

· 基础研究 ·

胃粘膜良恶性病变中 P53 和 bc1-2 表达的研究

刘月萍 丁顺德 温玉梅 薄爱华* 邢立强* 李海峰* 张建林 闫致旺 翟广琪

张家口市第二医院消化科(075000)

【摘要】 目的 探讨 P53 与 bc1-2 基因蛋白在胃癌及癌前病变组织中的表达特点及相关性。

方法 收集活检胃粘膜标本及部分手术切除胃癌病理标本 126 例,其中浅表性胃炎(CSG)29 例,萎缩性胃炎(CAG),肠上皮化生(IM),不典型增生(DyS)各 20 例,胃癌(GC)37 例。应用 SP 免疫组织化学方法检测 P53、bc1-2 基因蛋白的表达。结果 P53 在 CSG、CAG、IM、DyS、GC 中的阳性表达率分别为 6.9% (2/29)、10% (2/20)、15% (3/20)、30% (6/20)、45.95% (17/37)。bc1-2 在上述各组中的阳性表达率分别为 10.34% (3/29)、10% (2/20)、20% (4/20)、25% (5/20)、40.54% (15/37)。P53、bc1-2 表达阳性率 GC 组显著高于 CSG 组($P < 0.01$),高于 IM 组($P < 0.05$),IM、DyS、GC 组 P53、bc1-2 有共同表达,差异无显著性($P > 0.05$)。结论 P53 和 bc1-2 在胃癌与癌前病变的表达显著高于良性病变。

【关键词】 胃肿瘤 免疫组化 P53 bc1-2 基因表达

A study on the expression of P53 and bc1-2 in both benign and malignant lesion of gastric mucosa. Liu Yueping, Ding Shunde, Wen Yumei, et al Zhangjiakou NO. 2 hospital, Hebei province 075000 China.

【Abstract】 Objective To study on the expression and Correlation of P53 and bc1-2 protein in gastric cancer and gastric precancerous lesions. Methods P53 and bc1-2 protein were determined with immunohistochemical technique in 29 cases of superficial gastritis (CSG), 20 cases of atrophic gastritis (CAG), 20 cases of intestinal metaplasia (IM), 20 cases of dysplasia (DyS) and 37 cases of gastric cancer (GC) tissue specimens. Results The positive rate of P53 in CSG, CAG, IM, DyS and GC was 6.9% (2/29), 10% (2/20), 15% (3/20), 30% (6/20), 45.95% (17/37), respectively. The positive rate of bc1-2 in CSG, CAG, IM, DyS and GC was 10.34% (3/29), 10% (2/20), 20% (4/20), 25% (5/20) and 40.54% (15/37), respectively. The positive rate of both P53 and bc1-2 in GC was significantly higher than that in CSG ($P < 0.01$) and higher than that in IM ($P < 0.05$). There was positive expression on both P53 and bc1-2 in IM, DyS and GC ($P > 0.05$). Conclusions The total positive rate of P53 and bc1-2 in GC is significantly higher than that in benign lesion.

【Key words】 Gastric tumor Immunohistochemistry P53 bc1-2 Gene expression

大量研究表明,肿瘤发生的重要原因是基因的正常表达,目前对胃恶性肿瘤内 P53、bc1-2 基因异常表达已有较多报道,然而对胃粘膜炎症及癌前病变中癌基因和抑癌基因表达的研究报道甚少,本研究采用 SP 免疫组化方法对 126 例良恶性病变胃粘膜中 P53、bc1-2 基因蛋白进行检测并分析其意义,旨在探讨与胃癌发生发展的关系。

材料和方法

一、临床资料

收集 1996 年 12 月至 1999 年 12 月我院胃镜室活检胃粘膜标本及医学院第一附属医院部分手术切

除胃癌标本共 126 例,均经病理证实。其中浅表性胃炎(CSG)29 例,男 19 例,女 10 例,年龄 28-45 岁,平均 38.5 岁;萎缩性胃炎(CAG)20 例,男 8 例,女 12 例,年龄 45-65 岁,平均 58.4 岁;肠化生(IM)20 例,男 12 例,女 8 例,年龄 50-68 岁,平均 60.5 岁;不典型增生(DyS)20 例,男 13 例,女 7 例,年龄 48-65 岁,平均 62 岁;胃癌(GC)37 例,男 27 例,女 10 例,年龄 40-75 岁,平均 70 岁。

二、方法

1. 标本处理和切片

取患者胃窦部粘膜 4-6 块和胃癌手术切除病灶区组织标本,固定于 10% 中性甲醛,常规石蜡包埋、切片厚度 5 μ m。

2. 染色方法

* 张家口医学院电镜室(075029)

常规 HE 染色,用作病理诊断。

免疫组化染色试剂鼠抗人 P53、bc1-2 单克隆抗体由美国 Zymad 公司生产。SP 试剂盒和 DAB 显色剂均由北京中山生物技术有限公司生产。免疫组化染色按试剂盒说明操作。将切片脱蜡至水,充分洗涤后,置枸橼酸修复液中进行抗原修复,水浴 95℃ 15min,洗涤后滴加第 I 抗体孵育 4℃ 过夜,II、III 抗孵育时在 37℃ 温箱内各 20min, DAB 显色。阳性对照为已知乳腺癌切片,阴性对照为 PBS 液代替 I 抗。

3. 染色结果判定

阳性细胞呈棕黄色颗粒, P53 在细胞核中显示, bc1-2 阳性细胞在细胞浆及细胞膜显示。(见图 1、2 见封底)

统计学处理,采用 χ^2 检验

结 果

1. P53、bc1-2 在各种胃粘膜病变中阳性表达率见表 1

表 1 P53、bc1-2 在各种胃粘膜病变中表达阳性率(%)

组织学类型	n	P53		bc1-2	
		n	%	n	%
浅表性胃炎(CSG)	29	2	6.9*	3	10.34*
萎缩性胃炎(CAG)	20	2	10.0*	2	10.0*
肠上皮化生(IM)	20	3	15.0	4	20.0
不典型增生(DyS)	20	6	30.0	5	25.0
胃癌(GC)	37	17	45.95	15	40.54

* 与 GC 比较: P53CSG 组 $\chi^2 = 12.098$ $P < 0.01$ CAG 组 $\chi^2 = 4.298$ $P < 0.05$ bc1-2 CSG 组 $\chi^2 = 7.473$ $P < 0.01$ CAG 组 $\chi^2 = 5.786$ $P < 0.05$

由表 1 可见胃癌组织中 P53、bc1-2 表达率显著高于浅表性胃炎组 $P < 0.01$ 高于萎缩性胃炎组 $P < 0.05$, 其它各组两两相比, 差异无显著性 $P > 0.05$ 。

2. P53、bc1-2 在各种胃粘膜病变中共同表达结果

表 2 P53、bc1-2 在各种胃粘膜病变中共同表达率 (%)

组织学类型	n	P53 (+)		bc1-2 (+)	
		n	%	n	%
浅表性胃炎(CSG)	29	0	0	0	0
萎缩性胃炎(CAG)	20	0	0	0	0
肠上皮化生(IM)	20	3	15.0	4	20.0
不典型增生(DyS)	20	4	20.0	5	25.0
胃癌(GC)	37	12	32.4*	15	40.54

* 与 IM 比较 $\chi^2 = 1.428$ $P > 0.05$ 与 DyS 比较 $\chi^2 = 0.994$ $P > 0.05$

由表 2 可见在浅表性胃炎、萎缩性胃炎组 P53、

bc1-2 未见共同表达, 胃癌组者共同表达 12 例, 肠上皮化生以及不典型增生也有一定数量的共同表达, 组间比较差异无显著性。

讨 论

细胞的癌变是一个多因素, 多基因变异的癌变过程^[1], 常伴有癌基因的激活和抑癌基因的突变或缺失。有学者将人体内肿瘤相关基因分为三类^[2] 第一类是促癌细胞生长基因即原癌基因; 第二类是抑制细胞过度增殖基因即抑癌基因; 第三类是细胞凋亡基因。胃癌的发生发展同样是一个复杂的生物学过程, 涉及多因素, 多阶段的复杂变化。目前认为致癌因素可以导致正常人体内基因突变或缺失, 从而造成癌基因的激活和抑癌基因的失活, 其中包括癌基因 bc1-2 和抑癌基因 p53。通过对 bc1-2 和 p53 基因蛋白检测, 可以了解在胃癌发生过程中上述基因表达的特点。

bc1-2 基因的编码蛋白分子量为 25000KD 的蛋白质。近年来研究发现 bc1-2 基因家族是细胞凋亡的主要调节者, bc1-2 属抗凋亡蛋白家族, 通过抑制细胞的程序死亡, 破坏细胞数量动态平衡, 导致肿瘤的发生, 在多种肿瘤中表达。国外报道^[3] bc1-2 蛋白在胃癌中的表达率是 72%, 国内李雪莉等^[4] 报道为 68%, 本实验应用 SP 免疫组化检测, bc1-2 基因蛋白在胃癌表达阳性率为 40.54%, 低于以上二者报道, 原因可能与取材部位、样品处理、试剂来源或地区差异等有关。本研究结果显示: bc1-2 阳性表达率从浅表性胃炎→萎缩性胃炎→肠上皮化生→不典型增生→胃癌呈逐步上升趋势。从异型增生组 bc1-2 表达率明显增高, 与文献研究结果相一致^[5,6], 表明由于细胞凋亡受到抑制造成应该调亡的细胞长期生存, 成为肿瘤发生的重要原因。

p53 基因属抑癌基因, 位于 17 号染色体的短臂上, 分为野生型和突变型。野生型 p53 对细胞生长繁殖起负调节作用, 而 P53 基因突变体不仅失去原有抑制细胞生长功能, 反而能促进癌基因激活, 使细胞向恶性转化^[7,8] 有研究表明 P53 不仅在胃癌中有高频率表达, 而且在肠化生和异型增生中也有较高的阳性表达率^[9,10,11]。本研究表明: P53 在良性胃粘膜病变表达较弱, 从癌前病变到癌发展过程中表达逐渐增强, 提示 P53 过度表达与胃癌及癌前病变的发生发展有关。

本研究结果表明: 胃癌及癌前病变胃粘膜 P53、bc1-2 表达阳性率均显著高于浅表性胃炎 ($P <$

0.01), 表明 P53、bc1-2 过度表达可能与胃癌与癌前病变的发生有关。本实验结果还表明胃癌及癌前病变组织中有 P53 和 bc1-2 共同表达。而浅表性胃炎及萎缩胃炎组织则无此现象, 说明胃炎向胃癌演化过程中, 不但有癌基因的激活, 同时也有抑癌基因的失活, 二者协同作用参与胃癌的发生。当然不排除其他基因参与, 部分基因其中可能是一种基因首先突变, 而随后有另一种或更多种基因发生突变或缺失, 多种(两种以上)基因的异常才能导致癌瘤发生发展。正如王东旭^[12]等研究提示 P53、bc1-2 和 APC 基因是胃粘膜肠化并癌变的相关热点基因, 在胃癌发生以及演进过程中起重要作用。因此, 本研究提示, 对胃炎伴不典型增生患者检测 P53、bc1-2 或更多基因的表达状况, 可作为癌前病变发展演变的监测指标, 不仅有助于了解胃癌的发病机制, 而且对早期诊断及指导治疗均有重要意义。

参 考 文 献

- 1 Wang LD, stephanie TS, zhou Q, et al. Changes in P53 and Cyclin D1 protein levels and cell proliferation in different stages of human esophageal and gastric - cardia carcinogenesis. *Int J cancer*, 1994;59:514
- 2 Korsmeyer SJ. bc1-2 initiates a new category of oncogenes: regulator of cell death. *Blood*, 1992, 80:879
- 3 Gregory Y, lauwers MD, Gregory V, et al. Immunohistochemical evaluation of bc1-2 protein expression in gastric adenocarcinomas. *Cancer*, 1995; 75:2209
- 4 李雪莉, 郝远端, 邹建湘, 等. c-myc, bc1-2 与胃癌生物学行为和细胞凋亡. *新消化病学杂志*, 1997;5:773
- 5 戴一扬, 黄怀德. 胃癌组织中 bc1-2、P53 蛋白的表达. *中华消化杂志*, 2000;20:135-136.
- 6 刘海峰, 刘为纹, 房殿春, 等. 胃癌变中细胞凋亡及其与 bc1-2 蛋白表达关系的研究. *中华消化内镜杂志*, 2000;17:41-42
- 7 Chen PL, Chen Y, Bookstein R, et al. Genetic mechanism of tumour suppression by the human P53 gene. *Science*, 1990, 250:1576.
- 8 Rogel A. P53 cellular tumour antigen analysis of mRNA levels in normal adult tissues embryos and tumour. *Mol cell Biol*, 1990;5:2851
- 9 林静, 沈金库, 于淑霞, 等. 胃粘膜癌前病变 P21 和 P53 蛋白的表达. *新消化病学杂志*, 1997;5:711-712.
- 10 邓莉珍, 胡雪峰, 夏东, 等. 胃癌及癌前病变中 P21 与 P53 蛋白表达, 幽门弯曲杆菌感染的相关性研究. *湖北医科大学学报*, 2000;20:281-282.
- 11 郭长青, 张秋玲, 刘国永, 等. 胃癌及癌前病变中 P53, cerbB-2 基因表达. *河南医科大学学报*, 1999;34:72-74.
- 12 王东旭, 房殿春, 刘为纹. 胃粘膜肠化及异型增生和胃癌组织中多基因异常. *世界华人消化杂志*, 2000;8:855-859.

书 讯

《普通外科内镜手术学》由朱江帆主编, 山东科学技术出版社出版。本书由国内外知名内镜外科专家联合撰写, 突出当前普通外科领域内镜外科最新术式和最新技术描述具体, 配有精美彩色和线条图, 读者易于理解和掌握。适合从事腹腔镜外科的医师阅读和参考。读者可向山东科学技术出版社发引部

联系购买地址是: 济南市玉函路 16 号 电话: 0531-2020432 邮编: 250002

书 讯

由 W. Stephen Eubanks、Lee L. Swanstrom、Nathaniel J. Soper 主编, 王秋生、张阳德主译的《内镜腹腔镜外科学》已由中国医药科技出版社出版发行。该书堪称 2000 年微创外科领域的经典之作, 精通微创外科之道的良师益友。它涵盖了当今微创外科领域的绝大多数手术及其相关问题, 约 100 万字, 印装精致, 定价 220 元。欲购者请与《中国微创外科杂志》编辑部联系, 汇款 225 元即可。



图1 病例1术前



图2 病例1术后冰水试验



图3 病例2术前



图4 病例2术后

(正文见 182 页)

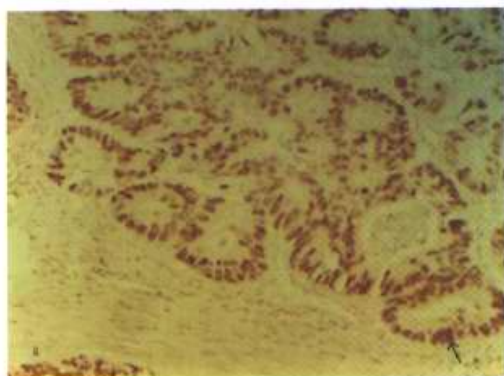


图1 P53 在胃癌中的表达
胞核内见棕黄色颗粒 SP 法×400

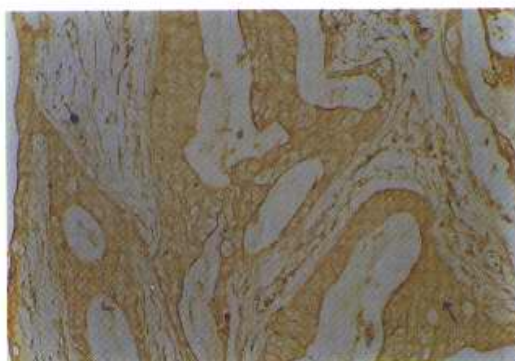


图2 bel-2 在胃癌中的表达
胞浆内见棕黄色颗粒 SP 法×400

(正文见 166 页)