

P16 蛋白与 C-erbB-2 在胰腺癌组织中表达意义

徐永泉,王艳军,林 艳,刘 香

徐永泉,王艳军,林艳,中国医科大学第二临床学院消化内科
辽宁省沈阳市 110004
刘香,沈阳市中心医院消化内科 辽宁省沈阳市 110024
项目负责人:徐永泉,110004,辽宁省沈阳市和平区三好街36号,中国医科大学第二临床学院消化内科.
收稿日期:2002-10-08 接受日期:2002-12-08

摘要

目的:分析胰腺癌组织中 C-erbB-2、P16 蛋白表达的临床意义,探讨诊治胰腺癌的有效方法.

方法:40 例胰腺癌石蜡包埋标本连续 5 μm 切片,HE 染色确定肿瘤分化程度,应用 S-P 法进行免疫组化染色,PBS 代替一抗做阴性对照.

结果: C-erbB-2 在胰腺癌组织中的阳性率为 47.5% (19/40). 在高、中、低分化肿瘤中阳性率分别为 38.89%、50.00% 和 60.00%. 经检验无显著性差异 ($P > 0.05$), 但各级阳性表达率呈逐渐增高趋势. P16 蛋白在胰腺癌组织中的缺失率为 55%, 在高、中、低分化肿瘤中缺失率分别为 27.78%、66.67% 和 90.00%, 经检验有非常显著性差异 ($P < 0.01$). P16 蛋白和 C-erbB-2 蛋白的表达具有负相关性 ($P < 0.05$).

结论:检测胰腺癌组织中 P16 蛋白及 C-erbB-2 蛋白的表达可作为胰腺癌诊断的分子生物学手段, C-erbB-2 蛋白的表达与肿瘤的恶性度有关; P16 蛋白的表达可反映胰腺癌的恶性度, 且同一肿瘤有多基因表达.

徐永泉,王艳军,林艳,刘香.P16 蛋白与 C-erbB-2 在胰腺癌组织中表达意义.
世界华人消化杂志 2003;11(1):110-111
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/110.htm>

0 引言

胰腺癌是消化系统恶性肿瘤中较难早期诊断的癌肿,预后较差.近年来本症发病率有增高倾向.应用免疫组化方法分析胰腺癌组织中 P16 蛋白, C-erbB-2 表达,探讨其临床意义及应用,指导临床治疗及对于预后的估计,提高胰腺癌诊断的准确性,改善本症存活率有着重要意义.

1 材料和方法

1.1 材料 收集我院外科 1997-1999 年手术切除并经病理证实为胰腺癌的标本 40 例,男 29 例,女 11 例,年龄 24-72 岁,平均年龄 (57.33 ± 11.98) 岁. HE 染色确定其分化程度,其中高分化 18 例,中分化 12 例和低分化 10 例.

1.2 方法 采用 S-P 法,每例标本切片 3 张,其中 2 张列入实验组(加单抗 C-erbB-2 和 P16 多抗),另 1 张列入空白对照组(PBS 代替一抗,余步骤同实验组).抗 P21 单克隆抗体、兔抗 P16 多克隆抗体和鼠抗 C-erbB-2 多克隆抗体均为 Santa Cruz 公司的产品,工作浓度分别为 1:70, 1:50 和 1:100. S-P 试剂盒 (Kit-9302) 为 Maxin 公司产品.

1.3 结果判断 染色阳性标记为棕黄色.染色程度按以下标准划分:每张切片分别观察 10 个高倍视野,每个高倍视野计数 100 个肿瘤细胞内的免疫染色阳性细胞数,计算出每张切片的阳性细胞百分数,按阳性细胞百分数分为 4 个等级,低于 1% 为阴性(-),1-10% 为(+),11-50% 为(++),51% 以上为(+++).

统计学处理 采用 χ^2 检验、秩和检验.

2 结果

2.1 C-erbB-2 和 P16 蛋白的表达 C-erbB-2 蛋白的表达位于胰腺癌细胞的细胞质和胞膜,呈灶状和弥漫分布; P16 蛋白的表达位于胰腺癌细胞质内,呈弥漫性或颗粒性分布,偶见细胞核内着色. C-erbB-2、P16 蛋白在癌组织中的阳性率分别为 47.5% (19/40) 和 45.0% (18/40).

2.2 癌基因蛋白的表达与病理组织学分级的关系 胰腺癌组织中 C-erbB-2 蛋白在高、中、低分化肿瘤中阳性率经 χ^2 检验无显著性差异 ($P > 0.05$), 但各级阳性表达率呈逐渐增高趋势. 40 例胰腺癌中有 22 例 P16 蛋白表达缺失,将高、中、低分化肿瘤中的 P16 蛋白缺失率比较,有非常显著性差异 (秩和检验, $P < 0.01$).

表 1 胰腺癌中 C-erbB-2 的表达与病理分级的关系

病理分级	n	C-erbB-2 的表达				阳性率(%)
		-	+	++	+++	
高分化	18	11	2	3	2	38.89
中分化	12	6	3	1	2	50.00
低分化	10	4	2	1	3	60.00

表 2 胰腺癌中 P16 的表达与病理分级的关系

病理分级	n	C-erbB-2 的表达				阳性率(%)
		-	+	++	+++	
高分化	18	5	5	6	2	27.78
中分化	12	8	2	1	1	66.67
低分化	10	9	1	0	0	90.00

2.3 胰腺癌组织中 P16 蛋白与 C-erbB-2 表达的关系
P16 蛋白与 C-erbB-2 表达呈负相关性 ($P < 0.05$), 说明同一肿瘤有多基因的表达。

3 讨论

癌基因的活化与表达是肿瘤发生与发展中主要的病理基础, 肿瘤的发生是多病因参与的多阶段过程, 各种肿瘤应有 1 个癌基因谱的参与, 不同肿瘤有所差异。目前发现的细胞癌基因都是单拷贝结构基因, 都有编码产物, 细胞癌基因通过其编码产物引起细胞增生。胰腺癌的发生、发展与原癌基因、抑癌基因的异常有关, 本研究检测胰腺癌组织中 C-erbB-2、P16 蛋白的表达, 证实了肿瘤的发生是多基因表达的癌基因谱的概念。

C-erbB-2 癌基因又称为 neu 或 HER-2, 编码分子量为 185 Ku 的穿膜蛋白, 与表皮生长因子同源, 该蛋白可抑制酪氨酸激酶的活性。C-erbB-2 的激活一般是通过基因扩增实现的, 可见于多种肿瘤, 其表达部位位于肿瘤细胞或非肿瘤细胞胞质和胞膜上。也有人认为 P185 蛋白表达以细胞膜型为主, 尤其在乳腺肿瘤、胰腺癌及肺癌。根据肿瘤部位不同, P185 阳性表达率差异较大, 胰腺癌为 47%。几次大规模的实验均表明其过量表达与肿瘤的发生、分化程度和核分级密切相关^[1]。本结果阳性率为 47.5%。C-erbB-2 的表达与病理分级无关, 但表达率随病理分级逐级提高而有明显增高趋势, 提示与肿瘤的恶性度有关。

P16 蛋白由 P16 基因编码的 16KD 蛋白分子, P16 基因是近年发现的一种肿瘤抑制基因, 又称 MTS1, INK4, CDK4, CDK2 基因。P16 蛋白的主要作用是抑制依赖细胞激酶(cyclin-dependent kinase CDK)的活性。细胞进入增生周期, 有赖于 CDK 的活性, 而 CDK 必须与细胞周期蛋白(cyclin)结合形成 cyclin 复合体后才能被活化, 后者使 Rb 蛋白产物 P110Rb 蛋白磷酸化, 从而促进细胞进入增生周期的 G1-S 期。P16 基因对细胞的生长起着十分重要的负调节作用, 防止细胞的生长失控^[2-4]。当 MTS1 基因缺失或突变而不能正常表达时, P16 蛋白就不能竞争结合 CDK4 阻止细胞进入有丝分裂, 会增加周期蛋白 D 与 CDK4 的结合而增加 CDK4

的活性, 促进细胞的有丝分裂, 从而使细胞生长失控, 导致进一步癌变^[5,6]。有报道胰腺癌 P16 蛋白的表达与胰腺癌的组织学分级无显著关系, 但与胰腺癌有无淋巴结转移关系密切 ($P < 0.01$), 提示 P16 蛋白可能是预测胰腺癌患者预后的一个重要指标^[1]。也有报道癌组织中的 P16 基因变异与临床分期密切相关, 提示 P16 基因在原发性胰腺癌的发生、发展过程中发挥着非常重要的作用^[7]。本研究 P16 蛋白的缺失率为 55.0%, 且在不同分化程度的肿瘤中缺失率有明显差异, 肿瘤分化程度越低, 其缺失率越高, P16 蛋白的表达可反映肿瘤的恶性度, 其可以与病理诊断同时进行, 从而提供一种辅助诊断的方法, 并且为估计患者的预后提供帮助。借助于 P16 基因及其产物的检测, 可判断胰腺癌发展及评估其预后。P16 靶基因治疗可能是治疗原发性胰腺癌的一条有效途径^[8,9]。P16 蛋白和 C-erbB-2 蛋白之间表达存在的负相关性, 说明胰腺癌的发生、发展与 P16 和 C-erbB-2 基因均有关系。

4 参考文献

- 1 纪小龙, 施作霖主编. 诊断免疫组织化学. 第 1 版. 军事医学科学出版社, 1997:70
- 2 Norbori T, Miura K, Wu DJ, Lois A, Takabayashi K, Carson DA. Deletions of the cyclin-dependent kinase-4 inhibitor gene in multiple human cancers. *Nature* 1994;368:753-756
- 3 Marx J. A challenge to p16 gene as a major tumor suppressor. *Science* 1994; 24:1846
- 4 Serrano M, Hannon GJ, Beach D. A new regulator motif in cell cycle control causing specific inhibition of cyclin D/CDK4. *Nature* 1993; 366:634
- 5 Dreyling MH, Bohlander SK, Le Beau MM, Olopade OI. Refined mapping of genomic rearrangements involving the short arm of chromosome 9 in acute lymphoblastic leukemias and other hematologic malignancies. *Blood* 1995; 86:1931-1938
- 6 Schulze A, Zeffass K, Spitkovsky D, Henglein B, Jansen-Durr P. Activation of the E2F transcription factor by cyclin D1 is blocked by P16INK4, the product of the putative tumor suppressor gene MTS1. *Oncogene* 1994; 9: 3475-3482
- 7 陈建锋, 俞金龙, 汪爽, 高毅. 胰腺癌组织 P16 蛋白表达的意义. 世界华人消化杂志 2001;9:237
- 8 郑世曦, 李孝圭, 周利军, 朱兴族. P16 真核表达载体的构建及其对肝癌细胞生长的抑制作用. 世界华人消化杂志 2000;8:49-51
- 9 鲁建国, 林晨, 黄志强, 吴金生. 腺病毒介导的 P16 和顺铂的联合应用对胆管癌细胞系 QBC939 的生长抑制作用. 世界华人消化杂志 2000;8:641-645