$ ), but the expression of Bmi-1 was no difference in the age of epithelial ovarian cancer patients ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** Bmi-1 gene plays an important role in the occurrence, development and progress of epithelial ovarian cancer.

**[Key words]** Epithelial ovarian cancer; Bmi-1; Immunohistochemistry

**[作者简介]** 杨涵 (1986~), 女, 云南昆明市人, 医学硕士, 住院医师, 主要从事妇科肿瘤及妇科微创手术临床工作.

**[通讯作者]** 黄学惠. E-mail: [huangxuehui@yahoo.cn](mailto:huangxuehui@yahoo.cn)

卵巢上皮性癌 (epithelial ovarian cancer, EOC) 是死亡率最高的的妇癌, 因其种类繁多、发病隐匿、无创检查不易发现早期病变, 因此, 临床上多数患者发现时已属晚期 (Ⅲ~Ⅳ期), 5 a 生存率低于 20%, 而早期患者 (Ⅰ~Ⅱ期) 的 5 a 生存率可 > 90%<sup>[1]</sup>. 因此, 提高 EOC 的早期诊断水平对于患者的早发现、早治疗和提高患者生存率有非常重要的意义. 为能寻找到筛查 EOC 的特异性和灵敏性较好的肿瘤标志物, 本课题采用免疫组化 SABC 法, 分别检测了正常卵巢组织、良性卵巢上皮性肿瘤组织、卵巢上皮性癌组织中 Bmi-1 的表达情况, 分析其与卵巢上皮性癌的组织学类型、临床分期和年龄特征等之间的关系, 并探讨 Bmi-1 基因与卵巢癌恶性生物学行为的相关性, 现报道如下.

## 1 材料与方法

### 1.1 一般资料

从昆明医科大学第一附属医院病理科 2010 年 9 月至 2011 年 9 月存档蜡块中, 随机抽取临床资料完整的 82 例卵巢上皮组织, 将其分为如下 3 组: (1) 恶性组: 选取经手术治疗并经病理确诊的原发性上皮性卵巢癌组织 24 例, 其中浆液性囊腺癌 10 例、粘液性囊腺癌 8 例、子宫内膜样癌 6 例; (2) 良性组: 选取行手术治疗并经病理确诊的良性卵巢上皮性肿瘤组织 28 例, 其中浆液性囊腺癌 14 例, 粘液性囊腺癌 14 例; (3) 正常组: 选取因一侧卵巢巧克力囊肿行手术治疗, 术中另一侧肉眼卵巢组织增大而行卵巢组织剖探术后, 病理证实的正常卵巢组织 30 例. 所有病例均证实为初治病历, 排除身体其他部位肿瘤、高血压、心脏病、内分泌疾病、肝肾功能异常等疾病. 全部石蜡切片经 HE 染色后, 由 2 位经验丰富的病理医生采用核实诊断并挑选出合适的切片准备做免疫组化 SABC 法染色.

### 1.2 免疫组化 ABC 法

**1.2.1 试剂** Bmi-1 基因单克隆抗体购于美国 Abcam 公司 (货号: ab126783), 免疫组化染色 SABC 试剂盒购于英国 Novocastra 公司, 二氨基联苯胺 (DAB) 显色试剂盒购于福建迈新生物公司.

**1.2.2 方法** 按照 SABC 试剂盒说明书, Bmi-1 抗体稀释 1:200 进行操作, 检测 Bmi-1 基因的表达情况.

### 1.3 评分标准

采用双盲法, 由 2 名有经验的病理诊断医师同时进行. 以 PBS 液作为阴性对照, 综合文献报

道<sup>[2]</sup>: Bmi-1 基因阳性表达主要表现为细胞核呈棕色及黄褐色, 偶尔在细胞质呈黄褐色. 高倍视野 (x200) 随机取 5 个不同视野, 统计切片视野中细胞总数和核 / 浆阳性细胞数, 并按照: 阳性率 = 阳性细胞数 / 总细胞数 × 100%, 得出每位患者组织的阳性率, 并按照阳性细胞所占百分比计分: (1) 阳性细胞率 ≤ 5% 为 0 分; (2) 阳性细胞率 6% ~ 25% 为 1 分; (3) 阳性细胞率 26% ~ 50% 为 2 分; (4) 阳性细胞率 > 51% 为 3 分. 染色强弱程度计分: (1) 阴性 1 分; (2) 弱染色 2 分; (3) 中等强度染色 3 分; (4) 强染色 4 分. 将每张片着色程度得分与着色细胞百分率得分相乘, 为最后得分. 两者分数乘积 0 ~ 1 分为 (-), > 2 分为 (+). 统计分析时 (-) 表示阴性表达, (+) 表示阳性表达.

### 1.4 统计学分析

采用 SPSS 软件进行统计学分析, 计量资料结果用 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 计数资料用构成比或率表示, 计量资料两组比较采用两独立样本的 *t* 检验, 三组及三组以上比较采用单因素方差分析, 计数资料采用  $\chi^2$  检验或 Fisher 确切概率法, 相关性采用 Spearman 等级相关,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义.

## 2 结果

### 2.1 临床资料基线

本课题中正常卵巢组织的年龄范围为 25 ~ 59 岁, 平均 (40.4 ± 9.4) 岁, 良性卵巢上皮性肿瘤组织的年龄范围为 22 ~ 68 岁, 平均 (40.0 ± 11.5) 岁, 卵巢上皮性癌组织的年龄范围为 20 ~ 57 岁, 平均 (38.8 ± 11.0) 岁; 正常卵巢和各种病理类型的上皮性卵巢肿瘤患者平均年龄均差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 具有可比性; 在 24 例卵巢上皮性癌中, 根据国际妇产科联盟 (FIGO 2000 年) 临床分期 I 期 8 例, II 期 9 例, III 期 7 例, I 期、II 期和 III 期患者例数分布差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 见表 1.

### 2.2 Bmi-1 基因在不同类型上皮性卵巢肿瘤组织中的表达

免疫组化结果显示: Bmi-1 阳性反应主要表达于细胞核或细胞质, 以细胞核为主; 显色呈棕黄色. Bmi-1 在正常卵巢组织组 (正常组)、良性卵巢上皮性肿瘤组 (良性组)、卵巢上皮性癌组织组 (恶性组) 的阳性表达率分别为: 6.67%、7.14%、58.33%, 各组间统计学差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 见表 2, 染色见图 1 ~ 3.

2.3 Bmi-1 在不同类型上皮性卵巢癌组织中的表达

Bmi-1 在上皮性卵巢癌组织表达阳性率分布分别为：浆液性囊腺癌为 60.00%，粘液性囊腺癌为 62.50%，恶性子宫内膜样癌为 50.00%；不同上皮性卵巢癌组织间 Bmi-1 的阳性率均差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )，但均显著高于良性卵巢上皮性肿瘤组织，具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )，见表 3，染色见图 2、图 3。

2.4 Bmi-1 基因表达与卵巢上皮性癌临床特征的关系

Bmi-1 基因表达与卵巢上皮性癌组织临床分期有关，Bmi-1 在早期 (I ~ II 期) 和晚期 (III 期) 患者组织中的阳性表达率分别为：41.48%，100%，组间差异明显 (Fisher 确切概率法,  $P < 0.05$ )，其阳性表达均随国际妇产科联盟 (FIGO 2000 年) 临床分期增高而增强，见表 4。Bmi-1 表达与卵巢上皮性癌患者年龄均无明显差异 ( $P > 0.05$ )，见表 5。

表 1 临床资料基线 ( $\bar{x} \pm s$ )  
Tab. 1 The baseline of clinical data ( $\bar{x} \pm s$ )

项 目	正常卵巢	良性卵巢上皮性肿瘤	卵巢上皮性癌		
			浆液性	粘液性	子宫内膜样
n	30	28	10	8	6
平均年龄 (岁)	40.4 ± 9.4	40.0 ± 11.5	39.4 ± 10.6	39.5 ± 12.0	36.7 ± 11.9
分期					
I 期			3	3	2
II 期			4	3	2
III 期			3	2	2

表 2 Bmi-1 基因在不同类型上皮性卵巢肿瘤组织中的表达 [n (%)]

Tab. 2 The expression of Bmi-1 in different groups [n (%)]

分 组	n	Bmi-1
		阳性阳性率 (%)
正常组	30	2(6.67) <sup>△</sup>
良性组	28	2(7.14) <sup>△</sup>
恶性组	24	14(58.33) <sup>*</sup>

与正常组比较, \* $P < 0.05$ ; 与恶性组比较, <sup>△</sup> $P < 0.05$ .

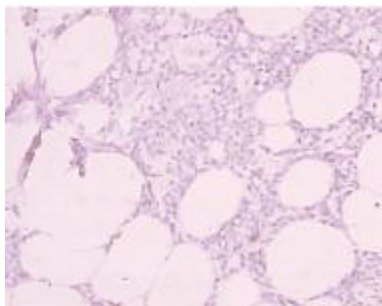


图 1 Bmi-1 在浆液性囊腺瘤中的表达 (免疫组化, 200 ×)

Fig. 1 Bmi-1 expression adenocarcinoma serous adenocarcinoma (immunohistochemistry, 200 ×)

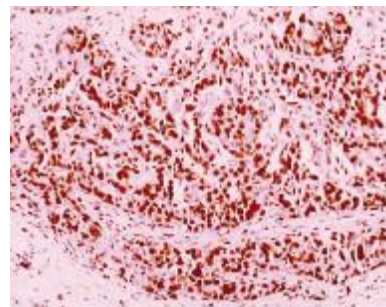


图 2 Bmi-1 在卵巢浆液性囊腺癌中的表达 (免疫组化, 200 ×)

Fig. 2 Bmi-1 expression in ovarian serous adenocarcinoma (immunohistochemistry, 200 ×)

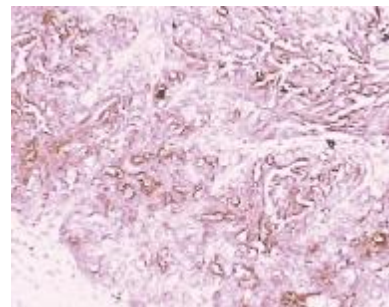


图 3 Bmi-1 在卵巢子宫内膜样癌中的表达 (免疫组化, 200 ×)

Fig. 3 Bmi-1 expression in ovarian endometrioid carcinoma (immunohistochemistry, 200 ×)

表 3 Bmi-1 在不同类型卵巢上皮性癌组织中的表达 (n)

Tab. 3 The expression of Bmi-1 in different types of epithelial ovarian cancer tissues (n)

病理类型	n	Bmi-1			
		阴性	阴性率 (%)	阳性	阳性率 (%)
良性卵巢肿瘤	28	26	92.86	2	7.14
浆液性囊腺癌	10	4	40.00	6	60.00*
粘液性囊腺癌	8	3	37.50	5	62.50*
恶性子宫内膜样癌	6	3	50.00	3	50.00*

与良性卵巢肿瘤比较, \* $P < 0.05$ .

表 4 Bmi-1 在上皮性卵巢癌中不同临床分期的表达

[n (%)]

Tab. 4 The expression of Bmi-1 in different stages of epithelial ovarian cancer [n (%)]

临床分期	Bmi-1	
	阴性	阳性
I~II期	10(58.82)	7(41.18)*
III期	0(0.00)	7(100.00)

与 III 期比较, \* $P < 0.05$ .

表 5 Bmi-1 与上皮性卵巢癌患者年龄的关系

Tab. 5 The correlation of Bmi-1 expression with the age of patients

名称	n	Bmi-1	
		阳性	阳性表达率 (%)
年龄 (岁)			
≤40	14	8	57.14
>40	10	6	60.00

注: 采用 Fisher 确切概率法。

### 3 讨论

卵巢恶性肿瘤中, 最常见的是体腔上皮来源的恶性肿瘤, 约占原发卵巢肿瘤的 70% 左右, 发病年龄以 45 岁以上为高峰<sup>[1]</sup>。由于卵巢位于盆腔深部, 所以卵巢癌早期症状多隐匿, 给卵巢癌早期诊断带来许多困难, 故卵巢癌患者初次就诊时, 70%~80% 的患者已属晚期<sup>[1]</sup>。卵巢癌的发生是涉及癌基因、抑癌基因表达的失调、细胞凋亡、细胞运动和迁移调控异常等多个方面, 但目前其发生、发展机制尚未完全阐明。尽管随着手术技巧不断提高, 已经可以最大限度地进行肿瘤细胞减灭术, 同时铂类及紫杉醇类等众多化疗药物的应用为患者提供了更多的治疗方案, 但是卵巢癌患者 5 a 生存率仍停滞不前<sup>[4]</sup>, 仍是妇科肿瘤领域中, 特别在预后方面是最有待研究和提高的一种肿瘤<sup>[5]</sup>。因此, 寻找和发现与卵巢癌病理生理过程密切相关的生物分子标

志物有十分重要的临床价值。

Bmi-1 在不同类型上皮性卵巢肿瘤组织中的表达及意义, B 细胞特异的莫洛尼白血病病毒插入位点 1 基因 (B-cell specific moloney murine leukemia virus insertion site 1, Bmi-1), 是荷兰癌症中心 1991 年在鼠淋巴瘤细胞中发现的, 属多梳基因 (polycomb group gene, PcG) 家族中重要的调节基因, 被认为是原癌基因, 调节干细胞自我更新和细胞增殖<sup>[6]</sup>。在机体发育过程中控制基因活性, 是一种广泛表达的核蛋白, 直接参与细胞生长、增殖的调节。人类 Bmi-1 基因定位于第 10 号染色体短臂 1 区 3 带 (10P13), 大小为 4.9 kb, 由 10 个外显子和 9 个内含子组成, 编码含 326 个氨基酸的蛋白, 分子量为 36.9 kDa, 其 NH<sub>2</sub> 末端包含一个保守 RF 域, 中央区域有 HTHT 机构像中心, 是诱导端粒酶活性和细胞永生化的决定簇<sup>[7]</sup>。同时, Bmi-1 参与多种生物过程, 例如胚胎发育、器官形成、肿瘤形成、干细胞稳定与分化。国内外有研究表明<sup>[8-12]</sup>, Bmi-1 在大部分人体正常组织中都不表达或呈低表达, 而在人类多种癌症如: 急性白血病、非小细胞肺癌、支气管鳞癌、结肠癌、乳腺癌中却表达上调, 并且与患者预后不良相关, 提示该基因在肿瘤形成中发挥了重要作用, 并可能与肿瘤恶性程度、侵袭及预后有关。

本研究发现 Bmi-1 基因在卵巢上皮性癌组、良性卵巢上皮性肿瘤组和正常卵巢组织组中的阳性表达率分别为: 58.33% (14/24)、7.14% (2/28)、6.67% (2/30), 与陈小萍<sup>[6]</sup>、Zhang 等<sup>[13]</sup>、刘春华等<sup>[14]</sup>和 Hong 等<sup>[15]</sup>的报道相近, Bmi-1 明显表达于过度增生细胞, 在正常细胞中低表达或不表达, 可见卵巢癌 DNA 表达失控, 导致细胞恶性增殖, 提示 Bmi-1 基因过度表达可以作为鉴别良恶性卵巢上皮性肿瘤的免疫标记物之一。进一步分析发现: Bmi-1 基因在 EOC 国际妇产科联盟 (FIGO 2000 年) 临床分期中的阳性表达率有显著统计学差异 ( $P < 0.05$ ), 100% 临床晚期 EOC 呈 Bmi-1 基因高表达, 而只有 41.48% 临床早期的肿瘤过度表达, 说明

Bmi-1 基因表达程度的检测可能作为判断 EOC 病情的指标。而 Bmi-1 基因表达与不同组织类型上皮性卵巢癌组间差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 与患者年龄无关 ( $P > 0.05$ ), 原因如下: (1) Bmi-1 基因的表达确实与卵巢肿瘤组织的类型和患者年龄无关, Bmi-1 的表达阳性可能是卵巢上皮性癌的普遍现象; (2) 样本例数不够。因此, 有必要进一步收集样本, 以明确这一论断是否正确。

综上所述, Bmi-1 基因可能在 EOC 的发生、发展、进展中起重要作用, 据此推测 Bmi-1 基因在上皮性卵巢癌组织中的表达上调, 可能与肿瘤的恶性生物学行为密切相关, 可以作为鉴别良、恶性卵巢上皮性肿瘤的免疫标记物, 可作为判断 EOC 病情的指标, 对指导 EOC 的个体化治疗具有一定的临床意义。

### [参考文献]

- [1] OZOLS R F, RUBIN S C, THOMAS G M, et al. Epithelial ovarian cancer[M]//Hoskins W J, Perez C A, Young R C, eds.Principles and practice of gynecologic oncology [C]. Philadha: Lippincott Williams and Wilkins, 2000: 981 - 1 058.
- [2] 徐良中, 杨文涛. 免疫组织化学反应结果的判定标准[J]. 中国癌症杂志, 1996, 6(4): 229 - 231.
- [3] FREUND K M, DOLAN N C, NELSON H D. Update in women's health [J]. Ann Int Med, 2003, 138(2): 119 - 127.
- [4] 沈铿, 郎景和. 卵巢上皮性癌诊断和治疗中应注意的问题[J]. 中华妇产科杂志, 2003, 51(2): 4 - 7.
- [5] 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.
- [6] 陈小萍. Bmi-1 基因编码蛋白在卵巢肿瘤中的表达[J]. 牡丹江医学院学报, 2006, 27(6): 6 - 8.
- [7] ALKEMA M, WIEGANT J, RAAP A P, et al. Characterization and chromosomal location of the human Protooncogen Bmi-1 [J]. Hum Mol Genet, 1993, 2(10): 1 597 - 1 603.
- [8] CUI H J, HU B, LI T, et al. Bmi-1 Is Essential for the Tumorigenicity of Neuroblastoma Cells [J]. The American Journal of Pathology, 2007, 170(4): 1 370 - 1 378.
- [9] REUBEN H, KIM, MO K, et al. Bmi-1 cooperates with human papillomavirus type 16 E6 to immortalize normal human oral keratinocytes [J]. Experimental Cell Research, 2007, 313(3): 462 - 472.
- [10] JCSTEELE, EETORR, KLNOAKES, et al. tumor associated antigens, L The polycomb group proteins, BMI-1 and EZH2, are tumor associated antigens [J]. Cancer Research UK, 2006, 95(9): 1 202 - 1 211.
- [11] KOZAKOWSKI N, SOLEIMAN A, PAMMER J. BMI-1 Expression is Inversely Correlated with the Grading of Renal Clear Cell Carcinoma [J]. Pathol Oncol Res, 2008, 14(1): 9 - 13.
- [12] LIU J H, SONG L B, ZHANG X, et al. Bmi-1 expression predicts prognosis for patients with gastric carcinoma[J]. J Surg Oncol, 2008, 97(3): 267 - 272.
- [13] ZHANG F, SUI L, XIN T. Correlations of CA125 expression and telomerase activity in ovarian cancer tissues [J]. EIp Oneol, 2008, 30(1): 70 - 74.
- [14] 刘春华, 唐良菘, 汤为学. Bmi-1、Caspase-8 蛋白在原发上皮性卵巢癌中的表达及其临床意义[J]. 重庆医科大学学报, 2009, 34(6): 712 - 717.
- [15] HONIG A, WEIDLER C, HAUSLER 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): 1 559 - 1 564.
- [16] 王福玲, 娄艳辉, 崔竹梅, 王蕾. 表皮生长因子受体在上皮性卵巢癌组织中的表达及其与预后的关系[J]. 海南医学院学报, 2011, 10(11): 1 460 - 1 464.
- [17] 向礼贤, 陈刚, 朱华强, 等. 卵巢癌患者术后早期血清 CA125、CEA 和 TSGF 的动态监测[J]. 海南医学院学报, 2012, 11(2): 223 - 226

(2014-03-21 收稿)