维普资讯 http://www.cqvip.com

第23卷 第3期 重庆医科大学学报 Vol.23 No.3
1998 ACTA UNIVERSITATIS SCIENTIAE MEDICINAE CHONGQING 1998

增殖相关核抗原的研究进展

临床学院普外科 杨 培* 综述 罗亿治 审校

中图分类号 R735.7

细胞动力学的研究对深入了解细胞生长、损伤后组织的修复认识及恶性肿瘤的发生、发展等有很重要的意义。分化受阻而生长失去抑制是恶性肿瘤细胞的特征之一。研究表明:在许多类型肿瘤中,细胞的增殖活性与肿瘤的转移潜能、复发及预后密切相关[1]。因此,对肿瘤细胞增殖活性的准确评估有助于更好地理解肿瘤生物学行为,指导临床治疗,推测治疗效果。增殖相关核抗原是指与细胞增殖活性密切相关的一类核内抗原,应用不同类型的单克隆抗体通过免疫组化方法检测相应的核抗原,藉以反映细胞增殖状况,是近年来研究的热点之一。由于该方法具有简便易行、快速准确、可重复的优点,且能作为常规检测手段及进行回顾性研究,故正为越来越多的研究者所接受。本文拟将这方面的研究进展作一概述。

1 几种重要核抗原的性质与特点

1.1 Ki-67抗原

虽然Ki-67单克隆抗体已被广泛应用于医学研究,但它所识别的抗原性质长期未能阐明。曾有研究认为Ki-67抗原可能是DNA异物酶Ⅱ型,DNA多聚酶α或核糖体SI蛋白质,但均未得以证实。1991年Gerdes等[2]运用免疫生化及分子生物学技术研究发现:Ki-67抗原是一种由多条肽链组成的非组蛋白核蛋白,其中两条主链的分子量分别为345KD和395KD。Ki-67蛋白含有许多脯氨酸-谷氨酸-丝氨酸-苏氨酸(PEST)片段,因此,它可以很快被降解,半衰期短。编码Ki-67抗原的基因位于第10号染色体长臂上(10q25)[3],其结构目前仍不清楚,但Gerdes等成功地分离出一段含有1095个碱基对的cDNA片段,其中包含62个碱基对的一段重复序列被认为可能是编码Ki-67抗原决定族的基因[2]。

Ki-67抗原仅存在于增殖期细胞中,在G1中期开始表达并逐渐增加,G2和M期达到高峰,而G0和G1早期则无表达。利用这一特性,Ki-67抗原可作为反映细胞增殖状况较好的指标之一。目前对Ki-67抗原在细胞周期中的具体功能了解尚少。

自Gerdes等制备出鼠源性单克隆抗体Ki-67以来,它已成国检测增殖期细胞的有力工具之一。但Ki-67只能用于冰冻切片,这就极大地限制了它的应用价值[4]。1993年Key等[5]运用杂交瘤技术制备出三种新的单克隆抗体,分别命名为MIB1、MIB2、MIB3。实验分析表明:MIB1、MIB3与Ki-67识别的是相同或非常相似的抗原决定族,在用微波技术处理标本、修复抗原后,MIB1和MIB3能用于石蜡切片的研究[6]。因此,使用这两种新抗体,使研究范围大为拓宽,并使回顾性研究成为可能。新抗体的出现解决了Ki-67长期存在的局限性,为深入了解Ki-67抗原的性质、功能提供了有用的工具,在临床病理学上具有广阔的应用前景。

1.2 增殖细胞核抗原(Proliferating Cell Nuclear Antigen, PCNA)

Miyachi等在研究系统性红斑狼疮(SLE)的过程中首先发现了PCNA。1984年,M'athews等证实PCNA和周期素(cyclin)是同一物质。1987年,Bravo研究表明PCNA是DNA多聚酶δ的辅助因子。PCNA是一种分子量为36KD的酸性非组蛋白核蛋白,由261个氨基酸组成,富含天冬氨酸和谷氨酸,性质稳定,半衰期约为20小时。免疫荧光分析证实核内存在两种类型PCNA:一种较均匀地分布在核质内,仅与核结构疏松结合或呈游离状态,经甲醇或去污剂处理后可消失,此种类型占总量的70-80%;另一种PCNA与DNA复制位点紧密结合形成稳定的复合体,该复合体可能在G1/S期装配,在S期末分开,此种类型占总量的20-30%,且不被甲醇等物质破坏。只有后一类型与DNA复制有关[7]。

编码PCNA的基因已被克隆,共包含9461个碱基对,其中有大量的重复序列。PCNA基因虽然在静止细胞和增殖细胞中均有转录,但PCNA mRNA仅在增殖细胞中才能聚合[8]。实验证明:基因中内含子4的存在是造成静止细胞中缺乏稳定的PCNA mRNA的原因[9]。多种细胞因子能影响PCNA的表达,其机理可能就是引起PCNA mRNA的聚合,从而促进PCNA合成[10]。

PCNA的表达与细胞周期有关,在G1末期开始增多,S期达到高峰,G2期开始减少,M期水平极低。因此,在正常的细胞周期中,PCNA的表达与DNA复制有关。多数学者认为它是反映S期的标志物之一,但亦有作者认为在细胞周期中PCNA的总体水平变化不大,与复制有关的PCNA所占的比例则有很大变化,特别是在S期。PCNA是DNA合成及细胞周期顺利进行所必需的蛋白质之一,其具体的作用机制尚不清楚,可

* 男,1972-11出生,硕士生

维普资讯 http://www.cqvip.com

能是作为DNA多聚酶δ的辅助蛋白质，协调DNA前导链和后随链的合成[11]。用PCNA的反义寡聚脱氧核苷酸处理培养的Balb/c 3T3细胞株后，细胞周期和DNA合成被抑制，说明PCNA在DNA复制中的重要性。此外，在DNA损伤修复过程中，PCNA也发挥着重要作用[12]。

目前已制备出多种识别PCNA的单克隆抗体，其中部分抗体(如PC10)可用于常规甲醛固定、石蜡包埋的组织切片，使回顾性研究成为可能[13]。PCNA免疫组化检测法只能进行半定量。近来有人采用免疫组化与图像分析技术相结合的方法，使定量研究成为可能[14]。

1.3 Ki－SI抗原

Ki－SI抗原是一种分子量为160KD的核蛋白，流式细胞仪分析发现它仅在周期细胞中存在。G2/M期含量达到高峰。Ki－SI抗原的具体功能尚不清楚。Ki－SI单克隆抗体是用人淋巴瘤细胞株U937的核提取物免疫BALB/C小鼠而获得的一种IgG类抗体，已开始应用于肿瘤研究，目前文献报道不多[15,16]。

1.4 DNA多聚酶α

DNA多聚酶α是DNA复制过程中的关键酶之一，G1、S、G2期时存在于增殖细胞核内，M期时存在于细胞浆中。它的检测由于需用新鲜组织和冰冻切片而受到限制[17]。

2 增殖相关核抗原在肿瘤临床上的应用

增殖相关核抗原的检测已应用于主要包括恶性肿瘤在内的各项研究之中。新的核抗原及单克隆抗体的不断问世，使这一领域的研究更为活跃。Isozaki等[18]研究了125例胃癌中PCNA的表达与淋巴结转移的关系发现：有淋巴结转移的病例PCNA阳性率(47.6%)明显高于无淋巴结转移者(24.3%，$P<0.0001$)，而且转移灶PCNA阳性率(44.6%)高于原发灶(40.0%，$P<0.05$)。以上结果提示：胃癌细胞增殖活性越高，淋巴结转移阳性率相应升高。因此，术前对胃癌活检标本(特别是早期胃癌)进行增殖活性的检测，对手术方式、范围的选择有一定的指导意义。癌胚抗原的(CEA)是以结肠腺癌组织中分离出来的一种α糖蛋白，主要用于监测术后肿瘤有无复发和治疗的效果。Nakamura等[19]对大肠癌中CEA和PCNA表达的关系进行了深入探讨，结果表明：CEA水平与PCNA标记指数之间有良好的相关性($y=0.508$，$P<0.001$)。CEA水平和PCNA标记指数越高，术后病人生存率越低，提示二者可用于预测肿瘤的进展及患者预后。于士柱等[20]对四组恶性程度不等的原发性脑肿瘤同时进行Ki－67抗原和PCNA免疫组化染色发现：Ki－67抗原和PCNA阳性率均为100%，两种阳性细胞密度均随肿瘤恶性程度增加而升高，并与肿瘤体积呈正相关，提示二者的表达能较客观地反映脑肿瘤的增殖速度和恶性程度。Ki－67还广泛应用于乳腺肿瘤的评价，其表达与乳癌临床分期、组织分型、血管浸润、腋窝淋巴结状态以及类固醇受体的表达等有关，有人认为它可作为反映乳癌预后的独立指标之一[21,22]。

3 增殖相关核抗原应用的前景展望

增殖相关核抗原的检测为准确判断细胞增殖活性提供了一种简便、快速的方法，更因可应用于石蜡切片而使回顾性研究成为可能。与流式细胞仪等其它方法相比，结果的一致性较好[23,24]。但目前仍有不少亟待解决的问题：如组织的固定、保存对染色有一定的影响，特别是PCNA染色[25]；肿瘤异质性的影响未能完全消除；结果统计的标准尚不统一；部分文献报道有不一致之处等[26]。相信随着研究的深入，该方法会日趋完善。增殖相关核抗原免疫组化检测法有望在不久的将来作为实验室常规检查项目之一而在各地开展。

参考文献

1.Hall PA, et al. J Clin Pathol. 1990;43:184
2.Gerdes J, et al. Am J Pathol. 1991;138:867
3.Fonatsch C, et al. Genomics 1991;11:476
4.Brown DC, et al. Histopathology 1990;17:489
5.Key G, et al. Lab Invest 1993;68:629
6.Shi S－R, et al. J Histochem Cytochem 1991;39:741
7.Bravo R, et al. J Cell Biol 1987;105:1549
8.Chang CD, et al. Mol Cell Biol 1990;10:3289
9.Ottavio L, et al. Mol Cell Biol 1990;10:303
10.Monaghan P, et al. Cell Biol Int Rep 1991;15:561
11.Fairman MP. J Cell Sci 1990;94:1
12.Shivji Mkk, et al. Cell 1992;69:345
13.Wasseem NH, et al. J Cell Sci 1990;96:121
14.张新立，等.第三军医大学学报 1996;18(1):36
15.Sampson SA, et al. J Pathol 1992;168:179
16.Kreipe H, et al. Am J Pathol 1993;142:651
17.Yamaguchi A, et al. Br J Cancer 1992;65:421
18.Isozaki H, et al. J Surg Oncology 1996;61:106
19.Nakamura T, et al. Cancer 1996;77:1741
20.于士柱，等.中国肿瘤临床 1997;24(4):264
21.Wintzer HO, et al. Cancer 1991;67:421
22.Leonardi E, et al. J Clin Pathol 1992;45:416
23.Dawson AE, et al. Am J Pathol 1990;136:1115
24.Weidner N, et al. Hum Pathol 1994;25:337
25.Takahashi H, et al. Acta Pathol Jpn 1992;42:621
26.Chapel F, et al. Cancer 1996;77:864

(收稿日期 1997－12－15)