

热休克蛋白 gp96 在喉癌中的表达及临床意义

路秀英, 李晓明, 马 婧

Significance of Heat Shock Protein gp96 Expression in Laryngeal Squamous Carcinomas

LU Xiur Ying, LI Xiao-Ming, MA Jing

Department of Otorhinolaryngology and Neck Surgery, Bethune International Peace Hospital of PLA, Shijiazhuang 050082, China

Abstract :Objective To study the expression and clinical significance of heat shock protein gp96 in laryngeal squamous carcinomas. **Methods** The expression of gp96 protein in 46 laryngeal squamous carcinomas was detected by immunohistochemical staining and its correlations with clinical pathological factors were analyzed. **Results** The expression of gp96 in laryngeal squamous carcinomas of the group T₁₋₂ was stronger than that in the group T₃₋₄. There was remarkable difference between the two groups ($P < 0.05$). The expression of gp96 in laryngeal squamous carcinomas of pathological stage group was stronger than that in the pathological stage ~ group. There was striking difference between the two groups ($P < 0.05$). The expression of gp96 in laryngeal squamous carcinomas with lymph node metastasis was significantly lower than that in group without lymph node metastasis ($P < 0.01$). The expression of gp96 had no relation with the elements such as age ($P = 0.680$), sex ($P = 0.888$), smoking history ($P = 0.819$), tumor site ($P = 0.580$). **Conclusion** The results indicate that expression of gp96 protein play a important role in development of laryngeal squamous carcinomas. It can be a mark to predict the prognosis of laryngeal squamous carcinomas.

Key words: Heat shock protein; gp96; Laryngeal squamous carcinoma

摘 要:目的 检测热休克蛋白 gp96 在喉癌中的表达,并探讨其在喉癌发生发展中的作用。方法 应用免疫组织化学方法检测 46 例喉癌组织热休克蛋白 gp96 的表达。结果 T₁₋₂ 期喉癌患者癌组织与 T₃₋₄ 期患者比较, T₁₋₂ gp96 表达的阳性百分率较高,其差异有显著性意义 ($P < 0.05$)。病理学 级患者与病理学 ~ 级患者比较, 级患者癌组织 gp96 表达的阳性百分率较高,其差异有显著性意义 ($P < 0.05$)。有颈淋巴结转移的患者 gp96 表达的阳性百分率明显低于无颈淋巴结病理转移的患者 ($P < 0.01$)。热休克蛋白 gp96 阳性表达与患者年龄 ($P = 0.680$)、性别 ($P = 0.888$)、吸烟史 ($P = 0.819$)、肿瘤生长部位 ($P = 0.580$) 无相关性。结论 热休克 gp96 的表达与喉癌的发生发展密切相关,其表达可以作为判断预后的参考指标之一。

关键词:热休克蛋白; gp96; 喉癌

中图分类号: R739.65 文献标识码: A 文章编号: 1000-8578(2006)12-0878-03

0 引言

热休克蛋白 (Heat shock protein, HSP) 又称应激蛋白,是生物细胞在受热或其他理化因素(如低氧、病毒感染、紫外线照射等)作用下产生的一组高度保守的蛋白质。根据分子量的不同可以分为 HSP100、HSP90、HSP70、HSP60、小分子 HSP (22-23 KD) 及泛素 (7-8 KD) 等几个家族。热休克蛋白作为分子伴侣,参与其他蛋白质的折叠、运转、合成等过程。国内外研究发现许多肿瘤细胞表面可以高度表达或特异表达不同亚族 HSPs,在机体发挥抗肿瘤

的特异性细胞毒免疫应答中有重要作用。gp96 是 HSP90 家族的成员之一,因分子量为 96 KD 而得名。本文将探讨热休克蛋白 gp96 在喉癌中的表达及其与喉癌发生发展及预后的关系。

1 资料与方法

1.1 标本来源

收集 1999 年 12 月 ~ 2004 年 12 月在白求恩国际和平医院耳鼻咽喉 - 头颈外科接受手术的 46 例喉鳞状细胞癌患者,术前均未进行化疗和放疗。所有病例临床资料完整,其中男 42 例,女 4 例,年龄 36 ~ 80 岁,平均 57.8 岁。根据国际抗癌协会 (UICC) 标准 (1997) 确定 TNM 分期。喉癌分型:声门上型 14 例,声门型 32 例;临床 T 分期: 期 8 例、期 9 例、期 14 例、期 15 例;病理学分级:鳞癌

收稿日期: 2005-11-22; 修回日期: 2005-12-15

作者单位: 050082 石家庄, 中国人民解放军白求恩国际和平医院耳鼻咽喉头颈外科

作者简介: 路秀英 (1966-), 女, 博士, 主治医师, 主要从事耳鼻咽喉疾病的基础研究

级 15 例,鳞癌 级 20 例、鳞癌 级 11 例;病理证实颈部淋巴结转移组 12 例,无转移组 34 例。所有标本均离体后 2h 内放入 10%中性福尔马林中固定 24h,石蜡包埋,常规病理 HE 染色,并确定病理性质和病理学分级。

1.2 gp96 蛋白的免疫组织化学检测

常规石蜡切片,每张切片厚 5μm。采用免疫组织化学 SABC 法检测 gp96 蛋白表达,SABC 试剂盒购自博士德公司,按试剂盒操作说明书操作。gp96 抗体购自 Santa 公司,为多克隆抗体,工作浓度为 1 100。每次染色均设用 PBS 代替一抗的阴性对照。

1.3 结果判定标准

gp96 蛋白阳性以在组织切片中显示细胞浆为淡黄色至深黄棕色者为阳性细胞标志,凡细胞浆显色强度与背景无明显差别者为阴性细胞。细胞浆显示为淡黄色为+,细胞浆显示为黄棕色者为++,细胞浆显示为深黄棕色者为+++。

1.4 统计学处理

所有数据经 Excel 软件整理,应用美国 SPSS 11.0 统计软件进行分析。资料用单因素²检验进行统计分析。以双侧 P=0.05 为差异有显著性意义,P=0.01 为差异有非常显著性意义。

2 结果

2.1 gp96 蛋白在喉鳞状细胞癌的表达

在喉鳞状细胞癌中 gp96 蛋白阳性染色定位于肿瘤细胞胞浆,为粗细不一的棕黄至棕褐色颗粒。在 46 例喉鳞状细胞癌中阳性表达率为 100%。其中 24 例蛋白呈阳性+,阳性表达率为 52.2%(24/46);20 例蛋白呈阳性++,阳性表达率为 43.4%(20/46),2 例蛋白呈阳性+++ ,阳性表达率为 4.4%(2/46)。

2.2 gp96 蛋白在喉鳞状细胞癌中的表达与临床因素之间的关系

用单因素²检验分析 46 例喉鳞状细胞癌患者的临床因素与 gp96 蛋白表达之间的关系。结果显示,gp96 蛋白阳性表达与患者年龄(P=0.680)、性别(P=0.888)、吸烟史(P=0.819)、肿瘤生长部位(P=0.580)无相关性,见表 1。

临床 T₁₋₂ 期的喉鳞状细胞癌患者共 17 例,其中 gp96 表达+为 5 例,占 29.4%(5/17),++为 10 例,占 58.8%(10/17),+++为 2 例,占 11.7%(2/17);而 T₃₋₄ 期患者 29 例中,gp96 表达+为 19 例,占 65.5%(19/29),++为 10 例,占 34.5%(10/29),+++为 0 例。与 T₁₋₂ 期患者表达的 gp96 阳性百分率与 T₃₋₄ 期患者比较其差异在统计学

表 1 46 例喉鳞状细胞癌患者 gp96 表达和临床病理因素之间的关系

临床病理因素	例数	gp96 蛋白表达			χ ²	P
		+	++	+++		
年龄						
<60	24	16	8	0	5.090	0.680
60	22	8	12	2		
性别						
男	42	22	18	2	0.237	0.888
女	4	2	2	0		
吸烟史						
无	7	4	3	0	0.399	0.819
有	39	20	17	2		
肿瘤生长部位						
声门型	32	17	13	0	1.090	0.580
声门上型	14	7	7	2		
肿瘤病理分级						
G ₁	15	5	8	2	6.145	0.046
G ₂₋₃	31	19	12	0		
肿瘤 T 分期						
T ₁₋₂	17	5	10	2	7.550	0.023
T ₃₋₄	29	19	10	0		
颈淋巴结病理转移						
无	34	13	19	2	10.171	0.006
有	12	11	1	0		

上有显著性意义(P<0.05),这说明随着喉鳞状细胞癌 T 分期增加,gp96 蛋白的表达逐渐降低。

2.3 gp96 蛋白在喉鳞状细胞癌中的表达与肿瘤病理学因素之间的关系

用单因素²检验分析 46 例喉鳞状细胞癌患者的肿瘤病理学因素与 gp96 蛋白表达之间的关系。结果显示,病理学 级患者共 15 例,其中 gp96 蛋白阳性表达+为 5 例,占 33.3%(5/15),++为 8 例,占 53.3%(8/15),+++为 2 例占 13.3%(2/15),而病理学 ~ 级患者共 31 例,其中 gp96 蛋白阳性表达+为 19 例,占 61.2%(19/31),++为 8 例,占 25.8%(8/31),+++为 12 例,占 38.7%(12/31),+++为 0 例。病理学 级患者 gp96 的阳性表达率与病理学 ~ 级患者比较其差异有显著性意义(P<0.05);这说明随着病理学分级的增加,gp96 蛋白的表达逐渐降低。

46 例喉鳞状细胞癌患者中有颈淋巴结转移的 12 例,其中 gp96 蛋白阳性表达+为 11 例,占 91.7%(11/12),++为 1 例,占 8.3%(1/12),+++为 0。而无颈淋巴结转移的患者共 34 例,其中 gp96 蛋白阳性表达+为 13 例,占 38.2%(13/34),++为 19 例,占 55.8%(19/34),+++为 2 例,占 5.9%(2/34)。用单因素²检验进行统计学分析显

bax 基因对人 BcaCD885 颊癌细胞凋亡的影响

边莉¹, 金克炜², 何永文³

Apoptosis of BcaCD885 Cell Mediated by Human bax Gene

BIAN Li¹, JIN Ke-wei², HE Yong-wen³

1. Department of Pathology, The First Affiliated Hospital of Kunming Medical College, Kunming 650032, China; 2. Department of Pathology, Kunming Medical College; 3. Department of Dental Research, Kunming Medical College

Abstract: **Objective** To study the change of apoptosis by bax gene in human buccal mucosa carcinoma BcaCD885 cells. **Methods** Transfected recombinant human Bax gene plasmid and control plasmid into BcaCD885 cells. The BcaCD885 cells were examined morphologically through haematoxylin-eosinophil (HE) staining. The apoptosis qualification of the BcaCD885 cells was examined through terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick-end labelling technique (TUNEL). The apoptosis rate of the BcaCD885 cells was measured with flow cytometry. **Results** The bax gene transfected BcaCD885 cells had apoptosis morphological features. Many TUNEL positive red staining cells were found in the bax gene transfected BcaCD885 cells. There were significant differences in the apoptotic rates between the bax gene transfected BcaCD885 and the control BcaCD885 cells and the control plasmid transfected BcaCD885 cells ($P < 0.01$). **Conclusion** The recombinant human bax gene plasmid pORF-h bax can promote the apoptotic rate of the BcaCD885 cells.

Key words: bax gene; BcaCD885 cells; Apoptosis

摘要: 目的 探讨 bax 基因对人 BcaCD885 颊癌细胞凋亡的影响。方法 转染人 bax 基因重组质粒及对照质粒于 BcaCD885 细胞中。通过 HE 染色光镜观察对细胞形态学进行检测; 通过 TUNEL 原位

末端标记及流式细胞术对细胞凋亡进行定性、定量检测。结果 bax 质粒转染组 BcaCD885 细胞出现凋亡的形态学改变, TUNEL 阳性红染凋亡细胞数量增多, 凋亡小体出现, 其细胞凋亡率与空白对照组及对照质粒转染组之间存在极显著差异 ($P < 0.01$)。

收稿日期: 2005-11-14; 修回日期: 2006-02-09

基金项目: 云南省教育厅科学研究基金资助项目 (0112444)

作者单位: 1. 650032 昆明医学院第一附属医院病理科; 2. 昆明医学院病理学教研室; 3. 昆明医学院口腔医学研究所

作者简介: 边莉 (1976-), 女, 在读博士, 主治医师, 主要从事肿瘤分子病理研究

示, 有颈淋巴结转移的患者 gp96 的阳性表达率与无颈淋巴结转移的患者比较其差异有显著性意义 ($P < 0.01$)。

3 讨论

gp96 又称葡萄糖调节蛋白 (Glucose-regulated protein 94, GRP94), 正常情况下主要存在于细胞内质网内, 有研究表明在一些病毒感染、肿瘤等应激情况下, 可以同病毒或肿瘤的抗原肽形成复合物, 并与 MHC-1 类分子结合, 提呈给 CTL 细胞, 激发机体的特异性细胞免疫应答。有学者从肿瘤细胞中提取 gp96 抗原肽形成复合物, 证实这种复合物具有疫苗样作用^[1]。

有研究发现在黑色素瘤、结肠癌、宫颈癌、肝癌、乳腺癌中 gp96 表达增高^[2,3], Song^[4]认为 gp96 表达与肿瘤的侵袭性有关, 我们研究发现 gp96 在喉癌

中表达, 肿瘤临床 T 分期和病理分级低的患者表达高, 无淋巴结转移的患者表达高, 提示低表达可能与喉癌的发展、浸润和转移有关。本研究为应用抗原肽形成复合物进行免疫治疗提供一个实验依据。

参考文献:

- [1] Yedavelli SP, Guo L, Daou ME, et al. Preventive and therapeutic effect of tumor derived heat shock protein gp96 in an experimental prostate cancer model[J]. Int J Mol Med, 1999, 4(3): 243-248.
- [2] Missotten GS, Journee-de KJ, Wolff-Kouendaul D, et al. Heat shock protein expression in the eye and in uveal melanoma[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2003, 44(7): 3059-3065.
- [3] 李承霖, 孟忻, 郎振为. gp96 热休克蛋白在原发性肝癌中的检测及其意义[J]. 中华肝脏病杂志, 2004, 12(9): 569-570.
- [4] Song JD. The expression of glucose regulated protein-94 in colorectal carcinoma cells treated by sodium butyrate[J]. Cell Res, 2000, 10(2): 115-125.

[编辑: 刘红武]