

· 临床研究 ·

150 例食管鳞癌 Caveolin-1 和 PCNA 蛋白的表达及其生物学意义

赵 醒¹, 焦春敬², 李春辉¹, 胡潺潺³(1. 承德医学院附属医院病理科, 河北承德 067000; 2. 江苏省张家港市澳洋医院 215600;
3. 承德医学院附属医院肿瘤内科, 河北承德 067000)

摘要:目的 探讨 Caveolin-1 和增殖细胞核抗原(PCNA)在食管鳞癌中的蛋白表达及其意义。方法 应用免疫组织化学 SP 法分别检测 150 例食管鳞癌组织和 35 例正常食管黏膜组织(距离癌灶边缘 5 cm 以上经病理证实)中 Caveolin-1 和 PCNA 蛋白表达情况。结果 Caveolin-1 蛋白在食管鳞癌组织中的表达明显高于正常食管黏膜组织($P < 0.05$), 且其表达与淋巴结转移密切相关; PCNA 蛋白在正常食管黏膜组织中的表达明显低于食管鳞癌组织($P < 0.05$), 且其蛋白表达与患者年龄、淋巴结转移和肿瘤长度密切相关; Caveolin-1 和 PCNA 蛋白的表达呈正相关($r = 0.266, P < 0.05$)。结论 Caveolin-1 与 PCNA 蛋白过表达可能与食管鳞癌的发生、发展以及浸润转移有关。

关键词:食管肿瘤; Caveolin-1; 增殖细胞核抗原; 免疫组织化学

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2013.32.014

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2013)32-3889-02

Expressions of Caveolin-1 and PCNA in esophageal squamous cell carcinoma and its biological significance in 150 cases

Zhao Xing¹, Jiao Chunjing², Li Chunhui¹, Hu Chanchan³

(1. Department of Pathology, Affiliated Hospital of Chengde Medical College, Chengde, Hebei 067000, China;

2. Aoyang Hospital of Zhangjiagang City, Zhangjiagang, Jiangsu 215600, China;

3. Department of Medical Oncology, Affiliated Hospital of Chengde Medical College, Chengde, Hebei 067000, China)

Abstract: Objective To explore the expression levels and significance of Caveolin-1 and proliferating cell nuclear antigen(PCNA) in esophageal squamous cell carcinoma. **Methods** Immunohistochemical SP method was used to detect the expression levels of caveolin-1 and PCNA in 150 cases of esophageal squamous cell carcinoma and 35 cases of normal esophageal squamous cell. **Results** The expressions of Caveolin-1 in esophageal carcinoma was significantly higher than in normal esophageal mucosa ($P < 0.05$), caveolin-1 was related to lymph node metastasis; The expressions of PCNA in esophageal carcinoma was significantly higher than in normal esophageal mucosa ($P < 0.05$), PCNA was related to age, lymph node metastasis and tumor size. The expression of Caveolin-1 was positively correlated with PCNA ($r = 0.266, P < 0.05$). **Conclusion** Caveolin-1 and PCNA overexpression might be related to the occurrence, development and metastasis of esophageal squamous cell carcinomas.

Key words: esophageal neoplasms; caveolin-1; proliferating cell nuclear antigen; immunohistochemistry

食管癌是世界常见恶性肿瘤, 已成为危害人类健康的第二大肿瘤, 由于食管癌早期多无明显症状, 患者就诊时多已到中晚期, 因此早期发现早期治疗显得尤为重要。近年来随着分子生物学的飞速发展, 人们发现了诸多与食管癌相关的基因或相关未知基因片段, 为解决上述难题提供了理论基础。有研究证实 Caveolin-1 与细胞的恶性转化及肿瘤的演进密切相关, 增殖细胞核抗原(PCNA)的表达在许多恶性肿瘤中也显著增加。基于以上原因, 作者研究了 Caveolin-1 和 PCNA, 旨在寻找食管癌特异性的分子标志, 提高食管癌的诊疗水平。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2007~2010 年承德医学院附属医院手术, 经病理检查诊断为食管鳞癌的患者 150 例(食管鳞癌组), 术前患者均未经任何化疗及放疗。其中男 89 例, 女 61 例; 年龄 40~77 岁, 其中小于 40 岁 21 例, 40~60 岁 85 例, >60 岁 44 例; 肿瘤长度小于 3 cm 78 例, ≥ 3 cm 72 例; 黏膜内癌 5 例, 侵及肌层 23 例, 侵及纤维膜及周围软组织 122 例。同时取距离癌灶边缘 5 cm 以上病理证实为正常黏膜 35 例作为对照组。

1.2 试剂 鼠抗人 Caveolin-1 单克隆抗体购自 Santa 公司, 鼠抗人 PCNA 单克隆抗体购自北京中杉金桥生物技术有限公司, SP 试剂盒、DAB 显色剂均购自福建迈新技术有限公司。

1.3 SP 免疫组织化学染色 SP 免疫组织化学具体步骤按照

试剂盒说明书进行, 染色时设立阴性对照(以 PBS 代替 I 抗)。

1.4 结果判定标准 Caveolin-1 以细胞质和细胞膜出现背景清晰的棕黄或棕褐色颗粒为阳性, PCNA 阳性显色也为棕黄色或棕褐色颗粒, 位于细胞核。阳性细胞占肿瘤细胞 0%~5% 记为 0 分, >5%~20% 记为 1 分, >20%~50% 记为 2 分, 50% 以上记为 3 分。0 分和 1 分视为阴性, 2 分和 3 分视为阳性。

1.5 统计学处理 应用 SPSS17.0 统计软件包进行分析, 蛋白表达与临床病理指标之间的关系采用 χ^2 检验, 相关分析采用 Spearman 等级相关分析法, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Caveolin-1、PCNA 蛋白在正常食管黏膜及食管鳞癌组织中的表达 免疫组化结果显示, Caveolin-1 在 150 例食管鳞癌组织中 56 例阳性表达(37.33%), 而 35 例正常食管黏膜组织中仅 6 例阳性表达(17.14%), 前者显著高于后者($P < 0.05$); PCNA 蛋白在 150 例食管鳞癌组织中 68 例阳性表达(45.33%), 而 35 例正常食管黏膜组织中仅 7 例阳性表达(20.00%), 前者显著高于后者($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 Caveolin-1、PCNA 蛋白的表达与食管鳞癌临床病理特征之间的关系 Caveolin-1 淋巴结转移阴性组蛋白表达阳性率

为 24.49%(24/98), 阳性组蛋白表达阳性率为 61.54%(32/52), 组间差异有统计学意义($P=0.000$), 蛋白表达与患者年龄、性别、肿瘤长度、浸润深度均无关($P>0.05$); 而 PCNA 蛋白的表达与患者年龄、淋巴结转移和肿瘤长度均密切相关。见表 2。

表 1 正常食管黏膜及食管鳞癌组织中 Caveolin-1、PCNA 蛋白的表达比较[n(%)]

组别	n	Caveolin-1 阳性	PCNA 阳性
对照组	35	6(17.14)	7(20.00)
食管鳞癌组	150	56(37.33)	68(45.33)

表 2 食管鳞癌组织中 Caveolin-1、PCNA 蛋白的表达与临床病理的关系[n(%)]

指标	n	Caveolin-1 阳性	PCNA 阳性
年龄(岁)			
<40	21	9(42.86)	8(38.10)
40~60	85	32(37.65)	31(36.47)
>60	44	15(34.09)	29(65.91)
性别			
男	89	30(33.71)	40(44.94)
女	61	26(42.62)	28(45.90)
肿瘤长度(cm)			
<3	78	24(30.77)	26(33.33)
≥3	72	32(44.44)	42(58.33)
浸润深度			
黏膜及黏膜下层	5	0(0.00)	1(20.00)
肌层	23	8(34.78)	10(43.48)
纤维膜及周围软组织	122	48(39.34)	57(46.72)
淋巴结转移			
有	52	32(61.54)	30(30.16)
无	98	24(24.49)	38(73.08)

2.3 Caveolin-1 及 PCNA 蛋白在食管鳞癌中表达的关系 在 150 例食管鳞癌患者中, Caveolin-1 蛋白阳性表达 56 例, 其中 PCNA 和 Caveolin-1 同时阳性表达的 35 例, 经统计学分析证实, 在食管鳞癌组织中 Caveolin-1 及 PCNA 的蛋白表达呈显著正相关($r=0.266, P<0.01$)。

3 讨论

胞膜窝 Caveolae 结构(小窝结构)是一种细胞质膜向内凹陷所形成的囊状结构脂筏, 而 Caveolin-1 是其标志性蛋白。研究表明, 该蛋白的作用不仅表现在许多正常的生理现象中, 例如信号转导、血管生成, 而且与许多恶性肿瘤密切相关。冷雷等^[1]通过荧光定量 PCR 及免疫组织化学方法检测 Caveolin-1 基因在鼻咽癌细胞株 5-8F 和 6-10B 的表达得出结论: Caveolin-1 在 5-8F 细胞株高转移特性中起到重要作用, 并且和淋巴结转移有关。有研究显示, Caveolin-1 可能与膀胱尿路上皮癌的生长、浸润和复发密切相关^[2-3]。该基因亦陆续在胃癌、前列腺癌等其他肿瘤中发现表达上调, 而在卵巢癌及肉瘤中表达下调^[4-7]。Goetz 等^[8]研究表明, 间质内 Caveolin-1 蛋白能重新改造肿瘤生长、侵袭环境。因此, Caveolin-1 在肿瘤的形成和发

展过程中所起的作用因组织来源不同而不同, 作用机制十分复杂。本研究显示, Caveolin-1 在 150 例食管鳞癌组织中蛋白表达的阳性率为 37.33%, 而 35 例正常食管黏膜组织中阳性率仅为 17.14%, 前者显著高于后者($P<0.05$)。有实验结果报道, Caveolin-1 在前列腺癌组织中的蛋白表达高^[9], 与本实验结果一致。刘惠宁等^[10]通过 RT-PCR 方法证明 Caveolin-1 在绒毛膜癌细胞株中的表达高于正常绒毛组织, 提示 Caveolin-1 的蛋白表达上调可促进肿瘤的侵袭及去分化, 可作为判断食管鳞癌生物学行为的一个重要指标。

PCNA 与细胞增殖周期密切相关, 该蛋白是一种仅在增殖细胞中表达的酸性蛋白, 其表达量可直接反映 DNA 复制的活跃程度^[11]。本实验结果显示, PCNA 蛋白在正常食管黏膜组织中的表达明显低于食管鳞癌组织($P<0.05$), 且其表达与患者年龄、淋巴结转移和肿瘤长度密切相关。食管正常细胞转变为癌细胞时多增殖活跃, 因此 PCNA 蛋白呈过度表达。国外有研究报道, PCNA 表达高的患者, 其生存期明显较短^[12], 与本实验研究结果一致。有研究表明在膀胱癌中肿瘤细胞分化程度越低, PCNA 的表达越强^[13-14]。

本实验通过对 Caveolin-1 及 PCNA 蛋白的联合检测, 证明了两种蛋白在食管鳞癌中均为高表达, 同时对二者进行相关性分析, 证明了二者表达呈正相关($r=0.266, P<0.01$), 推断二者在食管癌的发生、发展过程中可能起到协同作用, 其联合检测可能为临床判断预后提供新的依据。

参考文献:

- [1] 冷雷, 戚飞飞, 任俊奇, 等. Caveolin-1 与鼻咽癌细胞侵袭转移能力的相关性研究[J]. 实用医学杂志, 2011, 27(24):4454-4456.
- [2] 罗波. Caveolin-1 在膀胱尿路上皮癌中的表达及意义[J]. 中外医学研究, 2011, 9(11):1-2.
- [3] 汪翼, 罗红梅, 杨罗艳. Caveolin-1 的表达及其与膀胱癌病理分级及临床分期的关系[J]. 中国医师杂志, 2005, 7(6):780-782.
- [4] 许文集, 庄瑛瑛, 陈玉丽, 等. Caveolin-1 在胃癌和癌前期变化中的表达及其意义[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2010, 19(3):209-212.
- [5] 卢桂尧, 杨永强, 范小明, 等. Caveolin-1 在前列腺癌中的表达及临床意义[J]. 中国实用医药, 2011, 6(1):35-37.
- [6] Kai W, Luda D, Alexander A, et al. Caveolin-1 is down-regulated in human ovarian carcinoma and acts as a Candidate tumor suppressor gene[J]. Am J Pathol, 2001, 159(16):1635-1640.
- [7] Kai W, Christine S, Alexander A, et al. Down-regulation of caveolin-1, a candidate tumor suppressor gene, in sarcomas[J]. Am J Pathol, 2001, 158(8):833-839.
- [8] Goetz JG, Minguet S, Navarro-Lérida I, et al. Biomechanical remodeling of the microenvironment by stromal caveolin-1 favors tumor invasion and metastasis[J]. Cell, 2011, 146(1):148-163.
- [9] Fong A, Garcia E, Gwynn L, et al. Expression of caveolin-1 and caveolin-2 in urothelial carcinoma of the urinary bladder correlates with tumor grade and squamous differentiation[J]. Am J Clin Pathol, 2003, 120(2):93-100.
- [10] 刘惠宁, 蔡净亭, 余蓉, 等. Caveolin-1(下转第 3893 页)

肝病等)有关,但都不是判断 ARDS 预后的独立预测因子。另有研究显示,年龄、免疫抑制、器官功能不全、简明急性生理功能评分 II (SAPS II)、慢性肝病等对预后具有独立评价作用,动脉血氧分压/吸入氧浓度比值($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$)对预后评价争议较大,但持续的低 $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ 比值提示预后不良^[13]。本研究结果显示,cTnT、APACHE II 评分和 LIS 预测 ARDS 患者 28 d 病死率的能力十分接近,均是死亡的独立预测因素。近来研究发现,ARDS 患者血浆脑钠肽(brain natriuretic peptide, BNP)水平随病程的发展明显升高^[14]。林英等^[15]研究发现左室射血正常的 ARDS 患者中,死亡患者血浆 BNP 浓度较存活患者显著增高,将 BNP 为 329.5 ng/L 作为截断点,其预测死亡的灵敏度为 76.4%、特异度为 96.8%。结合本研究及林英等的报道,cTnT(界值高灵敏度、低特异度)联合 BNP(界值低灵敏度、高特异度)对 ARDS 患者的预后具有协同预测作用,并可以对死亡的高危患者进行甄别,从而能够早期给予适当的临床干预,达到减缓或逆转病情恶化、减少病死率的目的。

本研究的不足之处:未细化排除各种可导致 cTnT 升高的疾病或既往病史;未对患者进行连续检测以查明 cTnT 的动态变化与预后的关系;由于不同实验室 cTnT 检测方法不同,因此本研究的结论还不能确定是否可以推广到所有 ARDS 患者。但本研究的目的在于使 ARDS 患者在早期得到快速的评价,并早期开始器官功能维护,为后续治疗提供更好的基础。

总之,cTnT 水平与 APACHE II 评分和 LIS 呈正相关;cTnT >0.034 ng/mL 是 ARDS 患者 28 d 的独立预测因素;相比于数据采集困难的 APACHE II 评分、LIS 等预后指标,肌钙蛋白检测具有快捷、简便的特点,未来可能在评估 ARDS 的严重程度和患者死亡的危险性方面具有重要意义,成为一种新的临床评估手段,但仍需要更多前瞻性、设计合理、大样本研究证实。

参考文献:

- [1] Phua J, Badia JR, Adhikari NK, et al. Has mortality from acute respiratory distress syndrome decreased over time: A systematic review[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2009, 179(3): 220-227.
- [2] 中华医学会呼吸病学分会. 急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合症的诊断标准(草案)[J]. *中华结核和呼吸病杂志*, 2000, 23(4): 203.
- [3] Murray JF, Matthay MA, Luce JM, et al. An expanded definition of the adult respiratory distress syndrome[J].

Am Rev Respir Dis, 1988, 138(3): 720-723.

- [4] 李琦, 钱桂生, 张青, 等. 全身炎症反应综合征-肺损伤大鼠肺组织 IL-10 mRNA 表达及 AP-1 活性变化的研究[J]. *中国病理生理杂志*, 2002, 18(8): 918-922.
- [5] 马琪, 克拉拉·阿巴斯, 张建龙, 等. 异丙酚对 ARDS 过程心功能损害的保护作用及 Gq/11 蛋白的相关性研究[J]. *新疆医科大学学报*, 2005, 28(4): 312-314.
- [6] Ware LB, Matthay MA. The acute respiratory distress syndrome[J]. *N Engl J Med*, 2000, 342(18): 1334-1349.
- [7] 黄厚刚, 陈萍. 心力衰竭时心肌损伤标志物的研究进展[J]. *重庆医学*, 2006, 35(16): 1514-1516.
- [8] Cubrilo-Turek M, Topi E, Stefanovi M, et al. New biochemical markers in the assessment of minor myocardial damage in critically ill patients[J]. *Acta Med Croatica*, 2004, 58(5): 381-388.
- [9] 万献尧, 黄伟, 张久之, 等. 急性呼吸窘迫综合征机械通气患者院内死亡的危险因素分析[J]. *中国呼吸与危重监护杂志*, 2006, 5(1): 4-6.
- [10] Lu Y, Song Z, Zhou X, et al. A 12-month clinical survey of incidence and outcome of acute respiratory distress syndrome in Shanghai intensive care units[J]. *Intensive Care Med*, 2004, 30(12): 2197-2203.
- [11] Craig T, McAuley DF. What is the score with mortality predictions in acute lung injury[J]. *Crit Care Med*, 2008, 36(15): 1644-1646.
- [12] Erickson SE, Martin GS, Davis JL, et al. Recent trends in acute lung injury mortality: 1996-2005 [J]. *Crit Care Med*, 2009, 37(15): 1574-1579.
- [13] Ware LB. Prognostic determinants of acute respiratory distress syndrome in adults: Impact on clinical trial design[J]. *Crit Care Med*, 2005, 33(3 Suppl): 217-222.
- [14] Maeder M, Ammann P, Rickli H, et al. Elevation of B-type natriuretic peptide levels in acute respiratory distress syndrome[J]. *Swiss Med Wkly*, 2003, 133(37/38): 515-518.
- [15] 林英, 郝佳, 么改琦, 等. 脑钠肽对急性呼吸窘迫综合征患者预后评估的价值[J]. *中国危重病急救医学*, 2010, 22(5): 285-287.

(收稿日期: 2013-06-12 修回日期: 2013-07-20)

(上接第 3890 页)

- 与绒毛膜癌侵袭力之间的关系[J]. *中南大学学报: 医学版*, 2008, 33(4): 331-337.
- [11] 胡杰彬, 万光霞, 蒋先镇. HER-2/neu、PCNA 在人膀胱移行细胞癌中的表达及意义[J]. *北京医学*, 2008, 30(9): 527-529.
- [12] Kuwanno H, Sumigoshi K, Nozoe T, et al. The prognostic significance of the cyto- photometric DNA PCNA content and its relationship with the PCNA in esophageal cancer

[J]. *Eur J Surg Oncol*, 1995, 21(4): 368-370.

- [13] 陈宏颖, 王陆佰. Survivin 与 PCNA 蛋白在膀胱尿路上皮肿瘤的表达及意义[J]. *齐齐哈尔医学院学报*, 2011, 32(20): 2055-2057.
- [14] 居红格, 沈淑萍, 耿虹, 等. P16、P53、PCNA 在膀胱癌中的表达及意义[J]. *包头医学院学报*, 2009, 25(1): 12-13.

(收稿日期: 2013-06-18 修回日期: 2013-07-21)