大肠癌组织 RhoE、p53 的表达及临床意义

孙柏林[1],刘 茜[2],杨 辉[1] (1. 重庆市建设医院内二科,重庆 400050; 2. 重庆市肿瘤医院病理科,重庆 400030)

[摘 要] **目的** 探讨凋亡抑制蛋白 RhoE、p53 蛋白在大肠癌组织中的表达与不同临床病理特征的关系,以及二者在大肠癌发生过程中的相关性。**方法** 采用免疫组织化学法检测48例大肠癌组织和30例正常肠组织中 RhoE、p53 蛋白的表达。**结果** 肠癌组织中 RhoE、p53 蛋白阳性表达率分别为14.58%和62.5%,较正常组织差异非常显著($P<0.01$);RhoE 蛋白表达与 Dukes 分期明显相关($P<0.01$)及淋巴结转移相关($P<0.05$);肠癌组织中 p53 与 RhoE 蛋白表达显著负相关($P<0.01$)。**结论** RhoE 在大肠癌组织中表达下调,并与大肠癌的 Dukes 分期密切相关,有可能作为判断病情和评价预后的新指标;RhoE 蛋白的表达与 p53 蛋白的表达呈负相关,提示 RhoE 与 p53 蛋白可能存在相关信号通路,有望为大肠癌基因治疗提供新的靶点。

[关键词] 大肠癌; RhoE; p53; 免疫组织化学

[中图分类号] R73;Q344.13 [文献标识码] A [文章编号] 1672-5042(2009)01-0006-03

Expression and clinical significance of RhoE and p53 in colorectal carcinoma tissue

SUN Bai-lin, LIU Qian, YANG Hui(The 2nd Medical Department, Jianshe Hospital, Chongqing 400050, China)

Abstract: Objective To investigate the expression of RhoE and p53 in colorectal carcinoma tissue and the relationship with clinic pathologic factors, and evaluate the relationship between expression of RhoE and p53 proteins. **Methods** Expression of the RhoE and p53 protein were evaluated by immunohistochemical assay in 48 colorectal carcinoma samples, 30 normal colorectal tissues. **Results** Expression of RhoE and p53 protein in colorectal carcinoma tissue were 14.58% and 62.5% respectively, which were significant difference ($P<0.01$). The up-regulation expression of RhoE was related to the Dukes stages ($P<0.01$) and lymph node metastases($P<0.05$). The expression of RhoE corelated with p53 expression ($P<0.01$). **Conclusion** The down-regulation expression of RhoE in colorectal carcinoma suggested that RhoE may play a role in the pathway of carcinogenesis. Expression of RhoE correlated with Dukes stages, which might be used to evaluate prognosis. The close relationship between the expression of RhoE and p53 indicate that these might be identified as a potential therapeutic target in colorectal carcinoma.

Keywords: colorectal carcinoma; RhoE; p53; immunohistochemistry

大肠癌(colorectal carcinoma,CC)是一种常见的消化道恶性肿瘤,各种癌基因突变激活及抑癌基因失活在大肠癌发生发展中起重要作用。目前,大量研究显示 RhoE 很可能是一种新的抑癌基因,但 RhoE 在大肠癌组织中的表达及与大肠癌患者临床病理相关因素的关系未见报道。本研究观测了 RhoE 在大肠癌组织中的表达,并分析其在大肠癌的发生、发展及转移中的作用。

1 材料与方法

1.1 材料

随机抽取重庆市肿瘤医院存档的1996年到2006年期间手术切除和病理证实的大肠癌标本48例,其中乳头状腺癌18例,管状腺癌22例,粘液腺癌8例;高分化腺癌26例,中分化腺癌16例,低分化腺癌6例;有淋巴结转移30例,无淋巴结转移18例。Dukes 分期:A 期和 B 期共32例,C 期与 D 期共16例,术前均未接受化疗和放疗。另选正常大肠组织30例作为对照。

1.2 试剂

鼠抗人 RhoE 多克隆抗体为中科院武汉分院惠赠,鼠抗人 p53 单克隆抗体、超敏 SP 试剂盒和 DAB 显色试剂盒购于北京中杉生物技术有限公司。

1.3 方法

蜡块切片(厚4 μm)后,采用链霉菌抗生物素蛋白-过氧化酶连接(SP)染色法检测 RhoE、p53 蛋白的表达。用 PBS 代替一抗作阴性对照,以已知阳性片作阳性对照。三种蛋白均采用37 ℃孵育1 h,再放入4 ℃冰箱过夜,DAB 显色,苏木素复染。

1.4 结果判断

RhoE 阳性反应为淡黄至棕黄色颗粒,位于胞浆,p53 蛋白阳性反应为棕黄至棕褐色颗粒,位于胞核。在此基础上,参照文献[1-2]评分方法,首先将染色强度评为1~4分,再按阳性细胞所占的百分比评为0~4分。染色强度与阳性细胞的分值相加,大于等于3分为阳性(+),每张切片选择有代表性的区

[作者简介] 孙柏林(1979-),男,湖北省建始县人,医师,学士,主要从事消化内科临床研究。电话:13512394671,E-mall:weiweite@163.com

[通迅作者] 刘 茜(1980-),女,湖北省建始县人,医师,硕士,主要从事肿瘤临床与基础研究。电话(023)86255271

[收稿日期] 2008-11-30 [修回日期] 2008-12-25

域,在400倍视野下计数,共计5个视野,取平均值。

1.5 统计学方法

所得数据用阳性率(%)表示,采用SPSS11.5软件进行卡方检验和Pearson相关分析。$P<0.05$为统计学相差显著。

2 结果

2.1 肠癌和正常肠组织中RhoE、p53蛋白的表达

阳性染色呈棕黄色,RhoE在肿瘤细胞的胞浆中表达,较弥散(图1);p53则在肿瘤细胞的胞核中表达(图2)。

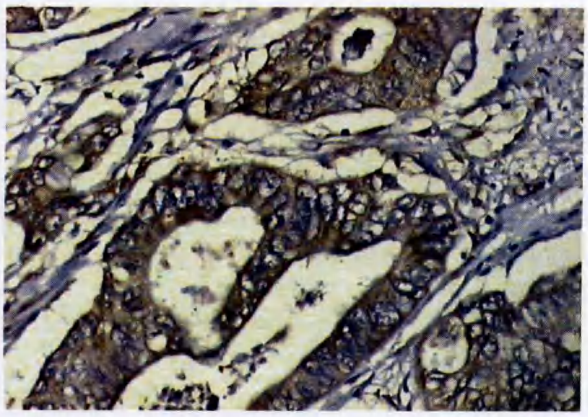


图1 RhoE在结肠管状腺癌中的表达(SP×200)

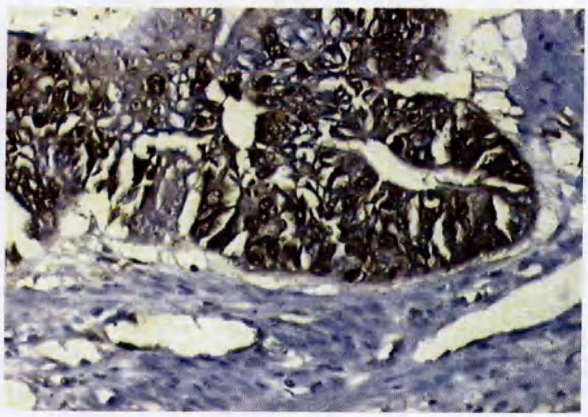


图2 p53在结肠管状腺癌中的表达(SP×200)

RhoE蛋白在肠癌组织中的表达率14.58%(7/48),在正常肠组织的表达率为60%(18/30),前者显著低于后者;p53蛋白在肠癌组织中的表达率达62.5%(30/48)。

2.2 RhoE、p53表达与肠癌临床病理分期的关系

在实验中,RhoE表达与Dukes分期显著相关($P<0.01$),且与淋巴结转移相关($P<0.05$);而p53则与Dukes分期、淋巴转移无相关性($P>0.05$),见表1。

2.3 肠癌中RhoE表达与p53表达的相关性

在48例肠癌组织中,有30例p53表达阳性,而在这30例中仅7例RhoE表达阳性。但在18例p53表达阴性的肠癌组织中,就有6例为RhoE表达阳性。经统计学分析得知,二者表达呈负相关($P<0.01$)。

表1 肠癌组织RhoE、p53表达与临床病理的关系

病理特征	n	RhoE		P值	p53		P值
		+	%		+	%	
组织学类型							
高分化	22	4	18.18	>0.05	14	63.64	>0.05
中分化	18	2	11.11		11	55.56	
低分化	8	1	12.5		5	62.5	
Dukes分期							
A+B	18	6	33.33	<0.01	13	72.22	>0.05
C+D	30	1	3.33		17	56.67	
淋巴结转移							
有转移	32	2	6.25	<0.05	19	19.4	>0.05
无转移	16	5	31.25		11	37.5	

3 讨论

RhoE是Rnd家族的一员,Rnd亚家族与Rho家族蛋白不同之处在于它们可以结合但不能水解GTP[3-5]。因此,RhoE在细胞的表达水平决定了RhoE的活性。RhoE的生物学功能之一就是可以调节肌动蛋白细胞骨架的重组,从而调节细胞的形态和细胞的迁移能力,在细胞的迁移、转移中具有重要的作用。采用基因芯片技术分析具有不同转移潜能的两个前列腺癌细胞系的基因表达谱,发现RhoE/Rnd3在具有高转移潜能的细胞系中表达水平显著增高,证实RhoE/Rnd3与肿瘤转移密切相关[6]。

近年的研究还表明RhoE还有抗肿瘤细胞增殖的作用,许多学者认为是一种新的抑癌基因。RhoE表达很广泛,但它在不同的细胞中表达水平有很大的差别。在分析良性前列腺组织和前列腺肿瘤患者的受累组织中RhoE/Rnd3的表达水平时发现前者较高,后者则表达水平较低甚至检测不到[7],然而RhoE在胰腺癌细胞和黑色素瘤中的表达却是升高的[8-9],这也表明RhoE在不同的细胞中发挥不同的作用。本实验发现,RhoE在大肠癌中的表达是升高的,说明RhoE在大肠癌的发生发展中可能发挥了一定的作用,对大肠癌的诊断有一定意义。同时发现RhoE与Ducks分期及淋巴结转移有关,检测RhoE水平可以作为预后的检测指标之一。

p53基因是一种肿瘤抑制基因,该基因编码一种分子量为53 kDa的蛋白质,命名为p53。p53基因的失活对肿瘤形成起重要作用。p53蛋白主要集中于核仁区,能与DNA特异结合,其活性受磷酸化调控。正常p53在G1期检查DNA损伤点,监视基因组的完整

性。如有损伤,p53蛋白阻止DNA复制,以提供足够的时间使损伤DNA修复;如果修复失败,p53蛋白则引发细胞凋亡。用免疫组化方法检测到的是p53蛋白突变型。Ongusaha[10]的研究表明存在p53/RhoE/ROCKI信号通路,RhoE是一个新的p53的靶基因,且RhoE沉默的细胞显示应对DNA损伤的凋亡倾向增加。本研究也显示RhoE在大肠癌组织中的表达与p53的表达呈负相关,间接证实了这一信号通路的存在。

综上所述,本文得出以下结论:RhoE在大肠癌组织中表达下调,说明RhoE可能是通过抑制大肠癌细胞的凋亡,从而在肠癌的发生、发展中发挥作用。RhoE表达与大肠癌Ducks分期密切相关,有可能作为判断病情和评价预后的新指标。RhoE的表达与p53蛋白的表达呈负相关,说明RhoE蛋白与p53蛋白有相关信号通路存在,有助于为大肠癌的基因治疗找寻新的靶点。

[参考文献]

[1] Torm anen-Napankangas U, Soini Y, Kahlosa K, et al. Expression of caspases-3,-6 and their relation to apoptosis in non-small cell lung carcinoma[J]. Cancer, 2001, 93(2): 192-198.

[2] Ikehara M, Oshita F, Kameda Y, et al. Expression of surviving correlated with vessel invasion is a marker of poor prognosis in small adenocarcinoma of the lung[J]. Oncol Rep, 2002, 9(4): 835-838.

[3] Foster R, Hu KQ, Lu Y, et al. Identification of a novel human Rho protein with unusual properties: GTPase deficiency and in vivo farnesylation[J]. Mol Cell Biol, 1996, 16(6): 2689-2699.

[4] Nobes CD, Lauritzen I, Mattei MG, et al. A new member of the Rho family, Rnd1, promotes disassembly of actin filament structures and loss of cell adhesion[J]. J Cell Biol, 1998, 141(1): 187-197.

[5] Guasch RM, Scambler P, Jones GE, et al. RhoE regulates actin cytoskeleton organization and cell migration[J]. Mol Cell Biol, 1998, 18(8): 4761-4771.

[6] Trojan L, Schaaf A, Steidler A, et al. Identification of metastasis associated genes in prostate cancer by genetic profiling of human prostate cancer cell lines[J]. Anticancer Res, 2005, 25(1A): 183-191.

[7] Bektic J, Pfeil K, Berger AP, et al. Small G-protein RhoE is under expressed in prostate cancer and induces cell cycle arrest and apoptosis[J]. Prostate, 2005, 64(4): 332-340.

[8] Gress TM, Muller-Pillasch F, Geng M, et al. A pancreatic cancer-specific expression profile[J]. Oncogene, 1996, 13(8): 1819-1830.

[9] van-Groningen JJ, Cornelissen IM, van-Muijen GN, et al. Simultaneous suppression of progression marker genes in the highly malignant human melanoma cell line BLM after transfection with the adenovirus-5 E1A gene[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1996, 225(3): 808-816.

[10] Ongusaha PP, Kim HG, Boswell SA, et al. RhoE is a pro-survival p53 target gene that inhibits ROCK 1-mediated apoptosis in response to genotoxic stress[J]. Curr Biol, 2006, 16(24): 2466-2472.

(编辑:文 灿)

脊柱手术后防治脑脊液漏的护理

黄崇平 (百色市人民医院骨科,广西 百色 533000)

[关键词] 脊柱手术;脑脊液漏;护理
[中图分类号] R681.5; R473.6 [文献标识码] B [文章编号] 1672-5042(2009)01-0008-01

脑脊液漏是脊柱手术后并发症之一,持续脑脊液漏会阻碍切口愈合,如果治疗不及时或处理不当,可致伤口不愈、伤口感染,甚至椎管内感染。我科自2005年以来共行脊柱手术346例,术后并发脑脊液漏7例。由于及时发现,并采取正确的处理与针对性的护理方法,取得了满意的效果。现报告如下。

1 临床资料

本组术后并发脑脊液漏7例,男性5例,女性2例,年龄26~68岁,平均年龄45.3岁。脑脊液漏均发生于腰段,发生的时间为术后1~3 d,均为保守治疗后治愈,脑脊液漏停止时间为4~8 d,平均4 d,无1例发生脑脊髓膜炎。

2 护理

2.1 严密观察病情

术后监测体温、脉搏、呼吸、血压每小时测1次,直至平稳。观察病人有无头昏、头痛、腰痛、颈项强直等症状,同时保持病室空气流通,光线良好,温度、湿度适宜。脊柱手术后一般放置引流管,保持引流通畅,密切观察和记录引流液的性质和量,早期发现脑脊液漏可以通过观察切口引流液进行诊断。术后24 h内引流液为血性液体,一般不超过300 mL,术后第3天逐渐减少。若24 h后引流液明显增加,色稀薄,为淡红色或淡黄色,可考虑为脑脊液漏的可能。鉴别脑脊液漏的方法为:将一滴引流液滴于纱布上,若血迹周围出现淡红色血晕即为脑脊液[1]。

[收稿日期] 2008-11-17 [修回日期] 2008-12-15

(下转第13页)