

# mTOR、PTEN、Ki-67 蛋白表达水平变化与结肠癌病理学特征的相关性分析

张秀娟, 黄丽娟

(新疆生产建设兵团第二师库尔勒医院病理科, 新疆 库尔勒 841000)

**摘要:**目的 探讨哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)、张力蛋白同源蛋白(PTEN)、Ki-67 蛋白表达与结肠癌病理学特征的相关性。方法 收集 2013 年 3 月-2016 年 6 月我院病理科收集的 90 例结肠癌组织标本(结肠癌组)、45 例正常结肠组织(对照组), 采用免疫组化染色检测两组标本中 mTOR、PTEN、Ki-67 蛋白的表达情况, 并分析三种蛋白不同的淋巴结转移、TNM 分期、肿瘤分化程度结肠癌组织中的表达差异。结果 结肠癌组 mTOR 蛋白、Ki-67 蛋白阳性表达率分别为 71.11%、74.44%, 高于对照组的 13.33%、20.00%, 差异有统计学意义( $P<0.05$ ); 结肠癌组 PTEN 蛋白阳性表达率为 23.33%, 低于对照组的 93.33%, 差异有统计学意义( $P<0.05$ ); 不同 TNM 分期、是否发生淋巴结转移、不同肿瘤分化的结肠癌组织中 mTOR 蛋白、PTEN 蛋白、Ki-67 蛋白阳性表达率分别比较, 差异有统计学意义( $P<0.05$ )。结论 结肠癌组织中 mTOR 蛋白、Ki-67 蛋白高表达, PTEN 蛋白低表达, 并且与肿瘤的发生发展关系密切。

**关键词:**哺乳动物雷帕霉素靶蛋白; 张力蛋白同源蛋白; Ki-67 蛋白; 结肠癌

**中图分类号:**R735.3+5

**文献标识码:**A

**DOI:**10.3969/j.issn.1006-1959.2022.19.014

**文章编号:**1006-1959(2022)19-0054-03

## Correlation of mTOR, PTEN and Ki-67 Protein Expression with Pathological Features of Colon Cancer

ZHANG Xiu-juan, HUANG Li-juan

(Department of Pathology, Korla Hospital of the Second Division of Xinjiang Production and Construction Corps, Korla 841000, Xinjiang, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate the relationship between the expression of mammalian target of rapamycin (mTOR), phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome (PTEN), Ki-67 protein and the pathological features of colon cancer. **Methods** From March 2013 to June 2016, 90 cases of colon cancer tissues (colon cancer group) and 45 cases of normal colon tissues (control group) were collected from the Department of Pathology of our hospital. The expression of mTOR, PTEN and Ki-67 protein in the two groups was detected by immunohistochemical staining, and the expression differences of the three proteins in different lymph node metastasis, TNM stage and tumor differentiation were analyzed. **Results** The positive expression rates of mTOR protein and Ki-67 protein in colon cancer group were 71.11% and 74.44% respectively, which were higher than 13.33% and 20.00% in control group, and the differences were statistically significant ( $P<0.05$ ). The positive expression rate of PTEN protein in colon cancer group was 23.33%, which was lower than 93.33% in control group, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). The positive expression rates of mTOR protein, PTEN protein and Ki-67 protein in colon cancer tissues with different TNM stages, lymph node metastasis and tumor differentiation were significantly different ( $P<0.05$ ). **Conclusion** mTOR protein and Ki-67 protein are highly expressed in colon cancer tissues, and PTEN protein is lowly expressed, which is closely related to the occurrence and development of tumors.

**Key words:** Mammalian target of rapamycin; Phosphatase and tensin homologue deleted on chromosomes; Ki-67 protein; Colon cancer

结肠癌(colon cancer)的病情进展导致患者整体生存预后的恶化,加剧患者无瘤生存时间和无进展生存时间的缩短<sup>[1,2]</sup>。肿瘤相关蛋白的表达改变能够促进癌细胞在增殖、凋亡、分化等病理过程中的作用,影响癌细胞的生物学特征。哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)、Ki-67 蛋白表达浓度改变,能够提高癌细胞 DNA 核的持续性扩增的风险,导致癌细胞上游转录活性的增加,影响纺锤体的形成及分裂,提高染色体复制及扩增的速度<sup>[3,4]</sup>;张力蛋白同源蛋白(PTEN)是重要的细胞周期调控蛋白,其能够在稳定癌细胞增殖速度的同时,抑制癌细胞持续性浸润风险的增加<sup>[5]</sup>。部分研究揭示了 mTOR、PTEN、Ki-67 蛋白在卵巢癌、甲状腺癌等恶性肿瘤中的异常表达,认为异常表达的相关指标是促进恶性肿瘤患者临床分

期进展、导致治疗预后恶化的重要因素<sup>[6]</sup>,但关于 mTOR、PTEN、Ki-67 蛋白与结肠癌的临床病理特征的关系研究不足。本研究选取 90 例结肠癌组织标本,探讨了相关指标的改变与结肠癌组织病理特征的关系,现报道如下。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 收集 2013 年 3 月-2016 年 6 月新疆生产建设兵团第二师库尔勒医院病理科 90 例结肠癌组织标本(结肠癌组),45 例正常结肠组织(对照组)。结肠癌组男 48 例,女 42 例;年龄 44~78 岁,平均年龄( $57.72\pm 13.21$ )岁;TNM 分期:Ⅰ期 17 例,Ⅱ期 24 例,Ⅲ期 33 例,Ⅳ期 16 例;发生淋巴结转移 40 例,分化程度:高分化 20 例,中分化 37 例,低分化 33 例。对照组男 25 例,女 20 例;年龄 40~73 岁,平均年龄( $58.44\pm 12.28$ )岁。两组年龄、性别比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性。

### 1.2 纳入排除标准

**1.2.1 纳入标准** ①结肠癌的诊断参考《外科学》第八

作者简介:张秀娟(1981.9-),女,江西抚州人,本科,主管技师,主要从事病理诊断工作

版中的标准<sup>[7]</sup>;②结肠癌标本、正常结肠组织来源于我院病理科收集且经病理学检查证实的标本;③患者年龄 $\leq 79$ 岁;④既往无放化疗病史;⑤病案资料及相关检查资料完整。

1.2.2 排除标准 ①转移性结肠癌;②合并其他部位肿瘤的患者;③资料不完整,难以纳入统计学分析。

1.3 方法 石蜡包埋,连续性切片厚度  $3\ \mu\text{m}$ ,  $60\ ^\circ\text{C}$  烤片  $60\ \text{min}$ ,常规脱水后,采用 EDTA 进行抗原修复,加入  $10\ \mu\text{l}$  蒸馏水,加入 10%过氧化氢  $5\ \text{ml}$ ,室温下孵育  $30\ \text{min}$ ,磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤 3 次 $\times 3\ \text{min}$ ,加入 mTOR、PTEN、Ki-67 蛋白的单克隆抗体(1:1000 购自罗氏检测公司), $37\ ^\circ\text{C}$  孵育  $60\ \text{min}$ ,PBS 洗涤 3 次 $\times 3\ \text{min}$ ,加入 HRP 标记的 mTOR、PTEN、Ki-67 蛋白二抗(1:2000 购自罗氏公司), $37\ ^\circ\text{C}$  孵育  $20\ \text{min}$ ,PBS 洗涤 3 次 $\times 3\ \text{min}$ ,加入 DAB 后,PBS 冲洗和复染,脱水后在显微镜下进行观察<sup>[8]</sup>。免疫组化结果判定<sup>[9]</sup>:mTOR、PTEN、Ki-67 蛋白的阳性着色表达于细胞质、细胞核,阳性染色为黄色或者更深。评分标准:①依据染色深浅:无色(0 分)、淡黄色(1 分)、染色为棕黄色(2 分)、如果染色为褐色或者黑

色(3 分);②依据阳性细胞占比<sup>[10]</sup>:占比 $\leq 10\%$ (1 分)、占比  $11\%\sim 50\%$ (2 分)、占比  $51\%\sim 75\%$ (3 分)、占比 $>75\%$ (4 分)。染色深浅评分与阳性细胞占比评分之乘积总分 $<3$  分为阴性、 $\geq 3$  分为阳性。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 16.0 进行数据分析,计量资料使用 $(\bar{x}\pm s)$ 表示,比较采用  $t$  检验;计数资料使用 $(n)$ 和 $(\%)$ 表示,比较采用  $\chi^2$  检验。 $P<0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 mTOR、PTEN、Ki-67 蛋白在结肠癌、正常结肠组织中的表达程度比较 结肠癌组 mTOR 蛋白、Ki-67 蛋白阳性表达率高于对照组,结肠癌组 PTEN 蛋白阳性表达率低于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见表 1。

2.2 mTOR、PTEN、Ki-67 蛋白表达与结肠癌组织病理特征的关系 不同 TNM 分期、是否发生淋巴结转移、不同肿瘤分化的结肠癌组织中 mTOR 蛋白、PTEN 蛋白、Ki-67 蛋白阳性表达率分别比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见表 2。

表 1 mTOR、PTEN、Ki-67 蛋白在结肠癌、正常结肠组织中的表达程度比较 $[n(\%)]$

组别	n	mTOR 蛋白		PTEN 蛋白		Ki-67 蛋白	
		阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
结肠癌组	90	64(71.11)	26(28.89)	21(23.33)	69(76.67)	67(74.44)	23(25.56)
对照组	45	6(13.33)	39(86.67)	42(93.33)	3(6.67)	9(20.00)	36(80.00)

表 2 mTOR、PTEN、Ki-67 蛋白表达与结肠癌患者病理特征的关系 $(n, \%)$

项目	mTOR 蛋白		$\chi^2$	P	PTEN 蛋白		$\chi^2$	P	Ki-67 蛋白		$\chi^2$	P
	阳性( $n=64$ )	阴性( $n=26$ )			阳性( $n=21$ )	阴性( $n=69$ )			阳性( $n=67$ )	阴性( $n=23$ )		
TNM 分期			8.263	0.004			10.365	0.001			0.546	0.462
I 期+II 期	23	35.94	18	69.23	16	76.19	25	36.23	29	43.28	12	52.17
III 期+IV 期	41	64.06	8	30.77	5	23.81	44	63.77	38	56.72	11	47.83
分化程度			7.131	0.008			5.908	0.015			4.943	0.026
高+中	35	54.69	22	84.62	18	85.71	39	56.52	38	56.72	19	82.61
低分化	29	45.31	4	15.38	3	14.29	30	43.48	29	43.28	4	17.39
淋巴结转移			4.546	0.033			0.447	0.504			6.451	0.011
是	33	51.56	7	26.92	8	38.10	32	46.38	35	52.24	5	21.74
否	31	48.44	19	73.08	13	61.90	37	53.62	32	47.76	18	78.26

## 3 讨论

结肠癌的早期诊断水平较低,治疗后的总体病情缓解率不高<sup>[11]</sup>。长期的临床随访研究显示,结肠癌的 5 年生存率不足 35%,手术治疗或者联合放化疗等措施治疗后的中位生存时间不足 48 个月<sup>[12]</sup>。但迄今为止临床上对于结肠癌患者的临床预后及疾病早期诊断缺乏可靠的指标,影像学检查能够在诊断结肠癌过程中发挥重要的辅助价值,但其诊断的早期灵敏度较低,对于微小病变恶性肿瘤的发生风险的评估价值不足<sup>[13,14]</sup>。研究显示<sup>[15]</sup>,血清学肿瘤相关指

标的检测,具有一定筛查价值,且对于特定类型恶性肿瘤的诊断具有重要的提示作用,能够提高恶性肿瘤早期病变的诊断水平,并能够在疾病的治疗后动态随访等方面发挥作用。

本研究结果显示,结肠癌组 mTOR 蛋白、Ki-67 蛋白阳性表达率高于对照组,结肠癌组 PTEN 蛋白阳性表达率低于对照组( $P<0.05$ ),表明 mTOR 蛋白、Ki-67 蛋白、PTEN 蛋白在结肠癌组织及正常组织中的表达水平有明显差异,可在结肠癌筛查中提供一定参考。分析原因为 mTOR 对于局部环境中缺氧环

境下线粒体的损伤、ATP 能量利用障碍,或者氧化自由基的传递障碍等过程均可发挥一定的作用;并且能够影响肿瘤细胞 DNA 的扩增速度,促进癌细胞核异型性增加,影响癌细胞内多种信号通路如 MAPK 激活<sup>[16]</sup>。Ki-67 蛋白不仅影响恶性肿瘤癌细胞的增殖速度,同时能够干预肿瘤上皮病灶组织的上皮间质转化,促进癌细胞远期器官的转移。PTEN 的表达浓度的变化,能够调控癌细胞的分化,促进癌细胞的成熟,调控癌细胞 G<sub>1</sub>/S 周期比例,抑制肿瘤病情的进展<sup>[17,18]</sup>。mTOR 作为 AKT 信号通路的下游效应蛋白,其表达浓度的上升能够显著提高 AKT 或者 MAPK 等信号通路的激活,增加癌细胞的转录风险。PTEN 蛋白的异常表达能够影响癌细胞凋亡速度,抑制癌细胞凋亡,提高癌细胞增殖能力。Ki-67 蛋白上升能提高癌基因上游启动子激活程度,促进癌基因的持续性扩增<sup>[19]</sup>。孙红兰等<sup>[20]</sup>探讨了相关细胞因子的表达与中晚期结肠癌患者的病情关系,患者的病情越为严重、治疗预后越差、病死率越高,mTOR 蛋白的表达阳性率越高。本研究发现,在结肠癌患者病灶组织中,mTOR、PTEN、Ki-67 蛋白表达波动较为明显,结肠癌组 mTOR 蛋白、Ki-67 蛋白阳性表达率高于对照组,结肠癌组 PTEN 蛋白阳性表达率低于对照组 ( $P<0.05$ ),表明 mTOR 蛋白、Ki-67 蛋白、PTEN 蛋白在结肠癌组织及正常组织中的表达水平有明显差异,这些指标均可能参与到了结肠癌的病情进展。mTOR、PTEN、Ki-67 蛋白的异常表达能够导致癌细胞侵袭能力的改变、提高癌细胞对于淋巴结的粘附能力,影响结肠癌患者病情的进展。此外,不同 TNM 分期、是否发生淋巴结转移、不同肿瘤分化的结肠癌组织中 mTOR 蛋白、PTEN 蛋白、Ki-67 蛋白阳性表达率分别比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),这可能与 mTOR 蛋白的表达异常对于癌细胞浸润能力的增强作用有关,同时还提高了淋巴结内上皮粘附分子 adherin 的表达。PTEN 蛋白的异常表达对于结肠癌患者临床病理特征的影响,主要在于其对于癌细胞上皮间质转换过程的影响,并调控了癌细胞周期等有关。但本次研究并未发现 Ki-67 蛋白的表达与结肠癌患者临床分期的关系,提示 Ki-67 对于肿瘤的后期进展可能并无显著的影响。

综上所述,mTOR 蛋白与结肠癌患者的临床分期、淋巴结转移及癌细胞分化有关,PTEN 蛋白与结肠癌患者 TNM 分期、肿瘤分化程度有关,Ki-67 蛋白表达与肿瘤分化程度、是否发生淋巴结转移有关,可依此对肿瘤的筛查及预后判断提供参考。

#### 参考文献:

[1]Landi P,Dorado E,Paz LA.Colon cancer with abdominal wall infiltration and clinical factors of poor prognosis [J].Medicina (B Aires),2016,76(6):403-407.

- [2]黄许森,王宇,黄海舫,等.PTEN 基因在结肠癌患者不同组织中表达的意义[J].结直肠肛门外科,2016,22(2):113-115.
- [3]郭星,王前,李晓宁,等.STMN1 及 PTEN 在结肠癌组织中的表达及意义[J].中国现代普通外科进展,2016,19(6):460-464.
- [4]涂志强,杨海燕,杨敏.术前血清癌胚抗原水平与结肠癌临床病理特征及其预后关系的分析 [J].实用癌症杂志,2018,33(2):301-302.
- [5]葛洋,刘宝林.艾迪注射液联合雷替曲塞治疗晚期结肠癌的临床研究[J].现代药物与临床,2017,32(11):2203-2206.
- [6]王宇,姜修博,韩豆,等.竹节香附素 A 对人结肠癌细胞 HCT-116 增殖、凋亡、迁移及侵袭活性的影响[J].中药新药与临床药理,2018,29(2):123-130.
- [7]Fisher TS,Hooper AT,Lucas J,et al.A CD3-bispecific molecule targeting P-cadherin demonstrates T cell-mediated regression of established solid tumors in mice[J].Cancer Immunol Immunother,2018,67(2):247-259.
- [8]杨晓萍.单链关于错配修复基因蛋白表达的检测对结肠癌患者预后价值的临床意义研究[J].标记免疫分析与临床,2018,25(3):339-341.
- [9]彭炜,周明.喉癌组织中 Six1、MTDH、TKTL1 表达量与血清肿瘤标志物含量、细胞增殖活力的相关性[J].海南医学院学报,2017,23(15):2040-2043.
- [10]Dasen B,Vlajnic T,Mengus C,et al.T-cadherin in prostate cancer: relationship with cancer progression, differentiation and drug resistance[J].J Pathol Clin Res,2017,3(1):44-57.
- [11]许星宇,陈博,熊茂明.p-mTOR 在胃癌组织中的表达与临床病理及预后的关系[J].中华普通外科杂志,2016,31(2):145-148.
- [12]马志恒,蒋海存,陈建新,等.mTOR 信号通路与胃癌的相关性研究[J].国际消化病杂志,2016,36(4):256-258.
- [13]张春,李清漪,董海影,等.PI3K/AKT/mTOR 信号通路在诱导胶质瘤细胞凋亡中的作用 [J].中国新药杂志,2016,25(16):1909-1912.
- [14]刘田田,毕经旺.PI3K/Akt/mTOR 信号通路与结直肠癌恶性肿瘤[J].实用医药杂志,2016,33(4):367-370,374.
- [15]Bray F,Ferlay J,Soerjomataram I,et al.Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J].CA Cancer J Clin,2018,68(6):394-424.
- [16]Fu X,Huang Y,Fan X,et al.Demographic trends and KRAS/BRAF mutations in colorectal cancer patients of South China: a single-site report[J].Int J Cancer,2019,144(9):2109-2117.
- [17]王茜,时延龙,毕经旺.p-mTOR 与 HIF-1 $\alpha$  在结直肠癌组织中的表达及其临床意义[J].中国肿瘤生物治疗杂志,2016,22(6):779-784.
- [18]张少华,毕经旺.结直肠癌组织中 S6K1 及 4EBP1 蛋白的表达及其与临床病理特征的关系 [J].中国肿瘤生物治疗杂志,2017,22(6):747-753.
- [19]郝东明,张丽.姜黄素联合伊立替康对结肠癌 SW620 细胞的体外抑制作用[J].现代药物与临床,2016,31(6):731-732.
- [20]孙红兰,刘慧峰,姜国丹.p-MTOR 在结肠癌中的表达及与患者病理学特征的关系[J].癌症进展,2018,16(1):70-72.

收稿日期:2021-10-29;修回日期:2021-11-20

编辑/肖婷婷