

• 临床研究 •

PTEN 和 P27^{kip1} 蛋白在胃癌及癌前病变中的表达和意义

鹿 强¹, 臧爱民¹, 冯树明²

(1. 河北大学附属医院病理科, 河北保定 071000; 2. 河北省徐水县妇幼保健院内科, 河北保定 072550)

摘要:目的 检测 PTEN、P27^{kip1} 蛋白在胃癌及癌前病变中的表达, 探讨其在胃癌发生、发展中的作用。方法 选取胃癌手术后、肠上皮化生和不典型增生标本, 以癌旁正常组织作对照, 应用免疫组化 SP 法检测 PTEN、P27^{kip1} 蛋白的表达。结果 PTEN、P27^{kip1} 在肠上皮化生组、不典型增生组、胃癌组阳性率($P<0.01$) 低于正常组, 呈逐渐下降趋势, 两者表达呈正相关($P<0.05$); PTEN、P27^{kip1} 在胃癌高、中、低、未分化、黏液癌中的阳性率($P<0.05$) 与胃癌病理分型、生长方式相关。结论 PTEN、P27^{kip1} 蛋白表达下调与胃癌的组织类型、生物学行为呈正相关, 对胃癌的早期诊断、治疗、判断预后具有指导意义。

关键词: 胃肿瘤; 免疫组化; PTEN; P27^{kip1}

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.05.010

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2013)05-0508-03

Express and significance of PTEN and P27^{kip1} in gastric carcinoma and precancerous lesions

Lu Qiang¹, Zang Aimin¹, Feng Shuming²

(1. Department of Pathology, Affiliated Hospital of Hebei University, Baoding, Hebei 071000, China;

2. Department of Internal Medicine, Maternal and Child Health Hospital of Xushui County, Baoding, Hebei 072550, China)

Abstract: **Objective** To explore the expression of PTEN、P27^{kip1} protein in gastric carcinoma (GC) and precancerous lesion and discuss the effect in the carcinogenesis and the growth of gastric cancer. **Methods** 50 cases with gastric cancer were selected. 50 cases of adjacent normal tissues were as control group. SP immunohistochemical method was used to detect PTEN and P27^{kip1} protein expression. **Results** The results indicated the fact that: The expression of PTEN and P27^{kip1} significantly decreased in the patients with GC, intestinal metaplasia and atypical hyperplasia ($P<0.01$), which was lower than that of the normal controls. The expression of PTEN and P27^{kip1} positively correlated. The expression of PTEN and P27^{kip1} in the patients with well and moderately differentiated, lower and undifferentiated, mucinous carcinoma were positive ($P<0.05$). The expression of PTEN and P27^{kip1} were closely related to the pathological type and the growth pattern of gastric cancer. **Conclusion** The expression levels of PTEN and P27^{kip1} protein were significantly correlated to gastric cancer type and differentiation. The detections of those proteins have positive effects on early diagnosis, treatment and prognosis.

Key words: stomach neoplasms; immunohistochemistry; PTEN; P27^{kip1}

胃癌是常见的恶性肿瘤之一, 胃癌及癌前病变的发生是一个多基因、多步骤、多因素和多阶段综合作用的结果^[1]。胃癌的发生、发展不仅与细胞的过度增殖有关, 同时也和凋亡有密切关系^[2]。第 10 号染色体同源缺失性磷酸酶-张力蛋白基因 (PTEN)、细胞周期素依赖激酶抑制蛋白 (P27^{kip1}) 是细胞周期调控因子的重要成分, 检测其在胃癌及癌前病变中的表达, 旨在诊治胃癌提供理论及实验依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取河北大学附属医院 2009 年 1 月至 2012 年 5 月期间的 50 例胃癌手术切除标本, 癌旁正常组织 50 例及癌前病变 18 例, 其中肠上皮化生 8 例、不典型增生 10 例, 每例选取蜡块 4 μm 连续切片, 进行常规 HE 染色和免疫组化染色。癌旁组织距瘤缘约 5 cm, 均经病理学确认为正常组织作为对照。所有患者术前均未接受治疗, 新鲜组织采用手术分离立即置于 10% 中性甲醛中, 常规石蜡包埋。本研究 50 例胃癌组中男 30 例, 女 20 例, 年龄 32~78 岁, 平均 55 岁; 18 例胃癌前病变组中男 12 例, 女 6 例, 年龄 30~58 岁, 平均 44 岁。所有切片均按全国胃癌协作组提出的标准, 由具有丰富经验的病理科主任医师进行复检。

1.2 主要试剂 P27^{kip1} 鼠抗人单克隆抗体、兔抗人 PTEN 多克隆抗体 (即用型)、光谱纯试剂 (SP) 盒及二氨基联苯胺 (DAB) 显色剂试剂盒购自北京新生物技术开发中心, 免疫组化测定按试剂盒说明书进行各项指标检测。

1.3 实验方法 组织切片常规 HE 染色, 均经病理学检查确诊, 并根据中国抗癌学会胃癌分类 (1990 年) 标准进行胃癌病理学分型, 分为高、中、低分化腺癌及黏液癌, 其他分为肠上皮化生、不典型增生。组织标本常规石蜡切片, 经二甲苯脱蜡, 梯度乙醇水化, 磷酸盐缓冲液 (PBS) 洗 2 次, 每次 3 min。经梯度乙醇脱水至二甲苯, 中性树脂封片, 镜下观察结果。各步骤之间均以 PBS 洗 3 次, 3 min/次。每种抗体均设阳性和阴性对照, 阳性对照为已知表达阳性的组织切片, 阴性对照以 PBS 代替一抗。

1.4 结果判定标准 PTEN、P27^{kip1} 蛋白以细胞核或胞浆出现棕黄色颗粒为阳性细胞, 染色结果以每张切片在 400 倍镜下均观察整体染色情况, 选择有代表性的区域, 随机读取 100 个细胞, 阳性细胞率 = 阳性细胞数 / 总细胞数 × 100%。切片中阳性细胞率大于或等于 5% 为阳性病例, 小于 5% 为阴性病例。

1.5 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件对 PTEN、P27^{kip1}

蛋白表达应用 χ^2 检验和校正 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 PTEN 在各组中表达 PTEN 正常胃黏膜组阳性率 98%,肠上皮化生组、不典型增生组阳性率分别为 75%、70%,胃癌组阳性率 58%,呈逐渐下降趋势($P<0.01$)。见表 1,图 1、2。

表 1 PTEN 在各组中表达

组别	<i>n</i>	PTEN 阳性(<i>n</i>)	PTEN 阴性(<i>n</i>)	阳性率 (%)	χ^2	<i>P</i>
正常胃黏膜组	50	49	1	98	23.020	<0.01
肠上皮化生组	8	6	2	75		
不典型增生组	10	7	3	70		
胃癌组	50	29	21	58		

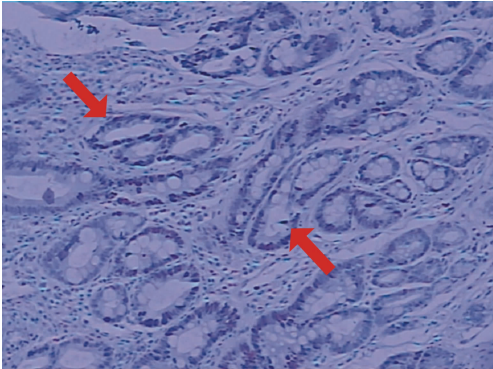


图 1 PTEN 在正常胃黏膜中表达(SP×100)

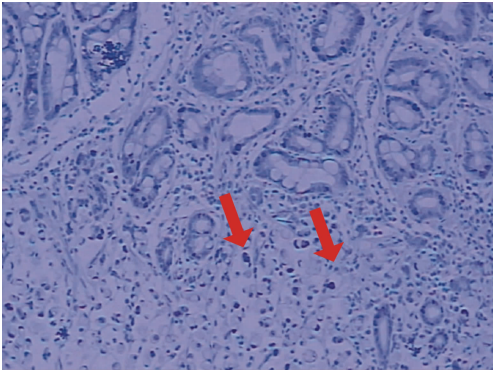


图 2 PTEN 在胃癌中表达(SP×100)

2.2 P27^{kip1} 在各组中表达 P27^{kip1} 正常组阳性率 98%,肠上皮化生组阳性率 75%,不典型增生组阳性率 40%,胃癌组阳性率 38%,呈逐渐下降趋势($P<0.01$)。见表 2,图 3、4。

表 2 P27^{kip1} 在各组中表达

组别	<i>n</i>	P27 ^{kip1} 阳性(<i>n</i>)	P27 ^{kip1} 阴性(<i>n</i>)	阳性率 (%)	χ^2	<i>P</i>
正常胃黏膜组	50	49	1	98	43.649	<0.01
肠上皮化生	8	6	2	75		
不典型增生组	10	4	6	40		
胃癌组	50	19	31	38		

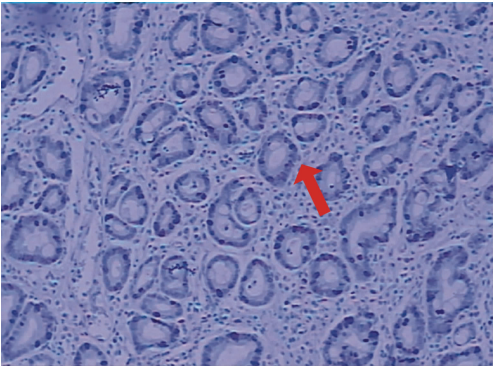


图 3 P27^{kip1} 在正常胃黏膜中表达(SP×100)

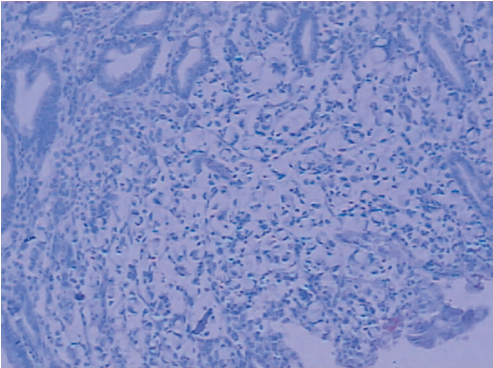


图 4 P27^{kip1} 在胃癌中表达(SP×100)

2.3 胃癌病理组织不同类型 PTEN、P27^{kip1} 的表达 PTEN 的阳性率在胃癌高中分化、低未分化、黏液癌中分别为 80.00%、57.7%、22.22%,组间卡方检验 $P=0.021$, $P<0.05$,差异有统计学意义;P27^{kip1} 的阳性率在胃癌高中分化、低未分化、黏液癌分别为 13.3%、50%、55.55%,组间卡方检验 $P=0.037$, $P<0.05$,差异有统计学意义,见表 3。

表 3 胃癌病理组织不同类型 PTEN、P27^{kip1} 的表达

分化程度	<i>n</i>	PTEN 阳性(<i>n</i>)	P27 ^{kip1} 阳性(<i>n</i>)
高、中分化腺癌	15	12	1
低分化腺癌	26	15	13
黏液癌	9	2	6
总数	50	29	20
<i>P</i>		0.021	0.037

2.4 胃癌中 PTEN 和 P27^{kip1} 之间的表达关系 50 例胃癌患者中 PTEN 和 p27^{kip1} 表达的具有正相关性,差异有统计学意义($\chi^2=9.975$, $P<0.05$),见表 4。

表 4 胃癌中 PTEN 与 p27^{kip1} 的表达关系(*n*)

PTEN	<i>n</i>	P27 ^{kip1} 阳性	P27 ^{kip1} 阴性	χ^2	<i>P</i>
阳性	29	17	12	9.975	<0.05
阴性	21	3	18		

3 讨 论

3.1 PTEN 表达与胃癌的关系 PTEN 是 1997 年由 3 个研究小组克隆到的新的肿瘤抑癌基因^[3],是位于人染色体 10q23.3 的抑癌基因。实验证明细胞质、核膜及核内都有表

达^[4],其编码产物为 403 个氨基酸组成的蛋白质,通过使磷脂酰肌醇 3,4,5-三磷酸去磷酸化而抑制磷脂酰肌醇-3 激酶依赖的蛋白激酶 B(Akt),导致细胞增殖抑制和细胞凋亡,被认为是调节细胞凋亡和肿瘤发生的关键因素^[5]。当 PTEN 抑癌基因突变或缺失可能构成一个新的信号转导途径,与人类恶性肿瘤的发生、发展关系密切^[6],PTEN 蛋白高表达的胃癌细胞系,其黏附和迁移能力显著降低,目前认为 PTEN 可能通过降低细胞间的黏附、细胞的运动性和血管形成而参与胃癌演进,在调控细胞的生长发育和凋亡、细胞信号转导及细胞浸润、转移过程中起重要的作用^[7]。

本研究结果 PTEN 在胃正常组织、肠上皮化生、不典型增生、胃癌中的阳性表达率呈逐渐下降趋势,与 Yang 等^[8]的研究结果相近似,正常胃黏膜及肠化生组织中的 PTEN 蛋白表达阳性率明显高于不典型增生及胃癌组织。

PTEN 低表达的肿瘤细胞更易浸润、转移,因而侵袭性强、恶性度高、预后差^[9],本研究结果 PTEN 阳性率与胃癌组织类型密切相关,胃高中分化腺癌组织中 PTEN 阳性率明显高于胃低分化腺癌组织,有显著差异,这可能是基因水平改变的结果,提示 PTEN 的检测,可能为判断胃癌患者的恶性程度及预后提供依据。相关研究表明 PTEN 的表达与患者 3 年生存率相关,表达缺失者生存率低,是影响胃癌患者预后的生物学指标之一^[10]。

3.2 P27^{kip1} 表达与胃癌的关系 P27^{kip1} 是细胞周期素依赖激酶抑制剂(CDKIs)家族成员之一,P27^{kip1} 主要定位于胞核,但在胞浆和胞核中均有表达^[11],对肿瘤细胞的增殖起负性调节的作用,低表达加速肿瘤细胞合成增多,促使肿瘤发展^[12],P27^{kip1} 对细胞周期负性调控作用主要是通过抑制 CDKIs 复合物的激活或抑制已激活的 CDKIs 复合物的活性来实现的,使得细胞生长停滞,从而调控着细胞的生存与增殖。目前研究证实多种肿瘤组织中存在 P27^{kip1} 的异常表达^[13],它不但直接调控细胞周期,还作为胞外刺激信号的潜在媒介来调控细胞周期,与肿瘤的发生、发展及侵袭密切相关。

本研究结果 P27^{kip1} 在胃癌、肠上皮化生、不典型增生($P<0.01$)低表达较显著,在胃癌高、中、低、未分化、黏液腺癌表达($P<0.05$),提示 P27^{kip1} 表达下调可能影响胃癌分化程度及侵袭能力,与胃癌浸润深度、淋巴结转移、分化程度呈负相关,这一研究结果与 Ohtani 等^[14]研究发现 P27^{kip1} 基因缺失导致的 P27^{kip1} 蛋白表达缺失,与胃癌进展和预后密切相关一致。

3.3 胃癌中 PTEN 与 p27^{kip1} 表达的关系 本研究结果表明在胃癌中 PTEN 的表达与 P27^{kip1} 表达呈正相关,PTEN 低表达可降低 P27^{kip1} 表达。P27^{kip1} 是 PTEN 调节细胞周期的下游信号分子,PTEN 可以使 P27^{kip1} 去磷酸化,降低其在细胞中的分解代谢水平,负性调控细胞周期^[15],在胃癌的发生、发展过程中,PTEN 和 P27^{kip1} 可能起着协同的作用,PTEN 和 P27^{kip1} 的表达可作为诊断胃癌的一个重要依据。

综上所述,该检测 PTEN、P27^{kip1} 蛋白表达下调与胃癌的发生、发展方式呈正相关,对胃癌的早期诊断、治疗、判断预后提供了实验依据,具有重要指导意义。

参考文献:

[1] 王茵萍,孙茂峰,吴旭.胃黏膜上皮紧密连接与实验性胃

癌前病变的关系[J].肿瘤防治杂志,2003,10(3):259-262.

[2] 李胜水,许华,杨晶. P27 和 ILK 在胃癌及癌前病变中的表达及意义[J]. 现代肿瘤医学,2010,18(1):128-130.

[3] Gu J, Tamura M, Yamada KM. Tumor suppressor PTEN inhibits integrin-and growth factor-mediated mitogen-activated protein(MAP)kinase signaling pathways[J]. J Cell Biol,1998,143(5):1375-1383.

[4] Mutter GI, Lin MC, Fitzgerdd JT, et al. Altered PTEN expression as adiaagnostic marker for the earliest endometrial preancers[J]. Natl Cancer Inst,2002,92(11):924-930.

[5] Wu H,GoelV, Haluska FG. PTEN signaling pathways in melanoma[J]. Oncogene,2003,22(20):3113-3122.

[6] Depowski PL, Rosenthal SI, Ross JS. Loss of expterssion of the PTEN gene protein product is associated with poor outcome in breast cancer[J]. Mod pathol,2001,14(7):672-676.

[7] 郑华川,陈颖,况立革. PTEN 编码产物在胃癌发生发展不同阶段中的表达及意义[J]. 中华肿瘤杂志,2003,25(1):13-16.

[8] Yang L, Kuang LG, Zheng HC, et al. PTEN encoding product; a rmarker fo tumorigenesis and progression of gastric cancer[J]. World Gastroenerol,2003,9(1):35-39.

[9] 余红,文安智,贾美琳,等. PTEN p27 蛋白在非小细胞肺癌中的表达及意义[J]. 重庆医学,2005,34(5):711-714.

[10] 马鹏,曹晓燕,冯义朝. PTEN 蛋白表达与胃癌预后的关系[J]. 延安大学学报:医学科学版,2010,8(2):1-2.

[11] 付燕燕. P27^{kip1} 的研究进展[J]. 重庆医学,2005,34(2):291-293.

[12] Catzavelos C, Tsao MS, DeBoer G, et al. Reduced expression of the cell cycle inhibitor p27^{kip1} in non small cell lung carcinoma; a prognostic factor independent of Ras[J]. Cancer Res,1999,59(3):684-688.

[13] Rosenberg E, Demopoulos RI. Expression of cell cycle regulators P27^{kip1}, cyclin D, and cyclin E in ePithelial ovarian tumors and survival[J]. Human Pathology, 2001, 32(8):808-813.

[14] Ohtani M, IsozakiH, Fuji K, et al. Impact of the expression of cyclin-dependent kinase inhibitor of P27Kipl and apoptosis in tumor cell over all survival of patients with non-early stage gastric carcinoma [J]. Cancer, 1999, 85(8):17112-17181.

[15] 王璨丽. PTEN 非小细胞肺癌病理特征及预后判断的新标志[J]. 重庆医学,2008,37(10):1108-1111.

(收稿日期:2012-10-16 修回日期:2012-12-01)