

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.07.021
文章编号: 1005-8982 (2018) 07-0105-04

PR-SET7 在食管癌中表达及其临床意义

郑建, 陈建, 叶钢

(武警江苏省总队医院 胸外科, 江苏 扬州 225003)

摘要: 目的 探讨赖氨酸甲基转移酶 PR-SET7 在食管癌组织中的表达及其与临床特征的相关性。**方法** 应用免疫组织化学法检测武警江苏省总队医院 2010 年 6 月-2011 年 2 月 32 例食管癌患者食管癌组织和癌旁组织中 PR-SET7 的表达, 并探讨 PR-SET7 的表达量与患者性别、年龄、细胞分化程度、TNM 分期及淋巴结转移等临床特征的相关性。**结果** 32 例食管癌组织中均检测到 PR-SET7 的表达, 癌组织中 PR-SET7 的表达强于癌旁组织, 高表达率为 81.25%, 癌旁组织中以弱表达为主, 高表达率为 15.62% ($P < 0.05$)。PR-SET7 主要表达在细胞核, 食管癌中的表达与肿瘤细胞分化程度、TNM 分期及淋巴结转移相关 ($P < 0.05$), 与患者的性别、年龄无相关 ($P > 0.05$)。**结论** 食管癌发生与发展过程中 PR-SET7 异常表达, 其表达水平可能与肿瘤的进展、转移及预后密切相关。

关键词: PR-SET7; 食管癌; 表达; 预后

中图分类号: R735.1

文献标识码: A

PR-SET7 is expressed in human esophageal carcinoma and its clinical significance

Jian Zheng, Jian Chen, Gang Ye

(Department of Thoracic Surgery, Jiangsu Armed Police General Hospital, Yangzhou, Jiangsu 225003, China)

Abstract: Objective To investigate the lysine methyltransferase (PR-SET7) expression in human esophageal cancer tissues and its correlation with clinical features. **Methods** The immunohistochemistry was used to detect the PR-SET7 expressions in esophageal cancer tissues and adjacent normal tissues of 32 cases at Jiangsu Armed Police General Hospital from June 2010 to February 2011. And the correlations of PR-SET7 expression with patients' gender, age, degree of carcinoma tissue differentiation, TNM stage and lymph node metastasis were explored. **Results** Immunohistochemical results showed that PR-SET7 expression was found in all 32 cases of esophageal cancer tissues, and the expression of PR-SET7 in the cancerous tissues was significantly stronger than that of the adjacent tissues. The high-expression rate was 81.25% in the esophageal cancer tissues, the adjacent tissues chiefly had weak expression of PR-SET7 with the high-expression rate of 15.62% ($P < 0.05$). PR-SET7 mainly expressed in the nuclei of tumor cells. PR-SET7 protein level in the patients with esophageal carcinoma was not correlated with age or sex ($P > 0.05$), but correlated with tumor cell differentiation, TNM stage and lymph node metastasis ($P < 0.05$). **Conclusions** Abnormal expression of PR-SET7 could be found in the process of oncogenesis and progression of esophageal cancer, its expression level is closely associated with tumor progression, metastasis and prognosis.

Keywords: PR-SET7; esophageal carcinoma; expression; prognosis

PR-SET7 是现今发现唯一能够特异性单甲基化组蛋白 H4 赖氨酸 20 位 (histoneH4 lysine20, H4K20) 的赖氨酸甲基转移酶 (Lysinemethyltransferase) [1-2], PR-SET7 又称 SETD8、SET8、KMT5a, 与人类肿瘤的发生、生长、转移等多个环节密切相关 [3], TAKAWA 等 [4] 研究发现 PR-SET7 在肝癌、肺癌、膀胱癌、前列腺癌等多种肿瘤组织中的表达均增强, 与肿瘤的发生、发展呈正相关。本研究通过免疫组织化学法检测食管癌组织中 PR-SET7 的表达, 探讨食管癌组织中 PR-SET7 的表达及其与临床特征的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料

标本取自 2010 年 6 月 -2011 年 2 月武警江苏省总队医院胸外科行手术治疗, 经病理读片确定为食管鳞状细胞癌患者 32 例。其中, 男性 19 例, 女性 13 例。年龄 48 ~ 73 岁, 平均 62 岁。所有患者术前均未行放化疗治疗。

1.2 免疫组织化学染色及评估

所有标本均取自该院病理科, 组织经 10% 甲醛固定、石蜡包埋, 切成 4 μ m 切片, 65 $^{\circ}$ C 烘片 24 h, 常温储存备用。取组织石蜡切片, 二甲苯脱蜡, 梯度酒精水化, 超纯水洗 3 次, 甲醇 + H₂O₂ 去过氧化物; PBS 洗 5 min; 柠檬酸缓冲液修复 10 min, 室温自然冷却, PBS 洗 2 次; 羊血清封闭 2 h; 加一抗孵育, 一抗为鼠抗人 PR-SET7 多抗 (1 : 300, 武汉 Abcam 公司), 4 $^{\circ}$ C 过夜; 1% PBS-T 洗 2 次, PBS 洗 1 次 5 min; 二抗为鼠兔通用型二抗 [基因科技 (上海) 有限公司], 室温 1 h, PBS 洗 3 次, 切片经二氨基联苯胺 (DAB) 显色, 蒸馏水终止, 苏木素复染, 盐酸酒精分化, 45 $^{\circ}$ C 水浴返蓝, 梯度酒精脱水, 二甲苯透明, 中性树脂封片, PR-SET7 阳性基因判断标准以癌组织或癌旁组织的胞浆及胞核出现棕黄色为阳性, 免疫组织化学评分采用 H-score 评分系统法 [5], H-score = 阳性强度 \times 100

个细胞中阳性细胞数目。阳性强度分为阴性 (0 分)、弱阳性 (1 分)、中等阳性 (2 分) 和强阳性 (3 分)。本研究将评分 0 ~ 200 分的组织定义为低表达, >200 分的组织定义为高表达。结果由 2 位资深病理科医师阅片, 取所得的 H-score 均值纳入统计。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 18.0 统计学软件进行数据分析。计数资料以百分率 (%) 表示, 运用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

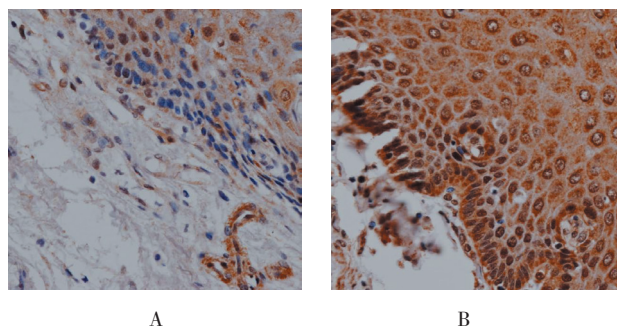
2 结果

2.1 PR-SET7 在食管癌组织中的表达

PR-SET7 主要在细胞核中表达, 在食管癌组织中高表达, 在癌旁组织中低表达 (见附图)。统计学分析表明 PR-SET7 在食管癌组织中的高表达率为 81.25%, 在癌旁组织中的高表达率为 15.62%, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 PR-SET7 表达与食管癌临床特征的相关性

PR-SET7 在食管癌组织中的表达量与肿瘤细胞分化程度、TNM 分期和淋巴结转移相关 ($P < 0.05$), 肿瘤分化程度低、III 期伴淋巴结转移的癌组织 PR-SET7 具有高表达率。与患者的性别、年龄无相关 ($P > 0.05$)。见表 2。



A: 癌旁组织; B: 癌组织

附图 PR-SET7 在食管癌组织及癌旁组织中的表达 (免疫组织化学染色 $\times 200$)

表 1 食管癌组织及癌旁组织 PR-SET7 蛋白的表达量 [n=32, 例 (%)]

组别	PR-SET7 的表达		χ^2 值	P 值
	低表达	高表达		
癌组织	6 (18.75)	26 (81.25)	27.59	0.000
癌旁组织	27 (84.38)	5 (15.62)		

表 2 PR-SET7 在食管癌组织中的表达与临床特征的相关性 例 (%)

临床病理特征	PR-SET7 在癌组织中的表达水平		χ^2 值	P 值
	低表达	高表达		
性别				
男 (n=23)	4 (17.4)	19 (82.6)	0.10	0.554
女 (n=9)	2 (22.2)	7 (77.8)		
年龄				
≥ 60 岁 (n=20)	5 (25.0)	15 (75.0)	1.37	0.248
< 60 岁 (n=12)	1 (8.3)	11 (91.7)		
病理分化程度				
高分化 (n=8)	5 (62.5)	3 (37.5)	13.60	0.002
中分化 (n=14)	1 (7.1)	13 (92.9)		
低分化 (n=10)	0 (0.0)	10 (100.0)		
TNM 分期				
I 期 (n=8)	5 (62.5)	3 (37.5)	13.60	0.002
II 期 (n=14)	1 (7.1)	13 (92.9)		
III 期 (n=10)	0 (0.0)	10 (100.0)		
有无淋巴结转移				
有 (n=17)	0 (0.0)	17 (100.0)	8.37	0.006
无 (n=15)	6 (40.0)	9 (60.0)		

3 讨论

研究表明, PR-SET7 在细胞周期、DNA 复制起始、基因组稳定、DNA 损伤修复及细胞凋亡等多方面发挥作用^[6-10], 涉及到肿瘤的发生、发展及预后等多个环节。多种研究表明, PR-SET7 的 rs16917496 位点单核苷酸多态性有可能成为肿瘤发病和预后的指标之一^[3], 其通过相关癌基因及抑癌基因进行转录调控, 在肿瘤发生、发展中起重要作用。例如 PR-SET7 介导的 p53K382me1 修饰可增强 L3MBTL1 与 p53 的相互作用, 抑制 p53 的转录作用。然而当 DNA 损伤时, PR-SET7 表达降低, 导致 p53K382me1 水平下降, L3MBTL1 与 p53 的结合作用减弱, L3MBTL1 从 p53 靶基因解离, 促使 p53 靶基因转录活化增强^[11]。

本研究通过免疫组织化学方法检测 PR-SET7 在食管癌组织及癌旁组织中的表达, 证实癌组织中 PR-SET7 强表达, 主要位于食管癌肿瘤细胞的胞核中, 在胞浆中也有表达。根据统计结果, 其在食管癌肿瘤细胞中的表达量高于癌旁组织, 其与食管癌的肿瘤分化程度、病理学分期及淋巴结转移情况密切相关, 提示 PR-SET7 的异常表达与食管癌的进展、转移及预后

密切相关, 但其在食管癌中的调控机制尚不明确。

在当前肿瘤生物学研究中, 表观遗传学改变已经成为热点, 通过 DNA 甲基化、非编码 RNA 调控、染色质重塑等领域的研究, 对肿瘤预后评估提供了诸多有价值的分子标志^[12]。目前研究提示在食管癌组织中存在多条异常激活的信号传导通路^[13], 进一步研究 PR-SET7 在食管癌中调控机制, 了解 PR-SET7 在食管癌中是否有其专属的调节通路, 以及该通路上所存在的相关靶基因, 对食管癌的预测、早期诊断、病情发展及预后等方面具有重要的价值, 可作为一个评估食管癌潜在风险的重要因素, 为食管癌的治疗及药物研发提供新的方向。

参 考 文 献:

- [1] XIAO B, JING C, KELLY G, et al. Specificity and mechanism of the histone methyltransferase Pr-Set7[J]. *Genes Dev*, 2005, 19(12): 1444-1454.
- [2] COUTURE J F, COLLAZO E, BRUNZELLE J S, et al. Structural and functional analysis of SET8, a histone H4 Lys-20 methyltransferase[J]. *Genes Dev*, 2005, 19(12): 1455-1465.
- [3] 王静, 徐金升. 赖氨酸甲基转移酶 SET8 结构和功能及其与肿

- 瘤关系的研究进展 [J]. 肿瘤防治研究, 2015, 42(4): 403-406.
- [4] TAKAWA M, CHO H S, HAYAMI S, et al. Histone lysine methyltransferase SETD8 promotes carcinogenesis by deregulating PCNA expression[J]. *Cancer Res*, 2012, 72(13): 3217-3227.
- [5] MCCARTY K J, MILLER L S, COX E B, et al. Estrogen receptor analyses: Correlation of biochemical and immunohistochemical methods using monoclonal antireceptor antibodies[J]. *Arch Pathol Lab Med*, 1985, 109(8): 716-721.
- [6] ODA H, HUBNER MR, BECK DB, et al. Regulation of the histone H4 monomethylase PR-Set7 by CRL4 (Cdt2) -mediated PCNA-dependent degradation during DNA damage[J]. *Mol Cell*, 2010, 40(3): 364-376.
- [7] HSIAO K Y, MIZZEN C A. Histone H4 deacetylation facilitates 53BP1 DNA damage signaling and double-strand break repair[J]. *J Mol Cell Biol*, 2013, 5(3): 157-165.
- [8] ODA H, OKAMOTO I, MURPHY N, et al. Monomethylation of histone H4-lysine 20 is involved in chromosome structure and stability and is essential for mouse development[J]. *Mol Cell Biol*, 2009, 29(8): 2278-2295.
- [9] BRUSTEL J, TARDAT M, KIRSH O, et al. Coupling mitosis to DNA replication: the emerging role of the histone H4-lysine 20 methyltransferase PR-Set7[J]. *Trends Cell Biol*, 2011, 21(8): 452-460.
- [10] HUEN M S, SY S M, VAN-DEURSEN J M, et al. Direct interaction between SET8 and proliferating cell nuclear antigen couples H4-K20 methylation with DNA replication[J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(17): 11073-11077.
- [11] WEST L E, ROY S, LACHMI W K, et al. The MBT repeats of L3MBTL1 link SET8-mediated p53 methylation at lysine 382 to target gene repression[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(48): 37725-37732.
- [12] KLOSE R J, ZHANG Y. Regulation of histone methylation by demethylase and demethylation[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8(4): 307-318.
- [13] OKUMURA H, UCHIKADO Y, SETOYAMA T, et al. Biomarkers for predicting the response of esophageal squamous cell carcinoma to neoadjuvant chemoradiation therapy[J]. *Surg Today*, 2014, 44(3): 421-428.

(张西倩 编辑)