



增殖细胞核抗原与下咽癌临床生物学行为及预后的关系

增殖细胞核抗原(PCNA)又称周期蛋白(cyclin),是DNA多聚酶 δ 的辅助蛋白,为DNA复制的必须物质,在调节DNA复制与细胞增殖过程中起重要作用。下咽癌又名喉咽癌,发病率较低,国内统计[1]占头颈部恶性肿瘤的2%。虽然其发生部位与喉癌毗邻,但恶性程度远较后者高,预后差。本文应用免疫组化技术对48例下咽癌手术标本与其中的15例的癌旁组织的PCNA进行检测,以探讨PCNA与下咽癌生物学特性、临床行为及预后的关系。

1 材料与方法

1.1 临床资料

选取的48例下咽癌病例为1994年1月~1998年5月在我院行手术治疗并随访的患者,切除的标本作为癌组;从该48例患者中随机选取15例,同期切取癌旁正常组织作为对照组。所有病例都经病理确诊。48例病例中男43例、女5例,年龄32~72岁,平均56.1岁,病理诊断均为鳞状细胞癌。术前未行放疗或化疗,术后常规颈部放疗与化疗。临床随访3年,31例复发,其中10例局部复发;23例出现颈淋巴结转移,8例出现远处转移,存活3年者23例。

1.2 切片制作

所有标本均经10%福尔马林或多聚甲醛固定4 h,常规石蜡包埋,5 μm 连续切片。各留出2张,1张作HE染色,以核实诊断,1张作阴性对照。

1.3 试剂与方法

免疫组化试剂盒、抗体均购自于博士德公司,抗PCNA单抗PC10(1:40)为LALB10CHEM公司产品。用人扁桃体组织作阳性对照,用PBS代替一抗作阴性对照。采用SP法、DAB显色,操作步骤按试剂盒说明书进行。

1.4 结果判断与统计学处理

PCNA阳性细胞核被染成棕黄色或棕褐色。在高倍显微镜下随机计数1 000个细胞中的PCNA阳性细胞数,换成百分数,即为增殖指数(proliferating index, PI)或称PCNA指数。采用SPSS10.0软件行t检验和方差分析。

2 结果

2.1 PCNA分布特点

PCNA主要分布于核内,呈颗粒状或弥漫状,癌巢中PCNA阳性细胞主要位于癌巢周边部,中央较少或缺如(图1)。

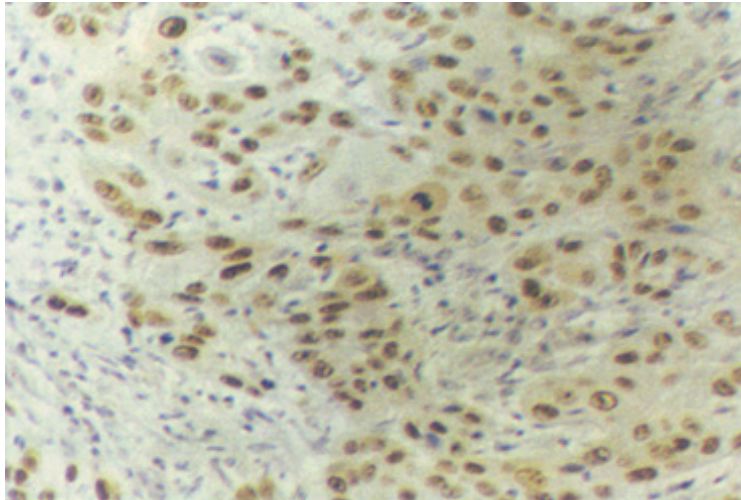


图1 下咽癌组织中的PCNA阳性细胞 (HE染色, ×125)

Fig.1 PCAN-positive cells in hypopharyngeal carcinoma tissue (HE staining, ×125)

2.2 下咽癌组织与癌旁组织PCNA表达比较

48例下咽癌组织的PI为 $(71.48 \pm 11.14)\%$, 15例癌旁组织的PI为 $(21.13 \pm 12.07)\%$, 经统计学分析下咽癌组织的PCNA表达明显高于癌旁组织($t=14.980$, $P=0.000$)。

2.3 PCNA的表达与下咽癌临床生物学行为分析

PCNA的表达与下咽癌发生部位、是否有淋巴结转移无相关性(P 分别为 0.824 与 0.102), 而与肿瘤的临床分期及组织分化程度相关(P 分别为 0.021 与 0.034), 即PCNA的表达随肿瘤的临床进展的延长、组织分化程度的降低而增高(表1)。

表 1 PCNA 的表达与下咽癌发生部位、分期、组织分化程度
及有无淋巴结转移的相关性

Tab.1 Correlation of PCNA expression with clinical and
biological characteristics of hypopharyngeal carcinoma

Item	<i>n</i>	PI (%, Mean±SD)	<i>t/F</i> value	<i>P</i> value
Cancer location				
Pyriiform sinus area	36	71.94±10.95	0.195*	0.824
Posterior wall area	7	71.14±12.10		
Postericoid area	5	68.60±13.30		
TNM stage				
I - II stage	19	66.95±10.80	2.393	0.021
III-IV stage	29	74.45±10.50		
Histological differentiation				
Moderately differentiated	32	69.09±10.66	2.180	0.034
Poorly differentiated	16	76.25±10.84		
Cervical lymph node metastasis				
Yes	23	74.13±10.45	1.666	0.102
No	25	68.84±11.46		

* *F* value of ANOVA, with the rest standing for *t* values; PI:

Proliferating index; TNM: Tumour, nodes, metastasis classification

2.4 PCNA的表达与下咽癌术后复发及患者生存期的关系

PCNA的表达还与肿瘤术后是否复发及预后有一定的相关性，术后复发组明显高于未复发组($P=0.033$)，而患者术后生存期大于3年组显著低于3年以下组($P=0.001$ ，表2)。

表 2 PCNA 的表达与下咽癌预后分析

Tab.2 Correlation of PCNA expression to carcinoma
recurrence and the survival of patients with
hypopharyngeal carcinoma after tumor resection

Item		<i>n</i>	PI(%, Mean±SD)	<i>t</i> value	<i>P</i> value
Recurrence after resection	Yes	31	74.00±9.85	2.202	0.033
	No	17	66.88±12.16		
Survival period after resection (years)	≥3	23	66.26±11.49	3.457	0.001
	<3	25	76.28±8.48		

PCNA是一种由261个氨基酸组成的酸性核蛋白, M_r 为36 000, 表达于细胞周期的 G_1 后期, S期达到高峰, G_2 期下降, 与DNA合成一致, 因而与细胞周期密切相关, 能反应细胞增殖活性。因此, PCNA是判断正常细胞与肿瘤细胞周期、检测细胞增殖指数的重要标志物[2]。而细胞异常增殖可能导致肿瘤的发生, 因而肿瘤组织细胞增殖水平可能反映了肿瘤的恶性程度。本实验显示PCNA在下咽癌组织中的表达明显高于癌旁组织。在临床上, 可对下咽部良性肿瘤、不典型增生及癌前病变病例的PCNA进行检测, 发现PCNA指数高者, 则应警惕粘膜原位癌发生的可能。

我们的实验所得PCNA阳性指数普遍高于吴丽莉等[3]报道的舌乳头状瘤与舌癌中PCNA指数, 但与Fujiwaki等[4]和Krecichi等[5]分别报道的宫颈癌与喉癌PCNA指数相似, 这可能由于计算方法的不同或PCNA在不同组织中表达存在较大差异有关。

一般认为, 肿瘤分化越低, 细胞增殖力越强, 恶性程度就越高。本研究表明, 低分化组PCNA表达显著高于高分化组, 说明PCNA可以作为细胞增殖活性标记分子。凌玲等[6]对喉癌病人的研究发现, PCNA表达的高低与喉癌的临床分期一致, 即III~IV期喉癌PCNA的表达明显高于I~II期, 而与有无颈淋巴结转移无关, 这与本实验结果一致。这可能是因为PCNA只表明肿瘤的增殖程度, 而肿瘤的转移则与其他许多因素如p53、nm23、钙粘素-E、纤维连接蛋白及局部微环境等有关, 我们将在下一步实验中对此进行研究。由于PCNA表达强度可以反映细胞增殖活性, 故可能用于判断肿瘤细胞的生长速度, 协助鉴别良恶性病变。

肿瘤的复发、预后与肿瘤的恶性程度密切相关。我们实验的结果表明, 下咽癌中PCNA的表达与肿瘤是否复发及预后有关。复发组癌细胞增殖活性明显高于未复发组, 这可能是由于肿瘤细胞增殖能力越强, 术后残留癌细胞在局部生长越快, 越易复发; 相似地, 生存期低于3年组PCNA的表达也明显高于3年以上组, 在喉癌、胃癌等[7][8]恶性肿瘤研究中也有类似结果。表明PCNA的表达可作为判断下咽癌预后的一个指标。因此, 检测肿瘤细胞增殖活性对评估下咽癌患者的预后有一定参考价值。此外, Morawski等[9]在对喉癌术后病人的研究中发现, 术后局部复发组PCNA指数显著高于未复发组。因此, 通过原位检测肿瘤病人术后PCNA的表达, 可用于预测术后肿瘤的复发。本实验还发现, 在癌巢周边及肿瘤浸润的前缘区域, PCNA表达较高; 而在癌巢中央区, 尤其在有明显角化的癌细胞中, PCNA表达极低, 甚至不表达, 在其他肿瘤中也有类似的情况[10]。可见这种现象的产生是由PCNA自身的特性所决定的, 但具体机制还有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] 樊忠, 王天铎. 实用耳鼻咽喉科学[M]. 第2版, 济南: 山东科学技术出版社, 1998. 515-34.
- [2] Yu CC, Fletcher CD, Newman PL, et al. A comparison of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) immunostaining, nucleolar organizer region (AgNOR) staining, and histological grading in gastrointestinal stromal tumors[J]. J Pathol, 1992, 166(2): 147-52.
- [3] 吴丽莉, 郑唯强, 余永伟. 舌乳头状瘤及鳞状细胞癌组织中的PCNA及AgNOR表达[J]. 第一军医大学学报, 1997, 18(1): 77-9.
- Wu LL, Zheng WQ, Yu YW. The expression of PCNA and AgNOR in human papilloma and squamous cell carcinoma of tongue[J]. J First Mil Med Univ, 1997, 18(1): 77-9.
- [4] Fujiwaki R, Heta K, Iida K, et al. Thymidine phosphorylase expression in progression of cervical cancer: Correlation with microvessel count, proliferation cell nuclear antigen, and apoptosis[J]. J Clin Pathol, 1999, 52(8): 598-603.
- [5] Krecichi T, Jelen W. Proliferating cell nuclear antigen in laryngeal cancer[J]. J Laryngol Otol, 1998, 112(3): 310-3.
- [6] 凌玲, 周敏好, 王辉萼. 喉癌EGFR和PCNA表达及DNA含量的研究[J]. 临床耳鼻咽喉科杂志, 2000, 14(3): 99-101.
- [7] Sarac S, Ayhan A, Hosal AS, et al. Prognostic significance of PCNA expression in

laryngeal cancer [J]. Arch Otolaryngol Head Neck Surg, 1998, 124(12): 1321-4.

[8] Konno S, Takebayashi Y, Aiba M, et al. Clinicopathological and prognostic significance of thymidine phosphorylase and proliferating cell nuclear antigen in gastric carcinoma[J]. Cancer Lett, 2001, 166(1): 103-11.

[9] Morawski K, Namyslowski G, Gabriel A, et al. Assessment of usefulness of PCNA and oncoprotein p53 staining in prediction of the recurrences in subjects operated on for laryngeal carcinoma[J]. Otolaryngol Pol, 2000, 54(4): 393-9.

[10] Haines GK, Panos RJ, Bak PM, et al. Interferon-responsive protein kinase (p68) and proliferating cell nuclear antigen are inversely distributed in head and neck squamous cell carcinoma[J]. Tumor Biol, 1998, 19(1):52-9.

参考文献:

[1] 樊忠, 王天铎. 实用耳鼻咽喉科学[M]. 第2版, 济南: 山东科学技术出版社, 1998. 515-34.

[2] Yu CC, Fletcher CD, Newman PL, et al. A comparison of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) immunostaining, nucleolar organizer region (AgNOR) staining, and histological grading in gastrointestinal stromal tumors[J]. J Pathol, 1992, 166(2): 147-52.

[3] 吴丽莉, 郑唯强, 余永伟. 舌乳头状瘤及鳞状细胞癌组织中的PCNA及AgNOR表达[J]. 第一军医大学学报, 1997, 18(1): 77-9.

Wu LL, Zheng WQ, Yu YW. The expression of PCNA and AgNOR in human papilloma and squamous cell carcinoma of tongue[J]. J First Mil Med Univ, 1997, 18(1): 77-9.

[4] Fujiwaki R, Heta K, Iida K, et al. Thymidine phosphorylase expression in progression of cervical cancer: Correlation with microvessel count, proliferation cell nuclear antigen, and apoptosis[J]. J Clin Pathol, 1999, 52(8): 598-603.

[5] Krecichi T, Jelen W. Proliferating cell nuclear antigen in laryngeal cancer[J]. J Laryngol Otol, 1998, 112(3): 310-3.

[6] 凌玲, 周敏好, 王辉萼. 喉癌EGFR和PCNA表达及DNA含量的研究[J]. 临床耳鼻咽喉科杂志, 2000, 14(3): 99-101.

[7] Sarac S, Ayhan A, Hosal AS, et al. Prognostic significance of PCNA expression in laryngeal cancer [J]. Arch Otolaryngol Head Neck Surg, 1998, 124(12): 1321-4.

[8] Konno S, Takebayashi Y, Aiba M, et al. Clinicopathological and prognostic significance of thymidine phosphorylase and proliferating cell nuclear antigen in gastric carcinoma[J]. Cancer Lett, 2001, 166(1): 103-11.

[9] Morawski K, Namyslowski G, Gabriel A, et al. Assessment of usefulness of PCNA and oncoprotein p53 staining in prediction of the recurrences in subjects operated on for laryngeal carcinoma[J]. Otolaryngol Pol, 2000, 54(4): 393-9.

[10] Haines GK, Panos RJ, Bak PM, et al. Interferon-responsive protein kinase (p68) and proliferating cell nuclear antigen are inversely distributed in head and neck squamous cell carcinoma[J]. Tumor Biol, 1998, 19(1):52-9.