

# PCNA、p53、Rb 基因产物表达与平滑肌肿瘤的良恶性关系研究

冀学宁, 毛利民, 吕 申, 张 朝

(大连医科大学病理教研室 116027)

**摘要:**目的: 探讨 PCNA、p53、Rb 基因产物表达与平滑肌肿瘤良恶性的关系。方法: 采用免疫组化 LSAB 法检测 PCNA、p53、Rb 基因产物在 5 例平滑肌瘤、27 例平滑肌肉瘤的表达情况。结果: PCNA、p53、Rb 在平滑肌瘤、平滑肌肉瘤的阳性表达分别为 2, 25 例 ( $P < 0.05$ ); 1, 15 例 ( $P > 0.05$ ); 1, 16 例 ( $P < 0.05$ )。表明检测基因产物 PCNA、p53、Rb 的表达有助于判断平滑肌肿瘤的良恶性及预后。

**关键词:** 平滑肌肿瘤; PCNA; p53; pRb; 免疫组化

**中图分类号:** R738.7 **文献标识码:** A

平滑肌肿瘤最常发生于子宫、胃肠道, 其次发生于软组织、皮肤。判断其良恶性的标准通常包括肿瘤的大小, 组织学异形性, 核分裂像, 坏死, 细胞类型及有无侵袭性等, 但有时难以判定其生物学行为。

近年来随着分子生物学的发展, 检测基因产物表达判断肿瘤的良恶性及预后已经成为可能。本实验采用免疫组化法检测 5 例平滑肌瘤、27 例平滑肌肉瘤的 PCNA、p53、Rb 基因产物的表达, 探讨其表达与肿瘤良恶性的相互关系, 旨在为诊断该类肿瘤提供更多的依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究对象

27 例平滑肌肉瘤病例选自 1988~1998 年大连医科大学第一、二临床学院, 大连市第二人民医院病理科存档标本。其中男性 16 例, 女性 11 例; 年龄 39~76 岁, 平均 58.6 岁。5 例平滑肌瘤为对照。所有标本均在常规 HE 染色光镜观察的基础上行必要的特殊染色和免疫组化染色诊断明确。

### 1.2 基因产物表达检测

经 10% 福尔马林固定, 石蜡包埋的组织制成 4~5  $\mu\text{m}$  的连续切片。二甲苯脱蜡, 梯度酒精水化。单克隆抗体 PCNA (PC10, DAKO 公司, 丹麦, 稀

释度 1:100), p53 (BP53-12, Tanner 公司, 日本, 稀释度 1:100), pRb (3H9, MBL 公司, 日本, 稀释度 1:50) 染色采用 LSAB 法。DAB 显色, 苏木素复染。取已知阳性组织作阳性对照, 以 PBS 替代一抗作阴性对照。

### 1.3 结果判定

阳性细胞判定以细胞核内出现棕黄色颗粒为准, 计数 5 个高倍视野或 1000 个以上细胞。按照染色强度打分: 0 分为无色, 1 分为淡黄色, 2 分为棕黄色, 3 分为棕褐色。按阳性细胞所占百分比打分: 0 分为阴性, 1 分为阳性细胞  $\leq 10\%$ , 2 分为 11%~50%, 3 分为 51%~75%, 4 分为  $> 75\%$ 。染色强度与阳性细胞所占百分比积分乘积 0~3 分为 (-), 4~5 分记为 (+), 6~9 分为 (++) , 10~12 分为 (+++)。

### 1.4 统计学处理

采用成组设计两样本比较 (Wilcoxon) 秩和检验。

## 2 结果

PCNA、p53、Rb 基因产物在平滑肌瘤、平滑肌肉瘤中的阳性表达分别为 2 例, 25 例 ( $P < 0.05$ ); 1 例, 15 例 ( $P > 0.05$ ); 1 例, 16 例 ( $P$

< 0.05) 见表 1。

表 1 PCNA、p53、Rb 基因产物在平滑肌瘤、平滑肌肉瘤的表达

	PCNA <sup>*</sup>		p53 <sup>#</sup>		pRb <sup>*</sup>	
	良	恶	良	恶	良	恶
-	3	2	4	12	4	11
+	1	1	1	5	1	5
++	1	13		8		11
+++		11		2		

\* $P < 0.05$ ; # $P > 0.05$

### 3 讨论

PCNA 是 DNA 聚合酶  $\delta$  的辅助因子, 分子量为 36KD。在 G1 晚期、S 期、G2 期出现, S 期达到高峰, 参与 DNA 的复制。是评价细胞增殖状况的良好标记物。在食管癌、胃癌、大肠癌等恶性肿瘤中其高表达与肿瘤恶性程度及预后相关<sup>[1]</sup>。本实验中 PCNA 在平滑肌瘤、平滑肌肉瘤的阳性表达分别为 2, 25 例, 差异显著。而且其染色强度与阳性细胞所占百分比积分乘积存在差异。提示 PCNA 可以作为判断平滑肌源肿瘤良恶性的重要指标。

p53 基因定位于染色体 17p13.1, 编码 53KD 核磷蛋白。作为细胞周期的负调控因子, 当 DNA 损伤时, 野生型 p53 使细胞停滞在 G1 期, 促进 DNA 得以修复, 监视基因组完整性。p53 被认为是人类肿瘤中最常发生变化的基因。其突变存在于人类很多肿瘤中, 如结肠癌, 乳腺癌, 肺癌等, 提示 p53 异常对肿瘤的形成具有重要作用<sup>[2]</sup>。有报道在良性平滑肌瘤、潜在恶性平滑肌瘤、平滑肌肉瘤中 p53 阳性表达呈递增趋势, 因此认为 p53 阳性表达可作为判定良恶平滑肌肿瘤的客观指标。本实验平滑肌肉瘤中 p53 阳性表达例数多于平滑肌瘤, 提示检测该类肿瘤中 p53 表达可能将有助于良恶性的判别。统计学差异不明显, 可能为样本例数过少, 有待增加标本进一步探讨。

### The correlation between the expressions of PCNA, p53, and Rb gene proteins and the malignancy of smooth muscle tumor

Ji Xuening, Mao limin, Lü Shen, et al

Department of Pathology, Dalian Medical University, Dalian, China

**Abstract:** The expressions of PCNA, p53, and Rb gene proteins were examined in 27 leiomyosarcomas and 5 leiomyomas immunohistochemically. The positive expressions of PCNA, p53, and Rb gene proteins in leiomyomas and leiomyosarcomas were 2, 25 ( $P < 0.05$ ); 1, 15 ( $P > 0.05$ ); 1, 16 ( $P < 0.05$ ) respectively. The expressions of PCNA, p53 and pRb gene proteins maybe contribute to judge the malignancy and prognosis of smooth muscle tumor.

**Key words:** smooth muscle tumor; PCNA; p53; pRb; immunohistochemistry

Rb 基因是最早发现的抑癌基因。定位于染色体 13q14, 编码 110KD 的核磷蛋白。低磷酸化 Rb 与 E2F 结合, 抑制细胞进入 S 期, 阻止细胞转录, 抑制 DNA 合成。其缺失、突变可导致细胞生长失控。本研究结果显示 pRb 在平滑肌瘤、平滑肌肉瘤的阳性表达分别为 1, 16 例, 差异显著。一般认为 Rb 丢失与肿瘤的恶性程度和预后相关。我们认为 Rb 阳性表达增多原因一方面可能是肿瘤形成过程中抑癌基因反馈性上调, 这与我们以前实验的研究结果一致; 另一方面免疫组化仍可检测到部分突变型 Rb, 诸如突变型 Rb 上调、扩增、半衰期延长。此外 Rb 在平滑肌瘤、平滑肌肉瘤中染色强度与阳性细胞所占百分比积分乘积存在差异。Songon 等<sup>[3]</sup>报道 Rb 阳性表达与胃癌的淋巴结转移正相关。因此 Rb 阳性表达提示其可能是判定平滑肌肿瘤良恶程度的重要标记物。

此外三种基因产物同时表达只存在于 7 例平滑肌肉瘤中, 提示平滑肌肉瘤基因产物表达多样性与肿瘤的良恶程度相关, 多基因产物检测有助于判断肿瘤的良恶性。

本实验结果提示检测 PCNA、p53、pRb 基因产物表达有助于判断平滑肌肿瘤的良恶性和推测预后。

### 参 考 文 献

- [1] Hall PA, Levison DA, Woods AL, et al. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) immunolocalization in paraffin sections: an index of cell proliferation with evidence of deregulated expression in some neoplasms [J]. J Pathol, 1990; 162: 185.
- [2] Harris CC. The 1995 Walter Hubert Lecture-Molecular epidemiology of human cancer: insights from the mutational analysis of p53 tumor suppressor gene [J]. Br J Cancer, 1996; 73: 261.
- [3] Songon I, Vande Velle CJ, Hermans J, et al. Expression of oncoprotein and the amount of eosinophilic and lymphocytic infiltrates can be used as prognosis factors in gastric cancer [J]. Br J Cancer, 1996; 74 (11): 1783.