

文章编号:1005-6947(2004)04-0300-03

· 简要论著 ·

# PCNA, C-erbB-2, Cyclin D1 及 MMP2 的表达与胃癌预后因子的相关性分析

邱文才<sup>1</sup>, 陈刚<sup>1</sup>, 席时富<sup>1</sup>, 章宜芬<sup>2</sup>, 张丽华<sup>2</sup>, 孟凡青<sup>2</sup>, 丁义涛<sup>1</sup>

(南京大学医学院附属鼓楼医院 1. 普外科 2. 病理科, 江苏 南京 210008)

**摘要:**为探讨 PCNA, C-erbB-2, Cyclin D1 及 MMP2 等标志物在胃癌中的表达及其与胃癌预后的相关性。应用免疫组织化学染色法检测 61 例胃癌组织中 PCNA, C-erbB-2, Cyclin D1 和 MMP2 的表达, 并将其与患者的性别、年龄、肿瘤大小、组织分化程度、浸润深度及转移淋巴结数目进行相关性分析。结果示 PCNA, C-erbB-2, Cyclin D1 及 MMP2 均与肿瘤浸润深度和淋巴结转移数目呈正相关。PCNA 和 Cyclin D1 的表达还分别与肿瘤大小和组织分化程度呈正相关, 而 C-erbB-2 及 MMP2 与肿瘤大小及组织分化程度无关。提示肿瘤浸润深度和淋巴结转移数目是影响胃癌预后的最重要的独立危险因素; 胃癌愈到晚期, PCNA, C-erbB-2, Cyclin D1 及 MMP2 等肿瘤标志物表达愈强, 从而加速了胃癌的生长与转移。

**关键词:**胃肿瘤/病理学; 基因表达; 胃肿瘤/诊断; 预后; 增殖核抗原癌基因; 细胞周期素基质金属蛋白酶

**中图分类号:** R735.2; Q343.1

**文献标识码:** B

增殖核抗原(PCNA), 原癌基因 C-erbB-2, 细胞周期素 D1(Cyclin D1) 和基质金属蛋白酶-2(MMP2) 均为与胃癌生长及转移密切相关的肿瘤标志物, 作者应用免疫组织化学染色方法, 检测 61 例胃癌组织的细胞 PCNA, C-erbB-2, Cyclin D1 及 MMP2 的表达, 并对其与患者的年龄、性别、肿瘤大小、分化程度、浸润深度及淋巴结转移数目等进行相关性分析。

## 1 材料和方法

### 1.1 标本来源及处理

收集 2002 年 9 月~2003 年 4 月我院手术切除的 61 例胃癌组织标本, 其中男 46 例, 女 15 例, 年龄 33~81(平均 58.2) 岁。肿瘤大小 1.0 cm × 1.0 cm × 1.5 cm ~ 10.5 cm × 12.4 cm × 5.2 cm。标本均经 10% 福尔马林溶液固定, 石蜡包埋, 5 μm 后连续切片, 分别进行 HE 及免疫组学染色。组织学类型高中分化腺癌 24 例, 低分化腺癌 23 例, 黏液腺癌 14 例。浸润全层及浆膜外 44 例, 浸润肌层 11 例, 浸润黏膜下层 6 例。有淋巴结转移者 41 例, 无淋

巴结转移者的 20 例。

### 1.2 方法

采用免疫组织化学染色(SP)法, 检测 PCNA, C-erbB-2, Cyclin D1 及 MMP2 的表达。用已知的阳性组织切片作阳性对照, 以 PBS 代替一抗作阴性对照, 用 DAB 染色。抗 PCNA 单克隆抗体、抗 C-erbB-2 抗体、抗 Cyclin D1 抗体、抗 MMP2 抗体及 SP 试剂盒均为北京中山生物技术有限公司的即用型试剂。具体操作均按说明书规范进行。

### 1.3 结果判断

染色阳性细胞呈棕黄色: PCNA 的阳性染色位于细胞核, C-erbB-2 阳性染色位于细胞膜和胞浆, Cyclin D1 和 MMP2 的阳性染色颗粒在细胞浆内。各自选择 5 个以上的代表性视野, 记数不少于 500 个胃黏膜细胞中的阳性细胞数, 阳性细胞数 ≥ 10% 为弱阳性(+), 阳性细胞数 ≥ 25% 为阳性(++), 阳性细胞数 ≥ 50% 为强阳性(+++)。阳性细胞数 < 10% 或背景相同于阴性对照的判为阴性(-)。

### 1.4 统计学方法

记录 61 例患者的性别、年龄、肿瘤大小、分化类型、浸润深度及转移淋巴结数目, 建立 Excel 数据

收稿日期:2003-07-23; 修订日期:2003-12-25。

作者简介:邱文才(1978-), 男, 江苏阜宁人, 南京大学医学院附属鼓楼医院住院医师, 主要从事胃肠道肿瘤综合治疗方面的研究。

库。其中,性别以男性为0,女性为1表示,分化类型以高中分化腺癌为1,低分化腺癌为2,黏液腺癌为3表示。浸润深度以浸润全层及浆膜外1,浸润肌层的2,浸润黏膜下层的为3表示,年龄、肿瘤大小及转移淋巴结数目均以其相应数值表示。

运用 Excel 数据分析中相关性分析软件,对 PCNA, C-erbB-2, Cyclin D1 和 MMP2 的表达与性别、年龄、肿瘤大小、分化类型、浸润深度及转移淋巴结数目的相关性进行分析。

## 2 结果

### 2.1 PCNA 的表达

PCNA 在胃癌组织中的表达 (52/61, 85.2%) 与肿瘤的大小呈正相关 ( $r = 0.232$ ,  $P < 0.05$ ), 与肿瘤的浸润深度和淋巴结转移数亦呈正相关 ( $r = 0.335$  和  $r = 0.304$ ,  $P < 0.01$ ), 而与患者的性别、年龄和组织分化程度无关 ( $P > 0.05$ ) (附表)。

### 2.2 C-erbB-2 的表达

C-erbB-2 在胃癌组织中的表达 (22/61, 36.1%) 与肿瘤的浸润深度和淋巴结转移数均呈正相关 ( $r = 0.233$  和  $r = 0.286$ ,  $P < 0.05$ ), 而与患者的性别、年龄以及肿瘤的大小、组织分化程度无关 ( $P > 0.05$ ) (附表)。

### 2.3 Cyclin D1 的表达

Cyclin D1 在胃癌组织中的表达 (35/61, 57.4%) 与肿瘤的组织分化程度、浸润深度和淋巴结转移数均呈正相关 ( $r = 0.225$ ,  $r = 0.278$  和  $r = 0.269$ ,  $P < 0.05$ ), 但与患者的年龄、性别无相关性 ( $P > 0.05$ ) (附表)。

### 2.4 MMP2 的表达

MMP2 在胃癌组织中的表达 (40/61, 65.5%) 与肿瘤的淋巴结转移数呈正相关 ( $r = 0.396$ ,  $P < 0.01$ ), 与胃癌的浸润深度呈显著正相关 ( $r = 0.247$ ,  $P < 0.05$ ), 但与患者的年龄、性别和肿瘤的大小、组织分化程度无相关性 ( $P > 0.05$ ) (附表)。

附表 PCNA, C-erbB-2, Cyclin D1 和 MMP2 的表达与胃癌临床病理特征的相关性

临床病理特征	PCNA		C-erbB-2		CyclinD 1		MMP2	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
年龄	0.065	>0.05	0.031	>0.05	0.048	>0.05	0.057	>0.05
性别	0.093	>0.05	0.079	>0.05	0.061	>0.05	0.043	>0.05
肿瘤大小	0.232	<0.05	0.117	>0.05	0.095	>0.05	0.101	>0.05
组织分化	0.174	>0.05	0.132	>0.05	0.225	<0.05	0.122	>0.05
浸润深度	0.335	<0.01	0.233	<0.05	0.278	<0.05	0.247	<0.05
淋巴结转移	0.304	<0.01	0.286	<0.05	0.269	<0.05	0.396	<0.01

## 3 讨论

PCNA 是作为 DNA 聚合酶的辅助蛋白直接参与细胞增殖过程的 DNA 复制, 是 DNA 复制的必需物质, 作用于 DNA 合成过程。其表达反映了细胞的增殖活性, 是一个能较好地判断细胞增殖活性的内源性标记物, 而细胞增殖活性又反映肿瘤恶性倾向。有文献报道<sup>[1,2]</sup>, 在多种实体肿瘤中 PCNA 的表达与肿瘤浸润、转移有明显的关系。

癌基因 C-erbB-2 位于人体染色体 17q21 上, 编码分子质量为 185 kD 的跨膜蛋白, 参加细胞生长分

化的调节<sup>[3]</sup>。当受到体内外某些因素影响后, 其结构或表达调控失常, 被激活后具有肿瘤活化活性。在胃癌中, 其激活方式主要为基因扩增, 导致其蛋白产物 p185 的过度表达。研究<sup>[4~6]</sup>显示, C-erbB-2 癌基因的扩增和蛋白的过量表达可见于人类多种肿瘤中。有作者<sup>[7]</sup>认为 C-erbB-2 癌基因蛋白表达与肿瘤淋巴结转移及预后有关。

细胞周期的发展是在细胞周期调控因子——细胞周期蛋白家族 (cyclins) 和细胞周期蛋白依赖性激酶 (cyclin dependent kinase, CDK) 形成复合物后共同作

用的结果<sup>[8]</sup>。Cyclin D1 是 Cyclin D 家族中的一个重要组成部分,近年来在多种肿瘤中(如乳腺癌、淋巴瘤等)中被检出。其促进细胞增殖的机制为:在结合并激活 cdk2 后,使 RB 蛋白处于高磷酸化状态,推进细胞由 G<sub>1</sub> 期向 S 期演进<sup>[9]</sup>。因此 Cyclin D1 扩增或过表达时,G<sub>1</sub>/S 期缩短,促使细胞增殖,导致癌变。肿瘤的浸润和转移是多步骤、多阶段的复杂过程,基底膜细胞基质的降解是肿瘤细胞向邻近纤维结缔组织浸润,进而向远处转移过程中的必经阶段。上皮性肿瘤侵袭周围组织的第一大障碍是基底膜,主要成分为 IV 型胶原。MMP2 是胶原酶之一,它以酶原的形式分泌至细胞外,经活化而具有活性。当肿瘤侵袭转移时,MMP2 降解细胞外基质,使肿瘤细胞黏附,还可降解血管的基底膜,有利于肿瘤细胞进入毛细血管及淋巴管进行转移,并使血液成分外渗,促使产生新的血管丛。因此 MMP2 在肿瘤细胞脱落浸润转移过程中起着相当重要的作用<sup>[10]</sup>。

笔者选择上述几种与胃癌发生发展及转移密切相关的酶、蛋白质及癌基因等肿瘤标志物进行研究,结果表明这些肿瘤标志物的表达均仅与肿瘤浸润深度和淋巴结转移数目呈正相关,PCNA 和 Cyclin D1 还分别与肿瘤的大小及组织分化程度呈正相关,而 C-erbB-2 和 MMP2 与肿瘤的大小和肿瘤组织分化程度无关,所有标志物均与年龄性别无关。

肿瘤浸润深度与胃癌淋巴结转移数目是影响胃癌预后的两个最重要的独立危险因素。浸润越深,转移淋巴结数目越多,则胃癌的病理分期愈晚,预后也愈差。本研究检测的肿瘤标志物的表达与这两项最重要的预后因子呈正相关,这表明肿瘤愈到晚期,上述标志物的表达也愈强,它们的过表达进一步促进了胃癌的增殖和转移,从而形成恶性循环,使胃癌生长的生物学过程呈现出加速的态势。因此,要从根本上治愈胃癌,早期诊断,早期手术仍

然是关键。

#### 参考文献:

- [1] Kamel D, Turpeenniemi-Hujanen T, Vahakangas K, *et al.* Proliferating cell nuclear antigen but not p53 or human papilloma-virus DNA correlates with advanced clinical stage in renal cell carcinoma [J]. *Histopathology*, 1994, 25(4): 339 - 347.
- [2] Pemme NS, Boacrt M, Serfling V, *et al.* PCNA expression in cutaneous keratinous neoplasms and verruca vulgaris [J]. *AMJ-Pathol*, 1992, 14(1): 140 - 142.
- [3] Fukushige SI, Matsubara KI, Yoshida M, *et al.* Localization of a novel V-erbB-related genes, c-erbB2, on human chromosome 17 and it's a gastric cancer cell line [J]. *Mol Cell Biot*, 1986, 6(3): 955 - 959.
- [4] Kallioniemi OP. Association of C-erbB-2 protein over expression with high rate of cell proliferation, increased risk of visceral metastasis and poor longterm survival in breast cancer [J]. *Int JC Cancer*, 1991, 49(5): 650 - 653.
- [5] Barnes DM. Over expression of the C-erbB-2 oncoprotein: Why does this occur more frequently in ductal carcinoma in situ than in invasive mammary carcinoma and is this of prognostic significance [J]. *Eur J Cancer*, 1992, 28(23): 644 - 647.
- [6] Manson EG, Ravdin PM, Dressler L. Prognostic factor in early breast carcinoma [J]. *Cancer*, 1994, 74(2): 381 - 385.
- [7] Yonemura Y, Ninomiya I, Ohoyama S. Expression of C-erbB-2 oncoprotein in gastric carcinoma [J]. *Cancer*, 1991, 67(21): 2914 - 2917.
- [8] Wong CC, Chan KC, Lee Kc, *et al.* Differential expression of p16/p21/p27 and cyclin D1/D3, and their relationship to cell proliferation, apoptosis, and tumor progression in invasive ductal carcinoma of the breast [J]. *J Pathol*, 2001, 194(5): 35 - 39.
- [9] Dowdy SF, Hinds PW, Louie K, *et al.* Physical interaction of the retinoblastoma protein with human D cyclin [J]. *Cell*, 1993, 73(7): 499 - 503.
- [10] Declerck YA, Perez N, Shimada H, *et al.* Inhibition of invasion and metastasis in cell transfected with an inhibition of metalloproteinase [J]. *Cancer Res*, 1992, 649(3): 701 - 708.