

p15、bcl-2 及 PCNA 在不同放射敏感性的鼻咽癌组织中的表达及其相关性研究

朱小东¹, 刘颖新¹, 王安宇¹, 梁世雄¹, 陈发龙², 罗元²

The Expression of p15, bcl-2 and PCNA in Nasopharyngeal Carcinoma and the Correlation to Radiosensitivity

ZHUXiao-dong¹, LIUYin-gxin¹, WANGAn-yu¹, LIANGShi-xiong¹, CHENFa-long², LUOYuan²

1. Department of Radiotherapy, Guangxi Autonomous Regional Cancer Hospital & Cancer Hospital of Guangxi Medical University, Guangxi Nanning 530021, China, 2. Department of Pathology

Abstract: Objective To evaluate the relationship between p15, bcl-2 and PCNA expression and radiosensitivity in nasopharyngeal carcinoma (NPC). **Methods** p15, bcl-2 and PCNA were detected by the S-P immunohistochemical method in 56 NPC cases. All patients were divided into two groups according to their response after radiotherapy: the group without residual (29 cases) and the group with residual (27 cases). **Results** The positive expression rates of p15, bcl-2 and PCNA had no significant difference between the group without residual and the group with residual ($P > 0.05$). Among p15, bcl-2 and PCNA there were correlations in the group with residual ($P < 0.01$). Among p15, bcl-2 and PCNA there were no correlations in the group without residual but bcl-2 and PCNA. **Conclusion** p15, bcl-2 and PCNA expression are not associated with radiosensitivity in nasopharyngeal carcinoma. But the correlationship between p15 and bcl-2, PCNA may be able to predict the radiosensitivity in nasopharyngeal carcinoma.

Keywords: Nasopharyngeal carcinoma; p15; bcl-2; PCNA; Immunohistochemical method

摘要:目的 探讨 p15、bcl-2 及 PCNA 的表达与鼻咽癌放射敏感性的关系及它们之间的相关性。方法 根据放疗结束时肿瘤消退与否将 56 例鼻咽癌病人分为肿瘤消退组(29 例)及肿瘤残存组(27 例),采用免疫组织化学 S-P 法测定癌组织中 p15、bcl-2 及 PCNA 的表达。结果 p15、bcl-2 及 PCNA 蛋白阳性表达率在肿瘤残存组、消退组中差别无显著性意义($P > 0.05$)。肿瘤残存组中各指标间存在显著相关性($P < 0.01$),而肿瘤消退组中除 bcl-2 与 PCNA 蛋白表达显著相关($P < 0.01$)外,其余指标间无明显的相关性($P > 0.05$)。结论 鼻咽癌组织中 p15、bcl-2 及 PCNA 的表达水平不能作为判断鼻咽癌放射敏感性的指标,但通过检测 p15 与 bcl-2、PCNA 的相关性可能是预测鼻咽癌放射敏感性的重要手段。

关键词:鼻咽癌;p15;bcl-2;PCNA;免疫组化

中图分类号:R739.63 文献标识码:A 文章编号:1000-8578(2004)12-0768-02

0 引言

近年来,关于 p15、bcl-2 及增殖细胞核抗原(PCNA)在各种恶性肿瘤组织中的表达情况已引起有关学者的关注并陆续有文献报道^[1],但这些指标联合应用于预测鼻咽癌放射敏感性目前尚未见报道。因此,我们检测了 56 例鼻咽癌组织中 p15、bcl-2 及 PCNA 的表达情况并分析他们之间的相互关系及其与鼻咽癌放射敏感性的关系,以期为指导鼻咽癌放疗方案的设计提供有实用价值的生物学预测指

标。

1 资料与方法

1.1 标本 收集 1998 年 5 月~2002 年 2 月间经我院病理证实为鼻咽低分化鳞癌、并经 CT 证实颈动脉鞘区受侵(92 分期均属 T₃)而接受首程放疗的 56 例患者的鼻咽活检存档蜡块。其中男性 39 例,女性 17 例,年龄 20~69 岁,中位年龄 41 岁,颈淋巴结阴性 13 例,颈淋巴结阳性 43 例。全部患者放疗结束时鼻咽部肉眼检查均无肿瘤残留,复查 CT 示颈动脉鞘区残留者 27 例(肿瘤残存组),消失者 29 例(肿瘤消退组)。所有蜡块均作 5μm 连续切片,先做 HE 染色核实诊断,然后用免疫组化 S-P 染色法检测 p15、bcl-2 及 PCNA 蛋白的表达情况。

收稿日期:2003-11-24;修回日期:2004-02-11

基金项目:广西自然科学基金资助项目(桂科青 0007023)

作者单位:1.530021 南宁,广西壮族自治区肿瘤医院广西医科大学附属肿瘤医院放疗科,2. 病理科

1.2 试剂与方法 p15、bcf2 及 PCNA 蛋白单抗(鼠抗人单抗),SP 试剂盒,DAB,PBS 均购自福州迈新生物技术开发公司。根据该公司推荐的免疫组化 S-P 法进行免疫组化染色,并设阴性和阳性对照。

1.3 结果判断 根据放疗结束时 CT 所示颈动脉鞘区肿瘤是否残留以及放疗前颈淋巴结有无转移分组。p15、bcf2 及 PCNA 蛋白表达阳性信号为位于细胞浆内、呈棕黄色或棕色颗粒。低倍镜下寻找能代表着色情况的区域,再在高倍镜下连续观察三个视野内肿瘤细胞中的阳性细胞数,根据阳性细胞数占计数细胞的百分比计算阳性细胞百分率(阳性细胞数/计数细胞总数)。

1.4 统计学处理 应用 SPSS 10.0 统计软件,组间差异采用 *t* 检验,用 Spearman 法行等级相关分析。

2 结果

2.1 鼻咽癌组织中 p15、bcf2 及 PCNA 蛋白表达情况

p15、bcf2 及 PCNA 蛋白阳性率在肿瘤消失组与残留组中差别无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

表 1 p15、bcf2 及 PCNA 蛋白情况

组别	例数	阳性表达率(%)		
		p15	bcf2	PCNA
消失组	29	33.31 ±10.22	61.55 ±8.30	55.14 ±8.90
残留组	27	40.78 ±9.89	60.22 ±9.84	61.33 ±9.05
<i>P</i>		>0.05	>0.05	>0.05

2.2 鼻咽癌组织中 p15、bcf2 及 PCNA 蛋白表达的相关性

2.2.1 鼻咽癌组织中 p15 与 bcf2 表达的相关性 肿瘤残留组二指标间等级相关系数(r_s)为 0.61, $P < 0.01$;消失组二指标间等级相关系数(r_s)为 0.35, $P > 0.05$ 。

2.2.2 鼻咽癌组织中 p15 与 PCNA 蛋白表达的相关性 肿瘤残留组二指标间等级相关系数(r_s)为 0.62, $P < 0.01$;消失组二指标间等级相关系数(r_s)为 0.34, $P > 0.05$ 。

2.2.3 鼻咽癌组织中 bcf2 与 PCNA 蛋白表达的相关性 肿瘤残留组二指标间等级相关系数(r_s)为 0.64, $P < 0.01$;消失组二指标间等级相关系数(r_s)为 0.34, $P < 0.01$ 。

2.3 鼻咽癌组织中 p15、bcf2 及 PCNA 蛋白表达水平与颈淋巴结转移的关系

p15、bcf2 及 PCNA 蛋白阳性率在颈淋巴结转

移阳性组与阴性组中差别无统计学意义($P > 0.05$),见表 2。

表 2 鼻咽癌组织中 p15、bcf2 及 PCNA 蛋白表达水平与颈淋巴结转移的关系

颈淋巴结转移数	例数	阳性率(%)		
		p15	bcf2	PCNA
阳性组	43	29.77 ±8.94	66.69 ±11.20	61.15 ±11.75
阴性组	13	39.07 ±8.82	59.16 ±7.53	57.21 ±7.51
<i>P</i>		>0.05	>0.05	>0.05

3 讨论

研究证明 p15 为重要的抑癌基因与细胞周期调控关系密切^[1],bcf-2 为凋亡抑制基因,PCNA 与肿瘤的增殖相关。国内、外学者较广泛地研究了这些基因在多种恶性肿瘤中的表达及意义^[2],但在鼻咽癌中联合检测这些指标的研究报道较少,这些影响细胞周期的指标联合应用是否可作为判断鼻咽癌放射敏感性指标的研究报道则更为少见。因此,我们对不同放射敏感性的鼻咽癌标本进行了上述指标的检测,分析其是否与鼻咽癌的放射敏感性相关,以及各指标间的相互关系。

抑癌基因 p15 是细胞周期的一种负性调控因子,可阻止细胞从 G_1 期进入 S 期,抑制细胞无限增殖,防止细胞增殖失控向肿瘤性增生转化^[3]。p15 蛋白丢失或功能下调必然影响这个重要增殖控制途径。PCNA 是判断细胞增殖活性的有效标记物,其合成和表达与细胞增殖周期相关,在 G_1 期合成增加,S 期达到高峰, G_2/M 期减少^[4]。有研究报道增殖细胞低指数者,其抗拒放射的 G_0 期细胞多,对射线不敏感。在鼻咽癌中张少伟等^[5]认为低 PCNA 表达者,由于肿瘤细胞处于较低的增殖状态,对放射治疗较为抗拒,高 PCNA 表达者较低 PCNA 表达者放射敏感性高。bcf2 是凋亡抑制基因,抑制细胞死亡、延长细胞寿命,导致细胞数目增加。现已证实放疗能够诱导细胞凋亡^[7],并且明确了放疗诱导细胞凋亡可以作为判定肿瘤放射治疗敏感性的指标。因此 bcf2 的表达对肿瘤的治疗结果产生一定的影响。文献报道^[6,7]在癌组织内过量发现 bcf2 基因表达,有可能阻碍由放疗引起的细胞凋亡,证实放射线引起的细胞凋亡受 bcf2 基因水平限制。

本研究结果证实,肿瘤残留组与肿瘤消失组之间无论 p15 蛋白阳性表达、bcf2 蛋白的表达还是 PCNA 蛋白阳性表达均无显著性差别($P > 0.05$),提示上述指标可能仅与肿瘤的发生有关,而与其放

(下转第 775 页)

(2/6), 虽因病例数过少, 行统计学分析无差异, 但也提示我们, 对于 T₂ 期声门型喉癌选用声带切除术治疗时应慎重。

参考文献:

[1] Bron LP, Soldati D, Ozsahin M, et al. Treatment of early stage squamous-cell carcinoma of the glottic larynx: endoscopic or cricohyoidopiglottopey versus radiotherapy [J]. Head Neck, 2001, 23 (10): 823-829.

[2] Magnano M, Cavalot AL, Gervasio CF, et al. Surgery or radiotherapy for early stage carcinoma of the glottic larynx [J]. Tumori, 1999, 85 (3): 188-193.

[3] Sheen TS, Ko JY, Chan YL. Partial vertical laryngectomy in the treatment of early glottic cancer [J]. Ann Otol Rhinol Laryngol, 1998, 107 (7): 593-597.

[4] Laccourre ye O, Muscatello L, Laccourre ye L, et al. Superior partial laryngectomy with cricohyoidopiglottopey for "early" glottic carcinoma classified as T1-T2N0 in the anterior commissure [J]. Am J Otolaryngol, 1997, 18 (6): 385-390.

[5] Chevalier D, Laccourre ye O, Brasnu D, et al. Cricohyoidopiglottopey for glottic carcinoma with fixation of the true vocal cord: 5-year oncologic results with 112 patients [J]. Ann Otol Rhinol Laryngol, 1997, 106 (5): 364-369.

[6] 沈伟. 环状软骨上喉部分切除术的探讨 [J]. 中华耳鼻咽喉科杂志, 1999, 34 (6): 333-336.

[7] Eckel HE. Local recurrences following transoral laser surgery for early glottic carcinoma: frequency, management, and outcome [J]. Ann Otol Rhinol Laryngol, 2001, 110 (1): 7-15.

[8] Eckel HE, Thumfart W, Jungehulsing M, et al. Transoral laser surgery for early glottic carcinoma [J]. Eur Arch Otorhinolaryngol, 2000, 257 (4): 221-226.

[9] Tonr Van J, Lefebvre JL, Stern JC, et al. Comparison of surgery and radiotherapy in T1 and T2 glottic carcinomas [J]. Am J Surg, 1991, 162 (4): 337-340.

[10] Harter E, Paniello RC, Abemayor E, et al. Partial laryngectomy with imbrication laryngoplasty for glottic carcinoma [J]. Arch Otolaryngol Head Neck Surg, 2003, 129 (1): 66-71.

[编辑校对: 周永红]

(上接第 769 页)

射敏感性没有相关性, 临床上尚不能以这些指标单独作为预测鼻咽癌放射敏感性的指标。本研究结果与上述一些报道^[5-7]的结果不相吻合, 其原因有待进一步研究。

肿瘤残存组中 p15 蛋白、bcf2 蛋白及 PCNA 蛋白之间有明显的相关性, 而肿瘤消失组中仅 bcf2 蛋白及 PCNA 蛋白之间有明显的相关性, 而其他指标之间没有明显的相关性。提示放射敏感性差的鼻咽癌组织中 p15 蛋白与 bcf2 蛋白、PCNA 蛋白显著相关, 而 bcf2 蛋白与 PCNA 蛋白之间显著相关不能预测鼻咽癌的放射敏感性。研究的结果初步提示, 临床上通过检测 p15 蛋白与 bcf2 蛋白、PCNA 蛋白的相关性来预测鼻咽癌放疗的敏感性可能是判断鼻咽癌放射敏感性的重要手段。

有颈淋巴结转移组与无颈淋巴结转移组的鼻咽癌组织中 p15 蛋白阳性表达率、bcf2 蛋白的表达及 PCNA 的表达水平均没有显著性差别, 与周明琦等^[8]报道相似, 说明鼻咽癌发生过程中这些指标的表达从早期持续到晚期, 提示上述指标可能仅与鼻咽癌的发生有关, 而与其疾病的进展没有相关性。

参考文献:

[1] Esteller M, Corn PG, Baylin SB, et al. Asenhypermethylation profile of human cancer [J]. Cancer Res, 2001, 61 (8): 3225-3229.

[2] Jackel MC, Dorudian MA, Marx D, et al. Spontaneous poptosis in laryngeal squamous cell carcinoma is independent of bcl-2 and bax protein expression [J]. Cancer, 1999, 85 (3): 591-599.

[3] 曾益新. 肿瘤学 [M]. 第 1 版. 北京: 人民卫生出版社, 1999. 65.

[4] 黄杰雄, 黄致治. 增殖细胞核抗原的研究进展 [J]. 国外医学生理、病理学与临床分册, 1994, 14 (1): 9-11.

[5] 张少伟, 林连兴, 沈金辉, 等. nm23 与 PCNA 蛋白在鼻咽癌中的表达及临床意义 [J]. 河南肿瘤学杂志, 2001, 14 (2): 84-85.

[6] 王凤玮, 梁克, 殷蔚伯, 等. 辐射诱导鼻咽癌细胞系凋亡及其相关基因的研究 [J]. 中华肿瘤杂志, 1998, 20 (2): 119-121.

[7] 李杰恩, 唐安洲, 周永, 等. 鼻咽癌组织中 bcf2 及 EB 病毒潜伏膜蛋白表达与放射诱发细胞凋亡的关系 [J]. 实用癌症杂志, 2000, 15 (5): 495-496.

[8] 周明琦, 林尚泽. MTS2/ p15 和 bcf2 蛋白产物在鼻咽低分化鳞癌中的表达及意义 [J]. 贵州医药, 2001, 25 (9): 774-776.

[编辑校对: 周永红]