

胰腺癌 p27^{kip1}、cyclinE 和增殖细胞核抗原的表达及与临床病理关系研究

岳辉¹, 于皆平², 李建英², 田耕², 梅俏²

Expression of p27^{kip1}, cyclinE protein and PCNA and relationship with clinicopathology in human pancreatic cancer

YUE Hui, YU Jie -ping, LI Jian -ying, et al

General Hospital of Shen yan g Military Region, Shen yan g 110016, China

Abstract: Objective To investigate the role of p27^{kip1}, cyclinE protein and PCNA on the occurrence and progress of pancreatic cancer. **Methods** Expression of p27^{kip1}, cyclinE and PCNA in tumor tissues and adjacent tissues of 32 patients with pancreatic cancer was studied by SP immunohistochemical technique. **Results** p27^{kip1} protein positive expression rate in tumor tissues of pancreatic cancer was 56.3%, which was lower than that in adjacent tissues ($P < 0.05$), p27^{kip1} protein positive expression correlated remarkably with tumor cell differentiation and lymph node metastasis ($P < 0.05$); cyclinE and PCNA protein positive expression rate in tumor tissues were 68.8% and 71.9%, which were all higher than that in adjacent tissues ($P < 0.05$), cyclinE and PCNA positive expression correlated remarkably with tumor cell differentiation and lymph node metastasis ($P < 0.05$). **Conclusion** p27^{kip1}, cyclinE and PCNA may play an important role in the genesis and progression of pancreatic cancer.

Keywords: p27^{kip1}; cyclinE; PCNA; Pancreatic cancer; Immunohistochemistry

摘要:目的 探讨 p27^{kip1}、cyclinE 蛋白和 PCNA 在胰腺癌发生发展中的作用。方法 应用免疫组化 SP 法,对 32 例胰腺癌及癌旁组织中 p27^{kip1}、cyclinE 蛋白和 PCNA 表达进行检测。结果 p27^{kip1} 蛋白阳性表达率在胰腺癌组织中为 56.3%, 显著低于癌旁组织 ($P < 0.05$), 并与癌组织分化程度及淋巴结转移相关 ($P < 0.05$); cyclinE 和 PCNA 阳性表达率在胰腺癌组织中分别为 68.8% 和 71.9%, 均显著高于癌旁组织 ($P < 0.05$), 并与癌组织分化程度和淋巴结转移均相关 ($P < 0.05$)。结论 p27^{kip1}、cyclinE 和 PCNA 可能在胰腺癌发生发展中发挥重要作用。

关键词: 胰腺癌; p27^{kip1}; 周期蛋白 E; 增殖细胞核抗原; 免疫组织化学

中图分类号: R735.9 文献标识码: A 文章编号: 1000-8578(2003)04-0265-03

0 引言

真核细胞周期失控是细胞过度增殖和癌变的重要原因^[1]。p27^{kip1} 蛋白是近来发现的细胞周期抑制蛋白, 它通过影响细胞周期 G₁ 期调控机制, 从而抑制细胞增殖。但细胞周期 G₁/S 期负性调控因子 p27^{kip1} 与胰腺癌关系的研究很少, 本研究采用免疫组化 SP 法检测 p27^{kip1}、cyclinE 和 PCNA 在胰腺癌组织和癌旁组织中的表达, 旨在探讨三者胰腺癌的发生发展中的作用及与临床病理的关系。

1 材料和方法

1.1 材料 收集沈阳军区总医院和中国医科大学

第一临床学院手术切除标本胰腺癌 32 例, 男 20 例, 女 12 例; 平均年龄 59.9 岁 (26 ~ 72 岁)。所有病人术前均未接受放疗、化疗。其中高分化胰腺癌 19 例, 中低度分化胰腺癌 13 例, 12 例有淋巴结转移, 以上均经病理学诊断证实。

1.2 方法 所有标本分别在癌灶中央、癌旁组织常规取材, 福尔马林固定, 石蜡包埋, 制备成 4μm 厚连续切片。抗 p27^{kip1} 鼠抗人单克隆抗体 (DCS-72.F6)、抗 cyclinE 鼠抗人单克隆抗体 (13A3)、抗 PCNA 鼠抗人单克隆抗体 (PC10) 和 SP 试剂盒 (UltraSensitiveTM) 均由福州迈新生物技术公司提供。采用链霉亲和素-生物素过氧化物酶复合物 (S-P) 法, 以高温高压法行抗原修复, 以 PBS 代替一抗作为空白对照, 以已知 p27^{kip1}、cyclinE、PCNA 阳性切片作为阳性对照。p27^{kip1} 和 cyclinE 蛋白胞核或胞浆染色为棕黄色颗粒者为阳性反应细胞, 400 倍显微镜下每张载玻片计数 5 个视野, 每个视野 100 个

收稿日期: 2002-07-05; 修回日期: 2002-11-13

作者单位: 1. 110016 沈阳军区总医院; 2. 武汉大学人民医院消化内科

细胞,依据染色阳性细胞所占细胞的百分比,将结果分为阴性(-):阳性细胞<10%;阳性(+):阳性细胞所占细胞的百分比:+10%~25%,++25%~50%,+++>50%。PCNA 仅胞核染色为棕黄色颗粒者为阳性反应细胞。标本中阳性细胞数<50%为阴性;阳性细胞数≥50%为阳性。

1.3 统计学处理 SASS system (Release 6.12) 统计软件,²检验和 Fisher 确切概率法。

2 结果

2.1 p27^{kip1} 蛋白的表达 p27^{kip1} 蛋白定位于正常胰腺细胞和阳性病例的胰腺癌细胞核或胞浆中,呈较细的棕黄色颗粒,但以细胞核染色为主。p27^{kip1} 蛋白在胰腺癌组织中的表达,见表 1。

表 1 p27^{kip1} 蛋白在胰腺癌组织中的表达

项目	p27 ^{kip1} 蛋白表达				阳性率 (%)	P 值
	-	+	++	+++		
胰腺癌组织	14	8	8	2	56.3	
癌旁组织	5	6	16	5	84.4	<0.05
高分化	5	4	7	3	73.7	
中低分化	9	2	2	0	30.8	<0.05
有淋巴结转移	8	4	0	0	33.3	
无淋巴结转移	6	4	8	2	70.0	<0.05

2.2 cyclinE 蛋白的表达 cyclinE 蛋白定位于正常胰腺细胞和阳性病例的胰腺癌细胞核或胞浆中,呈粗大的棕黄色颗粒,以胞核为主。胰腺癌组织中 cyclinE 阳性表达率,见表 2。

表 2 cyclinE 蛋白在胰腺癌组织中的表达

项目	cyclinE 蛋白表达				阳性率 (%)	P 值
	-	+	++	+++		
胰腺癌组织	10	7	9	6	68.8	
癌旁组织	18	6	8	0	43.8	<0.05
高分化	9	5	4	1	52.6	
中低分化	1	1	6	5	84.6	<0.05
有淋巴结转移	1	1	5	5	91.7	
无淋巴结转移	9	6	4	1	55.0	<0.05

2.3 PCNA 蛋白的表达 PCNA 定位于正常胰腺细胞和阳性病例的胰腺癌细胞核中,呈粗大的棕黄色颗粒。胰腺癌组织中 PCNA 阳性表达率,见表 3。

2.4 p27^{kip1} 和 cyclinE 蛋白表达的关系 p27^{kip1} 表达阳性组 cyclinE 蛋白表达率高于 p27^{kip1} 阴性组,但两组无相关性($r = -0.15804$, $P > 0.05$),见表 4。

表 3 PCNA 在胰腺癌组织中的表达

项目	PCNA 蛋白表达			P 值
	-	+	阳性率 (%)	
胰腺癌组织	9	23	71.9	
癌旁组织	18	14	43.8	<0.05
高分化	8	11	57.9	
中低分化	1	12	92.3	<0.05
有淋巴结转移	0	12	100.0	
无淋巴结转移	9	11	55.0	<0.05

表 4 胰腺癌组织 p27^{kip1} 和 cyclinE 蛋白表达的关系

p27 ^{kip1}	cyclinE				阳性表达率 (%)
	-	+	++	+++	
-	5	1	4	4	64.3
+	1	3	3	1	
++	3	3	2	0	72.2
+++	1	0	0	1	

3 讨论

细胞周期 G₁ 期调控异常与肿瘤的发生发展密切相关。p27^{kip1} 蛋白是 Polyak 等于 1994 年在用转化生长因子-1 处理的生长抑制细胞及接触生长抑制的细胞株中发现的一种相对分子量为 27kd 的耐热细胞周期抑制蛋白,是 p27^{kip1} 基因的表达产物,属 CIP/KIP 家族,与 p21、p57 功能相似。国外学者认为 p27^{kip1} 基因在肿瘤的发生发展中起着重要作用,但很少发现有 p27^{kip1} 基因的缺失和突变,认为其抑癌作用可能是其产物 p27^{kip1} 蛋白在转录后水平以化学剂量方式与 cyclin-CDK 复合物,尤其是 cyclin-CDK₂ 复合物结合阻止细胞增殖通过细胞周期“稽查点”的最关键因素,从而使细胞周期俘获在 G₁ 期^[2]。p27^{kip1} 蛋白水平低下或缺失,可导致细胞过度增殖,引起肿瘤发生^[3,4]。本研究结果显示胰腺癌组织中 p27^{kip1} 蛋白表达阳性率显著低于癌旁胰腺组织,胰腺癌组织中 p27^{kip1} 蛋白表达强度随着恶性程度的增高而降低,p27^{kip1} 蛋白的低表达或缺失与淋巴结转移有关,提示 p27^{kip1} 蛋白表达降低与胰腺癌的发生、恶性程度的判定及淋巴结转移有密切的关系。这与 ThomasGV 研究 p27^{kip1} 蛋白的表达与大肠癌转移的关系所得到的结论一致^[5]。cyclinE 是参与细胞周期 G₁ 期的正性调控因子,作为癌基因可以促进肿瘤的发生发展。本研究结果显示胰腺癌组织中 cyclinE 表达阳性率显著高于癌旁胰腺组织,胰腺癌组织中 cyclinE 表达强度随着恶性程度的增高而增高,cyclinE 的高表达与淋巴结转移有关,提示 cyclinE 过度表达与胰腺癌的发生、恶性程度的判定及淋巴结转移有密切的关系。PCNA 是 DNA 聚合酶的辅助因子,不仅参与 DNA 的生物合成,

而且与 cyclin、CDK 及 p21 形成四聚体调控细胞周期及细胞增殖。本研究结果显示胰腺癌组织中 PCNA 表达显著高于癌旁胰腺组织,胰腺癌组织中 PCNA 表达强度与胰腺癌组织的分化程度及淋巴结转移呈显著相关,提示 PCNA 过度表达不但与胰腺癌的发生、发展有关,而且其表达强度随着恶性程度的增高或有淋巴结转移而增高,说明用 PCNA 评价胰腺癌恶性增殖状态有重要的实用价值。刘勇等认为在肺癌中 p27^{kip1} 与 cyclinE 呈负相关,两者间存在负反馈调控机制^[6]。本研究结果显示在胰腺癌中 p27^{kip1} 与 cyclinE 蛋白表达无相关性,提示与肺癌比较在胰腺癌中存在着不同的调控机制。总之,p27^{kip1} 蛋白低表达、cyclinE 和 PCNA 过度表达有助于胰腺癌的发生和发展。

参考文献:

[1] KambA,GruisNA,Weaver -FeldhausJ,etal.Accler yclere gulator potentiall yinvolvedin genesisofman ytumort ypes[J].Science, 1994,264 (5157) :436-444.
 [2]Pol yakK,LeeMH,Erd jument-BromageH,etal.Clonin gof p27^{kip1},ac yclir dependentkinaseinhibitoranda potentialmeditor ofextracellularantimito genicsi gnals[J].Cell,1994,78 (1) :59-66.
 [3] 徐彤,陆星华,胡育新,等. 胰腺癌组织中抑癌蛋白的表达及其临床意义[J]. 中华内科杂志,2000,39 (5) :315-318.
 [4]CanaveseG,AzzoniC,PizziS,etal. p27:a potentialmainin hibitorofcell proliferatoinindi gestiveendocrinetumorsbutnota markerofbeni gnbehavior[J].HumPathol,2001,32 (10) :1094-1101.
 [5]ThomasGV,Szi getiK,Mur phyM,etal.Down -regulationof p27 isassociatedwithdevelo pmentofcolorectaladenocarcinomametas -tases[J].AmJPathol,1998,153 (3) :681-687.
 [6] 刘勇,路名芝,杨海玉. 肺癌中细胞周期调控因子 p27 和 cyclinE 的表达及相关性[J]. 中国肿瘤临床,2001,28 (9) :700-701.
 (李奇明校对)

短篇 个案

慢性炎症性肠病——肠道粘膜相关淋巴瘤的癌前病变? (附 8 例临床病理分析)

潘 峰¹, 周冠严², 吴 伟¹, 李俊白¹

关键词:肠道 Malt 淋巴瘤;慢性炎症性肠病;癌前病变
 中图分类号:R733.4 文献标识码:D
 文章编号:1000-8578(2003)04-0267-01

0 引言

原发于肠道的 Malt 淋巴瘤的病因不详,复习近 10 年间本院收治的 8 例原发肠道 Malt 淋巴瘤,报道如下:

1 材料与方法

1991 ~ 2002 年间共收治原发肠道恶性淋巴瘤 12 例,全部病理资料重新复阅,依据 TakeshiSekine 等建议 Malt 淋巴瘤的病理诊断标准,确定其中 8 例为 Malt 淋巴瘤,男 女为 5:3,年龄 23 ~ 71 岁,中位年龄 48 岁。小肠 5 例,结肠 3 例。F II 期 4 例,III-IV 期 4 例,都无 B 症状,术前全部以腹块,腹痛,不全梗阻就诊,无伴有血便(黑便)或呕血。7 例有 1 ~ 6 年的慢性腹痛,便秘,腹泻等轻微的肠道症状病史,未接受内镜检查,有服用抗生素病史,都未取得根治性效果,

都无服用免疫抑制剂史。

2 结果

所有肿块位于一侧肠道壁上,最大径 4 ~ 13cm,无完整包膜,与肠道紧密相连,3 例有肠系膜淋巴结肿大。光镜下可见肿瘤样淋巴滤泡形成,肿瘤细胞以边缘区弥漫增生的滤泡中心细胞样小淋巴细胞为主,胞质丰富淡染,胞界清晰,弥漫性成片分布,浸润粘膜上皮或腺体,使腺腔结构损坏,部分区域形成特殊的淋巴上皮病损,免疫组化为 LCA+、L26+、k+、-、CK-。肿瘤切缘区病理检查:6 例肠粘膜呈现慢性非特异性炎症改变,可见充血水肿及溃疡、假性息肉,粘膜固有层炎性细胞浸润(淋巴细胞、浆细胞、少量多形核白细胞和组织细胞)、结肠 Lieberkuhn 隐窝结构破坏,点状溃疡。但典型的非干酪样肉芽肿,线

性溃疡等病变未见到。8 例术后全部作了 4 ~ 10 周期 CHOP 方案为主的化疗,肿瘤大于 8cm 加放疗。1 例化疗一周后自动出院,3 例失访。5 例随访 8 年,中位生存期 40 个月。

3 讨论

通常情况下,结外组织经反复感染,自身免疫而形成获得性淋巴组织,获得性淋巴组织在抗原的慢性刺激下增生,最终发展成为 Malt 淋巴瘤,如幽门螺杆菌感染与胃 Malt 淋巴瘤等。慢性炎症性肠病 (IBD) 是肠道最常见的慢性炎症性疾病,IBD 的慢性刺激可能形成肠道获得性淋巴组织,并最终发展成为 Malt 淋巴瘤,故 IBD 被认为是肠道 Malt 淋巴瘤的病因,本文的结果表明,肠道 Malt 淋巴瘤与 IBD 密切相关,7/8 例患者既往病史中有慢性腹痛、便秘、腹泻等轻微而能忍受的非特异性肠道症状,6/8 例中肿瘤边缘区组织有 IBD 的病理组织学表现。国外大病例数的回顾性研究提示 IBD 患者较正常人群有增高的淋巴瘤发病率,但也有相反的报道,有研究表明 IBD 病人长期服用硫唑嘌呤等免疫抑制剂易引起肠道淋巴瘤,但是本文中 8 例都表现为轻微而能忍受 IBD,无需服用类似药物,因此肠道 Malt 淋巴瘤的病因可能类似于胃 Malt 淋巴瘤,也是某种刺激(可能是过敏或病毒感染)长期作用的结果。(杨 卉校对)

收稿日期:2002-08-05; 修回日期:2003-02-20
 作者单位:1.325000 浙江温州市肿瘤医院内科,2. 病理科

