

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2019.09.008

文章编号: 1005-8982 (2019) 09-0039-05

Yes 相关蛋白、哺乳动物不育系 20 样激酶 1、细胞周期蛋白 D1 在鼻咽癌中的表达及临床意义

王志强, 贺璇, 李思维, 田佳, 徐龙宽, 周英琼
(桂林医学院附属医院 病理科, 广西 桂林 541001)

摘要: **目的** 探讨 Yes 相关蛋白 (YAP)、哺乳动物不育系 20 样激酶 1 (MST1) 及细胞周期蛋白 D1 (CyclinD1) 在鼻咽癌中的表达及与鼻咽癌临床病理特征的关系。**方法** 应用免疫组织化学染色方法检测 YAP、MST1、CyclinD1 在鼻咽黏膜慢性炎组织和鼻咽癌组织中的表达。**结果** YAP 及 CyclinD1 在鼻咽癌组织中的表达均高于鼻咽黏膜慢性炎组织 ($P < 0.05$), MST1 在鼻咽癌组织中的表达低于鼻咽黏膜慢性炎组织 ($P < 0.05$)。YAP、CyclinD1 与病理分型相关 ($P < 0.05$), 而 MST1 与病理分型无相关性 ($P > 0.05$); 三者与患者的性别、年龄、生存时间、淋巴结转移、临床分期、远处转移、复发及生存状态无相关性 ($P > 0.05$)。在鼻咽癌组织内, YAP 与 CyclinD1、MST1 与 CyclinD1 呈正相关 ($P < 0.05$), YAP 与 MST1 无相关性 ($P > 0.05$)。**结论** YAP 和 CyclinD1 蛋白的高表达、MST1 蛋白的低表达可能与鼻咽癌的发生、发展有关, 三者有望成为治疗鼻咽癌的新靶点。

关键词: 鼻咽肿瘤; Yes 相关蛋白; 哺乳动物不育系 20 样激酶 1; 细胞周期蛋白 D1

中图分类号: R739.6

文献标识码: A

Expression and clinical significance of YAP, MST1 and CyclinD1 in nasopharyngeal carcinoma

Zhi-qiang Wang, Xuan He, Si-wei Li, Jia Tian, Long-kuan Xu, Ying-qiong Zhou
(Department of Pathology, Affiliated Hospital of Guilin Medical University,
Guilin, Guangxi 541001, China)

Abstract: **Objective** To investigate the expression of Yes-associated protein (YAP), mammalian sterile 20-like kinase 1 (MST1), CyclinD1 (CyclinD1) in nasopharyngeal carcinoma and their clinical significance. **Methods** The expression of YAP, MST1 and CyclinD1 in chronic nasopharyngeal mucositis tissues and nasopharyngeal carcinoma tissues were examined by immunohistochemical staining. **Results** The expression of YAP and CyclinD1 in nasopharyngeal carcinoma were higher than those in nasopharyngeal mucosa ($P < 0.05$). The expression of MST1 in nasopharyngeal carcinoma was lower than that in nasopharyngeal mucosa ($P < 0.05$). The expression of YAP and CyclinD1 were associated with pathological type ($P < 0.05$). No obvious relationship was identified between target proteins and gender, age, survival time, lymph node metastasis, clinical stage, distant metastasis, recurrence or survival status ($P > 0.05$). YAP and MST1 were positively correlated with CyclinD1 ($P < 0.05$). **Conclusions** Increased expression of YAP, CyclinD1 and decreased expression of MST1 may be related to the occurrence and development of nasopharyngeal carcinoma.

Keywords: nasopharyngeal neoplasms; Yes-associated protein; mammalian sterile 20-like kinase 1; CyclinD1

鼻咽癌是我国南方省份及东南亚高发的一种恶性肿瘤, 有明显的种族聚集性和地域性。临床以放射治

收稿日期: 2018-11-17

[通信作者] 周英琼, E-mail: 15977321166@163.com; Tel: 15977321166

疗为主,由于鼻咽腔位置隐蔽,临床症状表现多样,确诊时约 75% 患者为中晚期,这类患者的治疗效果欠佳,5 年生存率 <50%^[1]。本实验采用免疫组织化学的方法,检测 Yes 相关蛋白 (Yes-associated protein, YAP)、哺乳动物不育系 20 样激酶 1 (mammalian sterile 20-like kinase 1, MST1)、细胞周期蛋白 D1 (CyclinD1) 在鼻咽部黏膜慢性炎和鼻咽癌中的表达,观察其表达与鼻咽癌临床病理因素间的关系,探讨其在鼻咽癌发生中的作用机制,进而有助于为鼻咽癌的早期诊断提供新的标志物,也可为临床治疗路径提供新思路。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取 2009 年 1 月—2012 年 12 月于桂林医学院附属医院病理科保存的活检标本 160 例鼻咽癌组织 (鼻咽癌组)。其中,男性 118 例,女性 42 例;年龄 13 ~ 79 岁;患者术前均未放化疗,术后所有标本诊断为鼻咽癌。40 例鼻咽黏膜慢性炎组织 (鼻咽黏膜慢性炎组) 来源于本院病理科 2016 年 3 月—2017 年 3 月保存的活检标本。所有组织标本获取均征得患者及家属同意,并通过本院医学伦理委员会批准。

1.2 YAP、MST1、CyclinD1 的检测

采用免疫组织化学染色方法。YAP Antibody (#4912) 购自美国 CST 公司, MST1 Antibody 购自美国 Proteintech 公司, CyclinD1 即用型抗体、DAB 显色试剂盒及即用型快捷免疫组织化学 Max Vision™ 试剂盒 (鼠/兔) 购自福州迈新生物技术公司。按试剂盒说明书进行实验操作。阳性对照用已知染色阳性切片,阴性对照用 PBS 代替一抗。YAP 表达于细胞质和 / 或

细胞核, MST1 表达于细胞质, CyclinD1 表达于细胞核。

1.3 结果判定

显微镜下观察、成像系统拍照。①按阳性细胞百分比计分: ≤ 5% 为 0 分, >5% ~ 25% 为 1 分, >25% ~ 50% 为 2 分, >50% ~ 75% 为 3 分, >75% 为 4 分;②染色强度评分:无着色为 0 分,淡黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分;③将阳性细胞百分比计分和染色强度评分相乘为结果:0 分阴性 (-), 1 ~ 4 分弱阳性 (+), 5 ~ 8 分中度阳性 (++) , 9 ~ 12 分强阳性 (+++)。

1.4 统计学方法

数据分析采用 SPSS 18.0 统计软件,计数资料以例 (%) 表示,比较采用 χ^2 检验,相关分析采用 Spearman 等级相关, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 YAP、MST1、CyclinD1 的表达

YAP 及 CyclinD1 蛋白在鼻咽癌组织中的阳性表达率高于鼻咽黏膜慢性炎组织 ($P < 0.05$); MST1 蛋白在鼻咽癌组织中的阳性表达率低于鼻咽黏膜慢性炎组织 ($P < 0.05$)。见表 1 和图 1、2。

2.2 YAP、MST1、CyclinD1 的表达与鼻咽癌临床病理特征的关系

160 例鼻咽癌组织中, YAP、CyclinD1 在非角化型未分化癌中的表达高于非角化型分化性癌 ($P < 0.05$), 而 MST1 的表达与病理分型不相关 ($P > 0.05$); 三者与患者的性别、年龄、生存时间、淋巴结转移、临床分期、远处转移、复发及生存状态不相关 ($P > 0.05$)。见表 2。

表 1 两组 YAP、MST1、CyclinD1 蛋白表达及阳性率的比较 例 (%)

组别	n	YAP 阳性率	χ^2 值	P 值	MST1 阳性率	χ^2 值	P 值	CyclinD1 阳性率	χ^2 值	P 值
鼻咽黏膜慢性炎组	40	21 (52.50)	18.947	0.000	37 (92.5)	10.031	0.002	23 (57.50)	31.619	0.000
鼻咽癌组	160	135 (84.38)			108 (67.5)			148 (92.50)		

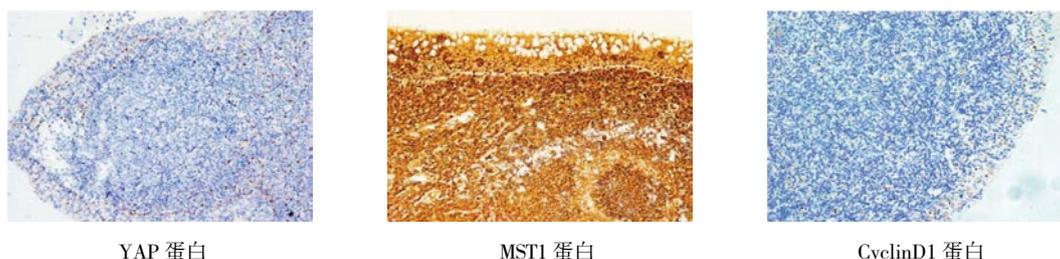


图 1 YAP、MST1、CyclinD1 蛋白在鼻咽癌黏膜慢性炎中的表达 (×40)

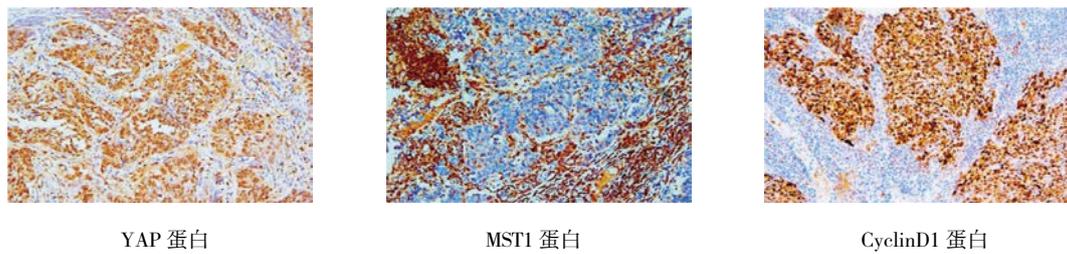


图2 YAP、MST1、CyclinD1 在鼻咽癌中的表达 (×40)

表2 鼻咽癌临床病理学特征与 YAP、MST1、CyclinD1 蛋白的关系 例 (%)

临床病理特征	n	YAP 阳性	χ^2 值	P 值	MST1 阳性	χ^2 值	P 值	CyclinD1 阳性	χ^2 值	P 值
性别										
男	118	97 (82.20)	1.608	0.205	78 (66.10)	0.401	0.527	109 (92.37)	0.010	0.918
女	42	38 (90.48)			30 (71.45)			39 (92.86)		
年龄										
<47 岁	74	65 (87.84)	1.252	0.263	48 (64.86)	0.436	0.509	69 (93.24)	0.110	0.741
≥ 47 岁	86	70 (81.40)			60 (69.77)			79 (91.86)		
生存时间										
<3 年	22	21 (95.45)	2.375	0.123	15 (68.18)	0.005	0.941	21 (95.45)	0.321	0.571
≥ 3 年	138	114 (82.61)			93 (67.39)			127 (92.03)		
病理分型										
非角化型未分化癌	150	129 (86.00)	4.807	0.028	101 (67.33)	0.030	0.862	141 (94.00)	7.784	0.005
非角化型分化性癌	10	6 (60.00)			7 (70.00)			7 (70.00)		
淋巴结转移										
阴性	24	23 (95.83)	2.812	0.094	18 (75.00)	0.724	0.395	22 (91.67)	0.028	0.866
阳性	136	112 (82.35)			90 (66.176)			126 (92.65)		
鼻咽癌 2008 分期										
I 期	5	4 (80.00)	2.284	0.516	5 (100.00)	2.962	0.398	4 (80.00)	1.322	0.724
II 期	20	19 (95.00)			12 (60.00)			19 (95.00)		
III 期	106	87 (82.08)			71 (66.98)			98 (92.45)		
IV 期	29	25 (86.21)			20 (68.97)			27 (93.10)		
远处转移										
无	145	123 (84.83)	0.240	0.624	100 (68.97)	1.514	0.218	133 (91.72)	1.342	0.247
有	15	12 (80.00)			8 (53.33)			15 (100.00)		
复发										
无	144	124 (86.11)	3.292	0.070	99 (68.75)	1.026	0.311	134 (93.06)	0.641	0.423
有	16	11 (68.76)			9 (56.25)			14 (87.50)		
生存状态										
生存	133	111 (83.46)	0.502	0.479	89 (66.92)	0.122	0.727	122 (91.73)	0.675	0.411
死亡	27	24 (88.89)			19 (70.37)			26 (96.30)		

2.3 YAP 与 MST1、CyclinD1 在鼻咽癌中表达的相关性

Spearman 相关性分析结果显示,在鼻咽癌组织内,YAP 与 CyclinD1、MST1 与 CyclinD1 呈正相关 ($r_s=0.270$ 和 0.208 , $P=0.001$ 和 0.008),YAP 与 MST1 的表达无相关性 ($r_s=0.069$, $P=0.387$)。

3 讨论

YAP 是富脯氨酸的磷蛋白,约 65 kD,是 Hippo 信号通路中的主要效应因子,其表达过量与肿瘤发生有关^[2]。YAP 基因定位于人类染色体 11q22,表达于除外周血白细胞外的所有机体组织中^[3]。YAP 通过 WW 结构域能与含有 Pro-pro-X-Tyr (PPXY) 结构的转录因子相互结合发挥转录共激活因子功能,在细胞信号转导及转录调节中发挥重要作用^[4]。研究表明 YAP 在细胞增殖与凋亡的调控、器官大小的控制、细胞接触性抑制乃至肿瘤的发生过程中具有重要的作用^[5-6]。张宁南等^[7]在膀胱癌 T40 细胞株中干扰 YAP 的表达,可抑制细胞增殖和迁移。在胰腺癌的研究中激活 YAP 促进胰腺癌细胞迁移、侵袭,减少 YAP 的含量,降低细胞的侵袭和迁移能力;与人胰腺正常组织和原发性肿瘤比较,胰腺癌转移组织细胞核内 YAP 的表达水平升高^[8]。YU 等^[9]研究结果显示,YAP 在肝细胞癌及其转移组织中的表达水平高于正常对照组;高表达 YAP 的肝癌患者,其总体生存率和无病生存率更低。本实验中,YAP 在鼻咽癌中的阳性表达率高于鼻咽黏膜慢性炎症,与 YU 等研究结果相似,说明 YAP 在鼻咽癌发生、发展过程中发挥重要作用;YAP 在非角化型未分化癌中的表达高于非角化型分化性癌,这可能与分化性癌例数不足有关;YAP 在鼻咽癌中的表达与淋巴结转移、临床分期、远处转移及复发无关。

MST1,又称 STK4 (丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 4),59 kD,基因位于 20q11,与果蝇中的 Hippo 激酶同源,广泛表达于人体主要细胞系^[10]。MST1 能通过磷酸化来调节 Hippo-YAP 信号传导途径中的核心激酶反应链的其余部分,因此在 Hippo-YAP 信号传导途径中起重要作用^[11]。MST1 主要功能之一是参与细胞的凋亡,MST1 被激活后能进入细胞核,激活促凋亡的组蛋白和转录因子,进而促进凋亡,并抑制细胞的生长^[12]。有文献报道,当 MST1 缺失或受抑制时将促进细胞的增殖或抑制细胞的凋亡^[13]。LIN 等^[14]在乳腺癌的研究中指出,MST1 过表达可促进肿瘤细胞凋亡和抑制肿

瘤细胞增殖,MST1 表达缺失或变异与乳腺癌的发生有关;乳腺癌 MST1 阳性组患者的总生存率和无病生存率高于 MST1 阴性组,表明 MST1 是评估乳腺癌患者预后的一个重要指标。本实验中,MST1 在鼻咽癌中的阳性表达率低于鼻咽黏膜慢性炎症,提示 MST1 表达减少与鼻咽癌的发生密切相关,但 MST1 的表达与患者的预后无关。

CyclinD1 基因位于 11q13,编码由 295 个氨基酸所构成的蛋白质,是一种具有癌基因性质的蛋白,其过表达可加快细胞从 G1/S 期的转化,缩短 G1 期,造成细胞增殖失控和恶性生长,从而造成细胞过度增殖,形成肿瘤^[15]。ZHAO 等^[16]实验结果显示,CyclinD1 在食管癌组织中的表达水平高于癌旁组织,与食管癌的分化程度和淋巴结转移无关。QIN 等^[17]发现,CyclinD1 在结肠癌中的表达水平升高,且高表达 CyclinD1 的结肠癌患者预后不良。本实验中,CyclinD1 在鼻咽癌中的阳性表达率高于鼻咽黏膜慢性炎症,与以上研究结果相符,提示 CyclinD1 表达的异常与鼻咽癌的发生密切相关;CyclinD1 在鼻咽癌中的表达与淋巴结转移无关,这与 ZHAO 等^[16]实验结果相符。

本实验中,YAP 与 CyclinD1、MST1 与 CyclinD1 的表达呈正相关,YAP 与 MST1 的表达无相关性。实验结果提示,YAP 和 CyclinD1 蛋白的高表达、MST1 蛋白的低表达可能与鼻咽癌的发生、发展有关,三者有望成为治疗鼻咽癌的新靶点。

参 考 文 献:

- [1] 黄祥,曲超,姜新,等.鼻咽癌的治疗进展[J].中国老年学杂志,2015,35(11):3159-3161.
- [2] BAIA G S, CABALLERO O L, ORR B A, et al. Yes-associated protein 1 is activated and functions as an oncogene in meningiomas[J]. Mol Cancer Res, 2012, 10(7): 904-913.
- [3] SUDOL M, BORK P, EINBOND A, et al. Characterization of the mammalian YAP (Yes-associated protein) gene and its role in defining a novel protein module, the WW domain[J]. Biol Chem, 1995, 270(24): 14733-14741.
- [4] 徐荣伟,温见燕,刘鹏. Hippo-YAP 信号通路与心血管系统发育关系的研究进展[J].中国心血管杂志,2015,20(3):233-234.
- [5] YU F X, ZHAO B, GUAN K L. Hippo pathway in organ size control, tissue homeostasis, and cancer[J]. Cell, 2015, 163(4): 811-828.
- [6] MA Y, YANG Y, WANG F, et al. Hippo-YAP signaling pathway: a new paradigm for cancer therapy[J]. Int J Cancer, 2015, 137(10): 2275-2286.
- [7] 张宁南,余闰宏,肖民辉,等.膀胱癌中 YAP 基因的表达以及靶向干扰 YAP 对膀胱癌细胞株的调节作用[J].中国现代医学

- 杂志, 2015, 25(13): 40-42.
- [8] YANG S, ZHANG L, PUROHIT V, et al. Active YAP promotes pancreatic cancer cell motility, invasion and tumorigenesis in a mitotic phosphorylation-dependent manner through LPAR3[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(34): 36019-36031.
- [9] YU S, JING L, YIN X R, et al. MiR-195 suppresses the metastasis and epithelial-mesenchymal transition of hepatocellular carcinoma by inhibiting YAP[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(59): 99757-99771.
- [10] 周杰灿, 唐圣松. MST1 生物学作用及信号调控研究进展 [J]. *临床与病理杂志*, 2016, 36(2): 209-214.
- [11] ZHAO B, LEI Q Y, GUAN K L. The hippo-yap pathway: New connections between regulation of organ size and cancer[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2008, 20(6): 638-646.
- [12] RADU M, CHERNOFF J. The demystification of mammalian sterile 20 kinases[J]. *Curr Biol*, 2009, 19(10): R421-R425.
- [13] DU X, YU A, TAO W. The non-canonical Hippo/Mst pathway in lymphocyte development and functions[J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2015, 47(1): 60-64.
- [14] LIN X Y, CAI F F, WANG M H, et al. Mammalian sterile 20-like kinase 1 expression and its prognostic significance in patients with breast cancer[J]. *Oncol Lett*, 2017, 14(5): 5457-5463.
- [15] QU D W, XU H S, HAN X J, et al. Expression of CyclinD1 and Ki-67 proteins in gliomas and its clinical significance[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2014, 18(4): 516-519.
- [16] ZHAO S, YI M, YUAN Y, et al. Expression of AKAP95, Cx43, CyclinE1 and CyclinD1 in esophageal cancer and their association with the clinical and pathological parameters[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(5): 7324-7332.
- [17] QIN A, YU Q, GAO Y, et al. Inhibition of STAT3/cyclinD1 pathway promotes chemotherapeutic sensitivity of colorectal cancer[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 457(4): 681-687.
- (王荣兵 编辑)