

EZH2及Fascin蛋白在侵袭性垂体腺瘤组织中的表达及临床意义

周峰¹,何华²

榆林市第一医院神经外科¹、眼科²,陕西 榆林 718000

【摘要】目的 探讨组蛋白赖氨酸N-甲基转移酶(EZH2)和肌动蛋白结合蛋白(Fascin)在侵袭性垂体腺瘤组织中的表达水平及与其临床预后的关系。**方法** 回顾性收集2013年5月至2016年5月榆林市第一医院收治的102例垂体腺瘤患者的临床资料,将其分为侵袭组($n=50$)和非侵袭组($n=52$),采用免疫组化法检测两组患者垂体腺瘤中EZH2、Fascin的阳性表达率;Pearson相关系数分析EZH2、Fascin的阳性表达率的相关性;采用单因素和多因素分析影响侵袭性垂体腺瘤患者预后的相关因素;利用Kaplan-Meier法分析EZH2、Fascin蛋白表达与侵袭性垂体腺瘤患者3年生存率的关系。**结果** 侵袭组患者EZH2、Fascin阳性率分别为74.00%、66.00%,明显高于非侵袭组的51.92%、30.77%,差异均有统计学意义($P<0.05$);Pearson相关性分析显示:EZH2与Fascin阳性表达水平呈正相关($r=0.672, P<0.001$);单因素及多因素分析结果显示:肿瘤 ≥ 3 cm、EZH2阳性及Fascin阳性水平是影响垂体腺瘤预后的独立危险因素($P<0.05$);侵袭组患者中EZH2、Fascin阴性表达者的生存率分别为92.31%(12/13)、88.24%(15/17),明显高于阳性的54.05%(20/37)、51.52%(17/33),差异均有统计学意义($P<0.05$)。**结论** EZH2、Fascin蛋白阳性表达可作为判断侵袭性垂体腺瘤发生、发展的重要指标,且对侵袭性垂体腺瘤患者具有较好的预后价值。

【关键词】 组蛋白赖氨酸N-甲基转移酶;肌动蛋白结合蛋白;侵袭性垂体腺瘤;表达;临床意义

【中图分类号】 R739.4 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003—6350(2020)05—0586—04

Expression of EZH2 and Fascin in invasive pituitary adenoma tissue and their clinical significance. ZHOU Feng¹, HE Hua². Department of Neurosurgery¹, Department of Ophthalmology², Yulin First Hospital, Yulin 718000, Shaanxi, CHINA

【Abstract】 Objective To explore the expression levels of enhancer of zeste homolog 2 (EZH2) and actin binding protein (Fascin) in invasive pituitary adenomas (IPA) tissue and their relationship with clinical prognosis. **Methods** The clinical data of 102 patients with pituitary adenoma who were admitted to Yulin First Hospital during the period from May 2013 to May 2016 were retrospectively collected. They were divided into invasion group ($n=50$) and non-invasion group ($n=52$). The positive expression rates of EZH2 and Fascin in pituitary adenomas in both groups were detected by immunohistochemistry. Pearson correlation coefficients were applied to analyze the correlation between positive expression rates of EZH2 and Fascin. Univariate and multivariate analysis were applied to analyze related factors affecting prognosis of IPA patients. Kaplan-Meier method was applied to analyze the relationship between expression of EZH2, Fascin, and 3-year survival rate in IPA patients. **Results** The positive rates of EZH2 and Fascin in invasion group were 74.00%, 66.00%, significantly higher than 51.92%, 30.77% in non-invasion group ($P<0.05$). Pearson correlation analysis showed that positive expression levels of EZH2 and Fascin were positively correlated ($r=0.672, P<0.001$). The results of univariate and multivariate analysis showed that tumors not shorter than 3 cm, positive levels of EZH2 and Fascin were independent risk factors affecting prognosis of IPA patients ($P<0.05$). The survival rates in IPA patients with negative expression of EZH2 and Fascin were 92.31% (12/13), 88.24% (15/17), significantly higher than 54.05% (20/37), 51.52% (17/33) in IPA patients with positive expression of EZH2 and Fascin ($P<0.05$). **Conclusion** The positive expressions of EZH2 and Fascin can be applied as important indexes to judge occurrence and development of IPA, which are of good prognostic value for IPA patients.

【Key words】 EZH2; Fascin; Invasive pituitary adenoma; Expression; Clinical significance

垂体腺瘤作为一种较为常见的神经内分泌肿瘤,绝大部分表现为良性肿瘤特征,但仍有部分呈侵袭性生长,常表现为海绵窦、鞍底骨质等周围结构破坏^[1]。通常具有侵袭性的垂体腺瘤难以通过手术进行全切,而且术后易复发,还会伴随分泌功能紊乱等,在临床诊断和治疗方面有着极大的困难。近来研究发现,垂体腺瘤的发生、发展与癌基因的激活、抑癌基因的失活有关^[2]。Zeste基因增加子同源物2(EZH2)可以沉默数百种细

胞,能够通过影响肿瘤分化、增殖相关基因的表达情况来参与肿瘤的发生发展进程^[3]。肌动蛋白结合蛋白(Fascin)在细胞迁移、黏膜黏附及信息传递等过程中发挥着重要作用,与肿瘤细胞的侵润密切相关^[4]。本研究通过检测侵袭性垂体腺瘤患者中的EZH2和Fascin蛋白的表达水平,分析其与侵袭性垂体腺瘤预后关系,以期对侵袭性垂体腺瘤在临床医学的诊断及治疗提供更多帮助。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性收集 2013 年 5 月至 2016 年 5 月榆林市第一医院收治的 102 例垂体腺瘤患者的

临床资料,将其分为侵袭组 50 例和非侵袭组 52 例,两组患者的性别、年龄、激素类型比较差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性,见表 1。

表 1 两组患者一般资料比较

组别	例数	男/女(例)	年龄(岁, $\bar{x}\pm s$)	激素类型(例)				
				GH 腺瘤	PRL 腺瘤	ACTH 腺瘤	TSH 腺瘤	混合型腺瘤
侵袭组	50	22/28	51.17±7.45	5	10	5	1	22
非侵袭组	52	23/29	52.57±9.24	8	8	4	1	23
t/χ^2 值				0.840			0.000	
P 值				0.981			0.403	
注:GH,生长激素;PRL,泌乳素;ACTH,促肾上腺皮质激素;TSH,促甲状腺激素。								

1.2 病例选择 (1)侵袭性垂体腺瘤患者纳入标准:①Hardy-Wilson 分级 $\geq III$ 级和 C-E 期/Knosp $\geq III$ 级;②术中发现海绵窦内侧壁有瘤组织侵犯,或鞍底破坏,瘤组织突入蝶窦。(2)垂体腺瘤患者纳入标准:①经术后病理学证实为垂体腺瘤者;②病历和影像学资料完整者;③均为首诊首治患者。(3)排除标准:①围术期有严重并发症者;②伴有家族恶性肿瘤遗传病史。

1.3 方法

1.3.1 免疫组化 所有患者均行免疫组织化学 Envision 法检测:取手术中切除的垂体腺瘤组织标本常规固定,切片脱蜡至水化,蛋白酶消化或经微波处理,加入过氧化酶阻断剂后,继续微波辐射 2 min,磷酸盐缓冲液(PBS)清洗后,加入 EZH2、Fascin 一抗(购自于福州迈新公司),微波炉孵育 3 min,加二抗 Envision™4000,微波 3 min, PBS 洗后加入酶底物显色,清水冲洗,复染后封片,显微镜下观察。

1.3.2 结果判定 所有标本经免疫组化处理后,由病理科医师采用双盲法评测。EZH2、Fascin 均主要表达在细胞核,结果参照 Shimizu 半定量积分法,随机选取至少 5 个清晰高倍视野进行观察,以阳性细胞比例及反应强度进行评分。染色强度评分标准:0 分(阴性)、1 分(淡黄色)、2 分(黄色或深黄)和 3 分(褐色或深褐色)。阳性细胞所占比例:未见阳性细胞为 0 分、阳性细胞率

$\leq 25\%$ 为 1 分、 $25\% \sim 50\%$ 为 2 分、 $>50\%$ 为 3 分。对以上 2 项计分相乘进行综合评分:0 分为-,1~2 分为+,3~4 分为++,5~9 分为+++,其中 ≥ 3 分为染色阳性。

1.4 随访 患者自病理确诊之日起开始门诊复查或电话随访,治疗后 1 年内每 3 个月门诊复查 1 次,2 年内半年复查 1 次,以后至少每年复查一次,所有患者均完成 3 年随访。随访记录生存时间及随访时状态(存活、死亡或其他)等。

1.5 统计学方法 采用 SPSS17.0 软件对实验数据进行统计分析。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用 t 检验;计数资料以构成比(%)表示,采用 χ^2 检验;相关性分析采用 Pearson 相关系数分析,利用 Logistic 回归模型分析影响侵袭性垂体腺瘤患者预后的危险因素;Kaplan-Meier 法分析生存率,采用 Log-rank 法检验。均以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者的 EZH2 及 Fascin 水平比较 EZH2 在侵袭组和非侵袭组中的阳性表达率分别为 74.00%、51.92%,Fascin 在侵袭和非侵袭组中的阳性表达率分别为 66.00%、30.77%。两组结果比较,侵袭组患者的 EZH2、Fascin 阳性率明显高于非侵袭组,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

表 2 两组患者的 EZH2 及 Fascin 水平比较(例)

组别	例数	EZH2					Fascin				
		-	+	++	+++	阳性率(%)	-	+	++	+++	阳性率(%)
侵袭组	50	3	10	13	24	74.00	4	13	23	10	66.00
非侵袭组	52	12	13	16	11	51.92	19	17	11	5	30.77
Z/χ^2 值		10.895					5.926				
P 值		0.012					0.015				

2.2 侵袭性垂体腺瘤患者 EZH2 及 Fascin 水平的相关性 Pearson 相关性分析结果显示,EZH2 与 Fascin 阳性表达水平呈正相关($r=0.672, P<0.01$)。

2.3 影响侵袭性垂体腺瘤患者预后的单因素和多因素分析 单因素分析显示,肿瘤大小、EZH2、Fascin 水平与侵袭性垂体腺瘤有关($P<0.05$);将上述有

统计学意义的危险因素作为自变量,以是否确诊侵袭性垂体腺瘤为应变量进行赋值(肿瘤大小: $\geq 3 \text{ cm}=1$ 、 $<3 \text{ cm}=0$;EZH2:阳性=1、阴性=0;Fascin:阳性=1、阴性=0),多因素分析显示,肿瘤 $\geq 3 \text{ cm}$ 、EZH2 阳性及 Fascin 阳性水平是影响垂体腺瘤发展的危险因素($P<0.05$),见表 3。

表3 影响垂体腺瘤患者预后的单因素和多因素分析

项目	单因素分析				多因素分析						
	P值	OR值	95%CI		β	S.E.	Wald	P值	OR值	95%CI	
			下限	上限						下限	上限
年龄	0.229	0.510	0.171	1.526							
性别	0.076	0.504	0.237	1.074							
肿瘤大小	0.005	1.863	1.208	2.872	0.768	0.341	5.072	0.025	2.155	1.105	4.205
激素分型	0.281	0.515	0.155	1.717							
内分泌功能	0.156	1.554	0.847	2.854							
EZH2	0.003	1.394	1.121	1.733	0.834	0.325	6.585	0.011	2.303	1.218	4.354
Fascin	0.004	1.554	1.154	2.094	0.792	0.305	6.743	0.010	2.208	1.214	4.014

2.4 EZH2、Fascin 水平与侵袭性垂体腺瘤患者总生存率的关系 由生存曲线可知, 侵袭性垂体腺瘤患者中 EZH2、Fascin 阴性表达者的生存率分别为 92.31%、88.24%, 明显高于 EZH2、Fascin 阳性表达者的 54.05%、51.52%, 差异均有统计学意义($\chi^2=3.910, P=0.048$; $\chi^2=3.982, P=0.046$), 见图 1。

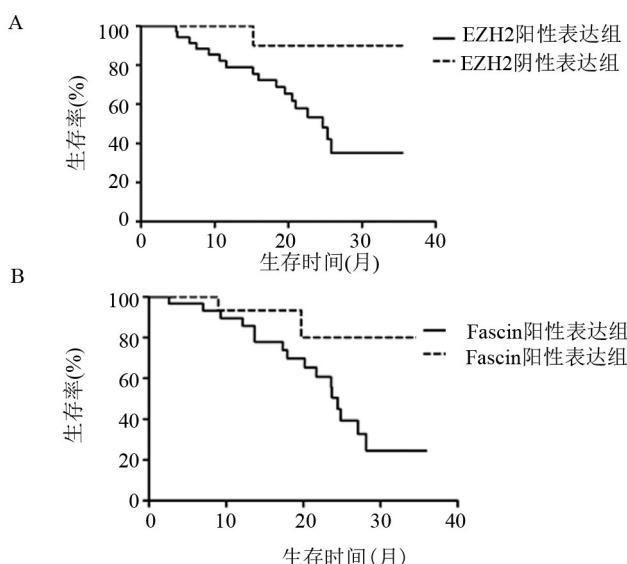


图1 EZH2(A)和Fascin(B)的Kaplan-Meier生存曲线

3 讨论

EZH2 作为一种组蛋白, 具有甲基转移酶活性, 能够通过抑制其下游靶基因转录来调节干细胞自我更新^[5]。Fascin 蛋白是一类结构独特且进化保守的细胞骨架蛋白, 能够参与细胞膜突起及包胞浆微丝束的形成进而增加细胞运动性^[6]。近年来研究表明, EZH2、Fascin 蛋白在许多恶性肿瘤中均呈阳性, 正常组织中为阴性表达, 可能与肿瘤的侵袭性和预后相关, 如食管鳞状细胞癌^[7]、胃癌^[8]、结肠癌^[9]等。KIM 等^[10]通过回顾 EZH2 在多种肿瘤中的发生机制, 发现 EZH2 基因可明显抑制肿瘤转移抑制基因表达, 促进肿瘤细胞的侵袭转移。TSAI 等^[11]观察 50 例壶腹部胰腺癌中 Fascin 蛋白表达水平, 结果表明 Fascin 免疫染色的强度与患者的肿瘤恶性程度呈正相关, 与患者的生存率呈负相关。

本研究中, 侵袭性垂体腺瘤组患者 EZH2、Fascin

阳性率明显高于对照组。可能是细胞中 EZH2、Fascin 蛋白参与的一系列活动导致细胞膜突起、细胞间连接丧失, 促使瘤组织侵袭能力和迁移能力增强。

多因素分析得出, 肿瘤大小、EZH2、Fascin 蛋白水平是影响侵袭性垂体腺瘤患者预后的独立因素, 与既往研究一致^[12]。SASAKI 等^[13]用免疫组织化方法证实胆管癌患者中 EZH2 水平过度表达。ZHIYUAN 等^[14]研究表明 Fascin 水平的增加与垂体腺瘤的侵袭性密切相关, 可用于垂体腺瘤的诊断和预测。除此之外, 还有研究发现 EZH2、Fascin 蛋白阳性表达是侵袭性垂体腺瘤发展的独立危险因素^[15], 可能是因为侵袭性垂体腺瘤细胞中, EZH2 蛋白的阳性表达导致正常细胞生长失控, 垂体腺瘤细胞增殖^[16], 而 Fascin 蛋白的阳性表达则使 NF-κB 活性上调, 导致细胞外基质的降解和基底膜的破坏, 增强肿瘤细胞的侵袭性^[17]。本研究结果显示, EZH2、Fascin 蛋白阴性表达患者的 3 年生存率显著高于 EZH2、Fascin 蛋白阳性表达, 进一步说明高 EZH2、Fascin 蛋白表达水平预示患者预后不良。

综上所述, EZH2、Fascin 蛋白阳性表达变化可作为判断侵袭性垂体腺瘤发生、发展的重要指标, 不仅能够影响患者的短期生存率, 而且对侵袭性垂体腺瘤患者具有较好的预后预测价值, 可作为侵袭性垂体腺瘤患者预后不良的分子标志物。

参考文献

- MOLITCH ME. Diagnosis and treatment of pituitary adenomas: a review [J]. JAMA, 2017, 317(5): 516-524.
- IEVA AD, ROTONDO F, SYRO LV, et al. Aggressive pituitary adenomas [mdash] diagnosis and emerging treatments [J]. Nat Rev Endocrinol, 2014, 10(7): 423-435.
- BRACKEN AP, PASINI D, CAPRA M, et al. EZH2 is downstream of the pRB-E2F pathway, essential for proliferation and amplified in cancer [J]. EMBO J, 2014, 22(20): 5323-5335.
- ELKHATIB N, NEU M, ZENSEN C, et al. Fascin plays a role in stress fiber organization and focal adhesion disassembly [J]. Current Biology, 2014, 24(13): 1492-1499.
- HEMMING S, CAKOUROS D, ISENMANN S, et al. EZH2 and KDM6A act as an epigenetic switch to regulate mesenchymal stem cell lineage specification [J]. Stem Cells, 2014, 32(3): 802-815.
- ANILKUMAR N, PARSONS M, MONK R, et al. Interaction of fascin and protein kinase Cα: a novel intersection in cell adhesion and motility [J]. EMBO J, 2014, 22(20): 5390-5402.

噻托溴铵吸入剂治疗稳定期慢性阻塞性肺疾病疗效观察

贾美莹,王银叶

中铁一局集团咸阳中心医院内科,陕西 咸阳 712000

【摘要】目的 观察噻托溴铵吸入剂治疗稳定期慢性阻塞性肺疾病(COPD)的临床疗效。**方法** 选择2016年7月至2018年7月中铁一局集团咸阳中心医院收治的COPD患者100例作为研究对象,采用随机数表法将患者分为对照组和观察组,每组50例,所有患者均给予氧疗、预防呼吸道感染等治疗,在此基础上对照组给予布地奈德治疗,观察组采用噻托溴铵吸入剂治疗,均治疗4周。比较两组患者治疗后的临床效果,以及治疗前后的免疫球蛋白白细胞介素-8(IL-8)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、中性粒细胞髓过氧化物酶(MPO)、第1秒用力呼气容积(FEV₁)、FEV₁/FVC、最大呼气流量(PEF)水平和不良反应发生情况。**结果** 观察组患者的治疗总有效率为94.00%,明显高于对照组的70.00%,差异有统计学意义($P<0.05$);治疗前,两组患者的IL-8、TNF- α 、MPO比较差异均无统计学意义($P>0.05$);治疗后,观察组患者的IL-8、TNF- α 、MPO分别为(0.41±0.17) pg/mL、(58.51±8.26) pg/mL、(13.09±3.21) pg/mL,明显低于对照组的(0.62±0.23) pg/mL、(75.43±11.62) pg/mL、(19.87±4.35) pg/mL,差异均具有统计学意义($P<0.05$);治疗前,两组患者的FEV₁、FEV₁/FVC、PEF比较差异均无统计学意义($P>0.05$);治疗后,观察组患者的FEV₁、FEV₁/FVC、PEF分别为(1.92±0.58) L、(65.84±6.12)%、(3.98±0.42) L/s,明显高于对照组的(1.61±0.56) L、(56.18±5.29)%、(3.05±0.44) L/s,差异均有统计学意义($P<0.05$);观察组患者的不良反应发生总发生率为4.00%,明显低于对照组18.00%,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 噻托溴铵吸入剂治疗稳定期慢性阻塞性肺疾病患者可有效改善患者炎症因子及肺功能水平,临床治疗效果显著。

【关键词】 噻托溴铵吸入剂;稳定期;慢性阻塞性肺疾病;炎症因子;肺功能;疗效

【中图分类号】 R563 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003—6350(2020)05—0589—04

Curative efficacy of tiotropium bromide inhalation in treatment of stable chronic obstructive pulmonary disease.

JIA Mei-ying, WANG Yin-ye. Department of Internal Medicine, Xianyang Central Hospital of China Railway First Group, Xianyang 712000, Shaanxi, CHINA

[Abstract] **Objective** To study the curative efficacy of tiotropium bromide inhalation in treatment of stable COPD. **Methods** A total of 100 patients with chronic obstructive pulmonary disease, who admitted to Department of Internal Medicine, Xianyang Central Hospital of China Railway First Group from July 2016 to July 2018, were selected and divided into the observation group and control group according to random number table method, with 50 patients

基金项目:陕西省咸阳市卫计委医学科研课题(编号:201601092)

通讯作者:贾美莹,E-mail:13369109629@139.com

- [7] WEI W, ZHU Y, LI S, et al. Long noncoding RNA MALAT1 promotes malignant development of esophageal squamous cell carcinoma by targeting β -catenin via Ezh2 [J]. Oncotarget, 2016, 7(18): 25668-25682.
- [8] YAO J, QIAN C, BEI YE, et al. Signal transducer and activator of transcription 3 signaling upregulates fascin via nuclear factor- κ B in gastric cancer: Implications in cell invasion and migration [J]. Oncol Lett, 2014, 7(3): 902-908.
- [9] CHEN MB, WEI MX, HAN JY, et al. MicroRNA-451 regulates AMPK/mTORC1 signaling and fascin1 expression in HT-29 colorectal cancer [J]. Cell Signal, 2013, 26(1): 102-109.
- [10] KIM KH, ROBERTS CWM. Targeting EZH2 in cancer [J]. Nat Med, 2016, 22(2): 128-134.
- [11] TSAI WC, LIN CK, LEE HS, et al. The correlation of cortactin and fascin-1 expression with clinicopathological parameters in pancreatic and ampulla of Vater adenocarcinoma [J]. Apnis, 2013, 121(3): 171-181.
- [12] 王守森,丁陈禹,秦勇,等.垂体腺瘤患者蝶鞍形态的MRI研究[J].中国临床解剖学杂志,2015,33(2):160-165.
- [13] SASAKI M, MATSUBARA T, KAKUDA Y, et al. Immunostaining for polycomb group protein EZH2 and senescent marker p16INK4a may be useful to differentiate cholangiolocellular carcinoma from ductular reaction and bile duct adenoma [J]. Am J Surg Pathol, 2014, 38(3): 364-369.
- [14] ZHIYUAN S, HAIBO T, HUIXIA Z, et al. The relationship of expression of Fascin and MVD and invasiveness of pituitary adenoma [J]. China Medical Herald, 2011, 163(2):303-312.
- [15] 李洋,王洋,许健,等.垂体腺瘤中Fascin Ki-67的表达与肿瘤侵袭性的相关研究[J].中国实用神经疾病杂志,2018,21(9): 929-934.
- [16] 李杰宝,喻晓程,田野.EZH2 和 Ki67 的高表达指示三阴性型乳腺癌的发生风险[J].基因组学与应用生物学,2018,37(2): 643-649.
- [17] 马桂,马淑萍,边芳,等.结直肠腺癌中Fascin-1 mRNA和蛋白的表达及意义[J].临床与实验病理学杂志,2018,34(4): 383-387.

(收稿日期:2019-09-19)