

结直肠癌 mP53 和 PCNA 表达的相关性及临床意义

张艳霞 邓 亮 杨秀兰 刘春云 郭敏芳

(山西大同大学医学院 山西 大同 037009)

摘要 目的 探讨结直肠癌中突变型 P53 基因(mP53)和增殖细胞核抗原(PCNA)表达的相关性及临床意义。方法 应用免疫组化二步法 检测 60 例结直肠癌组织及 20 例正常肠粘膜中 mP53、PCNA 的表达 结合临床病理资料进行统计分析。结果 60 例结直肠癌中 mP53 阳性表达率 65.0% PCNA 阳性表达率 78.3% 20 例正常肠粘膜中 mP53、PCNA 表达均为阴性 ($P<0.05$)。mP53 和 PCNA 阳性表达率在低分化组、浆膜层浸润组、淋巴结转移组均较高(P 均 <0.05)。mP53 和 PCNA 表达呈正相关($r=0.58$, $P<0.05$)。结论 : mP53 和 PCNA 在结直肠癌中表达均增高 二者与结直肠癌病理学分级、浸润深度和淋巴结转移有关 可作为判断结直肠癌预后的参考指标。

关键词 结直肠癌 突变型 P53 基因 增殖细胞核抗原 免疫组化

中图分类号 R735.35 文献标识码 A 文章编号 1673-6273(2012)06-1101-03

Relationship between the Expression of Mutant P53 and PCNA and their Clinical Significances in Colorectal Cancer

ZHANG Yan-xia, DENG Liang, YANG Xiu-lan, LIU Chun-yun, GUO Min-fang

(Medical school, Shanxi datong university, Datong, 037009, China)

ABSTRACT Objective: To study the relationship between the expression of mutant P53(mP53)and proliferating cell nuclear antigen (PCNA)and their clinical significances in colorectal cancer. **Methods:** Immunohistochemistry was used to detect the expression of mutant p53 protein and PCNA in 60 tissues of colorectal cancer and 20 tissues of normal colorectal mucosa. The results were analysed with the clinical pathologic characters of colorectal cancer. **Results:** In the 60 tissues of colorectal cancer, the positive expression rate of mutant p53 and PCNA was 65.0% and 78.3% ($P<0.05$). In the 20 tissues of normal colorectal mucosa, the expressions of mutant P53 protein and PCNA were negative ($P<0.05$). In the group of lower differentiation, serosa invasion and lymph node metastasis of colorectal cancer, the positive expression rate of mutant p53 or PCNA was higher ($P<0.05$). The expression of mutant P53 has positive correlation with the expression of PCNA ($r=0.58$, $P<0.05$). **Conclusion:** The expression of mutant p53 or PCNA was correlated with differentiation, the depth of invasion and lymph node metastasis in colorectal cancer. therefore, they have prognostic value.

Key words: Colorectal cancer; mP53; PCNA; Immunohistochemistry

Chinese Library Classification: R735.35 **Document code:** A

Article ID : 1673-6273(2012)06-1101-03

前言

结直肠癌是常见恶性肿瘤,手术切除后容易复发,传统判断预后的方法及治疗方案有待进一步完善。寻找理想的结直肠癌生物学行为标志物,采取积极有效的治疗方案,减少复发,延缓病情的发展显得尤为重要。作者应用免疫组化技术对 mP53 和 PCNA 蛋白进行检测,探讨它们在结直肠癌中表达的相关性及临床意义。

1 材料与方法

1.1 临床病理资料

收集大同市第三人民医院病理科 1998~2000 年经外科手术切除及肠镜活检的结直肠癌标本 60 例,男 39 例,女 21 例,年龄 26~78 岁,平均 52 岁。所有标本均经 10%福尔马林固定,石蜡包埋,4 μ m 连续切片,分别作 H.E 染色及免疫组化标

记,所有病例术前及检查前均未接受放疗及化疗。

1.2 试剂及免疫组化方法

小鼠抗人单克隆抗体 P53 及 PCNA 为美国 Santa Cruz 公司产品,SP 免疫组化试剂盒购自福州迈新生物制品有限公司,按试剂盒说明书操作,用 PBS 代替一抗作阴性对照,已知直肠癌阳性切片作阳性对照。

1.3 结果判断

免疫组化染色阳性反应为棕黄色—黄色,PCNA,mP53 蛋白均定位于细胞核(图略)。

1.4 统计学处理

使用 SAS6.12 统计软件进行统计分析,采用 χ^2 检验和 Spearman 等级相关分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 mP53 蛋白和 PCNA 蛋白表达与结直肠癌临床病理特征之间的关系

在低分化肿瘤组、浆膜层浸润组、淋巴结转移组 mP53 和 PCNA 阳性表达率均较高中分化组、肌层浸润组、淋巴结未转

作者简介 张艳霞(1978-),女,硕士研究生,讲师。研究方向:肿瘤分子病理,电话:13653623933 E-mail:zhxyx1978@sohu.com
(收稿日期:2011-07-26 接受日期:2011-08-23)

移组增高,差异有统计学意义(P 均 <0.05)。mP53和PCNA表达与结直肠癌分化程度、浸润深度和淋巴结转移有关。两种抗体的表达与患者年龄无关(P 均 >0.05 ,表1)。

2.2 mP53蛋白和PCNA蛋白表达的关系

在PCNA阳性表达组中,mP53的阳性表达率为66.0%

(31/47);在PCNA阴性表达组中,mP53阳性表达率为30.8%(4/13),差异有显著性($P<0.05$)。在60例癌组织中,二者均阳性表达31例,二者均阴性表达9例,运用spearman等级相关分析,结直肠癌组织中mP53和PCNA表达呈正相关($r_s=0.58$, $P<0.05$,表2)。

表1 mP53、PCNA表达与结直肠癌临床参数的关系 [$n=60, n(\%)$]

Table 1 The relationship between the expression of mP53 and PCNA and the clinical parameters of CRC

Clinical parameters	Samples	mP53 positive	Expression negative	Positive Rate	P	PCNA expression	Positive negative	Positive Rate	P
Age									
≤ 50	23	19	4	82.6%	>0.05	20	3	87.0%	>0.05
>50	37	20	17	54.1%		27	10	73.0%	
Differentiation									
High and middle	28	24	14	63.2%	<0.05	29	9	76.3%	<0.05
Low	22	15	7	68.2%		18	4	81.8%	
Invasion depth									
Muscular layer	25	16	9	64.0%	<0.05	19	6	76.0%	<0.05
Serosa layer	35	23	12	65.7%		28	7	80.0%	
Lymph nodes metastasis									
With	36	23	13	63.9%	<0.05	28	8	77.8%	<0.05
Without	24	16	8	66.7%		19	5	79.2%	

表2 mP53和PCNA表达的相关性($n=60$)

Table 2 The correlation of P53 expression and PCNA expression

PCNA expression	mP53 expression	
	Positive	Negative
Positive	31	16
Negative	4	9

Note: Spearman related coefficient $r_s=0.58$, $P<0.05$

3 讨论

3.1 mP53在结直肠癌中表达的意义

p53基因被认为是目前人类肿瘤中最常发生变化的基因^[4],在人类约75%的癌中都发现突变P53蛋白,如食管癌、肺癌、胃癌、肠癌及乳腺癌等,尤其是在大肠癌患者预后判断上具有一定的意义^[2,3]。p53基因有野生型和突变型两种。野生型P53(wP53)基因为抑癌基因,其表达产物wP53蛋白对细胞周期起负调控作用,所以正常的p53蛋白又被称为“分子警察”。Sanding等^[4]用腺病毒转染p53基因和p16基因在肿瘤体外培养细胞系中,观察到p53基因过度表达引起肿瘤细胞凋亡。当其发生突变后,即变成突变型p53(mP53)基因,其表达产物mP53蛋白的功能亦转为促癌作用。徐晔等^[5]研究发现,mP53蛋白与肿瘤微血管密度成正相关,能促进微血管生成,从而为

肿瘤的恶性增殖提供营养条件。wP53蛋白半衰期较短,含量低,用免疫组化的方法无法检测到^[6]。mP53蛋白较稳定,其表达水平较高,所以当检出肿瘤中含有大量的mP53蛋白时,提示有P53基因突变,且mP53蛋白在细胞内高水平积累,客观上造成wP53基因失活^[7]。本研究发现,mP53蛋白阳性表达率在低分化组、浆膜层浸润组、淋巴结转移组较高中分化组、肌层浸润组、淋巴结未转移组均增高,差异有显著性,显示p53过量表达与结直肠癌的分化、浸润和转移有关,说明肿瘤分化程度越低,mP53蛋白阳性表达率越高,更容易发生浸润和转移,这与国内外研究结果基本一致。

3.2 PCNA在结直肠癌中表达的意义

PCNA基因是目前较为肯定的核增殖标志基因,PCNA蛋白是一种仅出现在增殖状态细胞核内的酸性蛋白质,由261个氨基酸组成。1978年Miyachi等^[8]学者首先报告它存在于一部分系统性红斑狼疮患者血清中,1987年Bravo等^[9]指出PCNA是DNA多聚酶 δ 的辅助蛋白,DNA合成必不可少的因子。PCNA在细胞周期的不同阶段表达有所不同。PCNA在G0期及G1期的极早期不表达,由G1晚期开始表达,逐渐增加,S期达高峰,到G2期和M期表达明显减少^[10]。这表明PCNA的出现与细胞增殖周期密切相关,是反映细胞增殖活性的重要生物学指标^[11]。因此检测PCNA主要是反映细胞处于S期(DNA合成期)的情况。本研究中PCNA表达与结直肠癌分化程度有关,从而反应了肿瘤细胞的增殖活性,说明同时检测PCNA蛋白表达较单纯根据病理分级评估肿瘤细胞的增殖活性和恶性程度

更为客观。PCNA 的表达与浸润深度和淋巴结转移有关,提示结直肠癌中增殖活性高的癌细胞浸润转移的可能性大,预后较差。

3.3 mP53 和 PCNA 在结直肠癌中表达的相关性

本研究表明,结直肠癌中 mP53 和 PCNA 表达呈正相关,提示 P53 的突变与细胞增殖活性增强有关,这与在食管癌和子宫内膜癌中的研究结果一致^[12,13],Gonda 等也得到相似的结果^[14]。二者均与肿瘤的浸润性、细胞低分化、转移等恶性生物学行为密切相关,这提示在大肠癌发生、发展、侵袭、转移过程中,mP53 与 PCNA 异常表达可能存在正反馈调节机制,有相互诱导和协同的可能。mP53 蛋白通过对 Waf-1/cip-1/cdi-1 基因的诱导调控正常细胞 P21 的水平,对细胞 PCNA 复制起抑制作用^[15],P53 基因突变后此功能丧失,细胞就表现出无限增殖的特性。已有资料证明 mP53 蛋白可能直接激活 PCNA 启动子,从而引起 PCNA 表达增加。因此,联合检测 p53 和 PCNA 的表达对于判断结直肠癌的浸润、淋巴结转移和估计预后有重要意义,比单独考虑一个指标更有价值。对 mP53 和 PCNA 表达均阳性的患者,不但要在术中彻底切除肿瘤组织,还要在术后加灌注化疗,密切随访,及时处理。

参 考 文 献(References)

- [1] Levine AJ. The tumor suppressor genes[J]. Annu Rev Biochem, 1993,62: 623
- [2] Flam iu iG, Carigliano G, Ratto C, et al. Prognostic significance of cytoplasmic P53 overexpression in colorectal cancer [J]. Eur J Cancer, 1996,32A(5):802
- [3] 徐永兴 P53 和 PCNA 在大肠癌组织中的表达及生物学行为的研究[J]. 滨州医学院学报, 2005,28 (5):324-325
Xu Yong-xin. Expression and biological behavior of P53 and PCNA in colorectal carcinoma [J]. Journal of Binzhou Medical University, 2005, 28 (5):324-325(In Chinese)
- [4] Sandig BV, Brand K, Herwig S, et al. p16 and p53 genes transferred with the help of adenovirus to induce apoptotic tumor cell death [J]. Ugeskr Laeger, 1997,159(46):6825-6830
- [5] 徐晔,贡冰峰,范炜,等. 膀胱尿路上皮癌突变型 P53 表达和微血管密度测定的意义[J]. 医学研究生报, 2006, 19(4):356-358
- Xu ye, Gong Bing-feng, Fan wei, et al. Relationship between the expressions mP53 and microvessel density in urothelial carcinoma of the bladder and its clinical pathological significance[J]. Medical research newspaper, 2006, 19(4):356-358
- [6] 纪小龙, 施作霖. 诊断免疫组织化学[M]. 北京:军事医学科学出版社, 1997:62-66
Ji Xiao-long, Shi Zuo-lin. Diagnosis immunohistochemistry [M]. Beijing: Military Medicine Science Press, 1997:62-66(In Chinese)
- [7] 王琳芳, 杨克恭. 医学分子生物学原理[M]. 北京:高等教育出版社, 2001:792-795
Wang Lin-fang, Yang Ke-gong. Principles of Medical Molecular Biology[M]. Beijing: Higher Education Press, 2001:792-795(In Chinese)
- [8] Miyachi K, Fritzler MJ, Tan EM. Autoantibody to a nuclear antigen in proliferating cells[J]. J Immunol, 1978,121:22-28
- [9] Bravo R, Blundell PA. Cyclin/PCNA is the auxiliary protein of DNA polymerase delta[J]. Nature, 1987, 326:515
- [10] Ogata K, Kurki P, Celis, et al. Monoclonal antibody to a nuclear protein (PCNA/cyclin) associated with DNA replication [J]. Exper Cell Res, 1987, 168 (2): 475
- [11] Dietrich DR. Toxicological and pathological applications of PCNA, a novel endogenous marker for cell proliferation [J]. Crit Rev Toxicol, 1993,23(1):77-109
- [12] Chen H, Wang LD, Guo M, et al. Alterations of p53 and PCNA in cancer and adjacent tissues from concurrent carcinomas of the esophagus and gastric cardia in the same patient in Linzhou, a high incidence area for esophageal cancer in northern China [J]. World J Gastroenterol, 2003,9(1):16-21
- [13] Elhakef AS, Papadimitriou JC, El-Hakim MS, et al. Computerized image analysis of P53 and proliferating cell nuclear antigen expression in benign, hyperplastic, and malignant endometrium [J]. Arch Pathol Lab Med, 2001,125(7):872-879
- [14] Gonda G, Bajtai A, Nagy P, et al. Quantitative analysis of P53 expression and cell proliferation in gastric carcinomas. An immunohistochemical study[J]. Hepatogastroenterology, 2004,51(55):273-276
- [15] Waga S, Hannon GJ, Beach D, et al. The P21 inhibitor of cyclin dependent kinases controls DNA replication by interaction with PCNA [J]. Nature, 1994,369:574-578