

HSP70 和 P53 蛋白在甲状腺乳头状癌中的表达 及其与临床病理特征的关系

李延辉¹ 夏明汗² 康举龄² 谢敏如¹ 马少康³

(1 石碣医院病理科 广东 东莞 523290 2 暨南大学附属第一医院病理科 广东 广州 510630 ;

3 石碣医院天涯亭门诊 广东 东莞 523290)

摘要 目的 探讨热休克蛋白 70(HSP70)和 P53 蛋白在甲状腺乳头状癌组织中的表达及其与临床病理特征的关系。方法 应用免疫组织化学 Envision 法检测 35 例甲状腺乳头状癌组织、15 例甲状腺良性病变组织及 15 例正常甲状腺组织中 HSP70 和 P53 蛋白的表达,分析 HSP70 和 P53 蛋白的表达与甲状腺乳头状癌临床病理学特征的关系。结果 甲状腺乳头状癌组织中 HSP70 和 P53 阳性表达率明显高于甲状腺良性病变组织及正常甲状腺组织($P<0.01$)。HSP70 在甲状腺乳头状癌组织中的表达与是否有颈部淋巴结转移、浸润深度以及 AJCC 分期密切相关($P<0.01$),而与年龄、性别、肿瘤的大小以及分化程度无关($P>0.05$)。P53 在 PTC 组织中的表达与组织分化程度、是否有淋巴结转移、浸润深度以及 AJCC 分期密切相关($P<0.01$),而与年龄、性别、肿瘤的大小无关($P>0.05$)。HSP70 和 P53 蛋白在 PTC 组织中的表达呈正相关性($r=0.679$ $P<0.01$)。结论 HSP70 和 p53 蛋白在 PTC 中均呈高表达,并有协同作用,两者可作为预测 PTC 的生物学行为和预后的参考指标。

关键词 甲状腺乳头状癌;免疫组织化学;热休克蛋白 70 p53 蛋白

中图分类号 R736.1 文献标识码 A 文章编号 :1673-6273(2011)13-2504-04

Expression of HSP70 and p53 and Their Relationship with Pathological Characteristics in Papillary Thyroid Carcinoma

LI Yan-hui¹, XIA Ming-han², KANG Ju-ling², XIE Min-ru¹, MA Shao-kang³

(1 The pathology department of Shijie hospital, Dongguan, Guangdong, 523290;

2 The pathology department of the first hospital affiliated to Jida university, Guangzhou, Guangdong 510630 ;

3 The out-patient department of Shijie hospital, Dongguan, Guangdong, 523290)

ABSTRACT Objective: To investigate the relationship of the expression of HSP70 and p53 with the pathological characteristic in papillary thyroid carcinoma. **Methods:** The expression of HSP70 and p53 protein were detected with immunohistochemical EnVision plus non-biotin technique in 35 cases of papillary thyroid carcinoma, 15 cases of benign thyroid diseases and 15 cases of normal tissues of thyroid. **Results:** The positive expression rates of HSP70 and p53 protein in papillary thyroid carcinoma were significantly higher than that in benign thyroid diseases and normal tissues of thyroid ($P<0.01$). The expression of HSP70 was positively related to lymph node metastasis, AJCC clinical stage and the degree of infiltration ($P<0.01$). The expression of p53 was positively related to AJCC clinical stage, differentiation degree, lymph node metastasis and the degree of infiltration ($P<0.01$). The expression of HSP70 was positively correlated with p53 ($r=0.679$ $P<0.01$). **Conclusion:** The expression of HSP70 and p53 protein in papillary thyroid carcinoma were high. There was the synergistic effect between HSP70 and p53. HSP70 and p53 protein may act as markers predicting biological behavior and prognosis of papillary thyroid carcinoma.

Key words: Papillary thyroid carcinoma; Immunohistochemistry; HSP70; p53

Chinese Library Classification(CLC): R736.1 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2011)13-2504-04

前言

甲状腺乳头状癌(papillary thyroid carcinoma, PTC)是最常见的内分泌系统恶性肿瘤之一,多数呈低度恶性,但 PTC 起病隐匿,临床表现及生物学特征复杂多变,且具有较高的局部侵袭性和颈部淋巴结转移率,因此对其生物学行为机理的探讨一

直是甲状腺肿瘤研究领域中的一个热点课题^[1]。热休克蛋白 70 (heat shock protein, HSP70) 是 HSP 家族中最受关注的一类亚型,具有多种生物学功能,与多种肿瘤的发生、发展及增殖、浸润、转移等生物学行为都有密切关系^[2-3]。p53 基因是目前研究最多的肿瘤抑制基因,具有维持细胞的正常生长、抑制恶性增殖、启动细胞凋亡的作用,其突变或缺失是多种恶性肿瘤发生的重要机制。研究表明,突变型 p53 蛋白表达与恶性肿瘤的形成、发展、浸润、转移及预后相关^[4-6]。目前尚未见 HSP70 和 p53 蛋白在 PTC 中表达的相关研究报道。本研究采用免疫组织化学 Envision 法检测 HSP70 和 p53 蛋白在 PTC 组织中的表达,旨

作者简介 李延辉(1978-)女,硕士,主治医师,电话 13751464606, E-mail:hellen801224@163.com,研究方向 淋巴瘤和肿瘤病理。
电话:13751464606
(收稿日期:2010-12-21 接受日期:2011-01-15)

在探讨二者在 PTC 发生、发展中的作用,为评估 PTC 浸润、转移等生物学行为和预后提供新的参考指标。

1 材料与方法

1.1 材料

选择 2005 年 1 月 16 日至 2010 年 11 月 15 日我院甲状腺癌手术切除标本 35 例,术前均未经过化疗、放疗及免疫治疗,术后经过病理确诊为 PTC。其中男性 5 例,女性 30 例;年龄 23~75 岁,平均(44.8±5.6)岁;按细胞分化程度分级^[7] I 级 11 例, II 级 14 例, III 级 10 例;伴颈淋巴结转移 13 例,无颈淋巴结转移 22 例;依据 2002 年 AJCC 分期标准^[6] I~III 期 20 例, IV 期 15 例;肿瘤浸润未突破包膜者 11 例,浸润达包膜或包膜外者 24 例。另选择同期 15 例甲状腺良性病变(结节性甲状腺肿 13 例和甲状腺腺瘤 2 例)及 15 例良性病变旁正常甲状腺组织作为对照。所有标本均采用 10% 中性福尔马林固定,石蜡包埋,常规连续 4μm 切片。

1.2 方法

采用免疫组化 EnVision 法检测 HSP70 和 p53 蛋白的表达,EnVision 试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司,兔抗人 HSP70 多克隆抗体、鼠抗人 p53 单克隆抗体均购自福州迈新生物技术有限公司。操作程序按说明书进行。阴性对照以 PBS 替代一抗,用已知阳性标本作阳性对照。染色结果判断:HSP70 阳性染色定位于细胞核或细胞浆(图 1) p53 蛋白阳性染色定位于细胞核(图 2),呈现棕色或淡棕色颗粒。每张切片在

高倍镜下随机选取 10 个视野,按阳性细胞占同类细胞总数的百分比来计算。≤5% 为阴性(-),6%~29% 为弱阳性(+),30%~60% 为表达阳性(++),61%~100% 为表达强阳性(+++)。将(-)和(+)合计为阴性病例数,(++)和(+++)合计为阳性病例数。

1.3 统计学方法

应用 SPSS 13.0 版统计软件进行统计学处理。计数资料运用卡方检验法,采用 Spearman 等级相关分析 HSP70 和 p53 蛋白表达的相关性。以 P<0.05 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 HSP70 和 p53 在 PTC、良性病变及正常组织中的表达

35 例 PTC 组织、15 例甲状腺良性病变组织及 15 例正常甲状腺组织中 HSP70 阳性表达率分别为 77.1%(27/35),20.0%(3/15),13.3%(2/15);P53 阳性表达率分别为 69.1%(24/35),13.3%(2/15),0(0/15)。PTC 组织中 HSP70 和 P53 阳性表达率明显高于甲状腺良性病变组织及正常甲状腺组织(P<0.01)。

2.2 PTC 组织中 HSP70 和 P53 与临床病理特征的关系

HSP70 在 PTC 组织中的表达与是否有颈部淋巴结转移、浸润深度以及 AJCC 分期密切相关(P<0.01),而与年龄、性别、肿瘤的大小以及分化程度无关(P>0.05)。p53 在 PTC 组织中的表达与组织分化程度、是否有淋巴结转移、浸润深度以及 AJCC 分期密切相关(P<0.01),而与年龄、性别、肿瘤的大小无关(P>0.05)。见表 1。

表 1 PTC 组织中 HSP70 和 P53 与临床病理特征的关系

Tab1 The relationship between the expression of HSP70 and p53 with the pathological characteristic of PTC

病理生物学特征 Pathological characteristic	n	HSP70 表达阳性 The positive expression rates of HSP70	p53 表达阳性 The positive expression rates of p53
年龄(岁) Age(year)			
<40	18	14(77.8)	13(72.2)
≥40	17	13(76.5)	11(64.7)
性别 Gender			
男 Female	5	4(80.0)	3(60.0)
女 Male	30	23(76.7)	21(70.0)
肿瘤大小 Size of tumor			
<1cm	5	4(80.0)	3(60.0)
1~4cm	24	18(75.0)	17(70.8)
>4cm	6	5(83.3)	4(66.7)
分化程度 Differentiation degree			
I	11	8(72.7)	5(45.5)
II	14	11(78.6)	10(71.4)
III	10	8(80.0)	9(90.0) ^a
颈淋巴结转移 Lymph node metascasis			
Yes	13	12(92.3)	12(92.3)

No	22	15(68.2) ^a	12(54.5) ^a
浸润深度 The degree of infiltration			
浸润达包膜或包膜外 On or out envelope	11	10(90.9)	10(90.9)
未突破包膜 In envelope	24	17(70.8) ^a	14(58.3) ^a
AJCC 分期 AJCC degree			
I~	20	13(65.0)	11(55.0)
~	15	14(93.3) ^a	13(86.7) ^a

^a P<0.01.

2.3 HSP70 与 p53 蛋白在 PTC 组织中的表达的相关性

经相关性分析结果显示 ,HSP70 和 P53 蛋白在 PTC 组织中的表达呈正相关性($r=0.679$, $P<0.01$)。

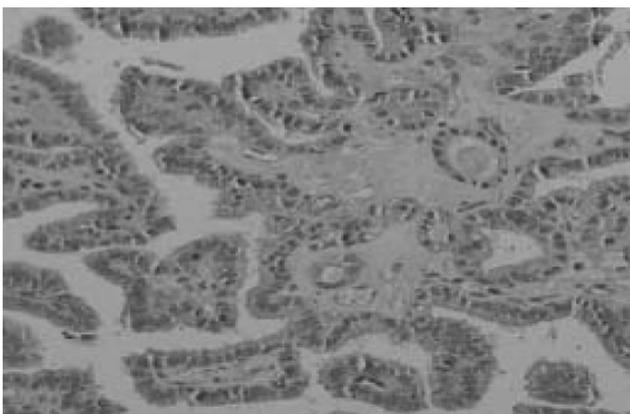


图 1 HSP70 在甲状腺乳头状癌组织中阳性表达(EnVision×200)

Fig. 1 The positive expression of HSP70 protein in papillary thyroid carcinoma(EnVision×200)

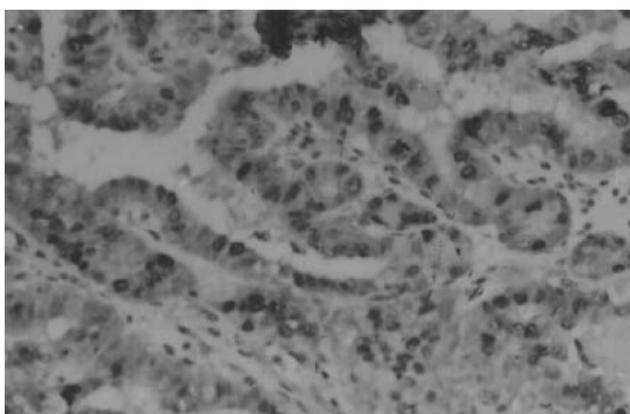


图 2 P53 在甲状腺乳头状癌组织中阳性表达(EnVision×200)

Fig. 2 The positive expression rates of p53 protein in papillary thyroid carcinoma(EnVision×200)

3 讨论

近年来甲状腺癌的发病率呈逐年上升趋势 ,其中约 60%~80% 为 PTC^[8],由于 PTC 多起病隐匿,临床症状、体征不明显 ,

就现有的影像学、细胞学甚至病理学诊断都存在一定误差 ,容易误诊为良性病变而延误治疗 ,影响患者的预后。因此研究甲状腺良、恶性肿瘤在形成和演变过程中的分子机制 ,从微观的角度寻找辅助鉴别甲状腺良恶性肿瘤和判断甲状腺癌转移潜力的分子诊断标志物 ,以期指导临床设计更为合理的治疗方案具有十分重要的临床意义^[9-10]。

HSP70 是在生物体内含量最高的一类热休克蛋白家族成员。同作为分子伴侣 ,HSP70 参与肿瘤细胞周期调控 ,保护肿瘤细胞逃避凋亡 ,并能与原癌基因和抑癌基因及其蛋白产物相互作用发挥促进肿瘤细胞增殖的功能^[11]。众多资料显示 ,HSP70 在多种恶性肿瘤细胞中呈高表达 ,随着研究的不断深入 ,HSP70 与肿瘤的关系日益受到重视 ,成为抗肿瘤研究的热门靶点^[12-15]。本研究结果显示 ,HSP70 在 PTC 组织、甲状腺良性病变组织及正常甲状腺组织中的表达有明显的差异 ,PTC 组织中 HSP70 阳性表达率明显高于甲状腺良性病变组织及正常甲状腺组织($P<0.01$) ,表明随着细胞增殖恶变 ,蛋白质合成增加 ,细胞内 HSP70 表达也随之增高 ,以调节和稳定肿瘤细胞异常增殖的过程 ,提示 HSP70 参与了 PTC 的形成过程 ,说明 HSP70 可以作为辅助 PTC 病理诊断的参考指标。同时本研究结果发现 ,HSP70 在 PTC 组织中的表达与是否有颈部淋巴结转移、浸润深度以及 AJCC 分期密切相关($P<0.01$) ,表明 HSP70 不仅参与 PTC 的形成过程 ,还可能在 PTC 浸润、转移等演进过程中发挥重要作用 ,提示 HSP70 可能是甲状腺乳头状癌预后不良的因素之一 ,可作为反映 PTC 恶性生物学行为的重要标记物。

p53 是迄今为止所发现的与人类恶性肿瘤关系最密切的抑癌基因 ,其表达的蛋白质可分为野生型和突变型 ,约有 50% 的人类恶性肿瘤中可检测到 p53 基因的突变型 ,并与肿瘤细胞生长、癌变、浸润、转移等恶性行为相关^[16-20]。本研究结果显示 ,PTC 组织中 HSP70 和 p53 阳性表达率明显高于甲状腺良性病变组织及正常甲状腺组织($P<0.01$) ,提示 p53 抑癌基因的突变可能是 PTC 发生的重要机制之一。同时 ,p53 在 PTC 组织中的表达与组织分化程度、是否有淋巴结转移、浸润深度以及 AJCC 分期密切相关($P<0.01$) ,表明 p53 抑癌基因的突变参与了 PTC 的发生、浸润、转移等恶性进展过程 ,提示检测 p53 抑癌基因蛋白表达不仅在 PTC 的病理诊断中具有重要的临床指导价值 ,同时也是预测 PTC 的生物学行为和预后的参考指标。

近年研究发现,HSP70能与突变型p53结合形成形成热休克蛋白多肽复合物,在恶性肿瘤中相互作用,可能是某些肿瘤发生、发展的机制之一^[21]。本研究结果显示,HSP70和p53蛋白在PTC组织中的表达呈正相关性($r=0.679$, $P<0.01$),提示在PTC发生、发展、侵袭、转移过程中,两者可能具有协同作用,HSP70蛋白可能通过与突变型p53结合形成复合物,共同促进肿瘤细胞的增殖生长,但具体作用机制仍有待进一步探讨,相信明确两者的相互作用机制,将为PTC的靶向分子治疗开辟新思路。

参考文献(References)

- [1] Ronald A,Delellis ,Ricardo V,Lloyd ,Philill U.Heitz ,Charis Eng.WHO classification [J]. Pathology and genetics of Tumours of Endocrine Organs. 2004 ,51-61
- [2] Wang XP ,Qiu FR ,Liu GZ ,et al. Correlation between clinicopathology and expression of heat shock protein 70 and glucose-regulated protein 94 in human colonic adenocarcinoma [J]. World J Gastroenterol , 2005 ,11(7) :1056-1059
- [3] 程维杰,李秋玲,孙延鸣,等.热休克蛋白70(HSP70)研究进展[J].畜牧兽医杂志 2008 27(6) :55-57
CHENG Wei-jie ,LI Qiu-Ling ,SUN Yan-ming ,et al. The research advance of HSP70[J]. Journal of Animal Science and Veterinary Medicine 2008 27(6) :55-57
- [4] 周晓明,张国昌,李锋. P53、P21 ras、Ki-67 蛋白的表达及微血管密度与甲状腺癌转移关系的研究[J].宁夏医学院学报 2005 8(6) :121-122
ZHOU Xiao-ming,ZHANG Guo-chan,LI Feng.Clinical Significance of P53、P21ras、Ki- 67 and MVD in Thyroid Carcinoma [J]. Journal of Ningxia Medical College 2005 8(6) :121-122
- [5] 闵卫利,王西京,薛锋杰,等.乳腺癌组织 DAPK 和 p53 及 Bcl-2 表达及其相互关系的研究 [J]. 中华肿瘤防治杂志 ,2008 ,15(19) : 1473-1476
MIN Wei-li ,WANG Xi-jing ,XUE Feng-jie,et al.Expressions of DAPK、p53 and Bcl-2 proteins in breast carcinoma tissues and their correlation[J].Chinese Journal of Cancer Prevention and Treatment, 2008 ,15(19):1473-1476
- [6] 李永昊,肖玉周,俞岚,等. P53、P16 基因在骨肉瘤中表达及临床相关性研究[J].中国骨肿瘤骨病 2007 6(3):162-166
LI Yonghao ,XIAO Yuzhou ,YU Lan ,et al. To study the expressions of P53 and P16 on osteosarcoma and their relativity[J]. Chinese Journal of Bone Tumor and Bone Disease, 2007,6(3):162-166
- [7] Cheung CC ,Ezzat S ,Free man JL ,et al. Immunohistochemical diagnosis of papillary thyroid carcinoma[J]. Mod Pathol 2001 ,14 338-342
- [8] Lang B ,Lo CY ,Chan WF ,et al. Staging systems for papillary thyroid carcinoma a review and comparison[J]. Ann Surg 2007 245 366-378
- [9] Troviseo V ,Soares P ,Preto A ,et al. Moleettlar genetics of papillary thyroid carcinoma great expectation[J]. Arq Bras Endocrinol Metabol 2007 51(5) :643-653
- [10] 姚橡样. 甲状腺癌的分子生物学研究进展 [J]. 临床外科杂志 , 2006 ,14(3) :140-141
YAO Xiang-yang.Advances in molecular biology of thyroid carcinoma[J]. Journal of Clinical Surgery 2006 ,14(3) :140-141
- [11] Todryk SM ,Gough MJ ,Pockley AG ,et al. Facets of heat shock protein 70 show immunotherapeutic potential[J]. Immunology 2003 ,110 (1) :1-9
- [12] 龚福生,郑秋红,应敏刚,等.小鼠肠癌 HSP70 多肽复合物的纯化及其抗肿瘤免疫效应[J].中华肿瘤防治杂志,2007, 14(15): 1132 - 1135
GONG Fu-sheng ,ZHENG Qiu-hong ,YING Min-gang ,et al.Purification and antitumor effect of mouse colon carcinoma heat shock protein 70 polypeptide complex [J]. Chinese Journal of Cancer Prevention and Treatment 2007, 14(15):1132-1135
- [13] Ozdemirler Erata G ,Kanbaqli O ,Durlanik O ,et al. Induced oxidative stress and decreased expression of inducible heat shock protein 70 (ihsp 70)in patients with colorectal adenocarcinomas [J]. Jpn J Clin Oncol 2005 35(2) :74-78
- [14] Gross C ,Hansch D ,Gaspar R ,et al. Interaction of heat shock protein 70 peptide with NK cells involves the NK receptor CD94[J]. Biol Chem 2003 384(2) 267-279
- [15] Shin BK ,Wang H ,Yim AM ,et al.Global profiling of the cell surface proteome of cancer cells uncovers an abundance of proteins with chaperone function[J]. J Biol Chem 2003 278(9) :7607-7616
- [16] 王洗蕊,马德花,赵淑萍. p53 和 VEGF 蛋白表达与子宫内膜癌的关系[J].现代生物医学进展,2008,8(10):1900-1902
WANG Hong-rui,MA De-hua,ZHAO Shu-ping. Relationship between Expression of p53 and VEGF and Endometrial Carcinoma[J]. Progress in Modern Biomedicine,2008,8(10):1900-1902
- [17] Niu ZS ,Li BK ,Wang M. Expression of P53 and emycenes and its clinical relevance in the hepatocellular carcinomatous and periearcinomatous tissues[J]. World Gastroenterol 2002 8(5) :822-826
- [18] Bruwer M ,Schmid KW ,Senninger N ,et al. Immunohistochemical expression of P53 and oncogenes in ulcerative colitis-associated colorectal carcinoma [J]. World J Surg 2002 26(3) :390-396
- [19] Wang TY ,Chen BF ,ang YC ,et al. Histologic and immunophenotypic classification of cervical carcinomas by expression of the P53 homologue P63 a study of 250 cases[J]. Hum Pathol 2001 32(5) :479-486
- [20] Lewis BC ,Klimstra DS ,Socci ND ,et al. The absence of p53 promotes metastasis in a novel somatic mouse model for hepatocellular carcinoma[J]. Mol Cell Biol 2005 25(4) :1228-1237
- [21] 胡文秀,杨成旺,欧阳晓晖,等.大肠癌组织中 HSP70 和 P53 蛋白的表达及其意义[J].肿瘤防治研究,2007,34(5):363-365
HU Wen-xiu ,YANG Cheng-wang ,OUYANG Xiao-hui,et al. Expression and Significance of HSP70 and p53 Protein in Human Colorectal Carcinoma. Cancer Research on Prevention and Treatment , 2007,34(5):363-365