

文章编号:1005-6947(2004)02-0101-03

· 实验研究 ·

# 胆管癌中 PTEN 和 p16 抑癌基因蛋白的表达及其临床意义

谷化平<sup>1</sup>, 尚培中<sup>2</sup>, 周翠玲<sup>3</sup>

(解放军第二五一医院 1. 病理科 2. 普外科, 河北 张家口 075000; 3. 张家口医学院第一附属医院 普外科, 河北 张家口 075000)

**摘要:**目的 探讨抑癌基因 PTEN 和 p16 蛋白表达与胆管癌生物学行为的关系。方法 应用免疫组化方法检测 43 例胆管癌组织和 10 例慢性胆管炎胆管壁组织的 PTEN 和 p16 基因蛋白的表达, 并综合分析它们与胆管癌临床病理因素间的关系。结果 在胆管癌组织中, PTEN 和 p16 表达阳性率分别为 39.5% 和 44.2%。PTEN 和 p16 表达与胆管癌的 TNM 分期、分化程度和转移密切相关 ( $P < 0.05$ )。PTEN 表达与 p16 表达呈正相关 ( $r = 0.62, P < 0.005$ )。结论 检测 PTEN 和 p16 抑癌基因表达可作为评估胆管癌生物学行为和预后的参考指标。

**关键词:**胆管肿瘤/病理学; 胆管炎/病理学; 抑癌基因; 基因 p16; 基因表达

**中图分类号:**R730.261; R735.8

**文献标识码:**A

## Significance of expression of tumor suppressor gene PTEN and p16 protein in cholangiocarcinoma

GU Hua-ping<sup>1</sup>, SHANG Pei-zhong<sup>2</sup>, ZHOU Cui-ling<sup>3</sup>

(1. Department of Pathology; 2. Department of General Surgery, The 251st Hospital of PLA, Zhangjiakou, Hebei 075000, China; 3. Department of General Surgery, The First Affiliated Hospital, Zhangjiakou Medical College, Zhangjiakou, Hebei 075000, China)

**Abstract: Objective** To investigate the relationship between the expression of tumor suppressor gene PTEN and p16 protein and the biological behaviors of cholangiocarcinomas. **Methods** The expression of PTEN and p16 protein in 43 of cholangiocarcinoma tissues and 10 chronic cholangitis tissues were investigated by immunohisto-chemical technique. The relationship between expression of PTEN and p16 protein and the clinicopathological parameters of cholangiocarcinoma was analyzed. **Results** The positive expression rate of PTEN and p16 protein in cholangiocarcinoma was 39.5% and 44.2%, respectively. The expression of PTEN and p16 protein were positively related with the TNM staging, differentiation degree and metastasis of cholangiocarcinoma ( $P < 0.05$ ). Moreover, there was a positive correlation between the PTEN and p16 protein expression in cholangiocarcinoma ( $r = 0.49, P < 0.005$ ). **Conclusions** Expression of tumor suppressor gene PTEN and p16 could be helpful in predicting the biological behavior and prognosis of cholangiocarcinoma.

**Key words:**BILE DUCT NEOPLASMS/pathol; CHOLANGITIS/pathol; TUMOR SUPPRESSOR GENE; GENE p16; GENES EXPRESSION

**CLC number:** R730.261; R735.8

**Document code:** A

PTEN 和 p16 均为抑癌基因, 其表达均与许多肿瘤的发生、侵袭和预后密切相关<sup>[1~7]</sup>。本研究采用免疫组织化学(免疫组化)技术, 探讨上述两种基因蛋白表达与胆管癌临床预后性指标的关系, 以

及两基因蛋白表达之间的相关性, 为判断肿瘤预后提供参考指标。

## 1 材料和方法

### 1.1 标本来源及分组

1.1.1 胆管癌组 43 例。取自解放军第二五一医院手术切除并经病理证实的胆管癌标本。男 29 例, 女 14 例。平均年龄 ( $49.8 \pm 12.4$ ) (24 ~ 70)

收稿日期:2002-11-14; 修订日期:2003-07-19。

作者简介:谷化平(1950-), 男, 安徽濉溪人, 解放军第二五一医院副主任医师, 主要从事肿瘤临床病理学方面的研究。

岁。高、中分化癌 29 例,低分化癌 14 例;伴有转移者 26 例(包括淋巴结、肝、胆囊、肠系膜和胰腺等),无转移者 17 例。按 TNM 分期:I 期 7 例,II 期 16 例,III 期 12 例,IV 期 8 例。

1.1.2 慢性胆管炎组 10 例。取自慢性胆管炎胆管壁。男 6 例,女 4 例。年龄 28~65 岁。

标本经 10% 福尔马林固定,石蜡包埋,连续切片厚 4~5  $\mu\text{m}$ 。

## 1.2 试剂

小鼠抗人 p16 单克隆抗体、兔抗人 PTEN 多克隆抗体、生物素化酪胺盐(BT)和催化信号放大(catalyzed signal amplification, CSA)试剂盒均为自丹麦 Dako 公司产品。

## 1.3 免疫组化染色

采用 CSA 法,按照文献<sup>[8]</sup>报道的方法操作。实验用已知 PTEN 和 p16 阳性大肠癌组织作为阳性对照,用 PBS 代替一抗作为阴性对照。

## 1.4 结果判断

PTEN 在细胞质内、p16 在细胞核内有棕黄色染色者为阳性(+),未着色者为阴性(-)。

## 1.5 统计学处理

采用  $\chi^2$  检验和相关分析。

## 2 结果

### 2.1 PTEN 和 p16 蛋白的表达

PTEN 和 p16 蛋白免疫组化染色阳性产物呈棕黄色或棕褐色。PTEN 阳性物质主要分布于细胞质,p16 蛋白阳性物质主要分布于细胞核。10 例慢性胆管炎组织均呈 PTEN 和 p16 蛋白阳性表达(100%)。43 例胆管癌中,PTEN 和 p16 蛋白阳性表达分别为 39.5% (17/43) 和 44.2% (19/43)。经  $\chi^2$  检验,PTEN 和 p16 蛋白在胆管癌中的表达阳性率均显著低于慢性胆管炎( $P < 0.05$ )。

### 2.2 PTEN 和 p16 蛋白表达与胆管癌临床预后性指标的关系

PTEN 和 p16 蛋白表达均与胆管癌患者性别和年龄无关,而与胆管癌的分化程度、TNM 分期和转移状况有关(附表)。

### 2.3 PTEN 与 p16 蛋白表达的相互关系

在 PTEN 阳性表达的 17 例胆管癌组织中,p16 蛋白阳性表达为 14 例(82.4%);在 PTEN 阴性表达的 26 例胆管癌组织中,p16 蛋白阳性表达为 5 例(19.2%)。PTEN 表达与 p16 蛋白呈正相关( $r = 0.62, P < 0.005$ )。

附表 PTEN 和 p16 表达与胆管癌临床预后性指标的关系( $n, \%$ )

组别	$n$	PTEN 表达阳性	$P$	p16 表达阳性	$P$
性别					
男	29	11 (37.9)		10 (34.5)	
女	14	6 (42.9)	-	9 (64.3)	-
年龄(岁)					
<50	24	12 (50.0)		12 (50.0)	
$\geq 50$	19	5 (26.3)	-	7 (36.8)	-
分化程度					
高、中分化癌	29	14 (48.3)		17 (55.2)	
低分化癌	14	3 (21.4)	<0.05	2 (21.4)	<0.05
TNM 分期					
I~II	23	14 (60.9)		14 (60.9)	
III~IV	20	3 (30.0)	<0.05	5 (25.0)	<0.05
伴转移					
无	26	13 (50.0)		17 (65.4)	
有	17	4 (29.4)	<0.05	2 (11.8)	<0.05

### 3 讨论

PTEN 是 1997 年发现的继 p53 之后在人类肿瘤中缺失和突变率最高的一种新型抑癌基因。该基因位于染色体 10q23.3 位点。通过结构预测显示, PTEN 与细胞骨架蛋白和张力蛋白高度同源, 提示 PTEN 可能参与细胞骨架重组并影响细胞迁移能力。对 PTEN 基因功能研究<sup>[1~4]</sup>提示, PTEN 具有磷酸酰肌醇 3, 4, 5 - 三磷酸 (PIP3) 和磷酸质酶 (PTP) 活性, 能使 PIP3 去磷酸化而抑制 PIP3/Akt (PKB) 信号传导途径, 进而影响细胞的分化。当 PTEN 抑癌基因突变或缺失可能构成一个新的信号转导途径, 与人类恶性肿瘤的发生、发展关系密切。p16 基因是 1994 年分离鉴定出的一种新型抑癌基因, 因其对多种肿瘤有抑制作用而被命名为多肿瘤抑制基因 (multiple tumor suppressor 1, MTS1)<sup>[5]</sup>。p16 基因定位于人类染色体 9p21 区域, 全长 8.5 kb, 由 2 个内含子及 3 个外显子构成, 分子质量为 15.85 kD, 编码表达一个 148 个氨基酸残基的蛋白质 (p16INK4)。研究<sup>[6,7]</sup>发现, p16 基因及其产物在人类许多原发肿瘤和细胞株发生缺失, 并导致肿瘤细胞无限制生长。本研究结果显示, PTEN 和 p16 基因蛋白表达阳性率在胆管癌组织中均显著低于慢性胆管炎组织 ( $P < 0.05$ )。PTEN 和 p16 蛋白阳性表达的胆管癌其分化程度和 TNM 分期高, 转移率低。表明 PTEN 和 p16 蛋白的下调与胆管癌的发生发展密切相关, 并在胆管癌的细胞分化、临床进展和转移过程中起着重要的作用。检测两者基因的表达对估计胆管癌的转移及判断患者生存状况有重要意义, 可作为判断胆管癌生物学行为和患者预后的参考指标。

恶性肿瘤的发生、发展是一个涉及多基因、多分子水平变化的多阶段过程。在其过程中不同功能的基因对细胞所产生的影响协同地增加了细胞的癌变。本研究发现, 在胆管癌组织中 PTEN 表达与 p16 蛋白表达呈正相关性 ( $r = 0.62, P < 0.005$ )。提示在胆管癌的侵袭转移过程中, PTEN 与 p16 蛋白可能具有协同作用。其作用机制有待进一步探讨。

#### 参考文献:

- [1] Li J, Yen C, Liaw D, *et al.* PTEN, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast, and prostate cancer [J]. *Science*, 1997, 275 (5308): 1943 - 1947.
- [2] 况立革, 杨林, 王艳萍, 等. PTEN 基因编码产物与胃癌发生发展相关性的研究 [J]. *肿瘤防治杂志*, 2002, 9 (5): 472 - 475.
- [3] Depwski PL, Rosenthal SI, Roes JS. Loss of expression of the PTEN gene protein product is associated with poor outcome in breast cancer [J]. *Mod Pathol*, 2001, 14 (7): 672 - 676.
- [4] 赵春燕, 曲杰. 抑癌基因 PTEN 的突变失活在肿瘤发生发展中的作用 [J]. *国外医学临床生物化学与检验学分册*, 2001, 22 (5): 243 - 245.
- [5] Kamb A, Orais NA, Weaver-Feldhaus J, *et al.* A cell cycle regulator potentially involved in genesis of many tumor types [J]. *Science*, 1994, 264 (2): 436 - 438.
- [6] Okamoto A, Demetrick DJ, Spillare EA, *et al.* Mutations and alter PTEN expression of p16 (INK4) in human cancer [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, 81 (4): 11045 - 11048.
- [7] 朱如伟, 刘振延. 新型抑癌基因 p16 [J]. *肿瘤*, 1997, 17 (3): 178 - 180.
- [8] 谷化平, 刘艳茹, 尚培中. nm23H<sub>1</sub> 和 E-cadherin 基因蛋白在胆囊癌组织中的表达 [J]. *中国现代普通外科进展杂志*, 2002, 5 (1): 29 - 31.