

· 临床研究 ·

Cyclin E、p53 与 PTEN 在胃癌组织中的表达及临床意义

谢智慧¹, 王 蕾², 陈 进¹, 金琳芳³

(苏州大学附属第四医院: 1. 普外科; 2. 外科; 3. 病理科, 江苏无锡 214062)

摘要:目的 研究细胞周期蛋白 E(Cyclin E)、p53、第 10 号染色体缺失的磷酸酶和张力蛋白同源物基因(PTEN)在胃癌组织中的表达及意义。方法 采用免疫组化法检测 65 例胃癌和 13 例胃正常黏膜石蜡标本中 Cyclin E、p53 及 PTEN 的表达情况。结果 (1)Cyclin E 在胃癌组织中高表达, 并随肿瘤浸润深度的加深、淋巴结的转移、临床分期的提高、肿瘤分化程度的降低及出现远处转移而升高($P < 0.05$)。 (2)p53 在胃癌组织中的高表达, 并随肿瘤浸润深度的加深、淋巴结的转移、临床分期的提高、肿瘤分化程度的降低及出现远处转移而升高($P < 0.05$)。 (3)PTEN 在胃癌组织中低表达, 并随肿瘤浸润深度的加深、分化程度的降低、淋巴转移的发生及临床分期的增高及出现远处转移而降低($P < 0.05$)。 (4)PTEN 的表达与 Cyclin E 和 p53 的表达呈负相关, Cyclin E 和 p53 表达呈正相关($P < 0.05$)。结论 Cyclin E、p53、PTEN 在胃癌的发展、浸润、转移中存在相互抑制作用; 他们均可以作为胃癌生物学行为和预后判断的独立指标, 但三者联合检测准确性可能更高。

关键词: 胃肿瘤; 细胞周期蛋白 E; p53; 磷酸酶和张力蛋白同源物基因; 生物学行为

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2012.35.009

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)35-3710-03

The expression of Cyclin E, p53 and PTEN in gastric carcinoma and the clinical significance

Xie Zhihui¹, Wang Lei², Chen Jin¹, Jin Linfang³

(1. Department of General Surgery; 2. Department of Surgery; 3. Department of Pathology, the Fourth Hospital Affiliated of Suzhou University, Wuxi, Jiangsu 214062, China)

Abstract: **Objective** To explore the expression and significance of CyclinE, p53, and PTEN in gastric carcinoma. **Methods** Immunohistochemistry Envision two step system was used to detect the expression level of CyclinE, p53 and PTEN in sixty five gastric cancer samples with thirteen of normal gastric tissue as a control. **Results** 1. The expression rate of Cyclin E in gastric cancer tissues was high, which went up with increasingly invasive depth, occurring lymphatic metastasis, and clinical stages, reduced histological differentiation and long distance metastasis($P < 0.05$). 2. The expression rate of p53 in gastric cancer tissues was high, and increased with increasingly invasive depth and clinical stages, reduced histological differentiation, occurring of lymphatic metastasis and long distance metastasis($P < 0.05$). 3. The expression rate of PTEN in gastric cancer tissues was low, and reduced with increased invasive depth and clinical stages, reduced histological differentiation, occurring of lymphatic metastasis and long distance metastasis($P < 0.05$). 4. In gastric cancer, the expression of PTEN and p53, Cyclin E were of inverse correlation. The relationship between the expression of Cyclin E and p53 were negative($P < 0.05$). **Conclusion** Cyclin E, p53 and PTEN relatively could be a marker in biological behavior of gastric cancer and estimation of prognosis, then it is suggested that combined detection may have higher accurate rate.

Key words: stomach heoplasms; Cyclin E; p53; PTEN; biological behavior

胃癌在全世界范围内是发病率最高的癌症之一, 中国是胃癌的高发区, 目前胃癌的病因学、发病机制以及浸润和转移的机制仍未完全明了。本研究采用免疫组化法对 65 例胃癌和 13 例正常胃黏膜组织中的人类细胞周期蛋白 E(Cyclin E)、p53 与人类第 10 号染色体缺失的磷酸酶和张力蛋白同源物基因(phosphatase and tension homology detected on chromosome ten, PTEN)的表达情况分别进行检测, 分析他们的表达与患者性别、年龄、大小、浸润深度、分化程度、TNM 分期、淋巴结转移等参数的关系, 从而为进一步阐明胃癌发生、发展的分子调控机制, 为判断胃癌的预后及分子靶向治疗提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2008 年 1 月至 2010 年 12 月, 本院病理科石蜡包埋组织标本 78 例, 其中胃癌 65 例, 正常胃黏膜 13 例。65 例胃癌患者中, 男 39 例, 女 26 例; 年龄 36~75 岁, 平均 58.6 岁。病理类型: 高分化腺癌 17 例, 中、低分化腺癌、印戒及黏液细胞癌 48 例。无淋巴转移者 35 例, 有淋巴转移者 30 例。TNM 分期: I 期及 II 期共 20 例, III 期及 IV 期共 45 例。所有患者在术前均未接受放疗和化疗处理。

1.2 仪器与试剂 采用德国 Leica 1010 全封闭脱水机, 德国 Leicarm 2245 全自动切片机, Leicaauto Stainer XL 全自动染色机, 日本 Olympus pm-20 显微镜及 Olympus pm-C35DX 成像系统。采用鼠抗人 Cyclin E 单克隆抗体, 兔抗人 p53 多克隆抗体, 鼠抗人 PTEN 单克隆抗体, PV. 6000. G 二步法免疫组化检测试剂盒, DAB 显色液, 防脱片剂 APES, 试剂均购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.3 方法

1.3.1 免疫组化 采用 En Vision 二步法。

1.3.2 免疫对照 免疫组化 En Vision 法用 PBS 代替一抗做阴性对照, 以胞浆或胞核内出现棕黄色颗粒为阳性标准。

1.3.3 结果判定 (1)Cyclin E 以细胞核内呈明显棕黄色着色为阳性细胞。高倍镜下进行观察, 按阳性细胞率及染色定位, 将 Cyclin E 蛋白染色结果分为 2 级, 进行半定量测定: ①正常, 正确定位表达细胞数大于 10% 视为正常表达; ②异常, 染色细胞小于 10% 或染色部位改变(定位于细胞质或细胞核)都视为异常表达。(2)p53 在高倍镜视野下每张切片选取 5 个视野, 每个视野计数 100 个细胞, 计算出阳性细胞的百分比, 用百

分率表示[即阳性细胞率=(阳性细胞数/100)×100%],然后根据阳性细胞百分比记分(小于20%为阴性表达,大于20%为阳性表达)。(3)PTEN 蛋白表达,PTEN 蛋白阳性定位于胃癌细胞质,呈棕黄色。每例切片按染色强度及阳性细胞数占肿瘤细胞(同类细胞)总数的百分比综合计分。染色强度:未着色(0分),浅黄色(1分),棕黄色(2分),棕褐色(3分);阳性细胞数:小于5%(0分),6%~25%(1分),26%~50%(2分),大于50%(3分)。2项分值之积:小于3计为阴性(-),3~5计为阳性(+),大于5为强阳性(++)。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行分析,采用 χ^2 检验及采用 Spearman 相关分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 Cyclin E、p53 及 PTEN 在胃正常黏膜及胃癌组织中的表达情况 65 例胃癌组织中, Cyclin E 呈阳性表达 40 例(61.54%), p53 呈阳性表达 43 例(66.15%), PTEN 呈阳性表达 30 例(46.15%)。12 例胃正常黏膜中 Cyclin E、p53 及 PTEN 的阳性表达率分别为(7.69%、30.76%、92.31%)。3 种基因蛋白在上述两组表达的阳性率之间差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 1,见封 2 图 1~4、封 3 图 5~6。

表 1 Cyclin E、p53、PTEN 在胃癌和胃正常黏膜中的表达

| 标本 | n | Cyclin E | | | p53 | | | PTEN | | |
|-------|----|----------|----|---------|-----|----|---------|------|----|---------|
| | | + | - | P | + | - | P | + | - | P |
| 正常胃黏膜 | 13 | 1 | 12 | 0.001 2 | 4 | 9 | 0.038 5 | 12 | 1 | 0.006 1 |
| 胃癌 | 65 | 40 | 25 | | 43 | 22 | | 30 | 35 | |

2.2 Cyclin E、p53、PTEN 蛋白表达与胃癌临床病理特征的关系 Cyclin E、p53 及 PTEN 蛋白表达与胃癌患者性别、年龄、大小均无关($P > 0.05$),与胃癌临床病理特征的关系。Cyclin E 的表达与浸润深度、分化程度、淋巴结转移、TNM 分期及有无远处转移均有显著相关性($P < 0.05$),与胃癌的年龄、性别、大小无显著相关($P > 0.05$); p53 蛋白阳性表达在胃癌的浸润深度、分化程度、有无淋巴结转移、不同的 TNM 分期及有无远处转移中差异均有显著相关性($P < 0.05$); PTEN 表达与胃癌的浸润深度、淋巴结转移、TNM 分期及有无远处转移间比较均有显著相关性($P < 0.05$),而与年龄、性别、肿瘤的大小程度无明显相关性($P > 0.05$)。

2.3 胃癌中 Cyclin E、p53、PTEN 表达之间的相关性 65 例胃癌中, Cyclin E 与 p53 共同阳性表达的有 31(47.69%), 而 Cyclin E 阴性和 p53 阳性分别为 12 例(18.46%)、而 Cyclin E 阳性和 p53 阴性分别为 9 例(13.85%), Cyclin E 与 p53 共同阴性表达的有 13 例(20%)。经统计学分析, p53 和 Cyclin E 在胃癌中的表达呈明显的正相关关系($P < 0.05$), 在胃癌组织中 p53 蛋白的异常表达强度随着 Cyclin E 蛋白表达强度的增强而升高,见表 2。

表 2 Cyclin E 与 p53 在胃癌中表达的相关性分析(n)

| 项目 | p53 表达 | | | r | P |
|-------------|--------|----|----|-------|-------|
| | + | - | 合计 | | |
| Cyclin E 表达 | + | 31 | 9 | 0.303 | 0.014 |
| | - | 12 | 13 | | |
| 合计 | | 43 | 22 | | |

65 例胃癌中, 14 例 Cyclin E、PTEN 均呈阳性表达(21.54%), 9 例均呈阴性表达(13.85%), Cyclin E 表达阳性而 PTEN 表达阴性者为 26 例(40%), Cyclin E 表达阴性而 PTEN 表达阳性者为 16(24.62%), Cyclin E 与 PTEN 表达呈负相关关系($r = -0.283, P = 0.022$),见表 3。

表 3 Cyclin E 与 PTEN 在胃癌中表达的相关性分析(n)

| 项目 | PTEN 表达 | | | r | P |
|-------------|---------|----|----|--------|-------|
| | + | - | 合计 | | |
| Cyclin E 表达 | + | 14 | 26 | -0.283 | 0.022 |
| | - | 16 | 9 | | |
| 合计 | | 30 | 35 | | |

43 例 p53 阳性表达的胃癌患者中, 有 16 例 PTEN 也为阳性表达(24.62%); 22 例 p53 阳性表达的胃癌患者中, 有 8 例 PTEN 为阴性表达(12.31%), 两者间差异有统计学意义($P < 0.05$)。胃癌中 p53 与 PTEN 表达呈负相关关系($r = -0.251, P = 0.044$),见表 4。

表 4 p53 与 PTEN 在胃癌中表达的相关性分析(n)

| 项目 | PTEN 表达 | | | r | P |
|--------|---------|----|----|--------|-------|
| | + | - | 合计 | | |
| p53 表达 | + | 16 | 27 | -0.251 | 0.044 |
| | - | 14 | 8 | | |
| 合计 | | 30 | 35 | | |

3 讨 论

Cyclin E 是细胞周期蛋白中的一种, Cyclin E 的主要作用促进 DNA 复制的起始, 异常情况下, Cyclin E 由于无顺序、无计划的过度表达而存在于整个细胞周期中, Cyclin E 基因定位于染色体 19q12~13, 编码 395 个氨基酸, 其中第 128~215 为周期蛋白盒^[1-5]。文献报道^[6-8], Cyclin E 异常表达与许多肿瘤的发生密切相关。已证实 Cyclin E 的异常表达可作为肿瘤增殖的标志^[9]。Cyclin E 过度表达与细胞的肿瘤变性明显相关^[10], 有研究表明, Cyclin E 表达与年龄、性别、肿瘤的组织类型、肿瘤的大小无关, 而与淋巴结转移、浸润深度、组织学分期明显相关。但是, 刘晓波等^[6]的研究证实, Cyclin E 的表达与肿瘤病理学分级有显著相关性, 随着肿瘤恶性程度的升高、分化程度的降低, Cyclin E 的表达率增加, 而与 TNM 分期无关。这些结果也说明 Cyclin E 蛋白阳性表达在胃癌的进展中起重要作用, 并提示 Cyclin E 的异常表达可能是胃癌发生浸润转移的机制之一。

p53 基因蛋白位于 17 号染色体短臂 17p13.1 上, 其蛋白产物定位于细胞核, 为一种含 393 个氨基酸的核蛋白, 相对分子质量约为 53×10^3 。野生型 p53 的作用主要是抑制细胞过度增殖、诱导凋亡, 协调细胞凋亡与增殖速度; 并防止细胞的异常蓄积和恶性转化。p53 基因突变后表达则失去抑制细胞增殖、导致细胞增殖过度。p53 基因是迄今发现的与胃癌关系最密切的肿瘤抑制基因。p53 的缺失或突变已被证实与胃癌的发生、发展有关。金顺花等^[11]采用免疫组化 SP 法研究 72 例胃癌和癌旁组织及 20 例正常胃黏膜中的 p53 蛋白, 提示胃癌组织中 p53 蛋白总阳性表达率为 52.78%, 其中 p53 蛋白表达与胃癌分化程度、肿瘤深度、淋巴结转移、远处转移等因素有显著性关系。本研究发现, 突变型的 p53 在胃癌中的表达率为 66.15%, 在周围正常组织中的表达率为 30.76%, 表明突变型

p53 蛋白与胃癌发生密切相关。p53 蛋白表达的阳性率与胃癌患者的年龄、性别、肿瘤大小无关,但与浸润深度、组织学分级、淋巴结转移及远处转移有显著相关性。

PTEN 于 1997 年由 Li 等^[12] 3 个研究小组先后克隆并命名,是迄今为止发现的第一个具有磷酸酶活性的抑癌基因,国内有研究表明,PTEN 蛋白的表达下调或缺失与胃癌的发生、发展及新生血管的形成密切相关。本研究发现,PTEN 在胃癌组织中的表达率为 46.15%,显著低于在正常胃组织中的表达 92.31% ($P < 0.05$),并随肿瘤浸润深度的加深、病理分化程度的降低、淋巴转移的发生、临床分期的增高及远处转移而降低 ($P < 0.05$),提示 PTEN 基因表达的缺失与胃癌的转移和浸润密切相关,而且可能为胃癌的恶性程度提供依据。本研究显示,PTEN 蛋白的表达与癌组织分化程度密切相关,随着分化程度降低,表达率减低,表明分化程度越高,PTEN 阳性率越高,分化越差,表达越弱,提示 PTEN 在诱导肿瘤分化过程中起重要作用。

黎家庆等^[13] 在早期胃癌中观察到了 Cyclin E 表达阳性者比阴性者地表达 p53,认为 Cyclin E 和 p53 之间可能存在某种关系;在黏膜下层胃癌中观察到了 Cyclin E 阳性和强阳性者比阴性组显著频繁地表达了 p53,与同时包括早、晚期胃癌病例的研究结果一致,提示黏膜下层胃癌中过度表达的 Cyclin E 与 p53 之间可能具有某种相互促进的关系。本组 Cyclin E 过度表达阳性者比阴性者频繁地表达 p53,Cyclin E 过度表达与突变型 p53 蛋白有显著相关性,呈正相关。此结果进一步支持 Cyclin E 过度表达和 p53 之间可能存在某种关系的推论,具有 Cyclin E 和 p53 同时过度表达的胃癌可能增殖更快、恶性度更高。

PTEN 蛋白调节细胞周期,抑制细胞增殖。本研究结果也证实了这一点,胃癌组织中 Cyclin E 表达与 PTEN 的表达呈负相关关系 ($r = -0.283$),Cyclin E 的阳性表达随着 PTEN 表达程度的降低而增强,说明 PTEN 缺失或表达下降,Cyclin E 的过度表达,可导致细胞异常增殖、细胞癌变的发生。

综上所述,Cyclin E 和 p53 在胃癌中显著高表达,他们在胃癌的浸润转移中可能起重要作用;PTEN 在胃癌中低表达,这三者在胃癌的发生、发展转移中起相互抑制作用。检测 Cyclin E、p53 和 PTEN 可作为反映胃癌病理学特点的参考指标。

参考文献:

[1] Gong J, Ardelt B, Traganos F, et al. Unscheduled expression of Cyclin B1 and Cyclin E in sevemlleukemic and sol-

id tumor cell lines[J]. *Cancer Res*, 1994, 54(16): 4285-4288.

- [2] Georgieva J, Sinha P, Schadendorf D, et al. Expression of cyclins and cyclin dependent kinases in human benign and malignant melanocytic lesion[J]. *Clin Pathol*, 2001, 54(3): 229-335.
- [3] Lakin ND, Jackson SP. Regulation of p53 in response to DNA damage[J]. *Oncogene*, 1999, 18(53): 7644.
- [4] Ohkawa K, Ishida H, Nakanishi F, et al. Hepatitis C virus core functions as a suppressor of cyclin-dependent kinase-activating kinase and impairs cell cycle progression[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(12): 11719-11726.
- [5] Chen S, Gardner DG. Suppression of WEE1 and stimulation of CDC25A correlates with endothelin-dependent proliferation of rat aortic smooth muscle cells[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(14): 13755-13763.
- [6] 刘晓波, 李昱, 庄宝珠, 等. 胃癌组织 Cyclin E 表达的临床病理意义[J]. *世界华人消化杂志*, 1999, 7(8): 656-658.
- [7] Sakaguchi T, Watanabe A, Hidetomo Y, et al. Prognostic value of Cyclin E and p53 expression in gastric carcinoma[J]. *Cancer*, 1998, 82(7): 1238-1243.
- [8] Bachmann M, Moroy T. The serine/threonine kinase pim-1[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2005, 37(4): 726-730.
- [9] Esnitzki D, Gossen M, Bujard H, et al. Acceleration of the G₁/S phase transition by cyclin D1 and E with an inducible system[J]. *Mol Cell Biol*, 1994, 14(3): 1669-1679.
- [10] Dutta A, Chandra R, Leiter LM, et al. Cyclins as markers of tumor proliferation: immunocytochemical studies in breast cancer[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92(12): 5386-5390.
- [11] 金顺花, 林熙绪, 金海燕, 等. 胃癌中 Cyclin D1 和 p53 蛋白的表达及意义[J]. *肿瘤临床与康复*, 2000, 7(2): 22-23.
- [12] Li J, Yen C, Liaw D, et al. PTEN, a putative protein tyrosine phosphatase gene mu rated in human brain, breast, and prostate cancer[J]. *Science*, 1997, 275(5308): 1943-1947.
- [13] 黎家庆, 朱尤庆, 呈菲, 等. 胃癌 Cyclin E 表达及其意义[J]. *数理医学杂志*, 1998, 11(3): 223-225.

(收稿日期: 2012-07-02 修回日期: 2012-09-18)

(上接第 3709 页)

瘤颅脑侵犯的 MRI 表现[J]. *中国医学影像技术*, 2010, 26(9): 1670-1673.

[10] Zacharia TT, Law M, Naidich TP, et al. Central nervous system lymphoma characterization by diffusion-weighted imaging and MR spectroscopy[J]. *J neuroimaging*, 2008, 18(4): 411-417.

[11] Liao W, Liu Y, Wang X, et al. Differentiation of primary central nervous system lymphoma and high-grade glioma

with dynamic susceptibility contrast-enhanced perfusion magnetic resonance imaging[J]. *Acta Radiol*, 2009, 50(2): 217-225.

[12] 曹崑, 李洁, 汪宁, 等. 非原发中枢神经系统非霍奇金淋巴瘤脑实质病变影像表现分析[J]. *实用放射学杂志*, 2006, 22(1): 17-19.

(收稿日期: 2012-06-13 修回日期: 2012-09-12)