

DOI:10.3971/j.issn.1000-8578.2010.05.014

ERCC1、P27^{kip1}、CyclinE 在胃癌组织中的表达及其临床意义

刘娟妮¹,张中冕¹,陈琛²,王宪远²

Expression of ERCC1, P27^{kip1}, CyclinE in Gastric Cancer and Its Clinical Significance

LIU Juan-ni¹, ZHANG Zhong-mian¹, CHEN Chen², WANG Xian-yuan²

Department of Oncology, The Second Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, 450014, China, 2. Department of Pathology

Corresponding Author: ZHANG Zhong-mian, E-mail: zhangzhongmian@sina.com

Abstract: Objective To investigate the expression of excision repair cross complementing-1 (ERCC1), P27^{kip1} and CyclinE in gastric cancer and explore its role in development of gastric carcinoma and its clinical significance. **Methods** Expression levels of ERCC1, P27^{kip1} and CyclinE in 45 resected patients with gastric cancer and 10 normal tissues were detected by the method of immunohistochemistry (EliVision™). We analyzed its correlation with gastric cancer in χ^2 test and pearson analyze. **Results** The positive rates of ERCC1, P27^{kip1} and CyclinE protein expression was 31.1%, 35.6% and 55.6% in gastric cancer, respectively. The positive rate of ERCC1 and P27^{kip1} in gastric cancer was lower than that in comparison group ($P < 0.05$); The expression of CyclinE showed a significant difference from those of normal gastric mucosa ($P < 0.05$). The expression level of ERCC1, P27^{kip1} and CyclinE was related to serosa invasion, lymphnode metastasis, distant metastasis and clinical histological grade ($P < 0.05$). However, the expression of ERCC1, P27^{kip1} and CyclinE was not associated with gender, age, tumor size, position and differentiation. There was a highly negative correlation between P27^{kip1} and CyclinE expression ($P < 0.05$). **Conclusion** The high expression of ERCC1, P27^{kip1} and the low expression of CyclinE were related to occurrence and development of gastric cancer. The detection of ERCC1, P27^{kip1} and CyclinE may be used for the diagnosis, identification and prognosis in patients with gastric cancer. There was a negative correlation between P27^{kip1} and CyclinE protein expression, but there was not correlation between expression level of ERCC1, P27^{kip1} and CyclinE in gastric cancer.

Key words: Gastric cancer; ERCC1; P27^{kip1}; CyclinE; Immunohistochemistry

摘要:目的 观察 ERCC1、P27^{kip1}、CyclinE 在胃癌组织中的表达,探讨其在胃癌发生、发展中可能的作用及临床意义。**方法** 采用免疫组织化学方法(EliVision™ 二步法)检测手术切除的 45 例胃癌组织和 10 例正常胃组织中 ERCC1、P27^{kip1}、CyclinE 的表达情况,并采用 χ^2 检验和 Pearson 列联相关方法,分析 ERCC1、P27^{kip1}、CyclinE 这三个指标与胃癌临床病理参数的关系及其三个指标的相关性。**结果** 胃癌组织中 ERCC1、P27^{kip1}、CyclinE 阳性率分别为 31.1%、35.6%、55.6%,ERCC1 在胃癌组织中阳性率显著低于对照组 ($P < 0.05$); P27^{kip1} 在正常胃组织表达高于胃癌组、CyclinE 在胃癌组表达高于正常对照组,两者差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。胃癌中 ERCC1、P27^{kip1}、CyclinE 表达与肿瘤浸润深度、有无淋巴结转移、有无远处转移、临床病理分期有关 ($P < 0.05$),但与患者的性别、年龄、肿瘤大小、部位、分化程度无关 ($P > 0.05$); P27^{kip1}、CyclinE 之间存在负相关。**结论** ERCC1、P27^{kip1} 的低表达、CyclinE 的高表达与胃癌的发生、发展密切相关; ERCC1、P27^{kip1}、CyclinE 的表达水平可用于胃癌的诊断、鉴别及预后的判断; P27^{kip1} 与 CyclinE 蛋白在胃癌组织中表达成负相关,ERCC1 与 P27^{kip1}、CyclinE 蛋白的表达无相关性。

关键词: 胃癌; ERCC1; P27^{kip1}; CyclinE; 免疫组织化学

中图分类号: R735.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-8578(2010)05-0540-04

收稿日期:2010-01-18;修回日期:2010-03-03

作者单位:1. 450014 郑州大学第二附属医院肿瘤科,2. 病理科

通信作者:张中冕, E-mail: zhangzhongmian@sina.com

作者简介:刘娟妮(1981-),女,硕士,住院医师,主要从事消化道肿瘤的研究

0 引言

胃癌的发生发展是由多因素引起,多基因参与并经历了多阶段的演变过程。近年来,切除修复交叉互补基因和细胞周期调控失调与肿瘤的发生、发

展关系的研究正成为肿瘤学、分子生物学等学科研究的热点^[1-2]。本文应用免疫组织化学方法回顾性研究核苷酸切除修复基因-1(ERCC-1)、细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂 P27^{kip1} 和细胞周期蛋白 E(CyclinE)在胃癌组织和胃部正常组织中表达情况,探讨它们与胃癌的发生、发展及预后的关系。

1 资料与方法

1.1 资料

所有的标本来自郑州大学第二附属医院病理科 2003 年 10 月~2005 年 10 月存档石蜡包埋组织块,均经病理确诊为胃癌,共 45 例,作为实验组,其中包括胃高中分化腺癌 16 例,低分化腺癌 25 例,胃黏液癌 4 例;男 33 例,女 12 例,平均年龄为 56.4 岁;I+II 期 30 例,III+IV 期 15 例。10 例正常胃黏膜组织作为对照组。术前均未接受放疗和化疗,所有标本经常规 10%中性甲醛液固定,石蜡包埋,切片,HE 染色,单盲法确定肿瘤组织分化类型及阳性结果判定。

1.2 免疫组织化学方法

采用免疫组织化学(EliVision™ 二步法)检测 ERCC1、P27^{kip1}、CyclinE 蛋白在石蜡包埋病理标本的表达情况。试剂购于北京中杉生物技术有限公司,实验操作步骤按试剂盒说明。取公司提供的已知阳性组织为阳性对照,以 PBS 代替一抗为阴性对照。

1.3 结果判定

根据参考文献^[3-4]ERCC1、P27^{kip1}、CyclinE 阳性均位于细胞核,为棕黄色颗粒,计数 5 个高倍视野。ERCC1(-):阳性细胞数≤10%,(+):阳性细胞数>10%; P27^{kip1}(-):阳性细胞数≤10%,(+):阳

性细胞数>10%;CyclinE(-):阳性细胞数≤5%,(+):阳性细胞数>5%。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 13.0 统计学软件包进行分析,用 χ^2 检验进行数据处理, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。三个指标的相关性用 Pearson 列联相关方法分析。

2 结果

2.1 ERCC1、P27^{kip1}、CyclinE 在正常胃组织和胃癌组织中阳性表达

ERCC1、P27^{kip1}、CyclinE 在正常胃组织的阳性率分别为 70%、80%、20%;三者胃癌组织中阳性率分别为 31.1%、35.6%、55.6%,见图 1~4。ERCC1、P27^{kip1}、CyclinE 蛋白阳性表达率在正常胃组织和胃癌组织间差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

2.2 ERCC1、P27^{kip1}、CyclinE 表达与胃癌临床病理参数的关系

ERCC1、P27^{kip1}、CyclinE 蛋白表达均与患者的性别、年龄、肿瘤大小、肿瘤部位无明显相关性($P>0.05$)。而 ERCC1 蛋白的表达与肿瘤浸及深度、淋巴结转移、远处转移均相关($P<0.05$);P27^{kip1} 蛋白表达多见于浸润浅、分化好、淋巴结转移少、病理分期早的胃癌组织,P27^{kip1} 蛋白表达水平与肿瘤浸及深度、淋巴结转移、远处转移均相关($P<0.05$)。CyclinE 蛋白表达多见于浸润深、分化差、临床分期晚的胃癌组织,CyclinE 蛋白表达水平与肿瘤浸及深度、淋巴结转移、远处转移均相关($P<0.05$),见表 2。

表 1 ERCC1、P27^{kip1}、CyclinE 在正常胃组织与胃癌组织中表达

Table 1 The expression of ERCC1, P27^{kip1} and CyclinE in the normal gastric tissues and gastric cancer

Group	Cases	ERCC1			P27 ^{kip1}			CyclinE		
		Positive cases	χ^2	P	Positive cases	χ^2	P	Positive cases	χ^2	P
Normal group	10	7	5.242	0.022	8	6.571	0.01	2	4.139	0.042
Gastric cancer group	45	14			16			25		

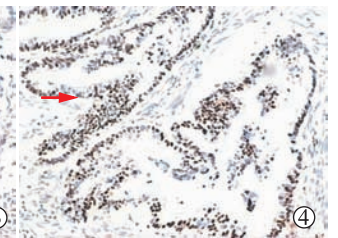
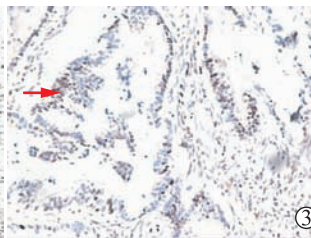
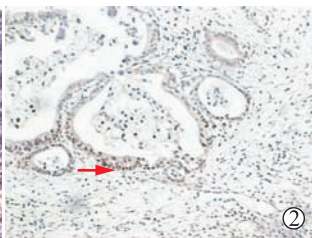
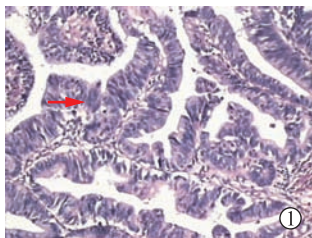


图 1 胃癌 HE 染色 (10×10)

Figure 1 HE staining of gastric cancer(10×10)

图 2 ERCC1 在胃癌组织中的阳性表达(10×10)

Figure 2 The positive expression of ERCC1 in gastric cancer(10×10)

图 3 P27^{kip1} 在胃癌组织中的阳性表达(10×10)

Figure 3 The positive expression of P27^{kip1} in gastric cancer(10×10)

图 4 CyclinE 在胃癌组织中的阳性表达(10×10)

Figure 4 The positive expression of CyclinE in gastric cancer(10×10)

表 2 ERCC1、P27^{kip1}、CyclinE 表达与胃癌临床病理特征的关系

Table 2 The relationship of expression of ERCC1, P27^{kip1} and CyclinE in gastric cancer and clinical histological feature

Items	n	ERCC1			P27 ^{kip1}			CyclinE		
		+	χ^2	P	+	χ^2	P	+	χ^2	P
Gender										
Male	33	10			11			18		
Female	12	4	0.038	0.846	5	0.267	0.606	7	0.051	0.821
Age										
>60 years	27	8			9			16		
≤60 years	18	6	2.566	0.109	7	1.885	0.170	9	3.433	0.65
Tumor size										
>5 cm	16	7			8			11		
≤5 cm	29	7	1.850	0.174	8	2.261	0.133	14	1.751	0.186
Position										
Gastric antrum	7	2			3			5		
Gastric corpus	11	2	1.321	0.516	5	1.047	0.592	5	1.169	0.557
Cardia	27	10			8			15		
Differentiated degree										
High and middle differentiation	16	6			5			6		
Undifferentiation	29	8	0.473	0.492	11	0.201	0.654	19	3.278	0.07
Infiltrative depth										
Un-infiltrate serosa	10	0			8			9		
Infiltrate serosa	35	14	5.806	0.016*	8	11.083	0.01*	16	6.178	0.013*
Metastasis of lymph node										
Yes	36	7			10			23		
No	9	7	11.431	0.001*	6	4.752	0.029*	2	5.063	0.024*
Distant metastasis										
Yes	6	4			5			1		
No	39	10	4.084	0.043*	11	6.897	0.009*	24	4.240	0.039*
TNM stage										
I + II	30	5			6			12		
III + IV	15	9	8.762	0.003*	10	9.504	0.002*	13	8.820	0.003*

Note: * $P < 0.05$

2.3 胃癌组织中 ERCC1、P27^{kip1}、CyclinE 三者表达的关系

本研究的 45 例胃癌组织中 P27^{kip1} 与 CyclinE 蛋白的表达呈负相关 ($P = 0.001$), 相关系数为 -0.47 ; ERCC1 与 P27^{kip1}、CyclinE 蛋白的表达无相关性 ($P > 0.05$), 见表 3。

表 3 胃癌组织中 ERCC1、P27^{kip1}、CyclinE 表达的关系

Table 3 The relationship of expression of ERCC1, P27^{kip1} and CyclinE in gastric cancer

	ERCC1		P27 ^{kip1}		
	-	+	-	+	
CyclinE	-	15	4	16	4
	+	15	11	8	17
ERCC1	-	-	-	22	9
	+	-	-	7	7

Note: * ERCC1 and P27^{kip1}: $\chi^2 = 1.850, P = 0.174$; ERCC1 and CyclinE: $\chi^2 = 2.232, P = 0.135$; P27^{kip1} and CyclinE: $\chi^2 = 10.286, P = 0.001$

3 讨论

目前切除修复交叉互补基因 1(ERCC1)在鼻咽癌^[5]、肺癌^[6]等肿瘤中已有广泛研究,但在胃癌中 ERCC1 联合 P27^{kip1}、CyclinE 研究尚没有切除修复交叉互补基因 1(ERCC1)是 DNA 修复系统中的一个关键基因,在多种 DNA 损伤中发挥修复作用,其对细胞自身的 DNA 损伤修复能力具有一定的代表性,已成为肿瘤内累积的 DNA 损伤程度的间接性生物标志物,其转录的蛋白质可有效修复 DNA 的损伤,使突变的基因得到修复,恢复其正常功能,从而可以预防细胞癌变,减少肿瘤发病率,所以 ERCC1 的低表达常伴随着肿瘤发病率的增加^[7]。铂类药物是胃癌化疗的主要药物之一,但不同个体对于铂类药物的敏感性差异很大,其直接作用于机体细胞的 DNA 引起的 DNA 损伤,主要由核苷酸切除修复系统(nucleotide excision repair, NER)进行修复。NER 由多种 DNA 修复酶组成,ERCC1 是在识

别和切除铂类诱导产生 DNA 加合物的限速酶,同时在 DNA 交联修复和重组过程中发挥重要的作用^[8]。以往 Olausen 等^[6]利用免疫组织化学技术检测 1 867 例行根治术的非小细胞肺癌的 ERCC1 蛋白表达情况,发现以顺铂为基础的辅助化疗可以显著延长 ERCC1 表达阴性患者的生存期,而不能改善 ERCC1 表达阳性的预后。本研究显示:ERCC1 在胃癌与正常胃组织中阳性表达率不同,差异有统计学意义($P < 0.05$)。ERCC1 表达与肿瘤浸润深度、淋巴结转移、远处转移、临床病理分期相关($P < 0.05$)。DNA 损伤后,切除修复基因不能及时进行修复,可能导致生长失控和肿瘤的发生。

细胞周期的调控与细胞增殖、分化及恶性肿瘤的发生、发展有密切关系。P27^{kip1} 基因对细胞周期具有负调控作用,主要通过 CDK 或 CDK-cyclinE 复合物结合,尤其抑制 CyclinE-CDK2 复合物的活性,抑制细胞周期 G₁/S 期的转变,实现对 CDK 活性的抑制,P27^{kip1} 水平低下或缺失,可导致细胞过度增殖,引起肿瘤的发生^[9]。已有研究表明^[10],CyclinE 和 P27^{kip1} 表达异常在乳腺癌的发生、发展中有重要的作用,联合检测 CyclinE 和 P27^{kip1} 蛋白对预测乳腺癌淋巴结转移有重要意义。本研究表明,胃癌组织中 P27^{kip1} 阳性表达明显下降,与正常胃组织之间差异有统计学意义($P < 0.05$)。P27^{kip1} 蛋白表达水平与肿瘤浸润深度、淋巴结转移、远处转移均相关($P < 0.05$);P27^{kip1} 的表达随着分化程度的降低而减少,其可以作为胃恶性程度及预后的指标。

CyclinE 是一类核蛋白,其基因定位于 19q12-13,编码 395 个氨基酸,其主要作用机制为 CyclinE 与 CDK2 形成一活性复合物:CyclinE/DKS,并参与 G₁ 期和 S 期的 pRB 的磷酸化作用,能加速 S 期,对 DNA 复制的启动尤为重要^[11]。已有研究提示^[12-13],CyclinE 蛋白的表达与胃癌临床严重程度、组织学恶性程度及预后有关。CyclinE 的表达与肿瘤分化程度、浸润程度及肿瘤分期相关,差异有统计学意义($P < 0.05$),在分化差、浸润深、分期高的肿瘤中 CyclinE 蛋白阳性表达率更高,提示 CyclinE 蛋白表达与胃癌的进展及预后有关。本研究表明在胃癌组织中 CyclinE 蛋白表达越强,P27^{kip1} 蛋白表达越弱,提示两者表达的改变在胃癌的发生、发展中起拮抗作用,两者之间呈负相关。

细胞基因组的完整性对于细胞的增殖、分化具有至关重要的意义。如果基因的伤害不能及时得到修复,损伤的基因进入细胞周期后,分裂、增殖的细胞成为异型细胞,导致细胞周期失控形成恶性肿瘤。

ERCC1 可使停滞在 G₂/M 期的损伤 DNA 迅速修复,其低表达可与低表达的 P27^{kip1} 以及高表达 CyclinE 蛋白共同导致细胞异型分化、细胞周期紊乱,使正常胃组织细胞分裂、增殖为胃癌细胞。胃癌的早期诊断及疗效至今仍不能令人满意,术后局部复发和远处转移是治疗失败的主要原因。胃癌的病理类型及临床分期对预测患者的疗效及生存期并不理想。研究者希望能找到一些相关的胃癌分子标志物,可对患者的早期诊断、鉴别、判断预后提供有益的帮助。本研究表明 ERCC1、P27^{kip1}、CyclinE 蛋白的异常表达与胃癌的发生、发展密切相关,可疑患者取胃黏膜组织检测 ERCC1、P27^{kip1}、CyclinE 的表达可用于胃癌的诊断、鉴别及预后的判断。

参考文献:

- [1] Kiyohara C, Yoshimasu K. Genetic polymorphisms in the nucleotide excision repair pathway and lung cancer risk, a meta-analysis[J]. Int J Med Sci, 2007, 4(2): 59-71.
- [2] 张霞. Skp2 和 p27kip1 在胃癌组织中的表达与临床病理特征的相关性研究[J]. 医药论坛杂志, 2009, 30(20): 39-41.
- [3] Wachtors FM, Wong LS, Timens W, et al. ERCC1, hRad51, and BRCA1 protein expression in relation to tumor response and survival of stage III/IV NSCLC patients treated with chemotherapy[J]. Lung Cancer, 2005, 50(2): 211-219.
- [4] 石玉宝, 李勇, 范立侨, 等. Cyclin E 和 P27kip1 蛋白表达与胃癌临床生物学行为关系的研究[J]. 中国现代医学杂志, 2009, 19(20): 3087-3090.
- [5] 曹铁林, 邱小芬, 刘陶文, 等. ERCC1 在鼻咽癌组织中的表达及其与顺铂化疗敏感性的关系[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2009, 16(03): 292-304.
- [6] Olausen KA, Dunant A, Fouret P, et al. DNA repair by ERCC1 in non-small-cell lung cancer and cisplatin-based adjuvant chemotherapy[J]. N Engl J Med, 2006, 355(10): 983-991.
- [7] 龚玮华, 丁红华, 王理伟, 等. 切除修复交叉互补基因 1 的研究进展[J]. 中外健康文摘·医药月刊, 2008, 5(5): 305-308.
- [8] Niedernhofer LJ, Odijk H, Budzowska M, et al. The structure-specific endonuclease Ercc1-Xpf is required to resolve DNA interstrand cross-link-induced double-strand breaks[J]. Mol Cell Biol, 2004, 24(13): 5776-5787.
- [9] 姚坦, 孟翔凌. P27 和 CyclinE 在胆囊癌组织中的表达及意义[J]. 肝胆外科杂志, 2008, 16(1): 41-44.
- [10] 郭静, 唐仁泉, 张宇, 等. CyclinE 和 p27 在乳腺癌中的表达及临床意义[J]. 当代医学, 2009, 15(7): 130-131.
- [11] 姜宏华. 细胞周期调节因子与肿瘤[J]. 国外医学(外科学分册), 2003, 30(4): 195-196.
- [12] Liang WJ, Zhang WD, Zhang YL, et al. Association of TGF α and cyclin E expression in gastric carcinoma and precancerous lesions[J]. Ai Zheng, 2004, 23(3): 259-263.
- [13] Tenderenda M. A study on the prognostic value of cyclins D1 and E expression levels in resectable gastric cancer and on some correlations between cyclins expression, histoclinical parameters and selected protein products of cell-cycle regulatory genes[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2005, 24(3): 405-414.

[编辑: 黄国玲; 校对: 周永红]