

子宫内膜癌

p21WAF1/CIP1 蛋白的表达 及其意义

Expression and Significance of p21WAF1/CIP1 in Protein Endometrial Carcinoma

GE Xiu-jun¹, LIU Zhi-hui², GAO Rui-ping¹

(1. Department of Obstetrics and Gynecology, Guangdong College of Pharmacy, Guangzhou 510310; 2. Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of Traditional Medical University of Guangzhou, Guangzhou 510405, China)

葛秀君¹/刘志辉²/高瑞萍¹

(1. 广东药学院妇产科教研室 广州 510310; 2. 广州中医药大学第一附属医院 检验科, 广州 510405)

【摘要】背景与目的: 探讨 p21WAF1/CIP1 蛋白在子宫内膜癌中的表达情况及其意义。材料与方法: 应用免疫组织化学 SP 法检测 30 例正常子宫内膜, 20 例单纯性增生性子宫内膜, 22 例不典型增生性子宫内膜, 57 例子宫内膜癌(高分化 32 例, 中分化 12 例, 低分化 13 例)中 p21WAF1/CIP1 蛋白的表达。结果: p21WAF1/CIP1 蛋白表达于细胞核, 子宫内膜癌中 p21WAF1/CIP1 蛋白的表达明显低于正常子宫内膜和单纯性增生性子宫内膜 ($P < 0.01$), 且 p21WAF1/CIP1 蛋白的表达与子宫内膜癌组织有无肌层浸润及临床分期明显相关 (P 均 < 0.05)。结论: p21WAF1/CIP1 蛋白表达降低可能在子宫内膜癌的发生发展及判断预后方面具有重要作用。

【关键词】免疫组织化学; p21WAF1/CIP1 蛋白; 子宫内膜癌

中图分类号: R737.33

文献标识码: A

文章编号: 1004-616X(2007)04-0338-03

【ABSTRACT】 BACKGROUND & AIM: To investigate the expression of p21WAF1/CIP1 protein in endometrial carcinoma and its clinical significance. MATERIALS AND METHODS: p21WAF1/CIP1 protein was assessed in 30 normal controls, 20 single hyperplasia, 22 atypical hyperplasia, 57 endometrial carcinoma by immunohistochemical SP method. RESULTS: p21WAF1/CIP1 protein was mainly expressed in the nucleolus. Its expression protein was decreased in endometrial carcinoma tissue, compared with normal controls and single hyperplasia ($P < 0.01$). The expression of p21WAF1/CIP1 was correlated with depth of myometrial invasion and clinical stage ($P < 0.05$). CONCLUSION: p21WAF1/CIP1 protein may play an important role in the development and prognosis of endometrial carcinoma.

【KEY WORDS】 immunohistochemistry; p21WAF1/CIP1 protein; endometrial carcinoma

p21WAF1/CIP1 (wild-type p53 activated fragment 1, WAF1 / CDK-interacted protein, CIP1) 是于 1993 年发现并克隆的细胞周期蛋白依赖性激酶抑制蛋白家族成员, 参与细胞的多种功能活动。近来发现其与肿瘤发生发展、预后有关, 在肿瘤研究中日益引起重视。本研究采用免疫组织化学方法对子宫内膜癌组织中 p21WAF1/CIP1 蛋白进行检测, 探讨其在子宫内膜癌发生发展的作用及对预后判断的意义。

1 材料与方法

1.1 材料 收集广州地区 2003~2005 年手术或清宫蜡块标本 129 例, 均用 10% 福尔马林固定。其中正常子宫内膜 30 例 (增生期 15 例, 分泌期 15 例), 增生性子宫内膜 42 例 (单纯性增生 20 例, 不典型性增生 22 例), 子宫内膜癌 57 例。子宫内膜癌标本均为手术标本 (术前均未行化疗及激素治疗), 按 FIGO 进行手术-病理分期: I 期 33 例, II 期 10 例, III - IV 期 14 例, 组织学分级 G1 级 32 例, G2 级 12 例, G3 级 13 例, 无肌层浸润 24 例, 浅肌层

收稿日期: 2006-10-30; 修订日期: 2006-12-13

作者简介: 葛秀君 (1972-), 女, 汉族, 辽宁省鞍山市人, 硕士研究生, 研究方向: 妇科肿瘤。Tel: 020-31724806, 13640666441, E-mail: gexiujun@sina.com

浸润($< 1/2$) 21 例,深肌层浸润($\geq 1/2$) 12 例。每例标本连续切片厚度 $4 \mu\text{m}$, 供 HE 染色及免疫组化使用。

1.2 免疫组织化学染色方法 采用 SP 法。鼠抗人 p21WAF1/ CIP1 单克隆抗体及 SP 试剂盒购自福建迈新公司。切片常规脱蜡水化,高温高压抗原修复,用过氧化酶阻断液阻断内源性过氧化酶活性,非免疫血清封闭,鼠抗人 P21 单克隆抗体 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 过夜,生物素标记的二抗室温下孵育 10 min,链亲和素-过氧化物酶溶液室温孵育 10 min, DAB 显色,苏木素复染,常规脱水透明,封片。

1.3 结果判定 以乳腺癌阳性片为阳性对照,以 PBS 代替一抗作阴性对照。以细胞核出现棕黄色颗粒为阳性细胞,采用双盲法,观察切片至少 5 个具有代表性高倍视野,不少于 1 000 个细胞,按以下标准记分对免疫组化结果进行评估。将染色强度记分(0 分:无着色;1 分:浅褐色;2 分:棕褐色;3 分:深棕褐色)和阳性细胞百分率记分(0 分:无阳性细胞;1 分: $> 0\% \sim 25\%$;2 分: $> 25\% \sim 50\%$;3 分: $> 50\%$)两项相加为免疫组化记分,并以 0 分为(-),1~2 分为(+),3~4 分为(++),5~6 分为(+++)。所有切片均由 2 名病理医生独立阅片后综合评定。

1.4 统计学方法 采用统计软件 SAS8.2 进行 Fisher 确切概率法进行分析。

2 结果

2.1 p21WAF1/CIP1 蛋白在不同子宫内膜组织中的表达

p21WAF1/CIP1 阳性反应物主要定位于细胞核(图 1、2)。p21WAF1/CIP1 在子宫内膜癌中呈低表达,明显低于正常子宫内膜和单纯性增生性子宫内膜,差异均具有统计

学意义($P < 0.01$),而与不典型增生性子宫内膜相比较差异无统计学意义($P > 0.05$) 见表 1。

表 1 p21WAF1/CIP1 蛋白在不同子宫内膜组织中的表达
Table 1 Expression of p21WAF1/ CIP1 protein in different endometriums

| Groups | n | - | + | ++ | +++ | Positive rate (%) |
|------------------------|----|----|----|----|-----|-------------------|
| Normal endometrium | 30 | 0 | 8 | 12 | 10 | 100* |
| Simple hyperplasias | 20 | 0 | 7 | 9 | 4 | 100* |
| Complex hyperplasias | 22 | 2 | 10 | 6 | 4 | 90.90 |
| Endometrial carcinomas | 57 | 20 | 21 | 13 | 3 | 64.91 |

Compared with endometrial carcinomas, * $P < 0.01$.

2.2 p21WAF1/CIP1 蛋白在子宫内膜癌中的表达

p21WAF1/ CIP1 蛋白表达与子宫内膜癌的临床分期、浸润深度密切相关,随临床分期癌组织浸润子宫壁深度的进展,p21WAF1/CIP1 蛋白表达降低,差异有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$);然而随组织学分级的降低,p21WAF1/ CIP1 表达下降,但差异无统计学意义($P > 0.05$) 见表 2。

表 2 p21WAF1/CIP1 蛋白在子宫内膜癌中的表达
Table 2 Expression of p21WAF1/ CIP1 protein in endometrial carcinomas

| Groups | n | - | + | ++ | +++ | Positive rate (%) | |
|------------------------------|----------------|----|----|----|-----|---------------------|--------------------|
| Histological grade | G ₁ | 32 | 9 | 15 | 6 | 2 | 71.87 |
| | G ₂ | 12 | 4 | 2 | 5 | 1 | 66.67 |
| | G ₃ | 13 | 7 | 4 | 2 | 0 | 46.15 |
| Clinical stage | I | 33 | 7 | 11 | 12 | 3 | 75.76 |
| | II | 10 | 4 | 5 | 1 | 0 | 60.00 |
| | III ~ IV | 14 | 9 | 5 | 10 | 0 | 42.85 [△] |
| Depth of myometrial invasion | | | | | | | |
| Without myometrial invasion | 24 | 3 | 6 | 12 | 3 | 87.50 | |
| < 1/2 | 21 | 10 | 11 | 0 | 0 | 52.38 [▲] | |
| $\geq 1/2$ | 12 | 7 | 4 | 1 | 0 | 41.67 ^{**} | |

Compared with clinical stage I, [△] $P < 0.05$; compared with without myometrial invasion, [▲] $P < 0.01$, ^{**} $P < 0.05$.

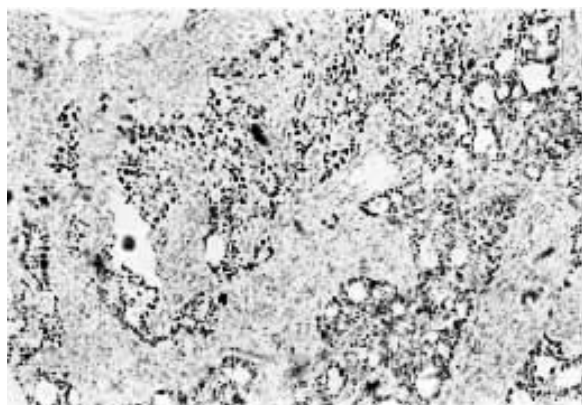
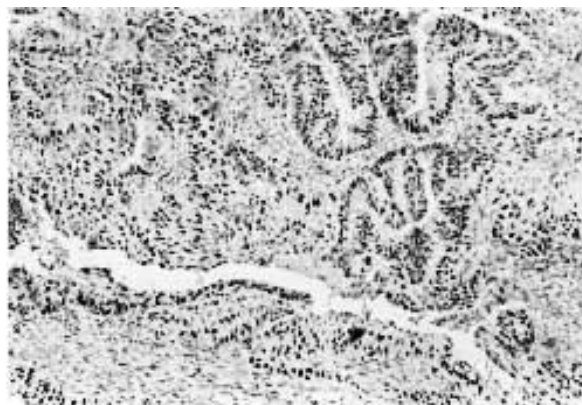


图 1 子宫内膜高分化腺癌 p21WAF1/CIP1 蛋白阳性表达 (SP $\times 100$) 图 2 子宫内膜低分化腺癌 p21WAF1/CIP1 蛋白阳性表达 (SP $\times 100$)

Figure 1 The positive expression of p21WAF1/CIP1 protein in well-differentiated endometrial carcinoma (SP $\times 100$) Figure 2 The positive expression of p21WAF1/CIP1 protein in poorly-differentiated endometrial carcinoma (SP $\times 100$)

3 讨论

子宫内膜癌是女性生殖道最常见的恶性肿瘤之一, 大约 70% 的子宫内膜癌在确诊时为早期病例, 早期预后较好, 但晚期预后较差, IV 期患者 5 年生存率仅 5% ~ 15%, 因此积极探索子宫内膜癌的病理机制及准确判断预后已成为国内外学者广泛关注的问题。

p21WAF1/ CIP1 蛋白是目前已知的具有广泛激酶抑制活性的细胞周期抑制蛋白, 它抑制 cyclinD1-CDK4 和 cyclinB-CDK2 的活性, 使 Rb 蛋白不能发生磷酸化, 从而使细胞周期停滞在 G₁ 期, DNA 复制得以控制, 以便有充分的时间修复 DNA, 从而对肿瘤细胞的生长显示出明显的抑制作用^[1]。p21WAF1/CIP1 与肿瘤细胞的生长、分化及患者预后密切相关。于卉影等^[2]研究表明, 在非小细胞肺癌中 p21WAF1/ CIP1 的表达与患者的生存相关, 阳性表达者的生存率明显高于阴性表达者。张春林等^[3]通过随访 45 例骨肉瘤患者, 发现术后生存时间越长者其 p21WAF1/CIP1 的 mRNA 表达率越高。从而揭示 p21WAF1/CIP1 基因表达与骨肉瘤患者临床预后之间存在密切的相关性。

本研究结果表明: 子宫内膜癌中 p21WAF1/ CIP1 蛋白阳性表达率为 64.91%, 与正常子宫内膜及单纯性增生性子宫内膜相比明显降低 ($P < 0.01$); III - IV 期子宫内膜癌中 p21WAF1/ CIP1 蛋白表达率明显低于 I 期子宫内膜癌 ($P < 0.05$); 随癌组织浸润子宫壁深度的进展,

p21WAF1/ CIP1 蛋白表达降低 ($P < 0.01$)。北美妇科肿瘤学组 (NAGOG) 的分析表明, 影响 I 期、II 期子宫内膜癌患者预后的各项指标中肌层浸润深度是最重要的因素, 而局部复发与淋巴结转移都与肌层浸润深度密切相关, 是肿瘤细胞增殖和临床进展的重要指标^[4]。综上, 本研究结果提示: p21WAF1/ CIP1 蛋白表达在子宫内膜癌的发生发展、判断预后方面起了重要作用, p21WAF1/ CIP1 阳性表达的子宫内膜癌多分化较好, 生长速度较慢, 患者预后较好。说明可通过检测 p21WAF1/ CIP1 的表达来预测患者的预后, 并可指导临床治疗及临床疗效的观察。

参考文献:

- [1] Zhang W, Grasso L, McClain CD, et al. p53-independent induction of WAF1/CIP1 in human leukemia cells is correlated with growth arrest accompanying monocyte/ macrophage differentiation[J]. *Cancer Res*, 1995, 55(3): 668 - 674.
- [2] 于卉影, 朱继江, 李宗铨, 等. p21WAF1 蛋白的表达与非小细胞肺癌增殖和预后的关系 [J]. *肿瘤防治杂志*, 2005, 12(22): 1725 - 1728.
- [3] 张春林, 廖威明, 李佛保, 等. p21WAF1 基因表达对人骨肉瘤预后的价值 [J]. *中华病理学杂志*, 2005, 34(8): 524 - 527.
- [4] 郎景和. 子宫内膜癌诊治的几个问题 [J]. *中华妇产科杂志*, 2000, 35(5): 261 - 263.

第一届全国难治性淋巴瘤学术研讨会暨第二届多发性骨髓瘤学术研讨会征文通知

为进一步探讨淋巴瘤及多发性骨髓瘤的发病机制、诊断标准和治疗方法, 提高临床诊治水平, 由中华医学会白血病·淋巴瘤杂志社主办的“第一届全国难治性淋巴瘤学术研讨会暨第二届多发性骨髓瘤学术研讨会”拟于 2007 年 8 月 17 日 ~ 21 日在青海省西宁市召开。会议将邀请国内知名专家, 就淋巴瘤及多发性骨髓瘤研究中, 目前国际上最为关注的问题作专题报告, 并进行学术交流。本次会议列入国家级继续医学教育项目【2007 - 03 - 04 - 039(国)】, 与会代表将获得国家级 I 类学分 8 分。现会议征集有关淋巴瘤及多发性骨髓瘤的发病机制、分类标准、最新治疗以及护理等方面的论文。

征文要求: 来稿须为未在国内公开发表的论文, 附单位正式介绍信并加盖单位公章。全文限 4000 字左右, 摘要限 500 字以内, 按目的、方法、结果(要有具体数据)、结论 4 部分撰写, 各 1 份。无摘要或无电子版的稿件, 恕不收入论文汇编。来稿请用 4 号字、1 倍行距、A4 纸打印, 同时附软盘或发 Email 至 bxbllbl@163.com 或 bxbllbl@sina.com, 务必注明“会议投稿”。来稿务必写清作者的详细通讯地址、邮编、电话及 Email 地址。

请作者自留底稿, 恕不退稿。凡被会议录用的论文, 将收入会议论文汇编。论文择优在《白血病·淋巴瘤》杂志发表。大会也欢迎无论文者参加会议, 凡参加会议者均可获得国家级 I 类继续教育学分证书。

截稿日期: 2007 年 7 月 15 日, 以邮戳为准。 联系人: 贾力涛

收稿地址: 太原市职工新街 3 号《白血病·淋巴瘤》编辑部

邮政编码: 030013 联系电话: (0351) 4650389、4650386

传真: (0351) 4651415 网址: www.bxbllbl.com.cn E-mail: bxbllbl@163.com bxbllbl@sina.com

中华医学会白血病·淋巴瘤杂志社

2007 年 5 月 15 日