

· 临床研究 ·

胃癌病变中 p53 和增殖细胞核抗原的表达及其与预后的关系

吴冬寒, 张学娟, 吴冬冰

(海南省三亚市人民医院消化内科 572000)

摘要:目的 探讨抑癌基因 p53 和增殖细胞核抗原(PCNA)在胃癌和癌前病变中的表达及其与预后的关系。方法 运用免疫组织化学方法检测肠上皮化生、中重度不典型增生、原发性胃癌组织中的 p53 和 PCNA 的表达情况,并设正常胃黏膜为对照组,观察 p53 和 PCNA 在正常胃黏膜→肠上皮化生→异型增生→胃癌的演变过程的表达。结果 p53 蛋白在胃癌中表达显著高于异型增生,差异有统计学意义($P<0.01$),并且与胃癌分化程度和淋巴结转移关系密切($P<0.05$);PCNA 在正常胃黏膜、肠上皮化生、异型增生和胃癌中表达逐渐递增,PCNA 表达与胃癌分化程度、浸润深度以及淋巴结转移关系密切($P<0.05$)。p53 蛋白表达与 PCNA 标记指数呈正相关。结论 p53 和 PCNA 在胃癌发生、发展中呈异常表达,检测 p53 和 PCNA 对判断胃癌临床预后具有重要意义。

关键词:胃肿瘤; p53 基因; 增殖细胞核抗原

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.26.010

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2013)26-3105-02

p53 and PCNA expression in gastric carcinoma and its relationship with prognosis

Wu Donghan, Zhang Xuejuan, Wu Dongbing

(Department of Gastroenterology, Sanya Municipal People's Hospital, Sanya, Hainan 572000, China)

Abstract: Objective To discuss the expression of p53 and proliferating cell nuclear antigen(PCNA) in gastric carcinoma and precancerous lesion and their relationship with prognosis. **Methods** P53 and PCNA expression in intestinal metaplasia, medium and severe atypical hyperplasia and primary gastric cancer tissues were measured by the immunohistochemical method. Meanwhile, the normal gastric mucosa were taken as the control group. The changes of p53 and PCNA expression in normal gastric mucosa, intestinal metaplasia, atypical hyperplasia and gastric cancer tissues were observed. **Results** p53 expression in gastric carcinoma was significantly higher than that in dysplasia($P<0.01$), and closely related with gastric carcinoma differentiated degree and lymphatic metastasis($P<0.05$). PCNA expression was progressively increased in normal gastric mucosa, intestinal metaplasia, atypical hyperplasia and gastric cancer and closely related with gastric carcinoma differentiated degree, invasion depth and lymphatic metastasis($P<0.05$). There was positive correlation between p53 expression and PCNA. **Conclusion** p53 and PCNA has abnormal expression in the occurrence and progression of gastric carcinoma. Detecting p53 and PCNA expression has important significance for predicting the clinical prognosis of gastric carcinoma.

Key words: gastric neoplasms; p53 gene; proliferating cell nuclear antigen

有研究报道明抑癌基因 p53 和增殖细胞核抗原(PCNA)与多种肿瘤的发生、发展及预后有关^[1]。作者为探讨抑癌基因 p53 和增殖细胞核抗原(PCNA)在胃癌和癌前病变中的表达情况,采用免疫组织化学技术检测 p53 和 PCNA 在正常胃黏膜→肠上皮化生→异型增生→胃癌的演变过程的表达,探讨 p53 和 PCNA 与胃癌发生、发展及其与预后的关系,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取本院 2009 年 1 月至 2010 年 12 月收集的胃组织 148 例,术后均经病理检查证实,术后病理其中肠上皮化生 26 例,中、重度不典型增生 28 例,原发性胃癌 69 例,正常胃黏膜组织 25 例设为正常对照组。69 例原发性胃癌中,男性 54 例,女性 15 例;年龄 33~78 岁,平均(52.0±16.13)岁;术前均未经化疗和放疗。按世界卫生组织制定的标准进行组织分型,高、中分化腺癌 39 例,低及未分化分化腺癌 22 例,黏液腺癌 6 例,印戒细胞癌 2 例。病理分期[国际抗癌联盟(UCIC)标准]为 1 期 11 例,2 期 22 例,3 期 27 例,4 期 9 例。浸润深度:浆膜内(包括黏膜层、黏膜下层、肌层)16 例,浆膜层和浆膜外层 53 例;肿瘤直径大于或等于 5 cm 者 24 例,小于 5

cm 者 45 例;淋巴结转移 42 例,无转移者 27 例。

1.2 试剂 SP 试剂盒试、鼠抗 p53 单克隆抗体、鼠抗 PCNA 单克隆抗体由福州迈新生物技术开发公司提供。

1.3 方法 组织玻片经多聚赖氨酸预处理,石蜡标本 4 μm 厚连续切片,常规脱蜡,逐级乙醇水化,免疫组织化学 SP 法按试剂盒说明书进行,DAB 显色。以已知阳性切片作为阳性对照,磷酸盐缓冲液(PBS)替代一抗作为阴性对照。

1.4 结果判定 p53 和 PCNA 表达阳性细胞核呈明显棕黄色着色。p53 高倍镜下每张切片随机选择 10 个视野,每个视野计数 100 个细胞,依据细胞染色程度、及染色细胞百分率进行评分^[1];不着色为 0 分,淡黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分;0 分为无阳性细胞,≤10%为 1 分,11%~50%为 2 分,51%~75%为 3 分,>75%为 4 分;染色强度与阳性细胞百分比乘积大于 3 分为阳性。PCNA 计数用 PCNA 标记指数(PCNALI),每个标本随机观察 5 个高倍视野,每个视野计数 200 个细胞,计算阳性细胞百分率。

1.5 统计学处理 本组资料采用 SPSS 10.0 统计软件处理,组间进行 χ^2 检验、方差分析和 t 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统

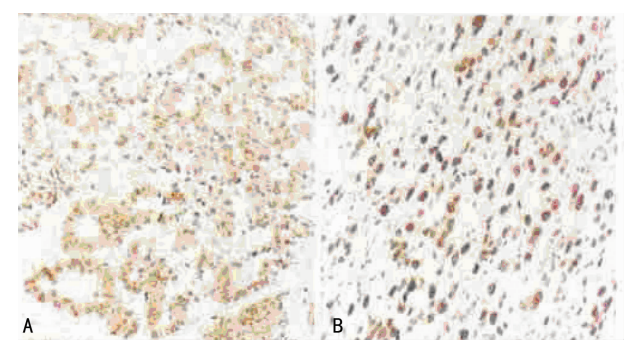
计学意义。

2 结 果

2.1 p53、PCNA 在正常胃组织和病变组织中的表达 p53 在正常胃黏膜和肠化上皮组织中无阳性表达,胃癌组织中的阳性表达率显著高于异型增生组织,组间比较差异有统计学意义($P<0.01$)。从正常胃黏膜、肠上皮化生、异型增生到胃癌,PCNA 标记指数(PCNALI)逐渐递增,PCNA 在肠化、不典型增生和胃癌中阳性表达率与正常胃黏膜比较差异均有统计学意义,且呈递增趋势($P<0.01$),结果见表 1。

表 1 p53 和 PCNA 在正常胃黏膜及病变组织中的表达			
组织类型	<i>n</i>	p53 阳性[<i>n</i> (%)]	PCNALI($\bar{x}\pm s$)
正常胃黏膜	25	0(0.0)	1.34±0.69
肠上皮化生	26	0(0.0)	11.31±6.50*
异型增生	28	4(14.3)	14.21±8.08*
胃癌	69	33(47.8)*#	44.48±16.56*#

*: $P<0.01$,与正常胃黏膜比较;#: $P<0.01$,与异型增生比较。



A:p53;B:PCNA。
图 1 胃癌组织中 p53、PCNA 表达均呈细胞核阳性(SP×200)

2.2 胃癌组织中 p53、PCNA 的表达与临床病理特征的关系 p53、PCNA 表达与胃癌的分化程度和有无淋巴结转移关系密切,分化程序越低、有淋巴转移,p53、PCNA 阳性表达越高,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

2.3 胃癌中 p53 表达与 PCNALI 的关系 p53 阳性表达组的 PCNALI(65.69±17.48)明显高于 p53 阴性表达组 PCNALI(25.03±8.97),差异有统计学意义($P<0.01$)。

表 2 p53 和 PCNA 的表达与胃癌临床病理特征的关系			
临床病理特征	<i>n</i>	p53 阳性[<i>n</i> (%)]	PCNALI($\bar{x}\pm s$)
高、中分化	39	14(35.9)	36.51±10.98
低、未分化	30	19(63.3)*	54.83±13.05*
浸润深度浆膜内	16	7(43.8)	24.19±8.71
浸润深度浆膜及浆膜外	53	26(49.1)	50.60±12.35#
无淋巴结转移	27	8(29.6)	20.22±7.43
有淋巴结转移	42	25(59.5)*	60.07±15.32#

*: $P<0.05$,#: $P<0.01$,与同组比较。

3 讨 论

大量的研究表明胃癌的发生、发展是多阶段逐步演变过程,胃癌的演变遵循正常胃黏膜→肠上皮化生→异型增生→胃癌的变化规律,其间涉及多种癌基因和抑癌基因的表达和调

控^[2]。抑癌基因 p53 对细胞周期的增殖具有负调控作用,它可使细胞停滞于 G₁ 期,抑制 DNA 合成及诱导 DNA 修复,从而抑制细胞的增殖^[3-5]。p53 另外一个主要的靶基因是 Mdm2,编码泛素连接酶,Mdm2 可以结合 p53 蛋白的 N 端引起 p53 的失活,出核转运、降解^[6]。p53 也是一种细胞老化的主要调节器,能封闭细胞周期有利于细胞进入老化^[7]。突变是肿瘤抑制基因失活的主要机制之一,p53 与 50% 的人类癌症有关,在胃癌中 p53 的突变频率达到 32%^[8]。基因突变后 p53 就失去了上述作用。在 p53 基因编码的蛋白中,野生型 p5 蛋白的半衰期很短,而突变型 p53 蛋白降解缓解,代谢半衰期较长,积聚在核内易于检测到,所以使用免疫组化检测的 p53 均为突变型。本研究发现突变型 p53 蛋白在正常胃黏膜、肠化上皮无表达,在异型增生中有低表达,且主要是在重度不典型增生中出现,而在胃癌中的表达明显增高,提示 p53 蛋白的异常表达与胃癌的发生发展密切相关,突变后 p53 基因抑制细胞增殖能力减弱,导致细胞增殖失控而发生肿瘤。此外 p53 蛋白的检测有助于对胃黏膜癌变倾向的判断和胃癌的早期诊断。Forones 等采用免疫组化的方法分别检查了胃腺癌、慢性胃炎和肠化生胃黏膜组织,结果发现显示胃腺癌中 p53 的阳性表达高达 59%,结果也与本例相符^[9]。本研究结果显示 p53 蛋白的异常表达与胃癌的分化程度及淋巴结转移有关,低、未分化胃癌 p53 蛋白表达明显高于高、中分化胃癌,有淋巴结转移组 p53 蛋白表达也明显高于无淋巴结转移组,与文献报道相符^[10-12]。提示 p53 蛋白的异常表达与胃癌生物学行为密切相关,p53 可作为评价胃癌恶性程度和扩散的重要指标。

PCNA 是一种核蛋白,在 DNA 合成中起重要作用,能与 DNA 多聚酶 δ 结合,参与 DNA 复制。PCNA 的表达和细胞增殖周期相关,它在 G₁ 后期开始升高,G₁/S 期交界时达到高峰,G₂、M 期明显下降,检测 PCNA 可客观反映细胞增殖活性^[13]。PCNA 阳性细胞的多少与肿瘤发展、预后均有密切的关系^[14]。在肿瘤的发生过程中,细胞增生活跃,处于增生状态,其 PCNA 表达明显增强,且随着疾病的发展,PCNA 表达也逐渐增加^[15]。本研究显示,在正常胃黏膜→肠上皮化生→不典型增生→胃癌的演变过程中 PCNALI 呈递增趋势,说明在胃癌变过程,随着病变的加重,恶性程度的增高,细胞的增殖活性逐渐增强。结果显示胃癌的形成与胃黏膜上皮过度增殖有关。本研究还显示 PCNA 的表达与胃癌的分化程度、浸润深度和淋巴结转移有关,分化程度越低、有淋巴转移,p53、PCNA 阳性表达越高,提示胃癌的浸润转移是肿瘤细胞不断增殖的结果,肿瘤细胞的增殖活性与胃癌的生物学行为,特别是肿瘤的浸润、转移和预后等密切相关。检测 PCNA 对胃癌的分化、侵袭和预后判断有重要的意义。

本研究结果表明,p53 蛋白阳性表达组的 PCNALI 明显高于阴性表达组,表明 p53 基因的突变可使细胞过度增殖,进而导致肿瘤的形成和发展。PCNA 的表达与胃癌的分化程度、浸润深度和淋巴结转移有关,与肿瘤的浸润、转移和预后等密不可分。联合检测 p53 和 PCNA 对判断胃癌的发展和预后及指导治疗有积极意义。

参考文献:

[1] 蒙健军,蓝东,韦敏怡.P73、P53 蛋白在胃癌中的表达及意义[J].广西医学,2010,32(5):510-512.(下转第 3109 页)

脏和实体瘤内被高度表达的胞苷脱氨酶转化为 5-DFUR,最后 5-DFUR 进入肿瘤组织被含量较高的胸腺嘧啶磷酸化酶(TP)转化为具有抗肿瘤活性的 5-FU,这就提高了癌细胞内药物浓度而达到高效的靶向治疗目的,且明显减少了全身的毒性作用^[8]。替吉奥由替加氟、吉美嘧啶(CDHP)及奥替拉西钾(OXO)按一定比例构成,其中 CDHP 能抑制二氢嘧啶脱氢酶,阻止 5-FU 被降解,使半衰期长达 12 h,而 OXO 能够特异性抑制肠道黏膜细胞内乳清酸核糖转移酶,阻断 5-FU 的磷酸化,使 5-FU 的磷酸化产物降低而减少其胃肠道不良反应^[9]。本研究中应用奥沙利铂联合替吉奥和奥沙利铂联合卡培他滨方案辅助治疗胃癌术后患者,结果总生存期和无复发生存期均无明显差异,但是奥沙利铂联合替吉奥组的手足综合征的发生率明显下降。这说明两药在胃癌术后辅助化疗中的效果相当,但是仍需进一步的研究,选择更为有效的方案,为胃癌的术后辅助化疗提供依据。

参考文献:

[1] Zhang J,Chen RX,Zhang J,et al. Efficacy and safety of neoadjuvant chemotherapy with modified FOLFOX7 regimen on the treatment of advanced gastric cancer[J]. Chin Med J,2012,125(12):2144-2150.

[2] Vasilescu C,Popa M,Tudor S,et al. Robotic surgery of locally advanced gastric cancer—an initial experience[J]. Acta Chir Belg,2012,112(3):209-212.

[3] Zhao SL,Fang JY. The role of postoperative adjuvant chemotherapy following curative resection for gastric

cancer;a meta-analysis[J]. Cancer Invest,2008,26(3):317-325.

[4] Liu TS,Wang Y,Chen SY,et al. An updated meta-analysis of adjuvant chemotherapy after curative resection for gastric cancer[J]. Eur J Surg Oncol,2008,34(11):1208-1216.

[5] Sakuramoto S,Sasako M,Yamaguchi T,et al. Adjuvant chemotherapy for gastric cancer with S-1,an oral fluoropyrimidine[J]. N Engl J Med,2007,357(18):1810-1820.

[6] Sun P,Xiang JB,Chen ZY. Meta- analysis of adjuvant chemotherapy after radical surgery for advanced gastric cancer[J]. Br J Surg,2009,96(1):6-33.

[7] Unek IT,Unek T,Oztop I. Bimonthly regimen of high-dose leucovorin, infusional 5-fluorouracil, epirubicin and cisplatin(Modified ECF) as adjuvant chemotherapy in resected gastric adenocarcinoma[J]. Chemotherapy,2012,58(3):233-240.

[8] Chen S,Feng X,Li Y,et al. Efficacy and safety of XELOX and FOLFOX6 adjuvant chemotherapy following radical total gastrectomy[J]. Oncol Lett,2012,3(4):781-786.

[9] Liu B,Ying J,Luo C,et al. S-1 combined with oxaliplatin as first line chemotherapy for chinese advanced gastric cancer patients[J]. Hepatogastroenterol,2012,59(114):649-653.

(收稿日期:2013-04-01 修回日期:2013-05-28)

(上接第 3106 页)

[2] 周红凤,吴瑾,栾英红,等. VEGF、p53 和 MVD 在胃癌中的表达及临床意义[J]. 现代肿瘤医学,2008,16(5):760-764.

[3] 刘伟,余英豪,欧阳学农,等. VEGF 在胃癌中的表达及其临床意义[J]. 世界华人消化杂志,2010,18(31):3366-371.

[4] 陈娟,李东石,余英豪,等. Her-2 蛋白在胃癌中的表达及其临床意义[J]. 世界华人消化杂志,2010,18(15):1375.

[5] Zheng Y,Wang L,Zhang JP,et al. Expression of p53, c-erbB-2 and Ki67 in intestinal metaplasia and gastric carcinoma[J]. World J Gastroenterol,2010,23(16):339-345.

[6] Moll UM,Petrenko O. The MDM2-p53 interaction[J]. Mol cancer res,2003,1(14):1001-1008.

[7] Malaguarnera R,Vella V,Vigneri R,et al. p53 family proteins in thyroid cancer[J]. Endocr Relat Cancer,2007,14(1):43-51.

[8] Nigro JM,Baker SJ,Preisinger AC,et al. Mutations in the p53 gene occur in diverse human tumour types[J]. Nature,1989,342(6250):705-713.

[9] Forones NM,Kawamura KY,Segreto HR,et al. Expression of COX-2 in stomach carcinogenesis[J]. J Gastrointest Cancer,2008,39(1/4):4-12.

[10] Farnebo M,Bykov VJ,Wiman KG,et al. The p53 tumor suppressor;a master regulator of diverse cellular processes and therapeutic target in cancer[J]. Biochem Biophys Res Commun,2010,396(65):85-93.

[11] Cheli R,Crespi M,Testine G. Gastric,et al. Biologic and epidemio-logic inconsistencies[J]. J Clin Gastroenterol,1998,26(11):3-11.

[12] Somassundaram K. Tumor suppressor p53; regulation and funtion[J]. Front Biosci,2000,17(5):424-430.

[13] 刘有恩,路月霞,吕美秀,等. p53、c-erbB-2 和增殖细胞核抗原在胃癌合并幽门螺杆菌感染中的表达的研究[J]. 中华肿瘤杂志,2000,22(3):232.

[14] Konno S,Takebayashi Y,Aiba M,et al. Clinicopathological and prognostic significance of thymidine phosphorylase and proliferating cell nuclear antigen in gastric carcinoma[J]. Cancer Lett,2001,166(1):103-109.

[15] Chiang CP,Lang MJ,Liu BY,et al. expression of proliferating cell nuclear antigen in oral submucous fibrosis,oral epithelial hyperkeratosis and oral epithelial dysplasia in Taiman[J]. Oral Oncol,2000,36(4):353-342.

(收稿日期:2013-04-08 修回日期:2013-06-04)