

胃腺癌 nm23 表达与肿瘤细胞增殖周期的关系及意义

汪必成¹,熊永炎¹,段祥林²,郭广松¹

摘要:目的 研究胃腺癌中肿瘤转移抑制基因 nm23 与肿瘤细胞增殖周期因子(PCNA、S 期细胞比)的关系。方法 采用免疫组化 SP 法检测 65 例胃腺癌标本中 nm23、PCNA 的表达,同时应用 Feulgen 染色方法及计算机图象分析技术对其 S 期细胞比进行检测。结果 nm23、PCNA、S 期细胞比均与胃腺癌淋巴转移有关;nm23 表达与 PCNA 分级、S 期细胞比呈负相关。结论 nm23 能抑制胃腺癌的转移,其抑癌机理可能与抑制肿瘤细胞增殖周期有关。

关键词:胃腺癌;nm23; 细胞周期

中图分类号:R735.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-8578(2002)06-0445-02

Relationship and significance of nm23 expression and the cell cycle of gastric adenocarcinoma

WANG Bi-cheng, XIONG Yong-yang, DUAN Xian-guang, et al

Dept of Pathology, Zhongnan hospital, Wuhan University, Wuhan 430071, China

Abstract: **Objective** To explore the relationship and significance between nm23 and cell cycle factors (PCNA, SPF) in 65 cases of primary gastric adenocarcinoma. **Methods** The expression of nm23, PCNA and SPF (S-phase fraction) were investigated by immunohistochemical staining and Feulgen DNA histochemical staining and image analysis. **Results** All their expressions were correlated with tumor metastasis; there is a negative association between nm23 and PCNA, SPF. **Conclusion** nm23 gene can suppress the metastasis of gastric adenocarcinoma. The possible mechanism is that the nm23 gene can suppress the tumor cellular proliferative cycle.

Keywords: Gastric adenocarcinoma; nm23; Cell cycle

恶性肿瘤的转移是肿瘤患者死亡的重要原因之一。人们在研究肿瘤转移抑制基因 nm23 时发现其抑癌作用与抑制肿瘤细胞增殖活性有一定的关系,但文献中尚未见 nm23 与肿瘤细胞增殖周期关系的报道。本文通过检测 65 例原发性胃腺癌中 nm23、PCNA 表达及 S 期细胞比,旨在对 nm23 基因的抑癌作用与肿瘤细胞增殖周期的关系进行初步探讨。

1 材料与方法

1.1 65 例胃腺癌标本均为本院 1989 年~1995 年间送检的手术标本,所有患者术前均未经放、化疗。其中男性 43 例,女性 22 例;有淋巴结转移者 45 例,无转移者 20 例。

1.2 方法 标本经 10% Formalin 液固定,常规脱

水,石蜡包埋,连续 4μm 厚切片。分别进行 HE 染色、免疫组化染色及 Feulgen 染色。免疫组化染色:采用 S-P 染色法。nm23、PCNA 一抗及 SP 试剂盒均购于福州迈新生物技术公司。操作按说明书进行。以已知阳性片作为阳性对照,以 PBS 替代一抗作为阴性对照。

nm23 判断标准:背景清亮,胞浆染棕黄色者为阳性染色。每例随机计数 10 个高倍(×400)视野,阳性染色的癌细胞数 >30% 为阳性表达。PCNA 染色分级标准:背景清亮,胞核着棕黄色者为阳性染色。每例随机计数 10 个高倍视野,按阳性染色的癌细胞百分率将 PCNA 表达分为 4 级(I=0%~25%; II=26%~50%; III=51%~75%; IV=76%~100%)。

Feulgen 染色:采用改良的 Feulgen 染色法^[1]。用北京航空航天大学 CMIBAS 图象分析系统检测肿瘤细胞 S 期细胞比。

1.3 统计学处理 采用 SAS 软件对相关资料进行统计学处理。

2 结果

收稿日期:2002-01-15; 修回日期:2002-03-28

作者单位:1.430071 武汉大学中南医院病理科;2. 湖北黄冈市第一人民医院外科

2.1 nm23、PCNA 在胃腺癌中的表达

65 例胃腺癌中 ,nm23 表达阳性者 40 例 ,阳性表达率为 61.54%;PCNA 例数分别为 8、13、24、

20 例。其高标记率(、级)占 67.69%。

2.2 nm23、PCNA 的表达及 S 期细胞比与胃腺癌临床病理因素关系

表 1 nm23、PCNA 的表达 S 期细胞比及与胃腺癌的临床病理因素关系

临床病理因素	总例数	nm23 表达			PCNA 表达			S 期细胞比	
		- (%)	+ (%)	P	~	~	P	$\bar{x} \pm s$	P
性别									
男	43	16(37.21)	27(62.79)	NS	13(30.23)	30(69.77)	NS	11.2 ±2.1	NS
女	22	9(40.91)	13(59.09)		8(36.36)	14(63.64)		10.8 ±1.9	
年龄(岁)		54.2 ±10.6	53.2 ±9.7	NS	53.8 ±8.9	53.5 ±9.7	NS	--	
淋巴结转移				<0.01			<0.01		<0.01
有	45	23(51.11)	22(48.89)		7(15.56)	38(84.44)		12.5 ±2.3	
无	20	2(10.00)	18(90.00)		14(70.00)	6(30.00)		7.8 ±1.8	

表 1 显示 :nm23、PCNA 与胃腺癌患者的年龄、性别无关 ;S 期细胞比与性别无关 ;三者均与胃腺癌淋巴结转移相关 (P 值分别为 2.01×10^{-3} 、 6.44×10^{-3} 、 5.65×10^{-3} ,P 均 <0.01)。

2.3 胃腺癌中 nm23 表达与 PCNA、S 期细胞比的关系

表 2 显示 :nm23 表达与 PCNA 分级、S 期细胞比呈明显负相关 (P 值分别为 0.032、 2.32×10^{-3} ,P < 0.05 或 0.01)。

表 2 胃腺癌中 nm23 表达与 PCNA 分级、S 期细胞比的关系

nm23 表达	PCNA 分级			S 期细胞比	
	~	~	P	$\bar{x} \pm s$	P
+	17(42.50)	23(57.50)	<0.05	8.5 ±2.0	<0.01
-	4(16.00)	21(84.00)		15.2 ±2.5	

3 讨论

肿瘤细胞最主要的特征是持续不断地增殖 ,即不断进行有丝分裂。传统上细胞周期分为 G1 期 (DNA 合成前期)、S 期 (DNA 合成期)、G2 期 (DNA 合成后期)、M 期 (有丝分裂期) 四个时期 ,并存在 G1/S (调节 G1 S 进程)、S/G2、G2/M 三个调控点 ,其中 G1/S 是细胞周期关键调控点 ,一旦调节此调控点的基因过度表达将导致细胞不断地增殖^[2]。

PCNA 基因编码的 PCNA 蛋白是一种分子量为 33 ~ 36kDa 的非组核蛋白。现已证实它是一种 DNA 聚合酶的辅助蛋白 ,合成于 G1 和 S 期 ,在 S 期其合成量最大 ,对 G1 S 进程过渡起着重要作用^[3]。DNA 合成期 (S 期) 细胞比与肿瘤细胞增殖能力密切相关 ,是反应肿瘤细胞增殖潜能的主要指标之一^[4]。

nm23 基因是 1991 年发现的一种肿瘤转移抑制基因 ,在大多数恶性肿瘤中 nm23 低水平表达者容易发生转移。nm23 基因抑制肿瘤转移的机理尚未明了 ,有学者认为这可能与其蛋白产物 NDPK (二磷酸核苷激酶) 有关 ,NDPK 的异常改变可影响微管聚合而成纺锤体的异常导致非整倍体的形成和通过改变细胞骨架引起细胞运动而参与转移过程^[5]。

本组实验结果显示 :在有淋巴结转移的胃腺癌中 nm23 阳性表达率则显著低于无淋巴结转移病例 ,表明 nm23 能抑制胃腺癌的转移 ;PCNA 高标记率、S 期细胞比在有淋巴结转移病例中显著高于无淋巴结转移者 ,表明胃腺癌的发展与肿瘤细胞的增殖能力密切相关。这些观察结果与国内外多数文献报道相一致^[6,7]。

此外 ,我们的观察结果还发现 :nm23 表达与 PCNA 分级、S 期细胞比呈明显负相关 ,表明 nm23 与肿瘤细胞增殖周期密切相关。由此我们推测 :nm23 抑制胃腺癌的转移 ,其抑癌机理也可能与抑制肿瘤细胞的增殖周期有关。即其也可能通过参与抑制细胞周期中 G1 S 进程 (PCNA 调控)、S 期细胞比相应减少而抑制肿瘤的转移。

参考文献 :

- [1] 田玉旺,丁华野,吴霞,等. 肿瘤细胞 DNA 图象定量分析[J]. 中华病理学杂志,1995,24 (4) :264-265.
- [2] Koff A, Giordano A, Desai D, et al. Formation and Activation of Cyclin E-cdk2 Complex during the G1 phase of the human cell cycle[J]. Science, 1992, 257 (5077) :1689-1694.
- [3] Maeda K, Chung YS, Onoda N, et al. Association of tumor cell proliferation with lymph node metastasis in early gastric cancer[J]. Oncology, 1996, 53 (1) :1-5.
- [4] Russo A, Bazan V, Migliavacca M, et al. DNA aneuploidy and high proliferative activity but not K-ras-2 mutations as independent predictors of clinical outcome in operable gastric carcinoma: results of a 5-year retrospective study[J]. Cancer, 2001, 92 (2) :294-302.
- [5] Gilles AM, Presecan E, Vondra A, et al. Nucleoside diphosphate Kinase from human erythrocytes. Structural characterization of the two polypeptide chains responsible for heterogeneity of hexameric enzyme[J]. J Biol Chem, 1991, 266 (14) :8784-8789.
- [6] Ura H, Denno R, Hirata K, et al. Correlation between nm23 protein and several cell adhesion molecules in human gastric carcinoma[J]. JPNJ Cancer Res, 1996, 87 (5) :512-517.
- [7] Isozaki H, Oka jima K, Ichinona T, et al. Significance of PCNA expression in gastric cancer in relation to lymph node metastasis[J]. J Surg Oncol, 1996, 61 (2) :106-110.

(贺文校对)