

# 胃肠道间质瘤 p21WAF1 和 Bax 表达的临床意义

戚基萍, 徐凤琳, 吴爱萍

戚基萍, 徐凤琳, 吴爱萍, 哈尔滨医科大学第一临床医学院病理科  
黑龙江省哈尔滨市 150001  
戚基萍, 女, 1960-08-18 生, 黑龙江省哈尔滨市人, 汉族. 2004 年哈尔滨医  
科大学博士生, 教授, 主要从事消化系统的病理研究.  
项目负责人: 戚基萍, 150001, 黑龙江省哈尔滨医科大学第一临床医学院病  
理科. qijiping2003@163.com  
电话: 0451-88775468  
收稿日期: 2004-07-20 接受日期: 2004-09-04

## Expression of p21WAF1 and Bax in gastrointestinal stromal tumors and its clinical significance

Ji-Ping Qi, Feng-Lin Xu, Ai-Ping Wu

Ji-Ping Qi, Feng-Lin Xu, Ai-Ping Wu, Department of Pathology, First Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

Correspondence to: Ji-Ping Qi, Department of Pathology, First Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China. qijiping2003@163.com

Received: 2004-07-20 Accepted: 2004-09-04

### Abstract

AIM: To investigate the relationship between the expression of p21WAF1 and Bax and clinicopathologic characteristics in gastrointestinal stromal tumors (GIST), and to analyze the role of p21WAF1 and Bax in GIST.

METHODS: Immunohistochemical SP method was used to detect p21WAF1 and Bax expression in 40 cases of GIST.

RESULTS: p21WAF1 was expressed in the nucleus of 21 cases of GIST (52.5%), and Bax was expressed in the cytoplasm of 22 patients (55.0%). The expression of p21WAF1 and Bax had no significant relationship with sex, age of patients, as well as localization, size, necrosis, histological typing of GIST, but it significantly related to histological grading ( $\chi^2 = 20.217$ ,  $P = 0.000 < 0.01$ ;  $\chi^2 = 22.896$ ,  $P = 0.000 < 0.01$ ; respectively). There were higher rates of p21WAF1 and Bax expression in potential malignant and malignant GIST than those in benign one (p21WAF1: 80.0%, 80.0% vs 6.7%,  $P < 0.01$ ; Bax: 90.0%, 80.0% vs 6.7%,  $P < 0.01$ ). The difference of p21WAF1 and Bax expression between potential malignancy and malignancy was not significant. There was a positive correlation between p21WAF1 and Bax expression ( $r = 0.448$ ,  $\chi^2 = 8.021$ ,  $P = 0.005 < 0.01$ ,  $Kappa = 0.447$ ) in GIST.

CONCLUSION: The expression of p21WAF1 and Bax plays an important role in the pathogenesis of potential malignant and malignant GIST, but not in benign GIST, which may be used as an index to differentiate benign GIST from potential malignant and malignant ones.

Qi JP, Xu FL, Wu AP. Expression of p21WAF1 and Bax in gastrointestinal stromal tumors and its clinical significance. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2004;12(11):2642-2645

### 摘要

目的: 探讨 p21WAF1 和 Bax 的表达与胃肠道间质瘤的临床病理学特征的关系, 分析 p21WAF1 和 Bax 在 GIST 中的作用及其相关性.

方法: 应用免疫组化 SP 法观察 40 例胃肠道间质瘤中 p21WAF1 和 Bax 的表达情况.

结果: 在 GIST 40 例中, 21 例表达 p21WAF1, 阳性表达率为 52.5%, p21WAF1 阳性信号定位于细胞核; 22 例表达 Bax, 阳性表达率 55.0%, Bax 阳性信号定位于细胞质. p21WAF1 和 Bax 的表达与 GIST 的性别、年龄、部位、肿瘤大小、有无坏死、组织学分型无关, 与组织学分级有关 ( $\chi^2 = 20.217$ ,  $P = 0.000 < 0.01$ ;  $\chi^2 = 22.896$ ,  $P = 0.000 < 0.01$ ). p21WAF1 和 Bax 在潜在恶性和恶性 GIST 中表达较高, 而在良性 GIST 表达较低 (80.0%, 80.0%, 6.7% 和 90.0%, 80.0%, 6.7%). 进一步通过两两比较, 良性和潜在恶性之间, 良性和恶性之间表达率 p21WAF1 和 Bax 表达率有显著差别 ( $P < 0.01$ ), 但潜在恶性和恶性之间 p21WAF1 和 Bax 的表达率无显著性差异. p21WAF1 和 Bax 的表达具有一定的正相关性 ( $r = 0.448$ ,  $\chi^2 = 8.021$ ,  $P = 0.005$ ,  $Kappa = 0.447$ ).

结论: p21WAF1 和 Bax 在潜在恶性和恶性 GIST 中发挥作用, 但在良性 GIST 中不发挥作用, 二者可作为区别 GIST 良恶性的指标.

戚基萍, 徐凤琳, 吴爱萍. 胃肠道间质瘤 p21WAF1 和 Bax 表达的临床意义. *世界华人消化杂志* 2004;12(11):2642-2645

<http://www.wjnet.com/1009-3079/12/2642.asp>

### 0 引言

胃肠道间质瘤 (gastrointestinal stromal tumor, GIST) 是发生于消化道最常见的间叶性肿瘤<sup>[1]</sup>. 由于 *c-kit* 基因突变与 GIST 的发病机制有关<sup>[2]</sup>, 因此, 目前 *c-kit* (CD117) 阳性被认为是诊断 GIST 的最可靠的指标<sup>[3]</sup>. 但由于 GIST 的生物学行为难以预测<sup>[4]</sup>, 一些可以保持多年没有症状, 而另一些已发生转移<sup>[5]</sup>. 因此, 就需要一个能判断 GIST 生物学行为的客观指标. 我们应用免疫组化 SP 法检测 40 例 GIST 中 p21WAF1 和 Bax 的表达与临床病理学特征的关系.

## 1 材料和方法

1.1 材料 哈尔滨医科大学第一临床医学院病理科2001/2004年病理诊断为GIST的标本40例. 参考Haber *et al* 在《外科病理鉴别诊断》(人民卫生出版社, 2002)中提到的诊断标准, 恶性指标: 黏膜侵犯, 肿瘤坏死和显著的细胞多形性, 胃肿瘤大于6 cm, 核分裂像大于4/50HPF, 小肠肿瘤大于5 cm, 核分裂像大于5/50HPF. 良性指标: 肿瘤小于5 cm 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. 介于二者之间的为潜在恶性GIST. 按此标准: 40例GIST中良性15例, 潜在恶性10例, 恶性15例. 其中胃15例, 肠13例, 其他(食管、肠系膜)12例. 男20例, 女20例. 年龄36-78(平均54.3岁).

1.2 方法 全部标本均经40 g/L 甲醛固定, 常规石蜡包埋, 4 μm 连续切片经过脱蜡、水化, 采用SP法进行免疫组化染色, p21WAF1 mAb (1:25)和Bax mAb (1:50)均购自北京中山生物技术有限公司, 实验中以PBS代替一抗作为阴性对照, 用已知p21WAF1和Bax阳性组织作阳性对照. p21WAF1以细胞核内出现棕黄色颗粒为阳性, 阳性细胞数<10%为(+), >50%为(+++), 介于二者之间为(++); Bax以细胞质内出现棕黄色颗粒为阳性, 阳性细胞数<10%为(+), >60%为(+++), 介于二者之间为(++).

**统计学处理** 采用SPSS11.5软件进行统计分析, 根据不同要求分别进行了Pearson  $\chi^2$  检验, Fisher确切概率法, Spearman等级相关分析和Kappa检验. 认为双尾 $P < 0.05$ 有统计学意义.

## 2 结果

2.1 p21WAF1在GIST中的表达 在GIST 40例中, 21例(52.5%) p21WAF1表达阳性, 阳性信号定位于细胞核. 通过 $\chi^2$ 检验, 不同性别、不同年龄、不同部位、组织学分型、肿瘤直径在小于或大于5 cm, 及有无坏死之间p21WAF1的表达率无显著性差异, 但与GIST组织学分级有关( $P < 0.01$ ). 与良性GIST的阳性表达率为6.7%相比(图1A), 潜在恶性和恶性GIST的阳性表达率均为80%(图1B), 有显著提高. 进一步通过两两比较显示,

良性和潜在恶性或恶性GIST之间p21WAF1的阳性表达率差异显著(均为 $P < 0.01$ ). 但潜在恶性和恶性之间的表达率无显著差别(表1).

表1 GIST中p21WAF1和Bax表达与临床病理学的关系

项目	n	p21WAF1 阳性		Bax 阳性	
		n	%	n	%
男	20	10	50.0	12	60.0
女	20	11	55.0	10	50.0
年龄 ≥ 50	21	13	61.9	12	57.1
< 50	19	8	42.1	10	52.6
部位 胃	15	8	53.3	7	46.7
肠	13	7	53.8	7	53.8
其他	12	6	50.0	8	66.7
组织学 梭形	15	8	53.3	7	46.7
上皮样	15	9	60.0	7	46.7
混合性	10	4	40.0	8	80.0
肿瘤直径 < 5 cm	16	9	56.3	10	62.5
≥ 5 cm	24	12	50.0	12	50.0
坏死 有	18	10	55.6	9	50.0
少/无	22	11	50.0	13	59.1
良性	15	1	6.7	1	6.7
潜在恶性	10	8	80.0 <sup>b</sup>	9	90.0 <sup>b</sup>
恶性	15	12	80.0	12	80.0

<sup>b</sup> $P < 0.01$ .

2.2 Bax在GIST中的表达 在GIST 40例中, 22例(55.0%) Bax表达阳性, 阳性信号定位于细胞质. 通过 $\chi^2$ 检验, 不同性别、不同年龄、不同部位、组织学分型、肿瘤直径在小于或大于5 cm之间, 及有无坏死之间Bax的表达率无显著性差异. 但与GIST的组织学分级有关( $P < 0.01$ ). 与良性GIST的阳性表达率为6.7%相比, 潜在恶性和恶性GIST的阳性表达率为90%和80%(图2A、B), 有显著提高. 进一步通过两两比较显示, 良性和潜在恶性或恶性GIST之间Bax的阳性表达率差异显著(均为 $P < 0.01$ ). 但潜在恶性和恶性之间的表达率无显著差别(表1).

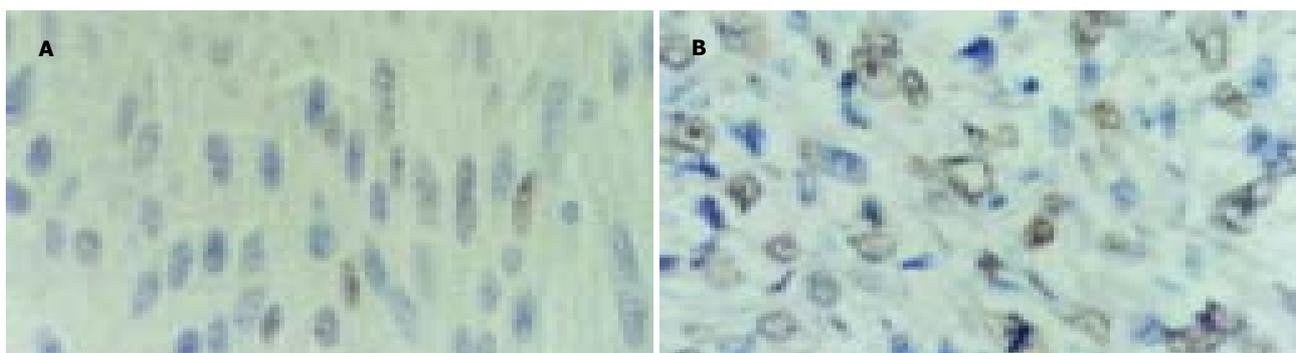


图1 GIST中p21WAF1阳性表达, 细胞核内见阳性物质沉积, SPX400. A: 良性; B: 恶性.

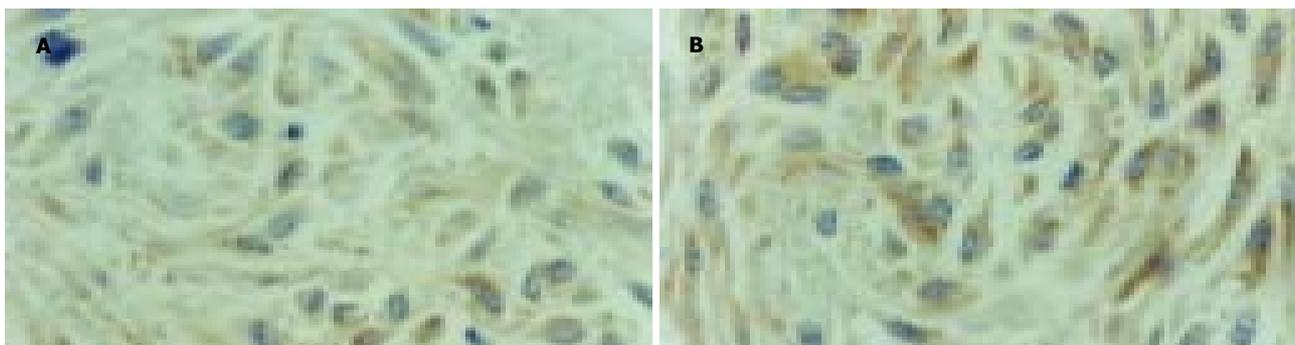


图2 GIST中Bax阳性表达,胞质内见阳性物质沉积,SP×400. A:潜在恶性; B:恶性.

2.3 p21WAF1和Bax表达的相关性 p21WAF1和Bax在GIST中表达呈正相关.根据Kappa值,二者一致性较好( $r = 0.448$ ,  $\chi^2 = 8.021$ ,  $P = 0.005$ ,  $Kappa = 0.447$ , 表2).

表2 GIST中p21WAF1和Bax表达的相关性

p21WAF1	n	Bax	
		+	-
+	21	16	5
-	19	6	13

$r = 0.448$ ,  $P = 0.005 < 0.01$ .

### 3 讨论

光镜下,胃肠道间质瘤的肿瘤细胞在形态上很象平滑肌瘤和神经鞘瘤<sup>[6]</sup>.基于分子和免疫组织学特征,以往诊断为平滑肌瘤、神经鞘瘤、平滑肌肉瘤的胃肠道间叶源性肿瘤现在很多都划归胃肠道间质瘤<sup>[7]</sup>.GIST源于消化道卡哈尔细胞或卡哈尔细胞和平滑肌细胞的前体细胞<sup>[8]</sup>,免疫组化染色显示胃肠道肠肌间神经丛周围细胞 *c-kit* (CD117)和CD34阳性<sup>[9]</sup>.因为GIST特征性的表达CD117和CD34<sup>[10]</sup>,所以可用于GIST的诊断.GIST大多数发生在胃(60-70%)和小肠(20-30%)<sup>[11]</sup>,在本研究中,发生在胃的占37.5%,小肠占25.0%.此外发生在食管和肠系膜共12例.

虽然 *c-kit* 作为一种胃肠道间质瘤特异而敏感的标记物,对GIST的诊断及鉴别诊断有重要的意义,但其不能作为GIST分化程度的指标<sup>[12]</sup>.除转移和浸润外,肿瘤性坏死、核分裂象大于10/50 HPF、细胞密集明显异型等提示恶性,此外,术中粘连、瘤体直径大于5 cm,核分裂象大于5/50 HPF,可作为良恶性的参考指标<sup>[13]</sup>.但有效而持久的良恶性参考指标仍不清楚<sup>[14]</sup>.

p21WAF1作为周期素依赖激酶的抑制物<sup>[15]</sup>,可以负性调节cdk的功能,使细胞周期停滞在G<sub>1</sub>期<sup>[16-17]</sup>.因此,目前认为p21WAF1作为肿瘤抑制基因,在肿瘤的发生发展中起重要作用.在一些恶性肿瘤中常表现为p21WAF1表达减少<sup>[18]</sup>.我们发现,p21WAF1表达与患者性别、年龄、肿瘤部位、组织学分型、大小、

有无坏死无关,与组织学分级有关.在潜在恶性和恶性GIST中表达较高(均为80.0%),而在良性GIST表达较低(6.7%),说明在肿瘤的良好阶段,即早期阶段p21WAF1不发挥作用,而在GIST的潜在恶性和恶性阶段发挥作用.与Pindzola *et al*<sup>[19]</sup>报告恶性GIST表达p21WAF1结果有一致性,但潜在恶性和恶性的GIST之间无统计学意义( $P > 0.05$ ).我们推测p21WAF1表达高可能有助于遏制GIST中肿瘤细胞的无限增生,肿瘤表现为生长缓慢.因此,检测GIST组织中p21WAF1表达水平有助于了解GIST的生物学行为和预后.由于良性的GIST表达很低,我们可以认为p21WAF1表达高提示增加了恶性潜能,因此p21WAF1有可能成为评价GIST恶性潜能的一个有用指标.

细胞凋亡是细胞接受刺激信号后一种主动的、由凋亡基因控制的细胞程序性死亡方式<sup>[20]</sup>.Bcl-2蛋白家族包括促凋亡蛋白(Bax, Bid, Bad和Bak)和抗凋亡蛋白(Bcl-2和Bcl-xl)<sup>[21]</sup>.Bax作为Bcl-2蛋白家族的一员,可以发挥促凋亡作用.以往的研究显示结直肠癌中Bax的表达与其分化和组织学类型有关<sup>[22]</sup>.Chao *et al*<sup>[23]</sup>认为在子宫内膜癌中,随着组织学分级的增加,Bax的表达相应增加.也有报道Bax在侵袭性癌中表达高于异型增生和正常组织<sup>[24]</sup>.许多学者已研究了凋亡在癌或淋巴瘤中的表达与肿瘤的分级有关,但很少有人研究凋亡与间叶性肿瘤的关系<sup>[25]</sup>.有人认为端粒酶活性、细胞凋亡与GIST良恶性有关<sup>[26]</sup>.Noguchi *et al*<sup>[27]</sup>认为在GIST中,Bax表达在良性和恶性GIST中没有统计学意义.但本研究表明,在潜在恶性和恶性GIST中表达较高(90.0%, 80.0%),而在良性GIST表达较低(6.7%),说明在肿瘤的良好阶段,即早期阶段Bax不发挥作用.而在GIST的潜在恶性和恶性阶段发挥作用,但潜在恶性和恶性的GIST之间无统计学意义( $P > 0.05$ ),说明Bax基因参与GIST的增生和凋亡,随着GIST由良性向恶性转变的过程中,在细胞恶性增生更加活跃的同时,细胞自发凋亡也增加,肿瘤亦具有更强的侵袭转移能力.由于良性GIST表达很低,因此,我们可以认为Bax表达高提示增加了恶性潜能.因此Bax有可能成为评价GIST恶性潜能的一个有用指标.

尚鸣异 *et al*<sup>[28]</sup>认为p21WAF1基因可诱导平滑肌细胞

凋亡, 从而对平滑肌细胞增生起抑制作用, p21WAF1 与细胞凋亡密切相关. 也有研究认为存在 p53-p21<sup>WAF1/CIP1</sup> 依赖途径, 通过上调 p21WAF1 蛋白的表达来诱导细胞凋亡<sup>[29]</sup>. 但也有报道 p21WAF1 可同时抑制增生和凋亡<sup>[30-31]</sup>. 但 p21WAF1 和 Bax 在 GIST 中的关系目前还未见报道, 我们发现 p21WAF1 和 Bax 表达呈正相关 ( $r=0.448$ ,  $P=0.005$ ,  $Kappa=0.447$ ), 提示 p21WAF1 和 Bax 密切相关, 我们推测 p21 基因可能通过调节促凋亡基因 Bax 的水平来诱导凋亡, 且主要在 GIST 的潜在恶性和恶性阶段发挥作用. 但也有可能除了 p21 基因以外其他因素调节 Bax 的表达, 或者二者在 GIST 由良性向恶性转变过程中起协同作用. 总之, 相关机制尚不甚清楚, 有待进一步研究.

#### 4 参考文献

- Duensing A, Heinrich MC, Fletcher CD, Fletcher JA. Biology of gastrointestinal stromal tumors: KIT mutations and beyond. *Cancer Invest* 2004;22:106-116
- Kim TW, Lee H, Kang YK, Choe MS, Ryu MH, Chang HM, Kim JS, Yook JH, Kim BS, Lee JS. Prognostic significance of c-kit mutation in localized gastrointestinal stromal tumors. *Clin Cancer Res* 2004;10:3076-3081
- Lin SC, Huang MJ, Zeng CY, Wang TI, Liu ZL, Shiay RK. Clinical manifestations and prognostic factors in patients with gastrointestinal stromal tumors. *World J Gastroenterol* 2003;9:2809-2812
- Gelen T, Elpek GO, Aksoy NH, Ogus M, Keles N. p27 Labeling index and proliferation in gastrointestinal stromal tumors: correlations with clinicopathologic factors and recurrence. *Jpn J Clin Oncol* 2003;33:346-352
- Tornoczky T, Kover E, Pajor L. Frequent occurrence of low grade cases among metastatic gastrointestinal stromal tumours. *J Clin Pathol* 2003;56:363-367
- Liu P, Na J, Wang Y, He Q, Zhang Y, Tang X, Zou W. Study of gastrointestinal stromal tumors by light microscopy, electron microscopy and immunohistochemistry. *Zhonghua Binglixue Zazhi* 2002;31:199-203
- Bucher P, Villiger P, Egger JF, Buhler LH, Morel P. Management of gastrointestinal stromal tumors: from diagnosis to treatment. *Swiss Med Wkly* 2004;134:145-153
- Ray-Coquard I, Le Cesne A, Michallet V, Boukovinas I, Ranchere D, Thiesse P, Baty V, Blay JY. Gastro-intestinal stromal tumors: news and comments. *Bull Cancer* 2003;90:69-76
- Wang L, Vargas H, French SW. Cellular origin of gastrointestinal stromal tumors: a study of 27 cases. *Arch Pathol Lab Med* 2000;124:1471-1475
- Boggino HE, Fernandez MP, Logrono R. Cytomorphology of gastrointestinal stromal tumor: diagnostic role of aspiration cytology, core biopsy, and immunochemistry. *Diagn Cytopathol* 2000;23:156-160
- 高冬霞, 孟凡农, 田旭阳, 杨京萍, 凌云, 廖松林. 胃肠道间质瘤的临床病理研究. *中华普通外科杂志* 2003;18:345-347
- 刘晓红, 马大烈, 吴丽莉, 白辰光, 胡宏杰. 原癌基因 c-kit 在胃肠道间质瘤中的表达及其临床意义. *中华外科杂志* 2002;40:277-279
- 侯英勇, 王坚, 朱雄增, 杜祥, 孙孟红, 郑爱华. 胃肠道间质瘤 76 例的临床病理及免疫组织化学特征. *中华病理学杂志* 2002;31:20-25
- Kim MK, Lee JK, Park ET, Lee SH, Seol SY, Chung JM, Kang MS, Yoon HK. Gastrointestinal stromal tumors: clinical, pathologic features and effectiveness of new diagnostic criteria. *Korean J Gastroenterol* 2004;43:341-348
- Okamoto K, Kato S, Arima N, Fujii T, Morimatsu M, Imaizumi T. Cyclin-dependent kinase inhibitor, p21Waf1, regulates vascular smooth muscle cell hypertrophy. *Hypertens Res* 2004;27:283-291
- 肖卫东, 陈炜, 葛海燕, 陈祖林. ALA-PDT 对 SW480 结肠癌细胞周期阻滞作用及对 G1/S 关卡调控因子的影响. *世界华人消化杂志* 2004;12:1048-1052
- 于卉影, 孙利平, 孙黎光, 丁晓慧. bFGF 对人肝癌细胞系 Bel-7402 的生长调控. *世界华人消化杂志* 2003;11:1333-1336
- Migaldi M, Sgambato A, Garagnani L, Ardito R, Ferrari P, De Gaetani C, Cittadini A, Trentini GP. Loss of p21Waf1 expression is a strong predictor of reduced survival in primary superficial bladder cancers. *Clin Cancer Res* 2000;6:3131-3138
- Pindzola JA, Palazzo JP, Kovatich AJ, Tuma B, Nobel M. Expression of p21WAF1/CIP1 in soft tissue sarcomas: a comparative immunohistochemical study with p53 and Ki-67. *Pathol Res Pract* 1998;194:685-691
- 徐细明, 于皆平, 何小飞, 李军华, 郑敏, 於明亮. 大蒜素对大鼠溃疡性结肠炎淋巴细胞凋亡及其调控蛋白的影响. *世界华人消化杂志* 2003;11:565-568
- van der Woude CJ, Kleibeuker JH, Tiebosch AT, Homan M, Beuving A, Jansen PL, Moshage H. Diffuse and intestinal type gastric carcinomas differ in their expression of apoptosis related proteins. *J Clin Pathol* 2003;56:699-702
- Jansson A, Sun XF. Bax expression decreases significantly from primary tumor to metastasis in colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2002;20:811-816
- Chao H, Sun J, Lu S. Bax gene expression in endometrial carcinoma. *Zhonghua Zhongliu Zazhi* 2001;23:214-216
- Li SM, Yao SK, Yamamura N, Nakamura T. Expression of Bcl-2 and Bax in extrahepatic biliary tract carcinoma and dysplasia. *World J Gastroenterol* 2003;9:2579-2582
- Liu Y, Chen C, Chen C, Hsieh H, Chang C, Shyu J, Yen C, Harn H. Apoptosis and Fas-ligand expression correlate to the histopathological grade of gastric smooth muscle tumors. *J Surg Res* 2001;95:92-98
- 王强, 孙威, 秦晔, 于泽成, 朱健. 胃肠道间质瘤端粒酶活性与细胞凋亡及 P53、Bcl-2 表达的关系. *世界华人消化杂志* 2004;12:995-997
- Noguchi T, Sato T, Takeno S, Uchida Y, Kashima K, Yokoyama S, Muller W. Biological analysis of gastrointestinal stromal tumors. *Oncol Rep* 2002;9:1277-1282
- 尚鸣昇, 王建华, 周康荣, 卢大儒, 胡美玉, 李文涛, 谢倩. 腺病毒介导的 P21<sup>WAF1/CIP1</sup> 基因诱导血管平滑肌细胞凋亡. *临床放射学杂志* 2002;21:388-391
- 张桂英, 徐美华, 谢兆霞, 何春梅. 吗啉美辛对野生型 p53 转染的结肠癌细胞株 SW480 的影响. *世界华人消化杂志* 2003;11:1706-1710
- Rau B, Sturm I, Lage H, Berger S, Schneider U, Hauptmann S, Wust P, Riess H, Schlag PM, Dorken B, Daniel PT. Dynamic expression profile of p21WAF1/CIP1 and Ki-67 predicts survival in rectal carcinoma treated with preoperative radiochemotherapy. *J Clin Oncol* 2003;21:3391-3401
- Gartel AL, Tyner AL. The role of the cyclin-dependent kinase inhibitor p21 in apoptosis. *Mol Cancer Ther* 2002;1:639-649