

胃肠道间质瘤中 p27 和 cyclinE 的表达及其意义

徐凤琳 臧劲松 张春庆 荣 玮 张静艳 兴桂华 张晓杰

摘 要 目的 探讨 p27 和 cyclinE 的表达与胃肠道间质瘤(GIST)临床病理学特征的关系及其相关性。方法 应用免疫组化 SP 法观察 40 例胃肠道间质瘤中 p27 和 cyclinE 的表达情况。结果 40 例 GIST 中有 22 例表达 p27, 24 例表达 cyclinE, 阳性表达率分别为 55.0% 和 60.0%。p27 和 cyclinE 的表达与 GIST 的部位、组织学分型、肿瘤大小无关($P > 0.05$)。与组织学分级有关($P < 0.05$)。p27 和 cyclinE 的表达具有负相关性($r = -0.386$, $P = 0.002$)。结论 p27 和 cyclinE 在胃肠道间质瘤的发生、发展中发挥作用, 两者可作为判断良恶性的客观指标。

关键词 胃肠道间质瘤 p27 cyclinE

Expression of p27 and cyclinE in Gastrointestinal Stromal Tumors and its Significance. Xu Fenglin, Zang Jinsong, Zhang Chunqing, Rong Wei, Zhang Jingyan, Xing Guihua, Zhang Xiaojie. Department of Pathology, Qiqihar Medical College, Heilongjiang 161006, China

Abstract Objective To investigate the relationship between the expression of p27, cyclinE and clinicopathologic characteristics in gastrointestinal stromal tumor(GIST). **Methods** Immunohistochemical SP was used to investigate p27 and cyclinE expression in 40 cases of GIST. **Results** Among 40 cases of GIST, 22 cases were positive for p27 (55.0%), 24 cases for cyclinE (60.0%). The expression of p27 and cyclinE had no correlation with localisation, histological subtype, tumor size of GIST($P > 0.05$), and had correlation with histological grade ($P < 0.05$). p27 expression had negative correlation with cyclinE expression ($r = -0.386$, $P = 0.002$). **Conclusion** The expression of p27 and cyclinE plays an important role in the pathogenesis and development of GIST, which may be used as an objective parameter for distinguishing malignant from benign GIST.

Key words Gastrointestinal stromal tumor; p27; CyclinE

胃肠道间质瘤(gastrointestinal stromal tumor, GIST)是消化道最常见的间叶性肿瘤。GIST 的生物学行为难以预测, 从形态学良性、富于细胞、潜在恶性到低、中和高度恶性形成一个连续谱, 一些可以保持多年没有症状, 而另一些已发生转移^[1]。影响预后的因素有年龄、部位、肿瘤大小和核分裂象、恶性度、免疫组化、分子生物学等。本研究应用免疫组化 SP 法检测 40 例 GIST 中 p27 和 cyclinE 的表达与临床病理学特征的关系及两者之间的相关性, 以确定其恶性潜能和选择有助于预后判定的指标。

材料与方法

1. 材料: 选择病理诊断为胃肠道间质瘤的标本 40 例。参考 Haber^[2] 在《外科病理鉴别诊断》中提出的诊断标准: 良性指标, 肿瘤小于 5cm 或核分裂小于 5/50HPF, 且细胞数量少、

器官样生长、细胞多形性很少见、无黏膜侵犯或坏死; 恶性指标, 黏膜侵犯、肿瘤坏死和显著的细胞多形性; 介于良性和恶性之间的为潜在恶性 GIST。按此标准将 40 例 GIST 分为良性 15 例、潜在恶性 10 例、恶性 15 例。按部位分为胃 18 例、肠 10 例、其他(包括食管、肠系膜) 12 例。按组织学分型分为梭形细胞为主型 15 例、上皮样细胞为主型 15 例、混合细胞型 10 例。肿瘤直径 < 5cm 者 16 例、肿瘤直径 ≥ 5cm 者 24 例。

2. 方法: (1) 免疫组织化学检测: 全部标本均经 10% 甲醛固定, 常规石蜡包埋, 4μm 连续切片经过脱蜡、水化, 采用 SP 法进行免疫组化染色, p27 单克隆抗体和 cyclinE 单克隆抗体购自福州迈新生物技术开发公司。实验中以 PBS 代替一抗作为阴性对照, 用已知 p27 和 cyclinE 阳性组织作阳性对照。(2) 结果判定: p27 和 cyclinE: 分别以细胞核出现棕黄色染色颗粒视为阳性细胞, 阳性细胞数超过肿瘤细胞总数的 10% 计为阳性, 少于 10% 计为阴性。

3. 统计学分析: 采用 SPSS11.5 软件进行统计学分析, 根据不同要求分别进行了 χ^2 检验、Spearman 等级相关分析, 所有统计检验均为双侧概率检验, $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

结 果

1. p27 在 GIST 中的表达: 40 例 GIST 中, 22 例

基金项目: 黑龙江省教育厅科学技术研究项目(11513118)

作者单位: 161006 齐齐哈尔医学院病理教研室(徐凤琳、张春庆、张静艳、兴桂华、张晓杰); 齐齐哈尔医学院微形态学实验室(荣玮); 齐齐哈尔医学院第一附属医院麻醉科(臧劲松)

(55.0%) p27 阳性表达, 阳性信号定位于细胞核。通过 χ^2 检验, 不同部位、肿瘤直径在小于或大于 5cm 之间, 不同组织学分型之间 p27 的表达率无显著性差异, 但与 GIST 组织学分级有关 ($P < 0.05$), 良性、潜在恶性和恶性 GIST 的阳性表达率为 73.3%, 70.0% 和 26.7%, 有显著降低 (表 1)。

2. cyclinE 在 GIST 中的表达: 40 例 GIST 中, 24 例 (60.0%) cyclinE 阳性表达, 阳性信号定位于细胞核。通过 χ^2 检验, 不同部位、肿瘤直径在小于或大于 5cm 之间, 不同组织学分型之间 cyclinE 的表达率无

显著性差异, 但与 GIST 的组织学分级有关 ($P < 0.05$), 从良性、潜在恶性到恶性的 GIST, cyclinE 阳性表达率逐渐升高, 分别为 13.3%、70.0% 和 100.0% (表 1)。

3. p27 和 cyclinE 之间的关系: 与良性 GIST 相比, p27 阳性表达率均有明显降低, cyclinE 阳性表达率有明显增加。经 Spearman 等级相关分析, p27 和 cyclinE 在 GIST 中表达呈负相关 ($r = -0.386, P = 0.002$)。见表 2。

表 1 p27 和 cyclinE 在 GIST 中的表达与临床病理学特征的关系 [n(%)]

项目		n	p27		cyclinE	
			阳性数	P	阳性数	P
部位	胃肠	28	14(50.0)	0.332	16(57.1)	0.833
	其他	12	8(66.7)		8(66.7)	
组织学分型	梭形	15	7(46.7)	0.186	10(66.7)	0.757
	上皮样	15	7(46.7)		8(53.3)	
	混合性	10	8(80.0)		6(60.0)	
肿瘤直径	<5cm	16	10(62.5)	0.436	11(68.8)	0.356
	≥5cm	24	12(50.0)		13(54.2)	
组织学分级	良性	15	11(73.3)	0.020	2(13.3)	0.000
	潜在恶性	10	7(70.0)		7(70.0)	
	恶性	15	4(26.7)		15(100.0)	

表 2 GIST 中 p27 和 cyclinE 表达的相关性 (n)

p27	n	cyclinE		r	P
		+	-		
+	22	9	13	-0.386	0.002
-	18	15	3		

讨 论

1. p27 和 GIST: p27 基因是一种抑癌基因, 其编码蛋白与 Cyclins - CDKs 复合物相结合, 并抑制其酶的活性, 实现其细胞的负调节, 阻止细胞周期中 G₁/S 期的转换, 抑制细胞增生, P27 蛋白表达的缺失或降低可导致肿瘤的发生^[3]。因此, p27 与肿瘤的恶性进展负相关, 低表达的恶性肿瘤预示着较差的预后。本实验结果发现 p27 在良性、潜在恶性、恶性 GIST 阳性表达率分别为 73.3%、70.0%、26.7%, 与章建国等报道一致^[4]。表明随着 GIST 恶性潜能的增加, p27 的表达减少, p27 丧失或降低了针对 G₁/S 期的“关卡”作用, 从而促发了 GIST 恶性转化的发生^[5]。因此, p27 与 GIST 的恶性程度有关, 肿瘤分化越差, p27 的表达率降低。而肿瘤的分化程度影响肿瘤的预后。因此, p27 有可能成为评价 GIST 良恶性和预后评价

的一个有用指标。

2. cyclinE 和 GIST: 癌基因 cyclinE 是细胞增生信号蛋白, 其过度表达可导致细胞增生失控, 最终形成恶性肿瘤^[6]。cyclinE 与 CDK2 结合构成 cyclinE - CDK2 复合物, 并激活 DNA 复制所必需的蛋白质, 促进细胞周期由 G₁ 进入 S 期。cyclinE 基因失调、蛋白过量表达可见于胰腺癌、乳腺癌、大肠癌等多种肿瘤中^[7]。本研究发现良性、潜在恶性、恶性 GIST 之间 cyclinE 表达存在差异显著性, cyclinE 在良性、潜在恶性、恶性 GIST 阳性表达率分别为 13.3%、70.0%、100.0%, 在良性 GIST 显著低于潜在恶性、恶性 GIST 阳性率, 说明随着肿瘤恶性潜能的增加、分化程度降低, cyclinE 的表达率增高, 提示 cyclinE 与肿瘤的发生和分化程度有关。可以认为 cyclinE 是判断 GIST 良恶性及用于组织学分级的一个较好指标。

3. p27 和 cyclinE 表达的相关性: 肿瘤的发生发展与癌基因的激活与抑癌基因的失活有关。在正常细胞中 p27 与 cyclinE 处于动态平衡状态。cyclinE 是细胞周期正性调控因子, 是细胞进入 S 期的关键性调节基因, p27 是细胞周期负性调控因子, 主要通过

胞进入 S 期,使细胞停滞于 G₁ 期,如二者失调将导致细胞增生和恶变,已有研究证实,多种实体肿瘤中存在 p27 低表达和 cyclinE 高表达^[8,9]。本实验发现 p27 阳性表达率降低, cyclinE 阳性表达率增加, p27 和 cyclinE 在 GIST 中表达呈负相关。表明处于分裂增生状态的细胞 p27 表达减少, cyclinE 表达增加,促进细胞进入 S 期,表现无限增生而导致 GIST 向恶性方向发展。提示 p27、cyclinE 平衡失调可能促进 GIST 的发生。因此,联合检测 p27 和 cyclinE 表达水平,对预测 GIST 的预后有一定的指导意义。

参考文献

- 1 Gelen T, Elpek GO, Aksoy NH, *et al.* p27 labeling Index and proliferation in gastrointestinal stromal tumors: correlations with clinicopathologic factors and recurrence [J]. *Jpn J Clin Oncol*, 2003, 33(7):346-352
- 2 Haber MH, Gattuso P, Spitz DJ, *et al.* Gastrointestinal mesenchymal neoplasms. Differential diagnosis in surgical pathology [M]. 北京:人民卫生出版社, 2002:188-192
- 3 Gelen T, Elpek GO, Aksoy NH, *et al.* p27 Labeling index and prolif-

eration in gastrointestinal stromal tumors: correlations with clinicopathologic factors and recurrence [J]. *Jpn J Clin Oncol*, 2003, 33(7):346-352

- 4 章建国,池鸣鸣,施公胜,等. 胃肠道间质瘤中 p16、p27、Ki267 表达 [J]. *临床与实验病理学杂志*, 2006, 22(1):54-56
- 5 张志勇,赵增仁,冯俊伟,等. p27、bcl-2、Ki-67 在胃肠道间质瘤的表达及其意义 [J]. *中国医药导刊*, 2006, 8(4):242-244
- 6 Muller-tidow C, Metzger R, Kugler K, *et al.* CyclinE is the only Cyclin2dependent kinase - associated Cyclin that predicts metastasis and survival in early stage non - small cell lung cancer [J]. *Cancer Res*, 2001, 61:647-652
- 7 何东来,李铁钢. 大肠癌. p27 和 CyclinE 表达及其临床病理意义 [J]. *医学临床研究*, 2008, 25(4):651-654
- 8 Sasaki T, Katayose Y, Suzuki M, *et al.* Adenovirus expressin mutant p27kip1 enhanced apoptosis against cholangiocarcinoma than adenovirus - p27kip1 wild type [J]. *Hepatogastroenterology*, 2004, 51(55):68-75
- 9 Kim YT, Zhao M. Aberrant cell cycle regulation in cervical carcinoma [J]. *Yonsei Med J*, 2005, 46(5):597-613

(收稿:2010-04-19)

异源双链分析法快速检测结核分枝杆菌氟喹诺酮类耐药性

王 伟 石瑞如 张国龙 付光宇 彭义利 苑 星

摘 要 目的 采用变性高效液相色谱 (DHPLC) 和 Surveyor 酶法分析结核分枝杆菌氟喹诺酮类耐药基因 *gyrA* 突变, 探讨这两种异源双链分析法在结核菌耐药快速检测中的应用价值。**方法** 102 株结核分枝杆菌临床分离株 (常规药敏试验显示 80 株氧氟沙星耐药, 22 株敏感), PCR 扩增 *gyrA* 基因氟喹诺酮类耐药决定区域, 与参照菌株 *M. tb* Erdman 的扩增产物形成异源双链, 然后分别采用 DHPLC 和 Surveyor 酶法检测基因突变, 同时进行 DNA 测序作为对照。**结果** DHPLC 法和 Surveyor 酶法与 DNA 测序法相比, 具有同样的检出率 (均为 100%), 80 株耐药株均存在 *gyrA* 基因突变, 而 22 株敏感株均无基因突变发生。**结论** DHPLC 法和 Surveyor 酶法均可用来快速检测结核分枝杆菌氟喹诺酮类耐药。两者均简便, 稳定, 灵敏, 前者高通量, 全自动化, 但需要昂贵的设备; 后者成本低, 不需要特殊设备, 适合我国大部分临床实验室开展。

关键词 异源双链分析 基因突变 高效液相色谱法 核酸酶 分枝杆菌 结核

Rapid Detection of Fluoroquinolone - resistance of Mycobacterium Tuberculosis Isolates by Heteroduplex Analysis. Wang Wei, Shi Ruiru, Zhang Guolong, Fu Guangyu, Peng Yili, Yuan Xing. Department of Clinical Laboratory and Sino - US Tuberculosis Research Center, Henan Provincial Chest Hospital, Henan 450008, China

Abstract Objective To detect *gyrA* gene mutation and fluoroquinolone - resistance of Mycobacterium tuberculosis clinical isolates by using two types of heteroduplex analysis: denaturing high - performance liquid chromatography (DHPLC) and Surveyor nuclease meth-

基金项目:河南省医学科技攻关重点项目 (200702015)

作者单位:450008 郑州, 河南省胸科医院检验科及中美结核病研究中心 (王伟、石瑞如、张国龙、彭义利、苑星); 450000 郑州市安图绿科生物有限公司 (付光宇) (注:王伟和石瑞如为并列第一作者)

通讯作者:张国龙, 电子信箱:guolongzhang@hotmail.com