DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.01.039
第24卷第1期 第三军医大学学报 Vol. 24, No. 1
90 2002年1月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jan. 2002

论著

文章编号:1000-5404(2002)01-0090-03

$P16^{MTS1}$、$P27^{KIP1}$基因在胆管癌组织中的表达研究

罗昆仑,马宽生,何振平,王曙光,董家鸿 (第三军医大学附属西南医院全军肝胆外科研究所,西南肝胆外科医院,重庆,400038)

提 要:目的 探讨$P16^{MTS1}$、$P27^{KIP1}$基因与胆管癌临床病理的关系。方法 采用免疫组化方法,检测48例胆管癌和8例伴慢性炎症的胆管壁组织中$P16^{MTS1}$、$P27^{KIP1}$蛋白表达情况。结果 ①胆管癌中$P16^{MTS1}$、$P27^{KIP1}$阳性表达率分别为47.9%和35.4%,而伴炎症的胆管组织阳性表达率为100%和87.5%;②$P16^{MTS1}$、$P27^{KIP1}$蛋白表达与胆管癌的分化程度、有无淋巴结或远处转移以及临床分期呈显著相关性。结论 $P16^{MTS1}$、$P27^{KIP1}$多基因表达异常可能与胆管癌的发生发展有关,是衡量胆管癌预后的有用指标。

关键词:胆管癌 $P16^{MTS1}$ $P27^{KIP1}$免疫组织化学
中图法分类号:R394.3;R735.802 文献标识码:A

Expressions of $P16^{MTS1}$ and $P27^{KIP1}$ in cholangiocarcinoma

LUO Kun-lun, MA Kuan-sheng, HE Zhen-ping, WANG Shu-guang, DONG Jia-hong (Institute of Hepatobiliary Surgery, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To study the $P16^{MTS1}$ and $P27^{KIP1}$ expressions in human cholangiocarcinoma tissues and their relationship with clinical pathology. Methods The expressions of $P16^{MTS1}$ and $P27^{KIP1}$ were examined in 48 samples of cholangiocarcinoma tissues with pathological confirmation and 8 specimens of bile duct with chronic inflammation were determined with immunohistochemical method. Results The expression rates of $P16^{MTS1}$ and $P27^{KIP1}$ were 47.9% and 35.4% respectively in cancerous tissues, but 100% and 87.5% in normal bile duct tissues with chronic inflammation. The expressions of $P16^{MTS1}$ and $P27^{KIP1}$ had a significantly correlation with differentiation, lymph node or distant metastases, and clinical stage of cholangiocardinoma. Conclusion Our results suggest that aberrant expressions of $P16^{MTS1}$ and $P27^{KIP1}$ may be associated with the incidence and development of cholangiocarcinoma and can be regarded as prognostic markers.

Key words: cholangiocarcinoma; $P16^{MTS1}$; $P27^{KIP1}$; immunohistochemistry

细胞生长增殖及分化受一系列细胞周期正负调节因子的调控,这些调节因子通过相互作用以保证细胞周期的正常进行。当它们发生突变或失活时,可使正常细胞周期调控发生紊乱,最终导致癌变。$P16^{MTS1}$基因属P16家族成员,特异性地抑制CDK4/6活性,从而阻止细胞周期停滞于G_1期。至今的研究表明,$P16^{MTS1}$、$P27^{KIP1}$基因均具有抑癌基因的作用,但在胆管癌中的表达及其作用,国内外研究甚少。本研究通过对48例胆管癌中$P16^{MTS1}$、$P27^{KIP1}$基因的表达研究,探讨它们与胆管癌临床病理的关系。

1 临床资料与方法

1.1 临床资料

选择第三军医大学附属西南医院和解放军第101医院1989~1998年手术切除并经病理证实的胆管癌标本48例;其中29例有转移,转移部位包括肝、胆囊、肠系膜、胰腺等;平均中位年龄48.7岁(29~70岁)。按临床分期,Ⅰ期8例,Ⅱ期17例,Ⅲ期10例,Ⅳ期13例。非胆管癌标本8例,取自慢性炎症的胆管壁组织。S-P试剂盒购于美国Zymed公司,$P16^{MTS1}$、$P27^{KIP1}$基因单克隆抗体购自美国Sigma公司,工作浓度为1∶100。

1.2 方法

上述标本均经10%甲醛固定,常规石腊包埋,5 μm连续切片,采用S-P法检测$P16^{MTS1}$、$P27^{KIP1}$蛋白表达。判定标准参照Anttia[1]的方法进行,在光镜400倍视野下,取10个肿瘤区域,计数肿瘤细胞中的阳性细胞数,以百分率计算。$P16^{MTS1}$、$P27^{KIP1}$蛋白表达:不足5%为阴性,5%~50%为阳性,超过50%为强阳性。

1.3 统计学处理

结果采用χ^2检验进行统计学分析。

2 结果

2.1 $P16^{MTS1}$、$P27^{KIP1}$蛋白表达定位分布和阳性率

$P16^{MTS1}$、$P27^{KIP1}$蛋白阳性物质呈棕黄色颗粒状染色,主要位于肿瘤及正常上皮细胞胞浆,少数病例核浆同时着色。在胆管癌组织中,$P16^{MTS1}$、$P27^{KIP1}$蛋白阳性表达率分别为47.9%(23/48)和35.4%(17/48),慢性炎症的胆管壁组织中的阳性率分别为100%(8/8)和87.5%(7/8),与胆管癌组织中$P16^{MTS1}$、$P27^{KIP1}$蛋白表达率相比差异有显著意义($P<0.05$)。

2.2 $P16^{MTS1}$、$P27^{KIP1}$蛋白表达与胆管癌临床病理的关系

$P16^{MTS1}$、$P27^{KIP1}$阳性表达主要集中在分化较好、无淋巴结转移和临床分期Ⅰ~Ⅱ期的病例中,而与患者年龄、性别、肿瘤大小、部位以及组织分类等无关。$P16^{MTS1}$、$P27^{KIP1}$蛋白共同表达缺失的病例达10例,其病例存在分化差、淋巴结转移率高的特点,结果见表1,图1~2。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39770727)
作者简介:罗昆仑(1965—),男,江苏省无锡市人,博士,主治医师,讲师,主要从事胆道肿瘤的临床与实验方面的研究,发表论文15篇。电话:13861445436
收稿日期:2001-07-30;修回日期:2001-12-07

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 1　胆管癌临床病理指标与 $P16^{MTS1}$、$P27^{KIP1}$蛋白表达的关系

Tab 1　Relationship of clinical pathological parameters of cholangiocarcinoma and the expressions of $P16^{MTS1}$ and $P27^{KIP1}$

Category	Number	Positive expression of $P16^{MTS1}$(%)	Positive expression of $P27^{KIP1}$(%)
Gender			
Male	28	14(50.0)	9(32.1)
Female	20	9(45.0)	8(40.0)
Age			
＜50	27	12(44.4)	12(44.4)
≥50	21	11(52.4)	5(23.8)
Location of Tumor			
Top Upside	27	13(48.1)	10(37.0)
Middle Mid	9	4(44.4)	3(33.3)
Lowre Low	10	4(40.0)	3(30)
Middle	2	2(100.0)	1(50)
Types of Histology			
Low Adenocarcinoma	34	17(50.0)	13(38.2)
Papilla Adenocarcinoma	8	3(37.5)	2(25.0)
Mucus adenocarcinioma	5	3(60.0)	2(40.0)
Gahd Squama Carcinoma	1	0(0)	0(0)
Degrees of Differentiation			
Well	25	16(64*)	13(52.0*)
Woderate Mid	14	5(35.7)	3(21.4)
Poor Low	9	2(22.2)	1(11.1)
Lymph node or Beydistantond matastasis			
Yes	29	8(27.6*)	6(20.7**)
No	19	15(78.9)	11(57.9)
Clonical Stages			
Ⅰ～Ⅱ	25	16(64.0*)	12(48.0*)
Ⅲ～Ⅳ	23	7(30.4)	5(21.7)

*: $P<0.05$, **: $P<0.01$

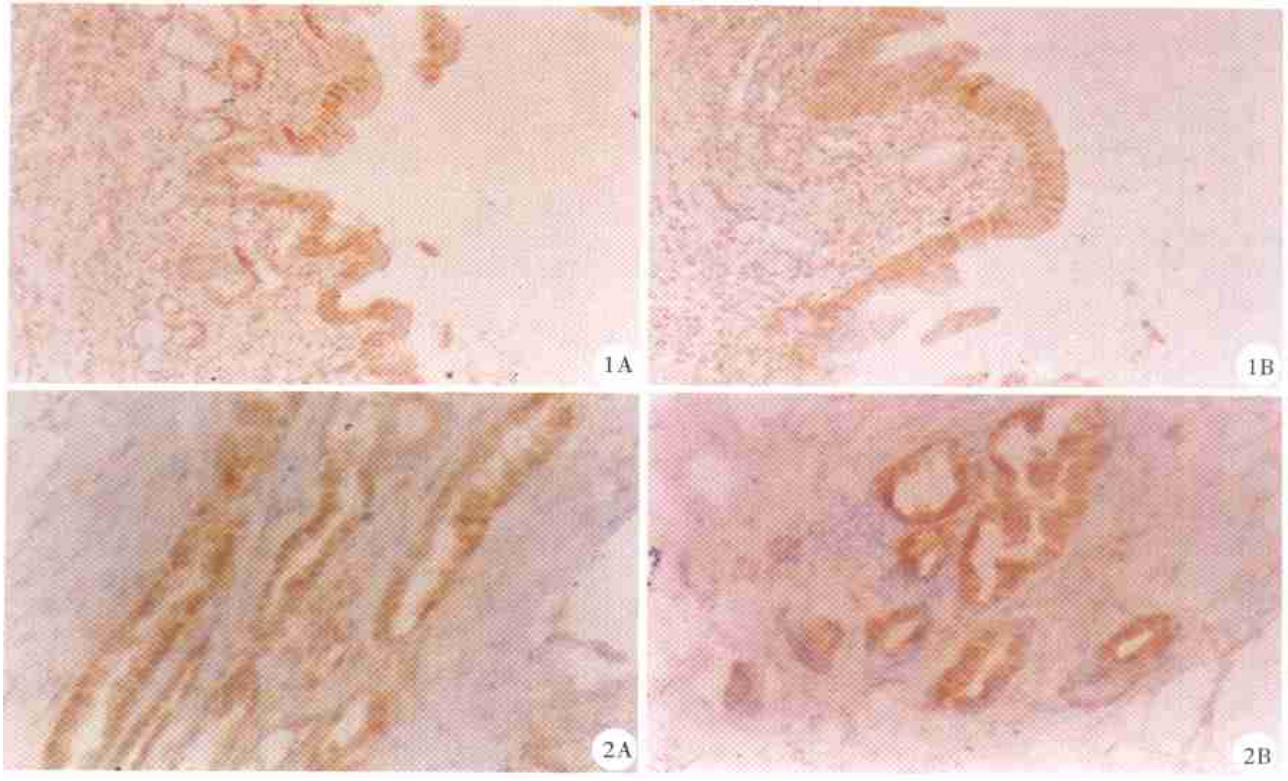


图 1　慢性炎症的胆管壁组织 $P16^{MTS1}$（1A）、$P27^{KIP1}$（1B）阳性表达　（S-P×100）

Fig 1　Positive expressions of $P16^{MTS1}$(1A) and $P27^{KIP1}$(1B) in normal bile duct well with chronic inflammation　(S-P× 100)

图 2　中分化胆管腺癌 $P16^{MTS1}$（2A）、$P27^{MIP1}$（2B）阳性表达　（S-P× 200）

Fig 2　Positive expressions of $P16^{MTS1}$(2A) and $P27^{KIP1}$(2B) in moderate-differentiated cholangiocarcinoma　(S-P× 200)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

3 讨论

$P16^{MTS1}$ 基因缺失、突变或高度甲基化可致细胞周期调控机制失衡，将导致细胞过度增殖，甚至癌变。而 $P16^{MTS1}$ 基因转染有 $P16^{MTS1}$ 基因异常的神经胶质瘤细胞株和肺胶质瘤细胞株后，细胞生长明显受抑，其转染细胞株裸鼠致瘤性能力明显降低[2]。这些研究表明，$P16^{MTS1}$ 基因是一个抑癌基因，恢复其野生型 $P16^{MTSl}$ 基因可改变肿瘤细胞的遗传特性。

本实验显示，$P16^{MTS1}$ 基因在胆管癌中的表达显著低于慢性炎症的胆管壁组织中的表达。此外，$P16^{MTS1}$ 基因蛋白表达缺失率与胆管癌的分化程度、临床分期及淋巴结转移显著相关。结果表明，$P16^{MTS1}$ 基因突变或失活可能在胆管癌的发生发展中起重要作用，胆管癌病例中出现 $P16^{MTS1}$ 基因蛋白表达异常者常预示其预后较差。

对 $P27^{KIP1}$ 的研究刚刚开始，初步研究表明：$P27^{KIP1}$ 基因很少发生突变，在肿瘤发生发展中的作用主要与其蛋白表达改变有关。人们在对大肠癌、胃癌等的研究中经多变量分析发现，$P27^{KIP1}$ 基因是一个较好的独立预后指标[4]，是一个极具前景的抑癌基因，但也有不同的报道。Esposito 等[5] 发现，$P27^{KIP1}$ 蛋白的表达缺失或降低与肿瘤的复发及预后有重要关联。Cheng 等[6] 将外源性 $P27^{KIP1}$ 基因转染星形胶质瘤细胞株，并获得过度表达时，细胞株恶性表型明显降低，其裸鼠致瘤性丧失。这些均表明，$P27^{KIP1}$ 基因也是一个极具前景的抑癌基因。Lioyd 等[7] 发现在肝癌、骨肉瘤中 $P27^{KIP1}$ 基因呈高表达，而在相应的正常组织中表达较低，这提示 $P27^{KIP1}$ 基因有其组织特异性。

本实验应用免疫组化方法测定 48 例胆管癌的 $P27^{KIP1}$ 蛋白表达水平，结果显示 $P27^{KIP1}$ 在高、中分化胆管癌中的阳性表达率明显高于低分化的胆管癌（11.1%），两者差异显著（$P<0.05$）在有淋巴结转移的病例中，其阳性表达率（20.7%）显著低于无转移的胆管癌病例中（$P<0.05$）。结果表明，$P27^{KIP1}$ 蛋白的表达缺失或低表达与胆管癌的发生发展有重要关联，$P27^{KIP1}$ 阴性表达预示胆管癌恶性程度较高，并多伴有淋巴结转移，可作为判断胆管癌预后的有用指标[4]。

值得注意是在本研究中发现 $P16^{MTS1}$、$P27^{KIP1}$ 蛋白共同表达缺失的病例达 10 例，其病例存在分化差、淋巴结转移率高的特点，提示 $P16^{MTS1}$、$P27^{KIP1}$ 基因之间的相互作用在胆管癌的发生发展中具有协调作用[8]。以上结果表明 $P16^{MTS1}$、$P27^{KIP1}$ 基因与胆管癌的发生发展有重要关联，并可能在其中具有协同效应。CDK 抑制剂如 $P16^{MTS1}$、$P27^{KIP1}$ 基因的表达缺失或降低预示胆管癌恶性程度高，预后较差。因此对 $P16^{MTS1}$、$P27^{KIP1}$ 基因表达缺失的胆管癌病人应采取更为积极的治疗措施。

参考文献：

[1] Anttia M A, Kosma V A, Hongxiu J, *et al*. P21WAF1 expression as related to p53, cell proliferation and prognsis in in epithelial ovarian cancer[J]. Br J Cancer, 1999, 79(1): 170－178.

[2] Arap W, Nishikama K, Furnari F B, *et al*. Replacement of the p16/CDKN2 gene suppress human glioma cell growth[J]. Cancer Res, 1995, 55(7): 1 351－1 354.

[3] Herman J G, Merlo A, Mao L, *et al*. Inactivation of CDKN2/p16/MTS1 gene is frequently associated with aberrant DNA methylation in all commun human cancer[J]. Cancer Res, 1995, 55(20): 4 525－4 530.

[4] Loda M, Cukor B, Tam S W, *et al*. Increased proteasome-dependant degradation of cyclin-dependant kinase inhibitor p27 inagreessive coloreactal carcinomas[J]. J Nat Med, 1997, 3(1): 231－234.

[5] Esposito V, Baldi A, De Luca A, *et al*. Prognostic role of the cyclin-dependant kinase inhibitor p27 in non-small cell lung cancer[J]. Cancer Res, 1997, 57(18): 3 381－3 385.

[6] Cheng J, Williaghan T, Shuford M, *et al*. Cell cycle regulators and human hepatlcarcinogenesis[J]. Hepatogastroenterology, 1998, 45(23): 1 635－1 645.

[7] Lioyd R V, Jin L, Qian X, *et al*. Aberrant p27kip1 expression in endocrine and other tumor[J]. AM J Pathol 1997, 150(2): 401－407.

[8] Reynisdottir I, Polyak K, Iavarone A, *et al*. Kip/Cip and Ink4 cdk inhibitors cooperate to induce cell cycle arrest in response to TNF-β[J]. Genes Dev, 1995, 9(15): 1 831－1 845.

（编辑 薛国文）

（上接 89 页）

应有充分的思想准备，采取良好的术中监测设备和应急措施。

关键词：枕大池；蛛网膜囊肿；坐位；手术

中图法分类号：R743.35 文献标识码：B

参考文献：

[1] 伦学庆，章 翔，易声禹，等. 后颅窝蛛网膜囊肿诊断与手术治疗（附17例报告）[J]. 中国神经精神病病杂志，1998，1(4)：46－48.

[2] 周晓平，胡小吾，朱士兴. 颅内蛛网膜囊肿29例报告[J]. 中国神经精神疾病杂志，1997，6(3)：373－374.

[3] 周 健，张志方，叶小平，等. 坐位手术麻醉中空气栓塞6例报告[J]. 第一军医大学学报，1998，18(3)：243－244.

[4] 马晓军，刘雪琴. 坐位手术体位对患者循环功能影响的分析及护理[J]. 中华护理杂志，1999，34(3)：133－134.

[5] Samii M, Carvalho G A, Schuhmann M U, *et al*. Arachnoid cysts of the posterior fossa[J]. Surg Neurol, 1999, 51(4): 376－382.

[6] Schaffranietz L, Gunther L. The sitting position in neurosurgical operations. Results of a survey[J]. Anaesthesist, 1997, 46(2): 91－95.

[7] Tommasino C, Rizzardi R, Beretta L, *et al*. Cerebral ischemia after venous air embolism in the absence of intracardiac defects< see comments>[J]. J Neurosurg Anesthesiol, 1996, 8(1): 30－34.

（编辑 薛国文）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net