

p53、p21^{WAF1} 及 p16 在胃癌前病变和胃癌中的表达

蓝 菁,熊永炎,田素芳,余少平

摘要:目的 研究 p53、p21^{WAF1}、p16 在胃癌前病及胃癌发生发展中的作用,探讨他们之间的相互关系。方法 采用 SP 免疫组化法检测慢性萎缩性胃炎 65 例、肠化 93 例、胃上皮不典型增生 94 例、胃癌 60 例中三者的表达。结果 随着病变的发展三者均有较明显失活 ($P < 0.05$)。结论 p53、p21^{WAF1} 及 p16 的失活对于胃癌的发生有重要作用,p53 和 p21^{WAF1} 的失活有协同性属于癌症发生的相对晚期事件,p16 的失活发生于病变早期。

关键词:胃癌;胃癌前病变;p53;p21^{WAF1};p16

中图分类号:R735.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-8578(2001)06-0438-03

The Expression of p53, p21^{WAF1} and p16 in the Gastric Precancerous Lesions and the Cancer

LAN Jing, XIONG Yong, TIAN Su-fan, et al

Pathology Department of ZhongNan Hospital, Wuhan University, Wuhan 430071, China

Abstract: **Objective** To investigate the expression of p53, p21^{WAF1} and p16 and their interrelationships in the gastric carcinogenesis. **Methods** The expressions of p53, p21^{WAF1} and p16 were detected by means of SP immunohistochemical stain in 65 cases of chronic atrophic gastritis, 93 cases of intestinal metaplasia, 94 cases of gastric epithelial dysplasia, 60 cases of gastric carcinoma. **Results** With the development of the lesion, they were abnormal gradually ($P < 0.05$), especially in the moderate, severe dysplasia and the cancer ($P < 0.01$), furthermore the variation of p21^{WAF1} was increased with the mutation of p53 significantly ($P < 0.05$). **Conclusion** The variations of p53, p21^{WAF1} and p16 play great roles in the gastric carcinogenesis. The mutations of p53, p21^{WAF1} belong to the later events, otherwise p16 is the earlier one.

Keywords: gastric cancer; precancerous lesions; p53; p21^{WAF1}; p16

细胞周期调控对于维持细胞增殖与凋亡的动态平衡有重要的意义。研究发现,G₁/S 期调节失衡会导致细胞高速增殖、基因突变、DNA 损伤以及细胞癌变的倾向增加。细胞周期依赖激酶抑制剂(cyclin-dependent protein kinase inhibitors, CDKIs)(如 p21^{WAF1}、p27、p16、p15 等)在细胞周期调控中起关键性作用。本文分别检测胃癌前病变及胃癌组织中 p21^{WAF1}、p53 及 p16 的表达情况,旨在探讨几种抑癌基因在胃癌发生中的作用。

1 资料和方法

1.1 资料 312 例纤维胃镜活检或胃大部切除标本为我科 1997~1998 年存档病历,其中慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis, CAG) 65 例、肠化(in-

testinal metaplasia, IM) 93 例、胃上皮不典型增生(gastric epithelial dysplasia, GED) 94 例、胃癌(gastric carcinoma, GC) 60 例。所有标本均经 10% 中性 Formalin 液固定,石蜡包埋,常规连续切片。

1.2 染色方法 HE 染色用于常规病理组织学分类、分型及分级。HID-AB(PH2.5)-PAS 黏液染色用于 IM 分型。免疫组化 SP 法的操作步骤按试剂盒说明书进行。所用抗 p53、p21^{WAF1}、p16 抗体对 SP 试剂盒购于福州迈新生物技术公司,均为即用型。每批染色均设阳性及阴性对照。

1.3 染色结果的评价 根据组织形态及黏液染色,将 IM 分为(小肠型)、(不完全型)、(结肠型)三个亚型。按照 Ming 等^[1]的组织学分级标准,将 GED 分为(轻度)、(中度)、(重度)三级。在 SP 免疫组化染色中,细胞核或/和细胞浆着棕黄色者为阳性染色。每例随机观察 10 个高倍视野(X400),计算阳性细胞百分率,阳性细胞数 >10% 为阳性染色,10% 或缺乏者为阴性染色。

收稿日期:2001-06-04;修回日期:2001-10-31
作者单位:430071 武汉大学中南医院病理科

1.4 统计学处理 采用 χ^2 检验及四格表精确概率法。

2 结果

2.1 p53、p21^{WAF1}、p16 在不同胃黏膜病变中的表达
表 1 显示 ,p53 在 CED⁻ 的阳性率明显高于

CED⁺ ($P < 0.05$), 在 GC 中高达 70%, 显著高于 GED⁻ ($P < 0.01$)。p21^{WAF1} 在 CAG 及 IM 中阳性率高, 在 GC 中仅为 45%, 差异具有高度显著性 ($P < 0.01$)。p16 在 GED⁻ 及 GC 中的表达呈明显下降趋势, 差异具有显著性 ($P < 0.05$)。

表 1 p53、p21^{WAF1}、p16 在胃癌前病变和胃癌中的表达

病变	病例数	p53		p21 ^{WAF1}		p16	
		+(%)	-(%)	+(%)	-(%)	+(%)	-(%)
CAG	65	0(0.0)	65(100.0)	65(100.0)	0(0.0)	54(83.1)	11(16.9)
IM	61	1(1.6)	60(98.4)	58(95.1)	3(4.9)	50(82.0)	11(18.0)
IM	32	2(6.3)	30(93.7)	32(100.0)	0(0.0)	25(78.1)	7(21.9)
GED	55	3(5.5)	52(94.5)	55(100.0)	0(0.0)	49(89.1)	6(10.9)
GED	39	9(23.1)	30(76.9)	29(74.4)	10(25.6)	27(69.2)	12(30.8)
GC	60	42(70.0)	18(30.0)	27(45.0)	33(55.0)	24(40.0)	36(60.0)

2.2 p53、p21^{WAF1}、p16 在不同胃黏膜病变中的协同表达

表 2 提示 ,p53 与 p21^{WAF1} 的表达在 GED 和 GC 中呈明显负相关关系, 即 p53 呈阳性或阴性表达的病例, p21^{WAF1} 则多数呈阴性或阳性表达。p53 与 p16 表达的负相关关系则主要见于 GED 中。

表 2 p53、p21^{WAF1}、p16 在不同胃黏膜病变中的表达关系

病变	病例数(n)	p53		P 值	p21 ^{WAF1}		P 值	p16		P 值
		+	-		+	-		+	-	
CAG	65	+	0	>0.05	+	0	>0.05	+	0	>0.05
		-	65		-	54		-	11	
IM	93	+	3	>0.05	+	3	>0.05	+	3	>0.05
		-	87		-	72		-	18	
GED	94	+	7	<0.01	+	5	<0.01	+	4	<0.01
		-	77		-	70		-	12	
GC	60	+	15	<0.05	+	27	>0.05	+	15	>0.05
		-	12		-	9		-	9	

3 讨论

在有丝分裂过程中, 机体通过对细胞周期生长抑制基因或凋亡基因与促进基因的调控, 保持细胞增殖和凋亡的动态平衡。研究表明在 CAG IM GED GC 的发生过程中存在细胞调控的异常。野生型 p53 通过调控多个基因产物来调节细胞的增殖和分化, 如诱导 p21^{WAF1} 的表达来调节细胞周期的 G₁ 扳机点, 通过对 GADD45 (growtharrestand DNAdamage) 的调控在损伤 DNA 的修复中起关键作用, 诱导 Bax 基因的表达促进细胞凋亡, 故野生型 p53 被认为是“人类基因组的卫士”, 而突变型 p53 缺乏上述功能。本实验结果表明 p53 基因的突变在胃癌的发生中起重要的作用, 并且属于相对晚期事件。

p21^{WAF1} 定位于 6 号染色体, 其产物通过与 cyclin/CDKs 复合物结合抑制 CDKs 的功能, 并可影响

PCNA、bcl2、c-myc 的表达, 抑制 DNA 复制, 阻断细胞周期进程。El-Deiry 等^[2] 观察到 p21^{WAF1} 的转录表达明显抑制了肿瘤细胞的生长。p21^{WAF1} 启动区有一段 p53 结合序列, 可被野生型 p53 识别、结合并引导其表达。Ikeguchi 等^[3] 发现 p21^{WAF1} 的失活与进展期胃癌的浸润深度及淋巴结、血道转移密切相关, p53⁺/p21^{WAF1}⁺ 组患者术后 5 年生存率明显高于 p53⁺/p21^{WAF1}⁻ 组。Ogawa 等发现 p21^{WAF1} 阳性表达患者中 79.8% 发现淋巴结转移, 88.2% 有肝转移, 88.6% 有腹膜播散, 并且其表达与胃癌的组织学类型有关。以上均显示了 p21^{WAF1} 与胃癌的发展及预后判断有重要意义。本文从胃癌发生角度观察了 p21^{WAF1} 的表达及与 p53 之间的关系, 在整个癌变过程中两者呈负相关关系, 说明两者的异常在胃癌的发生中有重要意义。但也有学者发现 p21^{WAF1} 的表达受 TGF- β 、EGF 等的调控与 p53 的状态无关^[4], 本实验结果支持在致胃癌的发生过程中 p21^{WAF1} 与 p53 的失活有协同作用。

p16 定位于 9 号染色体短臂 21 区, 其产物可以与 cyclinD 竞争性结合 CDK₄, 抑制 cyclinD/CDK₄ 的合成使细胞停止增殖。本研究发现在胃黏膜病变的早期阶段(如 CAG、IM) p16 即出现一定数量的失活, 随着病变的发生发展, 失活明显增加, 说明 p16 与胃癌的发生亦有密切关系, 且属于相对早期事件。p16 失活的主要原因是 CpG 岛的甲基化并非基因突变或纯合子丢失^[5], 这为 p16 易失活并属于恶性肿瘤发生的早期事件提供了理论依据。学者们已相继在肝细胞癌、结肠癌、胰腺癌^[6] 等的研究中提出这一观点。本研究中未观察到 p16 与 p53 表达之间的关系, 这与 Wu 等^[7] 的报道一致, 说明两者可能属于相对独立的致癌途径。

参考文献:

- [1] Ming SC. Gastric carcinoma: a pathological classification[J]. *Cancer*, 1977, 39: 2475-2485.
- [2] El-Deiry WS, Harper JW, O'Connor PM, et al. WAF1/CIP1 is induced in p53-mediated G1 arrest and apoptosis[J]. *Cancer Res*, 1994, 54: 1169-1174.
- [3] Ikeguchi M, Saito H, Katano K, et al. Expression of p53 and p21 are independent prognostic factors in patients with serosal invasion by gastric carcinoma[J]. *Disseminated Disease*, 1998, 43 (5): 964-970.
- [4] Kang SH, Ban gY -J, Jon gH -s, et al. Rapid induction of p21^{WAF1} but delayed down-regulation of cdc25A in the TGF β -induced cell cycle arrest of gastric carcinoma cells[J]. *British Journal of Cancer*, 1999, 80 (8): 1144-1149.
- [5] Song SH, Jon gHS, Choi HH, et al. Methylation of specific CpG sites in the promoter region could significantly down-regulate p16^{INK4A} expression in gastric adenocarcinoma[J]. *Int J Cancer*, 2000, 87: 236-240.
- [6] Shim YH, Kan gGH, Ro JY. Correlation of p16 hypermethylation with p16 protein loss in sporadic gastric carcinoma[J]. *Lab Invest*, 2000, 80 (5): 689-695.
- [7] Wu MS, Shun CT, Shen JC, et al. Overexpression of mutant p53 and c-erbB-2 proteins and mutations of the p15 and p16 genes in human gastric carcinoma: with respect to histological subtypes and stages[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 1998, 13 (3): 305-310.

(李奇明校对)

第三届全国难治性白血病学术研讨会暨全军造血干细胞移植新技术学习班在京召开

为期 3 天的、由中国癌症研究基金会主办、白血病 淋巴瘤杂志社与中国人民解放军总医院血液科联合承办的第三届全国难治性白血病学术研讨会暨全军造血干细胞移植新技术学习班,于 2001 年 10 月 14 日在北京胜利闭幕。来自全国各地的 200 多名代表参加了会议。中国癌症研究基金会理事长李保荣教授、毕贺主任、解放军总医院朱士俊院长、苏元福副院长、马良处长到会。李保荣教授、朱士俊院长作了热情洋溢的讲话。我国著名的血液学专家军事医学科学院唐佩弦教授、裴雪涛教授为大会作了精彩的学术报告。

此次会议收到论文 85 篇,这些论文从基础研究与临床研究等方面,基本反映了近年来我国在白血病防治研究领域的新进展、新动态。会议期间,围绕造血干细胞移植在恶性血液疾病、特别是难治性白血病中应用的主题,以专家学术讲座为主。14 位专家分别就造血干祖细胞移植的基础问题、干细胞研究技术和新进展、无血缘关系供体异基因造血干细胞移植、造血干细胞移植并发症的防治、造血干细胞移植的新技术——骨髓非清除性异基因造血干细胞移植、脐血库与脐血移植、自体造血干细胞移植治疗成人急性白血病、多药耐药与恶性血液病、淋巴瘤的基因诊断、难治性白血病、白血病分化治疗法在研究中存在的问题及其对策,克服难治性白血病治疗中的困难的办法、抗 CD₃₃ 单抗及其偶联物治疗急性髓系白血病的研究进展、难治复发性多发性骨髓瘤等问题作了精彩的学术讲座。每单元学术讲座之间穿插大会交流、提问和讨论,专家与代表之间互动,会场气氛活跃,在形式上较第一、二届有所突破。代表们认为此次会议对于加强难治性急性白血病的研究,尤其是提高对造血干细胞移植等新技术在难治性急性白血病治疗中的应用,对推动和提高难治性白血病治疗水平无疑是非常重要的。

会议期间白血病 淋巴瘤杂志社召开了第三届编委会,编委们在总结 10 年办刊成绩的基础上,为刊物进一步提高质量、树立学术权威提出了宝贵的建议。

解放军总医院为此次会议的召开提供了良好、舒适、优美的环境,与会代表对血液科达万明主任、张伯龙副主任以及会务组全体工作人员的辛勤劳动表示了由衷的感谢。

会议初步拟定第四届全国难治性白血病学术研讨会将在 2003 年召开。