

[文章编号] 1000-2200(2010)04-0372-03

· 临床医学 ·

p21 在食管鳞状细胞癌及食管鳞状上皮良性增生性病变中表达的临床意义

张 凡¹, 彭 钧², 李波凌¹

[摘要]目的:探讨 p21 在食管鳞状细胞癌及食管鳞状上皮良性增生性病变中的表达及其意义。方法:对 75 例食管鳞状细胞癌标本、15 例食管鳞状上皮良性增生性病变及 10 例正常鳞状上皮标本的石蜡切片进行免疫组织化学标记,用 S-P 法检测 p21 的表达。结果:p21 在食管正常组织中无表达,在食管鳞状上皮良性增生性病变中阳性率为 33.33%,在食管鳞状细胞癌组织中阳性率为 78.87%,差异有统计学意义($P < 0.01$);p21 在食管鳞状细胞癌的高分化组、中分化组与低分化组阳性率分别为 68.89%、90.00% 和 100.00%,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论:检测 p21 的表达,可以了解食管癌组织的分化程度,指导临床治疗和判断预后,而且 p21 可以作为一种可靠的标志物,对食管癌的早期诊断具有重要价值。

[关键词] 食管肿瘤;癌,鳞状细胞;上皮增生;p21;免疫组织化学

[中国图书资料分类法分类号] R 735.1 **[文献标识码]** A

Expression and significance of p21 protein in esophageal cancer and esophageal benign hyperplasia

ZHANG Fan¹, PENG Jun², LI Bo-ling¹

(1. Department of Cardiothoracic Surgery, 2. Department of Pathology,

Anqing Municipal Hospital, Affiliated to Anhui Medical University, Anqing Anhui 246003, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the expression and significance of p21 protein in the tissue of esophageal cancer and benign esophageal hyperplasia. **Methods:** Seventy-five cases of esophageal cancer specimen, 15 benign esophageal hyperplasia specimen and 10 normal specimen were performed HE staining before immunohistochemistry analysis, and the expression of p21 protein was examined by immunohistochemical (S-P method). **Results:** The expression of p21 protein was negative in normal tissue, 33.33% in benign esophageal hyperplasia tissue and 78.87% in esophageal cancer. The difference had statistical significance ($P < 0.01$). The positive expression of p21 protein was 68.89% in high differential group, 90.00% in medium differential group and 100.00% in low differential group. The difference was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusions:** The expression of p21 protein may demonstrate the differential degree of esophageal cancer, guide the clinical therapy and help to judge the prognosis. P21 protein is regarded as a reliable label in early diagnosis of esophageal cancer.

[Key words] esophageal cancer; cancer, squamous cells; epithelial hyperplasia; p21

食管癌是消化系统一种常见的恶性肿瘤,我国是食管癌高发地区之一,组织学类型以鳞状细胞癌为主,其死亡率居恶性肿瘤死亡的第 2 位,仅次于胃癌,这意味着食管癌的早期诊断和进展期癌的治疗具有重要的临床意义^[1-2]。p21 基因是 CIP 家族中的一员,它是位于 p53 基因下游的细胞周期素依赖性激酶抑制因子。p21 可以和 p53 共同构成细胞周期 G₁ 检查站,因 DNA 损伤后不经过修复则无法通过,减少了受损 DNA 的复制和积累,从而发挥抑癌作用。p21 抑癌基因对细胞周期具有负性调控作用,是目前已知的具有广泛的 CDK 抑制活性的细胞抑制蛋白,参与细胞的多种功能活动,同时受多种基

因和细胞因子的调控。p21 可以通过细胞周期调控作用间接参与细胞凋亡(依赖 p53 途径)和直接导致细胞异化或恶变(非依赖 p53 途径),可以正性调节细胞依赖性激酶功能,抑制 PCNA 与多聚酶 δ 结合,影响 DNA 复制和抑制应激激活蛋白激酶活性^[3-4]。本研究旨在探讨 p21 在食管鳞状细胞癌及食管鳞状上皮良性增生性病变中的表达水平及其意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 研究标本取自我院病理科 2008 年 1 月至 2009 年 1 月食管手术或内镜活检存档石蜡块 90 例,均经 2 位高年资病理医生诊断一致。其中,食管鳞状细胞癌 75 例,包括高分化癌 45 例,中分化癌 20 例,低分化癌 15 例;食管良性增生性病变 15 例。另选取正常鳞状上皮组织 10 例。p21 单克

[收稿日期] 2009-10-29

[作者单位] 安徽医科大学附属安庆医院 1. 心胸外科, 2. 病理科, 安徽 安庆 246003

[作者简介] 张 凡(1973 -),男,主治医师。

隆抗体及 S-P 免疫组织化学试剂盒由福州迈新生物技术公司提供。

1.2 方法 取石蜡块进行连续切片,厚度 5 μm , HE 染色。免疫组织化学(S-P 法,设阳性和阴性对照):石蜡切片常规切片,水化,PBS (pH 7.4)冲洗后,每张切片加 50 μl 过氧化酶阻断溶液,以阻断内源性过氧化酶的活性,室温下孵育 10 min 后 PBS 冲洗,每张切片加 50 μl 非免疫性动物血清,室温下孵育 5 min,继续以 PBS 冲洗,然后每张切片加 50 μl 的 p21 单克隆抗体,室温下孵育 60 min 后 PBS 冲洗;每张切片加 50 μl 生物素标记二抗,室温下孵育 10 min,PBS 冲洗,最后每张切片加 50 μl 的链亲和素-过氧化酶溶液,室温下孵育 10 min,PBS 冲洗,每张切片加 100 μl 新鲜配制的 DAB 溶液,显微镜下观察 5~10 min;自来水冲洗,苏木素复染,中性树胶封固。免疫组织化学结果分阳性表达和阴性表达,阳性肿瘤细胞胞质呈棕黄色或深棕黄色颗粒状。

1.3 统计学方法 采用秩和检验。

2 结果

2.1 p21 在食管不同组织中的表达 p21 在食管鳞状细胞癌组织中阳性率为 78.87%,在食管良性增生性病变为 33.33%,正常组织为 0.00%,差异有统计学意义($P < 0.01$) (见表 1)。

表 1 p21 在食管鳞状细胞癌、食管良性增生性病变及正常组织中的阳性表达比较(n)

组织类型	n	阳性	阳性率(%)	H_c	P
食管癌	75	59	78.87	30.59	<0.01
食管良性增生性病变	15	5	33.33		
正常组织	10	0	0.00		
合计	100	64	64.00		

2.2 p21 在不同分化程度食管癌中的表达 p21 在食管鳞状细胞癌高分化、中分化、低分化组中阳性率分别为 68.89%、90.00% 和 100.00%,差异有统计学意义($P < 0.05$) (见表 2)。

表 2 食管鳞状细胞癌分化程度与 p21 表达的关系(n)

鳞癌分化程度	n	阳性	阳性率(%)	H_c	P
高分化	45	31	68.89	6.72	<0.05
中分化	20	18	90.00		
低分化	10	10	100.00		
合计	75	59	78.87		

3 讨论

肿瘤的发生与癌基因的激活和抑癌基因的失活密切相关,抑癌基因的失活、低表达导致细胞凋亡过程受抑制,对肿瘤的发生、发展起重要作用。ras 基因是人类肿瘤中最早发现的活化癌基因,p21 是 ras 基因家庭成员一种共同蛋白质表达产物。p21 基因编码的蛋白质是目前已知的最广泛的酶抑制活性的细胞抑制蛋白,其典型特征是:p21 在进化上具有高度保守性,与细胞生长信号转导物 G 蛋白功能相似,能够结合三磷酸鸟苷(GTP)或二磷酸鸟苷(GDP)。p21-GTP 复合物为活化状态,能够向下游传导生长信号,是调节正常细胞生长和分泌不可缺少的中介物,并能与一些具有生长效应的蛋白质相互作用,从而维持了对生长刺激的“开放”状态,易导致细胞增殖失控;p21-GDP 复合物为失活状态,阻止信号传递。同时 p21 不仅本身有微弱的 GTP 酶活性,且与 GTP 酶激活蛋白相结合,促进 p21-GTP 转化为 p21-GDP,停止对生长信号的传递作用。当 ras 发生突变时,导致基因活化,使其产物 p21 过表达,刺激细胞生长和分化,最终导致细胞恶性转化,而且在细胞癌变和恶性表型的维持中起重要作用^[3-6]。

在乳腺癌、卵巢癌及结肠癌中,p21 高表达与肿瘤的恶性行为一致;但 p21 的检出只是意味肿瘤预后不良的指标,在鼻咽癌和肝癌中的表达却与其相反,它的高表达预示着良好的预后;p21 的表达与胃癌的浸润程度和淋巴结转移密切相关,有可能成为研究胃癌发展的有用指标;p21 的失表达与非小细胞肺癌的浸润进展有关,并且 p21^{WAF1} 的缺失表达和 CyclinD1、CDK4 的过表达在胰腺癌的发生、发展过程中起协同作用。所以 p21 可作为判断肿瘤分化程度和预后的参考指标之一^[7-12]。

有研究^[13]显示,食管癌发生与 p53 基因突变以及 p21^{CIP1/WAF} 表达减弱有关;p21 表达与食管癌的淋巴侵犯、肿瘤的外侵及血管侵犯有关但与预后无关^[14]。本研究结果显示,p21 的表达与食管癌肿瘤细胞分化程度密切相关,且肿瘤细胞的分化程度越低,p21 阳性率越高,对临床选择恰当的治疗方法,预测患者预后具有重要价值。p21 在食管鳞状细胞癌组织、食管鳞状上皮良性增生性病变及正常组织中的表达差异有统计学意义,表明检测 p21 表达可以反映食管组织病变的严重程度。(下转第 376 页)

者危险性分层有指导意义。

[参 考 文 献]

- [1] 陈月,邹大进. 脂联素——新型的脂源激素[J]. 解放军医学杂志,2003,28(2):183-185.
- [2] Hotta K, Funahashi T, Arita Y, et al. Plasma concentrations of a novel adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, 20(6): 1595-1599.
- [3] Kumada M, Kihara S, Sumitsuji S, et al. Association of hypoadiponectinemia with coronary artery disease in men [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003, 23(1): 85-89.
- [4] McCullough PA. Clinical applications of B-type natriuretic peptide levels in the care of cardiovascular patients [J]. *Minerva Cardioangiologica*, 2004, 52(6): 479-489.
- [5] Sudoh T, Kangawa K, Minamino N, et al. A natriuretic peptide in porcine brain [J]. *Nature*, 1998, 332(6159): 78-81.
- [6] Sabatine MS, Morrow DA, de Lemos JA, et al. Multimarker approach to risk stratification in non-ST elevation acute coronary syndromes: simultaneous assessment of troponin I, C-reactive protein, and B-type natriuretic peptide [J]. *Circulation*, 2002, 105(5): 1760-1763.
- [7] Okamoto Y, Arita Y, Nishida M, et al. An adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, adheres to injured vascular walls [J]. *Horm Metab Res*, 2000, 32(2): 47-50.
- [8] Ouchi N, Kihara S, Arita Y, et al. Adiponectin, an adipocyte-derived plasma protein, inhibits endothelial NF- κ B signaling through a cAMP dependent pathway [J]. *Circulation*, 2000, 102(11): 1296-1301.
- [9] Yokota T, Oritani K, Takahashi I, et al. Adiponectin, a new member of the family of soluble defense collagens, negatively regulates the growth of myelomonocytic progenitors and the functions of macrophages [J]. *Blood*, 2000, 96(5): 1723-1732.
- [10] Matsuda M, Shimomura I, Sata M, et al. Role of adiponectin in preventing vascular stenosis. The missing link of adipo-vascular axis [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(40): 37487-37491.
- [11] Kubota N, Terauchi Y, Yamauchi T, et al. Disruption of adiponectin causes insulin resistance and neointimal formation [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(29): 25863-25866.
- [12] Cnop M, Havel PJ, Utzschneider KM, et al. Relationship of adiponectin to body fat distribution, insulin sensitivity and plasma lipoproteins: evidence for independent roles of age and sex [J]. *Diabetologia*, 2003, 46(4): 459-469.
- [13] George J, Patal S, Wexler D, et al. Circulating adiponectin concentrations in patients with congestive heart failure [J]. *Heart*, 2006, 92(10): 1420-1424.
- [14] Toth M, Vuorinen KH, Vuolteenaho O, et al. Hypoxia stimulates release of ANP and BNP from perfused rat ventricular myocardium [J]. *Am J Physiol*, 1994, 266(4 Pt 2): H1572-H1580.

(上接第 373 页) 食管鳞状上皮良性增生性病变主要病理改变是鳞状上皮增生或伴有不典型, 提示有癌变的可能, 在临床上要注意复查, 其 p21 表达可达到 33.33%。因此, 检测 p21 的表达对食管癌前病变的监测及对食管癌的早期诊断具有重要价值, p21 可作为食管癌早期诊断的一个较为可靠的标志物。在本组研究中, 我们对于 3 例术前胃镜检查病理报告仅提示中重度不典型增生的患者, 通过 p21 表达水平的测定, 果断地对 p21 表达阳性的患者行标准的食管癌根治术, 术后大体标本的病理诊断均证实为食管鳞状细胞癌。在本组研究中, 有 2 例患者胃镜检查病理仅提示食管鳞状上皮良性增生性病变, 但测定 p21 表达阳性, 结合临床症状(有典型吞咽困难病史), 再次行胃镜细致检查, 发现原病变旁的另一“癌灶”。后经手术再次证实了多发的病变组织, 病理为食管鳞状细胞癌, 从而避免了对患者的误诊和对病情的延误。

[参 考 文 献]

- [1] 郑芝田. 胃肠病学 [M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2000: 165.
- [2] Lightdale CJ. Practice guidelines esophageal cancer [J]. *Am J Gastroenterol*, 1999, 94(1): 20-29.
- [3] 李作生, 李保庆. p21 和 p27 基因多态性与肿瘤的相关性 [J]. *国际遗传学杂志*, 2006, 29(4): 317-320.
- [4] 张春林. 细胞周期调控基因 p21^{WAF1} 与肿瘤 [J]. *肿瘤研究与临床*, 2002, 14(2): 141-143.
- [5] 李向荣, 林星余, 肖忠秀, 等. p21 结构功能与研究新进展 [J]. *医学综述*, 2008, 14(14): 2094-2097.
- [6] 林子洪, 廖威明, 傅明, 等. p21^{WAF1} 的功能研究新进展 [J]. *广东医学*, 2007, 28(3): 483-484.
- [7] 田兴松, 王新刚, 周文红, 等. 乳腺癌细胞中 p16, p21, cyclinD1 的表达及临床意义 [J]. *山东大学学报: 医学版*, 2005, 43(6): 532-535.
- [8] 陈惠新, 许岸高, 刘集鸿, 等. p21^{WAF1} 在胃癌癌变多阶段组织中的表达及其意义 [J]. *中国医师杂志*, 2006, 8(5): 687-688.
- [9] 廖芝玲, 何伟民, 张斌, 等. Δ Np63, p21^{WAF1} 及 MDM2 基因蛋白在鼻咽癌组织表达的研究 [J]. *广西医学*, 2003, 25(11): 2101-2106.
- [10] 冯震博, 吕自力, 何如昆, 等. p21 和 IGF2 II 在肝癌、肝硬化组织中表达的研究 [J]. *肿瘤防治研究*, 2003, 30(4): 270-272.
- [11] 陆澄, 曾水林, 张鄂华, 等. 胰腺癌组织中 p21^{WAF1}、转化生长因子 α 、表皮生长因子受体表达与神经浸润转移的关系 [J]. *南通大学学报: 医学版*, 2006, 26(1): 31-32.
- [12] 潘琦, 陈福春, 陈洪雷, 等. 人非小细胞肺癌组织中 Survivin 的表达及与 caspase-3 和 p21^{WAF1} 表达的意义 [J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2006, 13(2): 97-100.
- [13] 张建中, 吕怀盛, 景丽, 等. 食管癌组织中 p21^{clp1/WAF}、p53 表达及 HPV-16 感染的意义 [J]. *实用癌症杂志*, 2004, 19(5): 488-490.
- [14] 王建芳, 吴东平, 孙彩萍. p21 和 p53 在食管癌中的表达及其临床意义 [J]. *肿瘤研究与临床*, 1999, 11(3): 157-158.