

DOI:10.3724/SP.J.1008.2009.00585

非霍奇金淋巴瘤中分化抑制因子4的表达及意义

Expression of Id4 in non-Hodgkin's lymphoma and its significance

薛霜^{1,3},李文才^{1*},王冠男¹,高冬玲²,高献争³

1. 郑州大学第一附属医院病理科, 郑州 450052

2. 郑州大学基础医学院病理学教研室, 郑州 450052

3. 河南省肿瘤病理重点实验室, 郑州 450052

[摘要] **目的:**观察分化抑制因子4(Id4)在非霍奇金淋巴瘤组织(non-Hodgkin's lymphoma, NHL)和反应性增生(RH)组织中的表达差异,及其与肿瘤增殖活性的关系,探讨Id4在淋巴瘤发生、发展中的可能作用。**方法:**选取2006~2008年郑州大学第一附属医院病理科存档石蜡标本80例,其中NHL 70例,RH 10例。应用免疫组织化学S-P法检测Id4和Ki-67分别在NHL和RH中的表达水平。**结果:**Id4在NHL中的表达率为35.7%(25/70),而在RH中的表达率为70.0%(7/10),两者之间存在统计学差异($P < 0.05$)。Ki-67在NHL中的表达率为75.7%(53/70),明显高于RH中的表达率10.0%(1/10, $P < 0.05$),而且Ki-67阳性强度随着NHL恶性程度的增加而增高。Id4和Ki-67的表达与患者性别、年龄、免疫分型及肿瘤原发部位等因素无明显相关($P > 0.05$)。**结论:**Id4在NHL中的表达明显降低,可作为NHL与RH鉴别诊断的一个参考指标。

[关键词] 非霍奇金淋巴瘤;病理学;Id4;免疫组织化学

[中图分类号] R 733.41

[文献标志码] B

[文章编号] 0258-879X(2009)05-0585-03

非霍奇金淋巴瘤(non-Hodgkin's lymphoma, NHL)是一种常见的淋巴造血系统恶性肿瘤,分类复杂,预后差,临床诊断极为困难,在世界范围内呈普遍增长的趋势,对人类健康的威胁日益严重。2004年Yu等^[1-2]在国际上首次提出分化抑制因子4(Id4)基因很可能是一个新的抑癌基因,并且发现骨髓检查正常的NHL患者检出Id4基因甲基化可能提示淋巴瘤骨髓微量受累。

本研究采用免疫组织化学技术检测70例NHL患者肿瘤组织石蜡标本中Id4蛋白的表达情况,分析其表达与核增殖相关抗原Ki-67表达的相关性,探讨NHL中Id4表达的临床和病理意义。

1 材料和方法

1.1 标本收集 选取2006~2008年郑州大学第一附属医院病理科存档石蜡标本80例,其中NHL 70例,反应性增生(reactive hyperplasia, RH) 10例。所有病例经两位病理科专家重新阅片,结合临床特点、H-E染色形态和免疫表型,按照WHO(2001年)分类确立NHL的诊断和组织学分型。

1.2 主要试剂 S-P免疫组织化学染色试剂盒为福州迈新生物技术开发公司产品,单克隆抗体Id4为Santa Cruz公司产品。兔抗人Ki-67单克隆抗体购自北京中山生物工程有限公司,DAB显色剂购自武汉博士德生物工程有限公司。

1.3 免疫组织化学染色 采用三步S-P法染色,参照试剂盒说明书进行,采用微波抗原修复,一抗4℃过夜,DAB显

色,苏木精复染。用已知阳性的肺癌组织切片作阳性对照,PBS代替一抗作阴性对照。

1.4 阳性结果判定 以细胞核和(或)胞质内出现棕黄色颗粒为阳性。高倍镜下选取10个视野,计数1000个细胞,对阳性细胞所占的百分比(0%=0分, <10%=1分, 10%~50%=2分, 51%~80%=3分, >80%=4分)及染色强度(无色=0分,淡黄色=1分,棕黄色=2分,棕褐色=3分)进行评分,以两者评分的乘积>3分为阳性标准。

1.5 统计学处理 应用统计分析软件SPSS 11.0进行 χ^2 检验分析计数资料,变量间等级相关分析采用Spearman法分析其相互关系,检验水准 α 设为0.05。

2 结果

2.1 Id4在NHL和RH中的表达 Id4主要表达于细胞质和少数细胞核中,为棕黄色(图1A)。在70例NHL中B细胞淋巴瘤阳性表达率为31.1%(14/45),其中弥漫大B细胞淋巴瘤阳性表达率为34.6%(9/26);T细胞淋巴瘤阳性表达率为44.0%(11/25),其中外周T细胞淋巴瘤阳性表达率为54.5%(6/11)。具体表达结果见表1。表2所示:Id4在NHL中的阳性表达率为35.7%(25/70),而在RH中的阳性表达率为70.0%(7/10),两者存在显著性差异($P < 0.05$);Id4在惰性NHL的阳性表达率为23.1%(3/13),而在侵袭性NHL中的阳性表达率为38.6%(22/57),两者之间的差别无统计学意义($P > 0.05$)。

[收稿日期] 2008-11-27

[接受日期] 2009-03-11

[作者简介] 薛霜,硕士生。E-mail: xueshuang.2000@tom.com

* 通讯作者(Corresponding author). Tel: 0371-66862513, E-mail: liwencaipatho@yahoo.com.cn

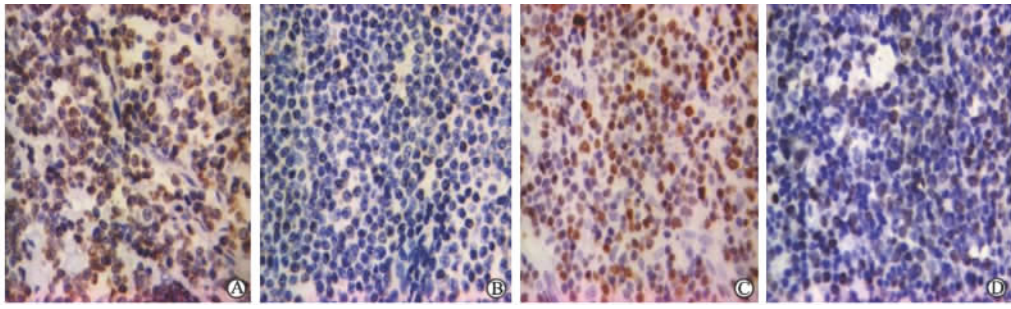


图1 淋巴瘤组织 Id4 蛋白(A、B)和 Ki-67 蛋白(C、D)的表达

A: NK/T 细胞淋巴瘤中 Id4 蛋白阳性表达; B: 滤泡性淋巴瘤中 Id4 蛋白阴性表达; C: NK/T 细胞淋巴瘤中 Ki-67 蛋白阳性表达; D: 外周 T 细胞淋巴瘤中 Ki-67 蛋白阴性表达。Original magnification: ×400

表1 非霍奇金淋巴瘤(NHL)病理分型及 Id4 表达情况

NHL 分类	N	Id4		表达率 (%)
		+	-	
B 细胞淋巴瘤	45	14	31	31.1
弥漫大 B 细胞淋巴瘤	26	9	17	34.6
套细胞淋巴瘤	4	1	3	25.0
伯基特淋巴瘤	2	1	1	50.0
滤泡性淋巴瘤	3	0	3	0
MALT 型结外边缘区 B 细胞淋巴瘤	10	3	7	30.0
T 细胞淋巴瘤	25	11	14	44.0
外周 T 细胞淋巴瘤	11	6	5	54.5
T 淋巴母细胞性淋巴瘤	3	1	2	33.3
NK/T 细胞淋巴瘤	4	3	1	75.0
间变性大细胞淋巴瘤	6	1	5	16.7
血管免疫母细胞性 T 细胞淋巴瘤	1	0	1	0

2.2 Ki-67 在 NHL 和 RH 中的表达 在 RH 中 Ki-67 阳性细胞主要集中于生发中心内,生发中心以外的区域仅极少数散在分布的较大的转化淋巴细胞呈阳性表现。在 NHL 中, Ki-67 阳性见于集中或弥散分布的肿瘤细胞中(图 1C)。表 2 所示: Ki-67 在 NHL 中的阳性表达率为 75.7% (53/70), 明显高于 RH 中阳性表达率 10.0% (1/10, $P < 0.05$), 侵袭性 NHL Ki-67 阳性表达率明显高于惰性 NHL (80.7% vs 53.8%, $P < 0.05$)。

2.3 Id4、Ki-67 的表达与临床指标的相关性 结果(表 3)表明: Id4、Ki-67 的表达与性别、年龄、发病部位及免疫分型无明显相关性 ($P > 0.05$)。

表2 Id4 和 Ki-67 在 RH、惰性 NHL 和侵袭性 NHL 中的表达情况

组别	N	Id4		表达率 (%)	Ki-67		表达率 (%)
		+	-		+	-	
RH	10	7	3	70.0*	1	9	10.0*
NHL	70	25	45	35.7	53	17	75.7
惰性 NHL	13	3	10	23.1	7	6	53.8 [△]
侵袭性 NHL	57	22	35	38.6	46	11	80.7

* $P < 0.05$ 与 NHL 比较; [△] $P < 0.05$ 与侵袭性 NHL 比较

表3 NHL患者临床病理特征与
Id4、Ki-67表达之间的关系

临床指标	N	Id4		Ki-67	
		+	-	+	-
性别					
男	42	14	28	32	10
女	28	11	17	23	5
年龄(岁)					
≥60	21	6	15	15	6
<60	49	19	30	31	18
部位					
结内	20	5	15	16	4
结外	50	20	30	38	12
免疫分型					
B细胞	45	14	31	35	10
T细胞	25	11	14	18	7

3 讨论

Id蛋白是 Benzra 等^[3]1990年首次从cDNA细胞文库中克隆成功的。哺乳动物细胞含4种Id因子(Id1~Id4)。早期发现Id蛋白有促进肿瘤细胞增殖和抑制肿瘤细胞分化的作用,随着研究的深入,发现它们与肿瘤细胞的凋亡和侵袭等生物学行为也密切相关^[4-7]。Ruzinova等^[8]发现人类Id4基因定位于染色体6p21.3-p22,有4个mRNA分子不同地表达于成体器官。鼠Id4蛋白与人类Id4蛋白有98%同源。其基因表达分布广泛且表达具有组织特异性,其中在中枢神经系统、内分泌相关性肿瘤和性腺及其相关性肿瘤中有比较高的表达水平^[3],能抑制肿瘤的进展,或抑制肿瘤局部淋巴结的转移。Id4在胃癌中表达下调,与其在乳腺癌中的表达变化相同,说明Id4表达下降可能与肿瘤发生有关^[9],但该基因在人淋巴瘤中的意义尚不清楚^[10]。本研究应用免疫组织化学方法检测了70例NHL和10例RH中Id4蛋白表达情况,结果提示Id4在NHL和RH中的表达率之间存在统计学差异($P<0.05$)。本实验结果还显示Id4蛋白在多种类型淋巴瘤中均有表达,其表达情况及意义有待扩大样本进一步研究。

Ki-67抗原是一种核蛋白,凡进入增殖周期的细胞都具有此DNA复制时所需的蛋白质,其表达量随细胞周期不同而发生改变,在G₁中期到后期表达,至有丝分裂期达到高峰后迅速减少,是目前应用最广泛的细胞增殖标志之一。本研究结果表明,惰性NHL与侵袭性NHL之间Ki-67表达有显著差异($P<0.05$),惰性NHL中Ki-67表达低,侵袭性NHL中表达高,与文献^[11]报道基本一致。Ki-67表达阳性提示该细胞处于增殖旺盛状态,高表达可作为反映NHL侵袭性的

指标,与预后不良密切相关。

本实验结果表明,在NHL中Id4蛋白表达下调,而Ki-67表达增强,提示Id4失活或表达下降可能促进了肿瘤细胞增殖活性,且Id4在NHL中的表达明显降低,提示Id4的表达可作为NHL与RH鉴别诊断的一个参考指标。

[参考文献]

- [1] Yu L, Liu C, Vandeusen J, Becknell B, Dai Z, Wu Y Z, et al. Global assessment of promoter methylation in a mouse model of cancer identifies ID4 as a putative tumor-suppressor gene in human leukemia[J]. *Nat Genet*, 2005, 37: 265-274.
- [2] 赵瑜,靖或,薄剑,王书红,王全顺,李红华,等. Id4基因甲基化在恶性淋巴瘤中的检测意义[J]. *中国实验血液学杂志*, 2008, 16: 322-324.
- [3] Benzra R, Davis R L, Lockshon D, Turner D L, Weintraub H. The protein Id: a negative regulator of helix-loop-helix DNA binding proteins[J]. *Cell*, 1990, 61: 49-59.
- [4] Ling M T, Kwok W K, Fung M K, Xianghong W, Wong Y C. Proteasome mediated degradation of Id-1 is associated with TNF alpha-induced apoptosis in prostate cancer cells[J]. *Carcinogenesis*, 2006, 27: 205-215.
- [5] Asirvatham A J, Schmidt M A, Chaudhary J. Non-redundant inhibitor of differentiation (Id) gene expression and function in human prostate epithelial cells[J]. *Prostate*, 2006, 66: 921-935.
- [6] Ling M T, Wang X, Ouyang X S, Lee T K, Fan T Y, Xu K, et al. Activation of MAPK signaling pathway is essential for Id-1 induced serum independent prostate cancer cell growth[J]. *Oncogene*, 2002, 21: 8498-8505.
- [7] Nieborowska-Skorska M, Hoser G, Rink L, Malecki M, Kossev P, Wasik M A, et al. Id1 transcription inhibitor-matrix metalloproteinase 9 axis enhances invasiveness of the breakpoint cluster region/abelson tyrosine kinase-transformed leukemia cells [J]. *Cancer Res*, 2006, 66: 4108-4116.
- [8] Ruzinova M B, Benzra R. Id proteins in development, cell cycle and cancer[J]. *Trends Cell Biol*, 2003, 13: 410-418.
- [9] Noetzel E, Veeck J, Niederacher D, Galm O, Horn F, Hartmann A, et al. Promoter methylation-associated loss of ID4 expression is a marker of tumour recurrence in human breast cancer[J]. *BMC Cancer*, 2008, 8: 154.
- [10] Hagiwara K, Nagai H, Li Y, Ohashi H, Hotta T, Saito H. Frequent DNA methylation but not mutation of the ID4 gene in malignant lymphoma[J]. *J Clin Exp Hematop*, 2007, 47: 15-18.
- [11] 李红玲, 孙秉中, 马福成. 非霍奇金淋巴瘤 survivin 和 Ki67 的表达及意义[J]. *肿瘤防治研究*, 2004, 31: 70-72.

[本文编辑] 贾泽军