论著

文章编号:1000-5404(2011)16-1718-04

PPARγ和PCNA在口腔鳞癌组织的表达及临床意义

陈彦平[1],杨凯成[1],梁玉林[2],杨会钗[3],王小玲[3] (050011 石家庄,河北医科大学第四医院:口腔科[1],病理科[3];051430 石家庄,河北省栾城县医院口腔科[2])

[摘要] **目的** 探讨过氧化物酶体增殖物激活受体(PPARγ)与增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen,PCNA)在口腔鳞癌中(oral squamous-cell carcinoma,OSCC)的表达及其生物学意义。**方法** 采用免疫组织化学和流式细胞术检测50例口腔鳞状细胞癌、癌旁黏膜(距瘤缘2 cm)和切缘正常黏膜(距瘤缘≥5 cm,镜下未见癌浸润)标本中PPARγ和PCNA的表达。**结果** PPARγ在癌组织中的阳性表达率为68.0%(34/50),高于癌旁组织(26.0%,13/50)和正常黏膜组织(2.0%,1/50)($P<0.05$);PCNA在癌组织中的阳性表达率为72.0%(36/50),高于癌旁组织(26.0%,13/50)和正常黏膜组织(4.0%,2/50)($P<0.05$)。流式细胞术检测PPARγ在鳞癌组织中的表达为(396.56±33.39),明显高于癌旁组织(333.36±15.93)及正常口腔黏膜组织(289.28±13.80)($P<0.05$)。PCNA在鳞癌组织中的表达为(543.11±41.55),明显高于癌旁组织(456.97±23.86)和正常口腔黏膜组织(409.40±40.07)($P<0.05$)。PPARγ和PCNA的表达与细胞分化程度、淋巴结转移均有相关性(PPARγ,r分别为0.497、0.392,$P<0.05$;PCNA,r分别为0.324、0.561,$P<0.05$),且二者在口腔鳞癌中的表达呈正相关。**结论** 口腔鳞癌组织中PPARγ和PCNA的表达均升高,可能与口腔鳞癌的发生、发展相关。

[关键词] 口腔肿瘤;鳞状细胞癌;过氧化物酶增殖物激活受体;增殖细胞核抗原

[中图法分类号] R730.23;R739.85 [文献标志码] A

Upregulation of PPARγ and PCNA in oral squamous cell carcinoma tissue and its clinical significance

Chen Yanping[1], Yang Kaicheng[1], Liang Yulin[2], Yang Huichai[3], Wang Xiaoling[3] ([1]Departmeng of Stomatology, [3]Department of Pathology, Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang, Hebei Province, 050011; [2]Departmeng of Stomatology, Luancheng Peoples' Hospital of Hebei Province, Shijiazhuang, Hebei Province, 052430, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the expression of peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPARγ) and proliferating cell nuclear antigen (PCNA) in oral squamous cell carcinoma (OSCC) tissue and its clinical significance. **Methods** SP immunohistochemical staining and flow cytometry were used to evaluate the expression levels of PPARγ and PCNA in the OSCC tissues, paracancerous mucosae (2 cm from the tumor margin), and normal mucosae (≥5 cm from the tumor margin, no microscopic cancer invasion) from 50 cases. **Results** The positive expression rate of PPARγ in OSCC tissues (68.0%, 34/50) was significantly higher than those in paracancerous mucosae (26.0%, 13/50) and normal mucosae (2.0%, 1/50) ($P<0.05$). The positive expression rate of PCNA in OSCC tissues (72.0%, 36/50) was significantly higher than those in paracancerous mucosae (26.0%, 13/50) and normal mucosae (4.0%, 2/50) ($P<0.05$). The flow cytometry result showed that the expression of PPARγ in OSCC tissues (396.56±33.39) was significantly higher than those in paracancerous mucosae (333.36±15.93) and normal mucosae (289.28±13.80) ($P<0.01$) and that the expression of PCNA in OSCC tissues (543.11±41.55) was significantly higher than those in paracancerous mucosae (456.97±23.86) and normal mucosae (409.40±40.07) ($P<0.01$). The high expression of PPARγ and PCNA was positively correlated with poor differentiation and lymph node metastasis of OSCC (the correlation coefficients of PPARγ were 0.497 and 0.392, $P<0.05$; the correlation coefficients of

[基金项目] 河北省普通高等学校强势特色学科(群)项目(冀教高[2005]52);河北省卫生厅科研基金项目重点科技研究计划(20100113)

[通信作者] 陈彦平,E-mail:cyp1962@126.com

PCNA were 0.324 and 0.561, $P<0.05$). There was a positive correlation between PPARγ expression and PCNA expression. **Conclusion** The expression of PPARγ and PCNA is increased in OSCC tissues, indicating that PPARγ and PCNA may be involved in the carcinogenesis and development of OSCC.

[**Key words**] oral neoplasm; squamous cell carcinoma; peroxisome proliferators-activated receptors; proliferating cell nuclear antigen

Supported by the Key Discipline Project of High Colleges and Universities of Hebei Province and the Key Sci & Tech Research Project of Science Reseach of Hebei Department of Public Health ([2005]52). Corresponding author: Chen Yanping, E-mail: cyp1962@126.com

鳞状细胞癌是严重威胁人类健康和生命的恶性肿瘤之一,颌面部的鳞癌约占口腔颌面部恶性肿瘤的80%(口腔恶性肿瘤约90%)以上[1-2]。尽管传统的肿瘤治疗水平不断提高,但目前口腔癌的早期诊断率和远期疗效仍不够理想,口腔颌面部鳞癌患者的5年生存率在60%左右[1]。故如何提高口腔癌的早期诊断、恶性程度分析以及预后判断仍是当今口腔癌研究的热点。本研究对过氧化物酶体增殖物激活受体(peroxisome proliferator-activated receptors, PPARγ)和增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)在口腔鳞癌中的表达进行免疫组织化学和流式细胞术(flow cytometry,FCM)检测,探讨其在口腔鳞癌进展和转移中的作用。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取2009年10月至2010年6月于河北医科大学第四医院口腔科就诊患者50例,其中男性29例,女性21例,年龄28~82岁,平均50.8岁,<45岁者17例,≥45岁者33例;病变位于舌、颊、腭、牙龈以及口底等部位,术前取病理已确诊为鳞状细胞癌,其中高分化者19例,中分化者18例,低分化者13例;有淋巴结转移者31例,无淋巴结转移者19例;所有患者术前均未接收任何治疗,标本均为术后立即取材,1份固定为4%甲醛溶液,待石蜡切片行免疫组织化学检测PPARγ和PCNA的表达;另一份固定于70%酒精,4℃保存,待流式细胞术行PPARγ和PCNA的蛋白定量分析。以上人体标本取材及全部实验过程已向伦理委员会提交伦理审查申请及相关材料,并得到伦理委员会同意。

1.2 主要试剂

PCNA鼠抗人单克隆抗体(产品编号:ZM-0213)、PPARγ鼠抗人单克隆抗体(产品编号:B-5)均购自北京中杉金桥生物技术有限公司,通用型S-P免疫组化试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司),DAB显色试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司)。

1.3 免疫组织化学

4 μm所取组织切片常规脱蜡至水,S-P法检测,按试剂盒说明书步骤操作进行,DAB显色,苏水精复染。选用PBS代替一抗作为空白对照。

1.4 流式细胞术检测

2种抗体稀释液浓度均为1∶50,采用美国Beckman Coulter公司生产的Epics2XL Ⅱ型流式细胞仪,通过间接免疫荧光标记法进行流式细胞检测。

1.5 结果判断标准

1.5.1 免疫组织化学 PPARγ和染色阳性为胞质出现棕黄色颗粒,PCNA为深黄褐色核表达。病变处随机选取10个高倍镜视野(×400),每个视野计数100个细胞,按阳性细胞所占的百分率分为:≤10%者为(-);>10%~25%者为(+);>25%~50%者为(++);>50%者为(+++)。计算阳性率:>25%者为阳性,≤25%为阴性。

1.5.2 蛋白表达定量分析 以对数方式采集数据,以实验样品蛋白表达的平均荧光强度表示各组蛋白的含量。

1.6 统计学方法

应用SPSS 13.0统计软件进行分析,采用t检验、χ^2检验和Spearman等级相关分析方法进行检验。

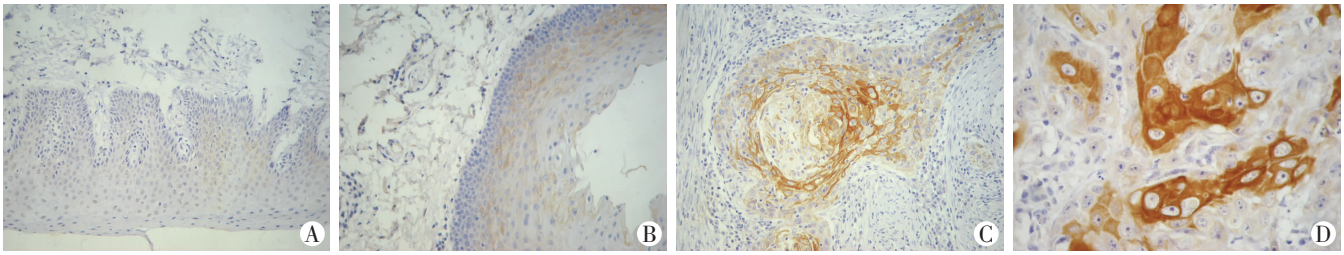
2 结果

2.1 PPARγ和PCNA在口腔鳞癌组织、癌旁及正常口腔黏膜组织中的表达

PPARγ阳性产物定位于细胞质,均呈棕黄色颗粒(图1)。PPARγ在癌组织中的阳性表达率为68.0%(34/50),高于癌旁组织(26.0%,13/50)和正常黏膜组织(2.0%,1/50)($P<0.05$);PCNA阳性产物定位于细胞核,为深黄褐色颗粒(图2),它在癌组织中的阳性表达率为72.0%(36/50),高于癌旁组织(26.0%,13/50)和正常黏膜组织(4.0%,2/50)($P<0.05$)。两者在癌组织、癌旁组织和正常黏膜组织的表达情况见表1。

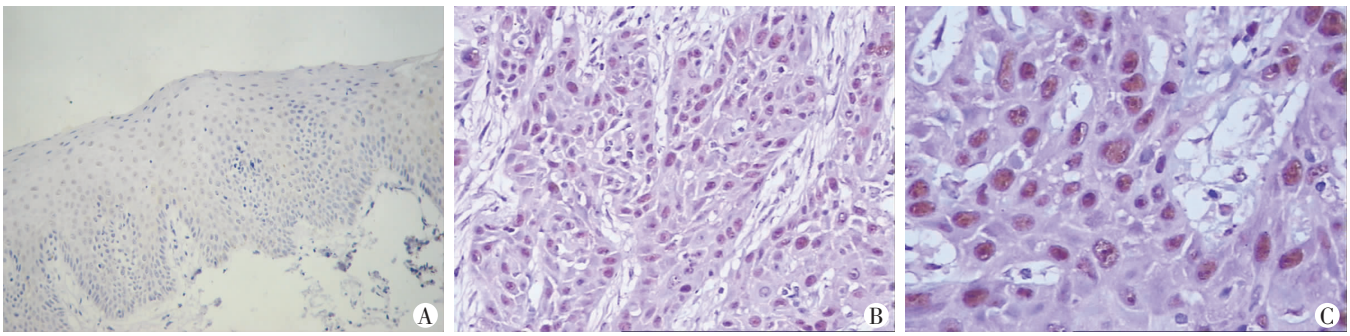
表1 不同类型口腔组织PPARγ和PCNA的免疫组化表达(例)

组织类型	n	PPARγ				P值	PCNA				P值
		-	+	++	+++		-	+	++	+++	
正常黏膜	50	41	8	1	0		45	3	1	1	
癌旁组织	50	12	25	9	4	0.000	12	25	11	2	0.000
鳞癌组织	50	3	13	19	15		4	10	19	17	



A:PPARγ在正常口腔黏膜组织中弱表达(×100);B:PPARγ在癌旁组织中阳性表达于细胞质(×100);C:PPARγ在鳞癌组织中的阳性表达于细胞质(×100);D:PPARγ在鳞癌组织中的阳性表达于细胞质(×400)

图1 免疫组化染色检测不同口腔鳞癌组织PPARγ的表达 (S-P)



A:PCNA在正常口腔黏膜组织中弱表达(×100);B:PCNA在鳞癌组织中的阳性表达于细胞核(×200);C:PCNA在鳞癌组织中的阳性表达于细胞核(×400)

图2 免疫组化染色检测正常黏膜组织与口腔鳞癌中PCNA的表达 (S-P)

2.2 PPARγ和PCNA在口腔鳞癌中流式细胞术检测结果

PPARγ和PCNA在口腔鳞癌组织、癌旁组织和正常黏膜组织的表达见表2,鳞癌组织明显高于癌旁组织及正常口腔黏膜组织,且3组之间差异有统计学意义($P<0.01$),与免疫组化结果相符合。

2.3 口腔鳞癌中PPARγ和PCNA的表达与病理及临床特征的关系

通过相关性分析,显示PPARγ蛋白表达与细胞分化程度、淋巴结转移均有相关性(r分别为0.497、0.392,$P<0.05$,表3);PCNA蛋白表达与细胞分化程度、淋巴结转移均有相关性(r分别为0.324、0.561,$P<0.05$,表3)。不同年龄、性别的患者PPARγ和PCNA蛋白的表达均无明显差异($P>0.05$,表4)。

表2 不同类型口腔组织PPARγ和PCNA蛋白表达 ($\bar{x}\pm s$)

因子	正常黏膜	癌旁组织	鳞癌组织	P
PPAR	289.28±13.80	333.36±15.93	396.56±33.39	0.000
PCNA	409.40±40.07	456.97±23.86	543.11±41.55	0.000

2.4 口腔鳞癌组织中PPARγ和PCNA表达的相关性

免疫组化结果显示,PPARγ和PCNA的表达成正相关($r=0.393$,$P=0.002$,表5)。同时,流式免疫荧光检测蛋白定量结果与组化蛋白表达结果相一致,PPARγ和PCNA蛋白定量的表达成正相关($r=0.482$,$P=0.032$)。

表3 50例口腔癌组织PPARγ和PCNA的表达与临床病理特征的关系 (例)

临床参数	n	PPARγ				r值	P值	PCNA				r值	P值
		−	+	++	+++			−	+	++	+++		
分化程度													
高	19	2	8	8	1			2	7	6	4		
中	18	0	5	8	5	0.497	0.000	1	3	8	6	0.324	0.022
低	13	1	0	3	9			1	0	5	7		
淋巴结转移													
无	19	2	9	5	3	0.392	0.005	3	10	3	3	0.561	0.000
有	31	1	4	14	12			1	0	16	14		

表4 50例口腔癌组织PPARγ和PCNA的表达与年龄及性别的关系（例）

临床参数	n	PPARγ				阳性率	P值	PCNA				阳性率	P值
		−	+	++	+++			−	+	++	+++		
性别													0.868
男性	29	2	8	12	7	65.5%		3	6	10	10	69.0%	
女性	21	1	5	7	8	71.4%	0.763	1	4	9	7	76.2%	
年龄													0.860
<45岁	17	2	5	6	4	58.8%		2	3	7	5	70.6%	
≥45岁	33	1	8	13	11	72.7%	0.583	2	7	12	12	72.7%	

表5 50例口腔鳞癌组织PPARγ和PCNA表达的相关性

PCNA	n	PPARγ				r值	P值
		−	+	++	+++		
−	4	1	1	2	0	0.393	0.002
+	10	1	5	2	2		
++	19	1	4	11	3		
+++	17	0	3	4	10		

3 讨论

口腔鳞癌是指发生于口腔内部的上皮来源的恶性肿瘤，其发生机制目前尚未完全明确。随着基因治疗的开展及细胞生物、分子生物现代医学的应用，诸多学者已致力于寻找在口腔癌发生、发展过程中有特异性的生化指标，探讨其作用，以达到提高癌症患者的早期诊断率及优化预后生存质量的目的。

PPAR属核激素受体超家族的成员，许多研究表明PPAR参与了动脉粥样硬化、炎症、肥胖、糖尿病、免疫反应和衰老等的病理生理过程[3]。PPAR包括α、β和γ 3种亚型，近年研究表明，γ亚型在许多人癌细胞系中高表达，如宫颈癌、乳腺癌、胃癌、结肠癌、肺癌、前列腺癌、食管癌等[4-7]，其配体能抑制肿瘤细胞的生长，并促使其凋亡[8]，其激动剂可以有效地预防肿瘤的发生。PCNA存在于细胞核中，在细胞增殖及DNA合成中起重要作用，PCNA的表达可以反映细胞的增殖活性[9]。

本研究结果显示，PPARγ和PCNA在口腔鳞癌中表达明显高于癌旁组织及正常口腔黏膜组织，其差异有统计学意义（$P<0.05$）；PPARγ和PCNA的表达与肿瘤细胞分化及淋巴结转移有相关性，细胞分化越低，二者表达越多，伴有淋巴结转移者显著高于不伴有淋巴结转移者。以上结果提示PPARγ和PCNA在调节细胞恶性表型以及促进口腔鳞癌的淋巴结转移中发挥了重要作用。刘江惠等[7]在食管癌关于PPARγ的研究中得出相似结论：食管鳞癌组织中的PPARγ表达率明显高于不典型增生组织和正常黏膜组织，且其高表达与细胞分化和淋巴结转移相关。但叶劲军等[4]在宫颈癌的研究发现PPARγ蛋白表达与临床分期和组织学分级没有明确的关系。因此关于PPARγ在肿瘤组织中的作用目前尚存在一定争议。但本实验关于PCNA的研究结果与其他大多数研究结论相符，如李向新等[10]在口腔鳞癌组织中研究表明PCNA在浸润前沿的表达明显高于非前沿部分。因此PPARγ和PCNA的高表达，预示着肿瘤细胞的高度恶性以及更高概率的复发和转移，临床上对于PPARγ和PCNA高表达的口腔鳞癌患者，术后需加强随访。

本实验结果显示PPARγ与PCNA在口腔正常黏膜组织、癌旁组织及鳞癌组织中的表达关系密切，二者呈正相关，提示两者在口腔鳞癌的发生、发展过程中有协同作用的可能，但其相互作用机制仍需进一步研究。

参考文献：

[1] 邱蔚六，张震康. 口腔颌面外科学[M]. 第5版. 北京：人民卫生出版社，2004：219-264.

[2] 殷蔚伯，谷铣之. 肿瘤放射治疗学[M]. 第3版. 北京：中国协和医科大学出版社，2002：450.

[3] 陈永熙，王伟铭，周同，等. PPAR-γ作用及其相关信号转导途径[J]. 细胞生物学杂志，2006，28(3)：382-386.

[4] 叶劲军，陆谔梅，黄键，等. PPARγ在子宫颈癌和子宫颈上皮内瘤样变中的表达及意义[J]. 肿瘤预防与治疗，2010，23(3)：199-202.

[5] 何晓燕，张敏，陈智超，等. PPAR-γ在肺癌中的表达及在肺癌凋亡中的作用研究[J]. 中国肺癌杂志，2006，9(1)：35-39.

[6] Nakamura Y，Suzuki T，Sugawara A，*et al*. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma in human prostate carcinoma[J]. Pathol Int，2009，59(5)：288-293.

[7] 刘江惠，李金梅，左连富，等. 食管鳞癌组织PPARγ和MMP-7蛋白表达临床意义的探讨[J]. 中华肿瘤防治杂志，2009，16(1)：40-43.

[8] 董育玮，王兴鹏. PPARs在消化道肿瘤发生中的作用及其机制[J]. 国外医学：消化系疾病分册，2002，22(2)：95-98.

[9] Bacchi C E，Gown A M. Detection of cell proliferation in tissue sections[J]. Braz J Med Biol Res，1993，26(7)：677-687.

[10] 李向新，蒋蕾，白玲，等. Livin和PCNA在口腔鳞癌浸润前沿中的表达和临床意义[J]. 徐州医学院学报，2010，30(11)：712-715.

（**收稿**：2011-02-18；**修回**：2011-04-23）

（编辑 张 维）