

文章编号:1005-6947(2006)03-0195-03

· 实验研究 ·

胆系恶性肿瘤 p16, PTEN 和 nm23 基因的表达及其临床意义

崔平¹, 普苹², 赵晓霞², 吴韬¹, 杨世昆¹, 胡筑培¹

(昆明医学院第一附属医院 1. 肝胆外科 2. 病理检验科, 云南昆明 650031)

摘要:目的 探讨胆系恶性肿瘤组织中 p16, nm23 和 PTEN 基因蛋白表达的临床意义。方法 利用 SP 免疫组化方法检测 63 例胆系恶性肿瘤(胆管腺癌 33 例, 胆囊腺癌 30 例)和 20 例胆管良性病变组织中 p16, PTEN 和 nm23 基因蛋白的阳性表达情况, 结合临床病理资料进行分析。结果 p16, nm23 及 PTEN 3 种基因蛋白在胆道腺癌组织中呈低-中度阳性表达, 其阳性表达率分别为 36.5%, 38.1%, 23.8%, 明显低于胆管良性病变组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。PTEN 在高分化胆管腺癌与胆囊腺癌表达有明显差异($P < 0.05$), 而 p16 和 nm23 差异不明显。结论 胆系恶性肿瘤中存在上述 3 种基因变异或缺失。PTEN 和 p16 基因变异对细胞周期均失去调控, 从而促进肿瘤生长, PTEN 和 nm23 基因的变异降低了对胆系肿瘤浸润转移的制约。

关键词:胆道肿瘤/病理学; 基因表达; 癌基因蛋白类

中图分类号: R735.8; R730.231.3

文献标识码: A

Study on clinical significance of expression of p16, nm23 and PTEN gene in malignant tumors of biliary system

CUI Ping¹, PU Pin², ZHAO Xiao-xia², WU Tao¹, YANG Shi-kun¹, HU Zhu-pei¹

(1. Department of Hepatobiliary Surgery; 2. Department of Pathology, the First Affiliated Hospital, Kunming Medical College, Kunming 650032, China)

Abstract: **Objective** To study the clinical significance of the gene protein expression of p16, nm23 and PTEN in bile duct carcinoma. **Methods** The expression of p16, PTEN and nm23 gene protein in tissues of 63 cases of malignant tumors of biliary system (33 cases of bile duct carcinoma, 30 cases of carcinoma of gallbladder) and 20 cases of benign bile duct lesion were studied by SP immunohistochemical technique and analyzed together with clinicopathologic data. **Results** The positive expression of p16, PTEN and nm23 in bile duct carcinoma tissue was low to medium, their expression rate was 36.5%, 38.1% and 23.8%, respectively, and was significantly lower than that of bile duct benign lesions ($P < 0.05$). In the well-differentiated bile duct carcinoma and gallbladder carcinoma group, the expression of PTEN was significantly different ($P < 0.05$), but p16, PTEN and nm23 expression was not significantly different. **Conclusions** Mutation or deletion of the above 3 genes is present in malignant tumors of biliary system. PTEN and p16 gene mutation can loss control of the cell cycle and thus promote tumor development. PTEN and nm23 gene mutation can lower the controlability of invasiveness and metastasis of tumors of biliary system.

Key words: Biliary Tract Neoplasms/pathol; Gene Expression; Oncogene Proteins

CLC number: R735.8; R730.231.3

Document code: A

胆系恶性肿瘤发病率逐年增加。虽然手术切除率不断提高, 但由于胆系肿瘤的特殊生物学特性,

致使术后短期内复发率高而影响其预后, 术后 3 年生存率约为 22%^[1]。本研究采用 SP 免疫组织化学方法检测抑癌基因 p16 和 PTEN, 以及肿瘤转移抑制基因 nm23 在胆系恶性肿瘤组织的表达, 旨在探讨基因变异或缺失与胆系恶性肿瘤发生发展之间的关系。

收稿日期:2005-07-16; 修订日期:2006-02-09。

作者简介:崔平,男,辽宁鞍山人,昆明医学院第一附属医院副教授,主要从事胆管肿瘤方面的研究。

通讯作者:崔平 E-mail:cp-99@sohu.com。

1 资料与方法

1.1 试剂及仪器

SP免疫组化染色超敏试剂盒、DAB显色试剂盒、2mL装(即用型)鼠抗人p16 1.5U单克隆抗体和二抗、2mL装(即用型)鼠抗人nm23、1.5U单克隆抗体及二抗、2mL装(浓缩型)兔抗人PTEN 0.1U多克隆抗体和二抗,均购于福州迈新生物技术开发公司。自配试剂磷酸盐缓冲液(pH7.4)约3000mL,柠檬酸盐缓冲液2000mL(pH6.0)。荧光显微镜Olympus BX60带PM30全自动照相机。

1.2 标本来源

选取我院1992年1月—2003年12月手术切除并经病理诊断的胆管恶性肿瘤石蜡标本63例,其中胆管腺癌33例,胆囊腺癌30例。另选同期胆管囊性扩张症及胆囊腺瘤各10例作为对照。

1.3 方法

按肿瘤分化程度进行标本分组。每份标本连续切4片,厚4 μ m。经脱蜡、脱水、常规HE染色和透明处理,光镜下观察。用SP免疫组化法行p16、单克隆抗体、nm23单克隆抗体及PTEN多克

隆抗体染色,显微镜下观察,细胞胞浆或胞膜呈棕黄色者为阳性。随机在10个高倍视野下计数100个细胞,计算阳性细胞的百分比。p16基因和nm23基因阳性表达定位于细胞浆,PTEN阳性定位于胞膜/胞浆。若阳性细胞<25%定为无表达(-),阳性细胞在25%~50%为低表达(+),阳性细胞在51%~70%为中度表达(++),阳性细胞>70%为高表达(+++)。

1.4 统计学处理

使用SPSS 10.0软件包进行 χ^2 检验,检验水准 $\alpha = 0.05$

2 结果

p16, nm23及PTEN 3种基因蛋白在胆系腺癌组织中呈低-中度阳性表达(图1),其阳性表达率均明显低于胆系良性病变组,两组间差异有统计学意义($P < 0.05$)(表1); PTEN的表达率在高分化组胆管腺癌中显著低于胆囊腺癌,表达差异有显著性($P < 0.05$);而p16和nm23差异不明显(表2)。

胆囊癌 p16 (SP \times 100)

胆管癌 nm23 (SP \times 100)

胆管癌 PTEN (SP \times 200)

图1 p16, nm23, PTEN 基因阳性免疫组化表达

表1 63例胆道腺癌中3种蛋白的表达情况

分组	n	p16 阳性表达			nm23			PTEN		
		(+ ~ +++)	阳性表达 (%)	P 值	(+ ~ +++)	阳性表达 (%)	P 值	(+ ~ +++)	阳性表达 (%)	P 值
胆管恶性肿瘤	63	23	36.5	<0.05	15	23.8	<0.05	24	38.1	<0.05
胆管良性病变	20	11	55		13	62		12	60	

表2 不同分化程度胆管腺癌和胆囊腺癌中3种蛋白的表达率

分化程度	分组	n	p16 阳性表达			nm23			PTEN		
			n	(%)	P 值	n	(%)	P 值	n	(%)	P 值
高、中分化	胆管癌	23	9	(39.1)	>0.05	6	(26.10)	>0.05	8	(34.7)	<0.05
	胆囊癌	22	9	(40.9)		4	(18.8)		12	(54.5)	
低分化	胆管癌	10	3	(27.8)	>0.05	2	(20)	>0.05	2	(20.0)	>0.05
	胆囊癌	8	2	(25.0)		2	(25)		2	(25.0)	

3 讨论

近年的研究表明,人类多种肿瘤都存在基因的变异或缺失,胆管恶性肿瘤亦然。本实验结果 p16, nm23 和 PTEN 3 种基因蛋白在胆管系统恶性肿瘤中呈低水平表达,表明胆管肿瘤的生成发展与多种基因的变异或缺失关系密切。抑癌基因 p16 通过细胞周期素 (cyclin) D/CDK4 的活性参与并调节细胞由 G₀ 期进入 G₁ 期^[2], p16 缺失将失去对细胞周期的调控,细胞增殖恶变。本实验示恶性组 p16 仍有 36.5% 的阳性表达,与 Yoshida 等^[3]报道的 p16 在胆管癌的突变率高达 64% 相符;而在高、中分化组胆管腺癌 p16 表达低于胆囊腺癌。这可能与不同肿瘤 p16 基因的失活和缺失不同有关。PTEN 是新近发现的一种具有磷酸化作用的抑癌基因,通过抑制 PI3K/Akt 介导的信号传导途径,达到抑制细胞周期和促进凋亡的目的^[4], PTEN 的抑癌作用主要与其脂质磷酸酶活性和蛋白磷酸酶活性有关,其他恶性肿瘤的研究已表明肿瘤恶性程度越高,PTEN 表达越低,预后越差。但与年龄和淋巴转移无显著性差异^[5],本组结果表明 PTEN 基因蛋白在胆道恶性肿瘤中总体呈中度阳性表达 (38.1%)。高分化组的胆管癌表达明显低于胆囊癌组,而低分化组两肿瘤表达无明显差异。有报道 PTEN 基因蛋白在胆囊癌组织中的阳性表达约 34.4%^[6]。表明影响 PTEN 功能的因素可能与肿瘤起源的细胞类型、分化程度等有关,PTEN 基因也参与了肿瘤浸润和转移的调控。nm23 基因作为重要的肿瘤转移抑制基因具有抑制细胞转移和恶化的作用^[7],但在肿瘤发生发展的过程中,某些肿瘤刺激因子可增强 nm23 基因的活性促使其转录蛋白呈过表达。本组结果也显示胆管恶性肿瘤的 nm23 阳性表达低于良性病变 ($P < 0.05$),这与胆管癌向周围淋巴、血管及神经浸润转移的生物学特性吻合,而且细胞分化缺陷可

是肿瘤细胞恶性潜能的重要决定因素。Fu 等^[8]认为, nm23 在胆管肿瘤局部浸润发挥一定的作用,与其淋巴转移无关。但恶性程度愈高周围浸润力愈强是共同的。本实验示 nm23 基因蛋白在不同分化组的胆囊癌与胆管癌中阳性表达差异不大,提示两肿瘤浸润发展的生物学特性与 nm23 基因的变异或缺失相关。

综上所述, p16、nm23 和 PTEN 基因在胆道恶性肿瘤中均呈中、低阳性表达,表明这 3 种基因在胆道恶性肿瘤中的变异或缺失,不仅 PTEN 和 p16 基因变异缺失对细胞周期均失去调控,促进肿瘤的生长,而且 PTEN 和 nm23 的变异降低了胆道恶性肿瘤浸润、转移的制约。实验提示胆道恶性肿瘤的发生、发展确与多种基因变异关系密切。

参考文献:

- [1] Launonis B, Terblanche J, Lakehal M, *et al.* Proximal bile duct cancer: high respectability rate and 5-year survival [J]. *Ann Surg*, 1999, 230(2): 266 - 268.
- [2] Serrano M, Hannon GJ, Beach DA. New Regulatory motif in cell-cyclin control casing specific inhibition of cyclin D/CDK4 [J]. *Nature*, 1993, 366(4): 704 - 743.
- [3] Yoshida S, Todoroki T, Ichikawa Y, *et al.* Mutation of p16ink4/CDKN2 and p15ink4b/ MTS2 genes in biliary tract cancer [J]. *Cancer*, 1995, 55(5): 2756 - 2758.
- [4] Li GM, Feng WJ, Zhang DQ, *et al.* Relationship between expression of PTEN E-cadherin protein and prognosis in patients with breast cancer [J]. *Nianjing Mil Med Coll*, 2003, 25(1): 10 - 14.
- [5] Hu QY, Wang JS. Expression of PTEN gene protein in Gallbladder carcinoma Tissue [J]. *Y MC*, 2002, 21(4): 201 - 204.
- [6] Tannapdel A, Katalinic AK, ockerling F, *et al.* The prediction of lymph node metastases in colorectal cancer by expression of the nucleoside diphosphate kinases/nm23-H1 and histopathological variables [J]. *Cancer Res*, 1999, 52(2): 245 - 247.
- [7] 周宁新,王大东. 胆管癌的病理学特征对手术后远期效果的影响 [J]. *中国普通外科杂志*, 1998, 7(4): 216 - 217.
- [8] Fu jii, Yasui W, Shimanioto F, *et al.* Immunohistochemical analysis of nm23 gene pyoduct in human galldadder carcinoma [J]. *Virchows Arch*, 1995, 429(3): 355 - 357.