

食管癌及其癌前病变组织 p16 蛋白表达的研究

王立峰,张丽红,刘明,张伟,王吾如,王洪平,刘伯齐,金玉生,靳玉兰,韩志楷,曲平,刘义,丁镇伟,林培中

王立峰,王吾如,哈尔滨医科大学第一临床医学院病理科

黑龙江省哈尔滨市 150001

张丽红,哈尔滨医科大学第一临床医学院放射科

黑龙江省哈尔滨市 150001

刘明,哈尔滨医科大学第三临床医学院腹外科 黑龙江省哈尔滨市 150040

张伟,王洪平,刘伯齐,金玉生,靳玉兰,韩志楷,曲平,刘义,丁镇伟,林培中,中国医学科学院肿瘤医院 北京市 100021

国家九五攻关项目资助课题, No.96-906-01-02

国家自然科学基金资助课题, No.39870838

项目负责人:张伟,100021,北京市朝阳区潘家园 中国医学科学院肿瘤医院. zhangwe@public.bta.net.cn

收稿日期:2002-10-08 接受日期:2002-10-21

摘要

目的:探讨 p16 蛋白表达与食管癌发生发展的关系。

方法:应用免疫组织化学方法检测了79例食管癌(原位癌30例,浸润性鳞状细胞癌19例,腺癌30例)及其116例增生性病变(单纯增生30例,不典型增生轻31例、中31例、重24例)和28例正常食管黏膜上皮组织中p16蛋白表达情况。

结果:p16蛋白表达的阳性率分别为侵袭性鳞状细胞癌21.1%(4/19)、原位癌50%(15/30)、重度不典型增生83.3%(20/24)、中度不典型增生64.5%(20/31)、轻度不典型增生67.7%(20/31)、单纯增生80%(24/30)、正常组织60.7%(17/28)。

结论:p16蛋白表达的缺失可能与食管癌的发生发展有关。

王立峰,张丽红,刘明,张伟,王吾如,王洪平,刘伯齐,金玉生,靳玉兰,韩志楷,曲平,刘义,丁镇伟,林培中. 食管癌及其癌前病变组织p16蛋白表达的研究. 世界华人消化杂志 2003;11(1):90-91

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/90.htm>

0 引言

研究表明,在多种细胞系和实体瘤中存在 p16 蛋白的缺失,提示 p16 可能与多种肿瘤的发生、发展有关^[1]。为探讨 p16 蛋白在食管癌发生、发展中的作用及其表达的改变,我们对 218 例食管内窥镜活检组织和 5 例食管癌手术后切除的标本,包括正常食管黏膜、单纯增生、不典型增生食管上皮、原位癌和侵袭癌组织中 p16 蛋白的表达情况进行了研究。

1 材料和方法

1.1 材料 河北磁县 1997 年食管癌普查中患者的活检组织 203 例。经病理诊断:侵袭性鳞状细胞癌 19 例,腺癌 10 例,原位癌 30 例,重、中、轻度不典型增生分别为 24 例、31 例、31 例,单纯性增生 30 例,正常食管鳞状上皮 28 例;哈医大一院 1997/1998 年食管腺癌 20 例,其中活检组织 15 例,食管癌术后切除标本 5 例。抗 p16

蛋白的单克隆抗体(鼠)sc-1661 为 Santa Cruz Biotechnology, Inc. 产品,工作浓度为 1:50; SP-Streptavidin/Peroxidase kit 由北京中山生物技术有限公司提供。

1.2 方法 辣根过氧化物酶标记的 SP 法。即:石蜡切片常规脱蜡至水,30% ml/L 过氧化氢-甲醇封闭 5 min, PBS (pH7.2)漂洗后置柠檬酸(pH6.0)中,微波炉抗原修复 10 min, PBS 漂洗后依次滴加一抗 4 过夜,二抗 37℃ 15 min, 辣根酶标记的链霉卵白素工作液 15 min 及显色底物,于显微镜监视下显色,自来水充分冲洗终止反应,苏木素复染,脱水,透明,封片。>10% 的病变细胞的细胞核出现棕黄色颗粒定为阳性。设有阳性和阴性对照(以 PBS 代替一抗为阴性对照)

统计学处理 χ^2 检验。

2 结果

各组病变的食管组织 p16 蛋白免疫组化染色结果见表 1。

表 1 各组病变食管组织 p16 蛋白免疫组化染色结果

组织学类型	n	+	-	阳性率(%)
正常组	28	17	11	60.7
单纯增生	30	24	6	80
不典型增生				
轻度	31	21	10	67.7
中度	31	20	11	64.5
重度	24	20	4	83.3
癌				
原位癌	30	15	15	50
侵袭癌	19	4	15	21.1

经 χ^2 检验,正常组与侵袭性鳞状细胞癌组、重度不典型增生与侵袭性鳞状细胞癌组 p16 蛋白的表达有显著性差别($P < 0.01$),其他各二组 p16 蛋白的表达无显著性差别($P > 0.01$)。

对 30 例食管腺癌 p16 蛋白免疫组化染色的结果显示:12 例腺癌细胞胞质呈现棕黄色颗粒。

3 讨论

研究认为,肿瘤发生的根本原因在于基因组的不稳定性,细胞周期 G_1 S 和 G_2 M 期这两个“关卡”的失控,有可能使本来应停止增生或生理性 DNA 受损或 DNA 复制发生错误的细胞不停地进入细胞周期,造成细胞恶性增生,细胞周期调节失控是癌变的重要原因。

p16 蛋白能使细胞阻滞于 G₁ 期, 对细胞周期进行有序调控, 确保基因组 DNA 的稳定性. p16 的缺失或失活都有可能促使细胞癌变, 导致肿瘤的发生发展和恶化^[2-6].

自 Kamb et al^[3]发现 p16 基因位于 9p21 以来, 许多实验和多种人类肿瘤的研究证实存在 p16 基因的异常表达和缺失^[7-10]. 用 p16 转染有 p16 缺失的肿瘤细胞株, 肿瘤细胞的生长受到抑制^[11].

本研究结果发现: p16 蛋白在正常食管黏膜鳞状上皮中表达为散在弱阳性, 在单纯增生和不典型增生中 p16 蛋白表达多为散在阳性和强阳性, 即表达强度逐渐增加; 但在侵袭性鳞癌中表达强度减弱或呈现阴性. 这说明鳞状上皮发生增生性改变时, p16 蛋白的表达也随之发生变化. 由此可见, p16 蛋白对细胞增生起着重要的抑制作用, 而这种抑制作用的减弱, 最终导致细胞发生癌变. p16 蛋白缺失可能是食管不典型增生向食管鳞状细胞癌过渡的重要环节. 在食管腺癌中, p16 的阳性表达出现在细胞质, 且阳性表达的肿瘤细胞多分化不好, 这可能由于 p16 蛋白在细胞质的积聚和肿瘤的分化程度有关, 而与 p16 基因的改变无关. 因此开展对 p16 基因的研究, 对揭示肿瘤的发生发展规律有重要意义.

4 参考文献

- 1 郭山春, 廖松林. 多肿瘤抑制基因与肿瘤. 国外医学生理病理与临床分册 1997;17:160-162
- 2 Sherr CJ. Mammalian G₁ cyclins. *Cell* 1993;73:1059-1065
- 3 Kamb A, Gruis NA, Weaver-Feldhaus J, Liu Q, Harshan K, Tavitgian SV, Stockert E, Day RS 3rd, Johnson BE, Skolnick MH. A cell cycle regulator potentially involved in genes of many tumor types. *Science* 1994;264:436-440
- 4 Serrano M, Hanno GJ, Beach D. A new regulatory motif in cell cycle control causing specific inhibition of cyclin-CDK₄. *Nature* 1993;366:704-707
- 5 Hunter T, Pines J. Cyclins and cancer II: cyclin D and CDK inhibitor come of age. *Cell* 1994;79:573-582
- 6 Marx J. New tumor suppressor may rival p53. *Science* 1994;264:344-345
- 7 Pande P, Mathur M, Shukla NK, Ralhan R. pRb and p16 protein alterations in human oral tumorigenesis. *Oral Oncol* 1998;34:396-403
- 8 Kratzke RA, Otterson GA, Lincoln CE, Ewing S, Oie H, Geradts J, Kaye FJ. Immunohistochemical analysis of the p16INK4 cyclin-dependent kinase inhibitor in malignant mesothelioma. *J Natl Cancer Inst* 1995;87:1870-1875
- 9 Reed JA, Loganzo F Jr, Shea CR, Walker GJ, Flores JF, Glendening JW, Bogdany JK, Shiel MJ, Haluska FG, Fountain JW. Loss of expression of the p16/cyclin-dependent kinase inhibitor 2 tumor suppressor gene in melanocytic lesions correlates with invasive stage of tumor progression. *Cancer Res* 1995;55:2713-2718
- 10 Kinoshita I, Dosaka-Akita H, Mishina T, Akie K, Nishi M, Hiroumi H, Hommura F, Kawakami Y. Altered p16INK4 and retinoblastoma protein status in non-small cell lung cancer: potential synergistic effect with p16/CDKN2 tumor suppressor gene in normal and transformed human tissues correlates with gene silencing. *Cancer Res* 1996;56:5557-5562
- 11 Arap W, Nishikawa R, Furnari FB, Cavenee WK, Huang HJ. Replacement of the p16/CDKN2 gene suppresses human glioma cell growth. *Cancer Res* 1995;55:1351-1354

世界华人消化杂志获得 2001 年度百种中国杰出学术期刊

本刊讯 期刊的学术质量是一个综合指标, 1999 年中国科技信息所研制了中国科技期刊综合指标评价体系, 该指标体系已应用于中国科协一年一度的期刊择优资助工作中. 综合指标评价体系是根据期刊的多项重要指标, 如被引总频次、影响因子、即年指标、基金论文比、他引总引比、扩散因子等对期刊分学科进行综合打分. 通过对中国科技论文与引文数据库收录的科技期刊进行综合评定, 今年中国科学技术信息研究所首次评出了中国百种杰出学术期刊. 世界华人消化杂志荣获 2001 年度“百种中国杰出学术期刊”称号.