

胆囊占位病变中P53和K-ras的表达及其临床意义

王延召, 于则利, 张立军

■背景资料

原发性胆囊癌早期诊断困难, 预后差。研究胆囊癌形成和发展以及高侵袭、高转移等恶性生物学行为的发生机制, 对提高临床早期诊断和治疗及预后非常重要。

王延召, 北京大学首钢医院普外二科 北京市 100044
于则利, 张立军, 首都医科大学附属同仁医院普外科 北京市 100730
北京市优秀人才资助项目, No. 2005
通讯作者: 张立军, 100730, 北京市东城区东交民巷1号, 首都医科大学附属同仁医院普外科. zhlij1968@126.com
电话: 010-58268539
收稿日期: 2008-03-12 修回日期: 2008-08-31
接受日期: 2008-09-08 在线出版日期: 2009-01-08

Expression of P53 and K-ras in benign neoplasms and carcinoma of gallbladder

Yan-Zhao Wang, Ze-Li Yu, Li-Jun Zhang

Yan-Zhao Wang, the Second Department of General Surgery, Peking University Shougang Hospital, Beijing 100044, China

Ze-Li Yu, Li-Jun Zhang, Department of General Surgery, Tongren Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100730, China

Supported by: the Beijing Bonzer Person Suppoort Project, No. 2005

Correspondence to: Li-Jun Zhang, Department of General Surgery, Tongren Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100730, China. zhlij1968@126.com

Received: 2008-03-12 Revised: 2008-08-31

Accepted: 2008-09-08 Published online: 2009-01-08

Abstract

AIM: To detect the expression of P53 and K-ras in gallbladder benign lesions and malignant diseases, and to examine their clinical significance.

METHODS: Twenty specimens with cholesterol polyps, 22 with adenoma of gallbladder, 25 with primary gallbladder cancer (PGC) (including 5 with atypical hyperplasia and carcinoma in situ) were examined in this study for P53 and K-ras' expressions using immunohistochemistry. A statistical analysis was performed.

RESULTS: Aberrant expression of P53 and K-ras was present in benign lesions. The positive rate was significantly higher in patients with adenoma of gallbladder than with cholesterol polyps (72.7% vs 35.0%, $P = 0.014$; 90% vs 75.0%, $P = 0.167$). Expression of P53 and K-ras was the lowest in patients with cholesterol polyps. Paired

comparison between P53 and K-ras showed no significant difference, which indicated a possible synergistic interaction in development of gallbladder cancer.

CONCLUSION: Expression of P53 and K-ras shows significant difference and its positive rates are on the increase among cholesterol polyps, adenoma of gallbladder and primary gallbladder cancer (PGC).

Key Words: Gallbladder carcinoma; Cholecyst adenoma; Cholecyst polyps; P53; K-ras

Wang YZ, Yu ZL, Zhang LJ. Expression of P53 and K-ras in benign neoplasms and carcinoma of gallbladder. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(1): 94-96

摘要

目的: 研究P53和K-ras蛋白在胆囊良性占位病变和胆囊癌组织中的表达及差异, 探讨其临床意义。

方法: 应用免疫组织化学方法检测20例胆固醇息肉、22例胆囊腺瘤、25例胆囊癌(含有5例重度非典型增生原位癌)组织中P53和K-ras蛋白的表达, 进行统计学分析。

结果: 胆囊良性病变的黏膜组织中存在P53和K-ras的异常表达, 其中, 胆囊腺瘤患者的阳性表达显著高于胆囊胆固醇息肉患者(72.7% vs 35.0%, $P = 0.014$; 90% vs 75.0%, $P = 0.167$); 胆固醇性息肉患者的P53和K-ras表达较低。配对比较的P53和K-ras表达结果无差异, 两者可能在胆囊癌的发生过程中有协同性作用。

结论: 胆固醇性息肉、胆囊腺瘤、胆囊癌患者的病变组织中P53和K-ras蛋白的表达有显著性差异, 表达阳性率呈现上升趋势。

关键词: 胆囊癌; 胆囊腺瘤; 胆固醇息肉; P53; K-ras

王延召, 于则利, 张立军. 胆囊占位病变中P53和K-ras的表达及其临床意义. *世界华人消化杂志* 2009; 17(1): 94-96
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/94.asp>

■同行评议者

傅华群, 教授, 南昌大学第二附属医院普外科

0 引言

原发性胆囊癌(primary gallbladder carcinoma, PGC)早期诊断困难, 预后差. 研究胆囊癌形成和发展以及高侵袭、高转移等恶性生物学行为的发生机制, 对提高临床早期诊断和治疗及预后非常重要. 为进一步了解胆囊良、恶性占位性病变中P53和K-ras的表达情况, 探讨其阳性表达的临床意义.

1 材料和方法

1.1 材料 收集我科经手术治疗、病理证实的患者: 胆固醇性息肉20例, 男11例, 女9例, 年龄27-70(平均年龄49.2)岁; 胆囊腺瘤22例, 男6例, 女16例, 年龄34-74(平均年龄57.4)岁; 进展期胆囊癌20例, 男7例, 女13例, 年龄35-73(平均年龄为63)岁. 重度不典型增生及原位癌5例, 男2例, 女3例, 年龄44-65(平均年龄58)岁.

1.2 方法 病理标本处理采用免疫组织化学ABC法, 一抗为兔抗人P53和K-ras单抗, 二抗为鼠抗兔二抗, 以上试剂均购自重庆Boston公司. 蜡块切片按说明书进行预处理, 并按照标准ABC法步骤进行染色处理. 抗体稀释工作浓度为1:100. 用已知的P53和K-ras蛋白阳性的胆囊癌组织作阳性对照, 以PBS液代替一抗作阴性对照. 同时应用间质组织作为病理正常阴性对照. 结果判定: 采用1:100抗体工作浓度, 显微镜下控制反应时间, 反应时间以阳性对照细胞胞质或胞核内出现棕黄色细颗粒为准. 结果判断采用4级半定量法评估阳性表达强度: Olympus显微镜下($\times 400$)观察每张切片, 随机选取带有胆囊黏膜或肿瘤组织的5个不重复视野, 按切片中染色阳性细胞数占镜下黏膜细胞总数或肿瘤细胞的比例划分, 无明确阳性细胞为“-”; 阳性细胞数 $<10\%$ 为“+”; 阳性细胞数 $10\%-50\%$ 为“++”; 阳性细胞数 $>50\%$ 为“+++”.

统计学处理 应用SPSS12.0统计软件处理检验结果, 采用行 \times 列的 χ^2 检验比较分析组间的阳性率的差异, 配对 χ^2 检验用于不同抗体阳性率的比较分析.

2 结果

2.1 P53的表达 P53在胆固醇性息肉和胆囊腺瘤中的整体阳性率为54.8%, 而恶性病变者为92%($P = 0.01$), 两者之间的差异有显著的统计学意义. 就性别差异而言, 所有的研究标本中男性阳性率(65.6%)与女性(71.4%)之间无显著性

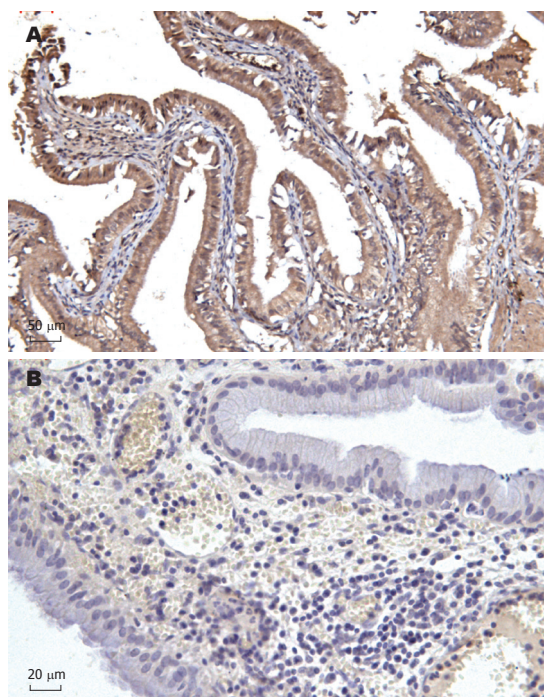


图1 P53染色阳性和阴性病例. A: 强阳性; B: 阴性.

差异($P = 0.609$). 年龄60岁以上(63.3%)和60岁以下(62.7%), 差异无显著性($P = 0.943$). 胆囊腺瘤的阳性率72.7%, 而胆固醇性息肉者阳性率为35.0%, 表达率间有明显的差异($P = 0.014$, 图1).

2.2 K-ras在胆囊良性占位病变和胆囊癌组织中的表达 K-ras在胆固醇性息肉和腺瘤中的总体阳性率为83.3%, 而恶性则为92%, 两者无显著性差异($P = 0.314$), 间质组织中未见阳性表达. 然而进一步的分析提示前两者弱阳性较多, 将弱阳性与阴性病例合并后提示: 前两者弱阳性与阴性占60%, 后者仅32%, 两者之间有差异性($P = 0.042$). 就性别而言, 两者之间差异无显著性($P = 0.352$). 胆囊腺瘤的阳性率为90%, 胆固醇性息肉阳性者75.0%, 胆囊腺瘤和胆固醇性息肉($P = 0.167$)间阳性率的比较无显著性差异. 若将弱阳性和阴性合并, 结果分析提示: 胆囊腺瘤的阴性和弱阳性率为45.5%, 胆固醇性息肉为75%, 无明显差异($P = 0.051$, 图2).

2.3 配对比较 本研究所有标本两种蛋白表达的总体配对比较, 差异无显著性($P = 0.603$), 良性胆囊病变中的配对比较也无显著性差异($P = 0.056$), 同时对胆固醇性息肉、胆囊腺瘤进行的配对比较显示 P 值分别为0.08和0.125, 均无明显的统计学意义.

3 讨论

正常的野生型P53蛋白, 由于半衰期短, 应用免疫

■ 研发前沿

正常的野生型P53蛋白, 由于半衰期短, 应用免疫组化的方法在细胞中常不能检测到其存在; 当其发生突变时, 由于结构异常, 不易分解代谢, 半衰期延长, 从而得以检测.

■同行评价

本文观察了三组临床病例, 比较了胆囊癌、胆囊良性病变及胆囊息肉组织中的P53和K-ras的表达. 得出了有规律性的结果, 有一定的科学意义, 但临床适应性不够.

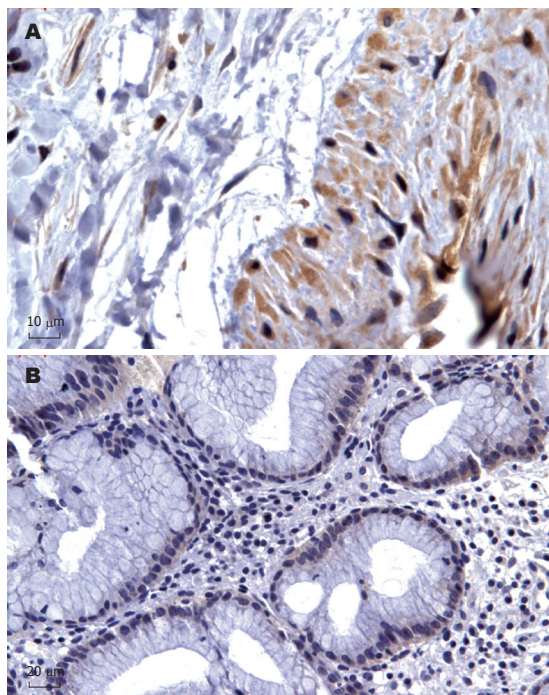


图2 K-ras染色结果. A: 强阳性; B: 阴性.

组化的方法在细胞中常不能检测到其存在; 当其发生突变时, 由于结构异常, 不易分解代谢, 半衰期延长, 从而得以检测. 结构的改变导致其失去了监视并诱导变异细胞凋亡灭活的功能, 致使细胞变异存留并发展, 进而可能发展为肿瘤^[1-2]. 本实验结果表明: 与间质细胞相比, 从胆固醇性息肉、胆囊腺瘤以及胆囊癌患者的黏膜细胞中, 均存在着P53蛋白的表达异常, 病变不同表达检出率有较明显差异. 故我们推断P53的变异与这一肿瘤发生过程相关, 胆囊腺瘤高表达, 预示发生肿瘤的可能性较之胆固醇性息肉的更高, 这之前邹声泉等的研究结论相似^[3]. K-ras基因编码P21ras蛋白, 通常作为分子信号传导通路而存在^[1,4]. 在正常组织中可有低水平的表达; 如发生变异, 其结构异常的蛋白可与GTP持续结合,

不被释放、水解破坏, 故易被检测; 同时此种结合可以过度激活细胞的代谢活动, 促进细胞的增殖与转化^[5]. 本实验中以腺瘤患者的表达水平较高, 与胆固醇性息肉的比较虽然未发现明显的差异性, 但是胆固醇性息肉表达相对较低, 由此我们认为: 胆囊腺瘤代谢增生及分化活跃, 在不断的接受K-ras变异导致的正反馈的过程中可发生进一步的分子变异, 致使肿瘤的最终发生成为可能, 但是K-ras变异通过实验可以看出较广泛的分布于所选的标本中, 故在肿瘤的发生中的作用有待于进一步的探讨. 对两种蛋白的配对分析可以看出, 差异无显著性, 可以认为两种蛋白的表达在同一样本中检测结果的一致阳性率较高, 因此两者在肿瘤的发生机制上可能起到协同作用.

基因异常是肿瘤发生的基础, 通过本研究发现胆囊良性病变黏膜组织中存在P53和K-ras的异常表达, 而胆囊腺瘤的阳性率更高, 则其演变发展为胆囊癌的可能性更大. 胆固醇性息肉患者的P53和K-ras表达较低, 故恶变的可能性较腺瘤为小. 实验数据配对比较发现P53和K-ras表达结果无差异, 提示两者可能在肿瘤的发生上起协同性作用.

4 参考文献

- 1 姚兵, 孙家骏, 邓勇, 景鸿恩, 郭新建, 于志敏. ras和p53基因在原发性胆囊癌早期诊断中的应用研究. 中华肝胆外科杂志 2004; 10: 457-459
- 2 耿志坚, 童淑兰, 殷梅英, 费绍华, 叶龙珍, 杨玲芳. 胆囊癌DNA含量、ER、PR、P53、P21表达与预后的意义. 现代肿瘤医学 2003; 11: 168-170
- 3 Zhang L, Zhou SQ. DNA content and gene expression in Adnoma-Carcinoma asequence of gallbladder carcinogenesis. Chin Ger J Clin Oncol 2003; 2: 102-103
- 4 Yamagata S, Muto T, Uchida Y, Masaki T, Higuchi Y, Sawada T, Hirooka T. Polypoid growth and K-ras codon 12 mutation in colorectal cancer. Cancer 1995; 75: 953-957
- 5 孔琦, 黄强. 胆管癌分子生物学研究进展. 肝胆外科杂志 2004; 12: 393-395

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

中国科技期刊引证报告(核心版)发布世界华人消化杂志 2007年影响因子 0.568

本刊讯 2007年世界华人消化杂志的总被引频次为2353, 位居全部1723种中国科技论文统计源期刊的第86位, 内科医学类28种期刊的第5位. 2007年世界华人消化杂志的影响因子为0.568, 内科医学类28种期刊的第15位. 即年指标0.082, 他引率0.69, 引用刊数372种, 扩散因子15.81, 学科影响指标0.54. (编辑: 程剑侠 2009-01-08)