

细胞核内与胞浆中 p21 蛋白预测胃癌术后辅助化疗疗效

王维民, 顾贤成, 陈红, 张国强, 汤月华, 周炎
(江苏大学附属宜兴医院, 江苏 宜兴 214200)

摘要: [目的] 探讨 p21 蛋白与胃癌术后患者 FLO 方案辅助化疗疗效之间的关系。[方法] 选取 966 例胃癌组织标本, 采用组织芯片技术检测胃癌组织中细胞核内与胞浆中 p21 蛋白表达, 应用 Kaplan-Meier 方法绘制生存曲线, Log-rank 检验比较生存率。[结果] p21 在核中普遍低表达, 而在浆中却呈高表达。浆 p21 高表达、核 p21 低表达者术后采取 FLO 方案化疗均能从总生存期 (OS) 中获益 ($P < 0.05$); 相反, 浆 p21 低表达、核 p21 高表达者在 OS 上未能获益 ($P > 0.05$)。[结论] p21 蛋白表达可以预测胃癌术后患者对 FLO 方案化疗疗效, 可为胃癌术后患者的个体化治疗提供临床理论依据。

关键词: p21; 胃癌; 化疗

中图分类号: R735.2 文献标识码: A 文章编号: 1004-0242(2015)09-0801-04
doi: 10.11735/j.issn.1004-0242.2015.09.A019

p21 Protein in the Nucleus and Cytoplasm in Predicting for Efficacy of Adjuvant Chemotherapy in Gastric Cancer Patients

WANG Wei-min, GU Xian-cheng, CHENG Hong, et al.
(Yixing Hospital Affiliated to Jiangsu University, Yixing 214200, China)

Abstract: [Purpose] To investigate the relationship between p21 protein expression and effect of FLO adjuvant chemotherapy in gastric cancer patients. [Methods] The tissue microarrays with 966 cases of gastric cancer tissues were used to detect the nucleae and cytoplasmic p21 protein expression in gastric cancer, and the Kaplan-Meier curves with the Log-rank test were used to test the prognosis of gastric patients with different nucleae and cytoplasmic p21 protein expression. [Results] The nuclear p21 expression was generally down-regulated, while the cytoplasmic p21 was up-regulated. Moreover, the patients with low nuclear or high cytoplasmic p21 expression could benefit from the FLO chemotherapy after surgery ($P < 0.05$). In contrast, the patients with high nuclear or low cytoplasmic p21 expression failed to benefit from FLO chemotherapy ($P > 0.05$). [Conclusion] The subcellular p21 expression may be a useful biomarker to predict the FLO chemotherapy effect in gastric cancer patients, and the results will provide theoretical basis for individualized clinical treatment of gastric cancer patients.

Key words: p21; gastric cancer; chemotherapy

胃癌是我国常见的恶性肿瘤之一, 其死亡率仅次于肺癌、肝癌^[1]。中国每年新发胃癌病例约占全世界胃癌新发病例的 42%。目前, 在胃癌治疗方面, 手术、辅助化疗、新辅助化疗以及分子靶向治疗等仍是关注的热点^[2,3]。从循证医学角度出发, 胃癌的治疗

必须采用规范化、个体化的治疗模式^[4]。基因遗传多态性使患者对化疗敏感性存在个体化差异^[5]。如何选择合适的化疗方案使患者从治疗中受益非常重要。随着胃癌分子生物学研究的不断深入, 生物标志物预测化疗疗效的模式已为胃癌术后患者治疗开辟了新途径^[6]。

p21 基因是 Clp 家族中的一员, 位于 p53 基因下游的细胞周期素依赖性激酶抑制因子^[7]。研究表

收稿日期: 2014-09-25; 修回日期: 2014-11-13

基金项目: 江苏省恶性肿瘤生物标志物与防治重点实验室开放课题 (11ZLK09); 无锡科技局医疗与公众健康技术研发项目 (CSE31N1333)

通讯作者: 周炎, E-mail: staff260@yxph.com

明 p21 与胃癌组织的分化、浸润深度和转移有关,具有判断胃癌预后的价值^[8]。

本文采用组织芯片技术检测胃癌和相应癌旁组织中细胞核内与胞浆中 p21 蛋白表达,探讨 p21 蛋白表达与胃癌术后患者 FLO 方案辅助化疗疗效之间的关系。

1 资料与方法

1.1 临床资料

收集 1999 年 1 月 1 日至 2006 年 12 月 31 日我院 966 例胃癌组织标本库,所有患者术前均未给予放化疗。术后病理诊断明确。组织学分型:腺癌 612 例,黏液腺癌 250 例,腺鳞癌 87 例,鳞癌 17 例。采用国际抗癌联盟 TNM 和临床分期:Ⅰ~Ⅱ期 375 例,Ⅲ~Ⅳ期 591 例。其中 93 例患者行术后辅助化疗。全部病例术后随访时间 1~5 年,随访时间截止 2011 年 12 月 31 日。

1.2 术后化疗方案

胃癌术后患者采取 FLO 方案化疗,奥沙利铂 85mg/m²,静脉滴注,d_{1,8};亚叶酸钙(CF)200mg/m²,静脉滴注,d₁₋₅;氟尿嘧啶(5-Fu)400mg/m²,静脉滴注,d₁₋₅。28d 为一个周期,术后均行 4~6 个周期。

1.3 p21 蛋白及其活性检测

胃癌组织芯片合同委托生物芯片上海国家工程研究中心构建,从排序的石蜡瘤块中心和相对应的癌旁组织处取直径 1.0mm 肿瘤组织作为组织对照,正常胃黏膜上皮细胞活检组织被插入每张芯片的四角和中心,用标准的操作程序检测胃癌组织芯片中 p21 蛋白表达。

胃癌组织芯片在 55℃ 作用 20min,然后用二甲苯清洗脱蜡 3 遍,每遍约 5min。再分别用 100%、95%、80%的乙醇和蒸馏水清洗,每次约 5min。样品在 10mmol/L 的柠檬酸钠(pH=6.0)内,95℃加热 30min,进行抗原修复。在 3%过氧化氢中孵化 30min,以阻断内源性过氧化物酶活性。用血清封闭 30min,用鼠源性单克隆抗体 p21 (1:50 稀释)与样品切片孵育,在 4℃ 条件下过夜,然后与相应的二抗结合 30min,再通过 3,3'-二氨基基板,进行苏木红染色。然后进行脱水,样品切片用盖玻片密封、阴性对照组省略 p21 抗体孵化。在每个芯片的样品切片上,

正常胃黏膜上皮组织的染色被评定为染色的质量标准。免疫组织染色结果判定:p21 染色等级采用免疫染色评分 (IRS)^[8],以染色强度×阳性细胞百分比计算。结果:阴性(IRS:0),弱(IRS:1~2),中度(IRS:3~6),强(IRS:8~12)。

1.4 统计学处理

用 Kaplan-Meier 方法绘制生存曲线,Log-rank 检验比较生存率。所有统计检验均为双侧检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 p21 蛋白表达

p21 在核中普遍呈低表达,而在浆中却呈高表达。胃癌组织中核 p21 低表达的比例为 55%,p21 浆高表达的比例为 30.6%(Table 1)。

Table 1 Expression of p21 protein in cells

p21 expression		Cases
Cytoplasm	Low	266
	High	219
Nucleus	Low	340
	High	143

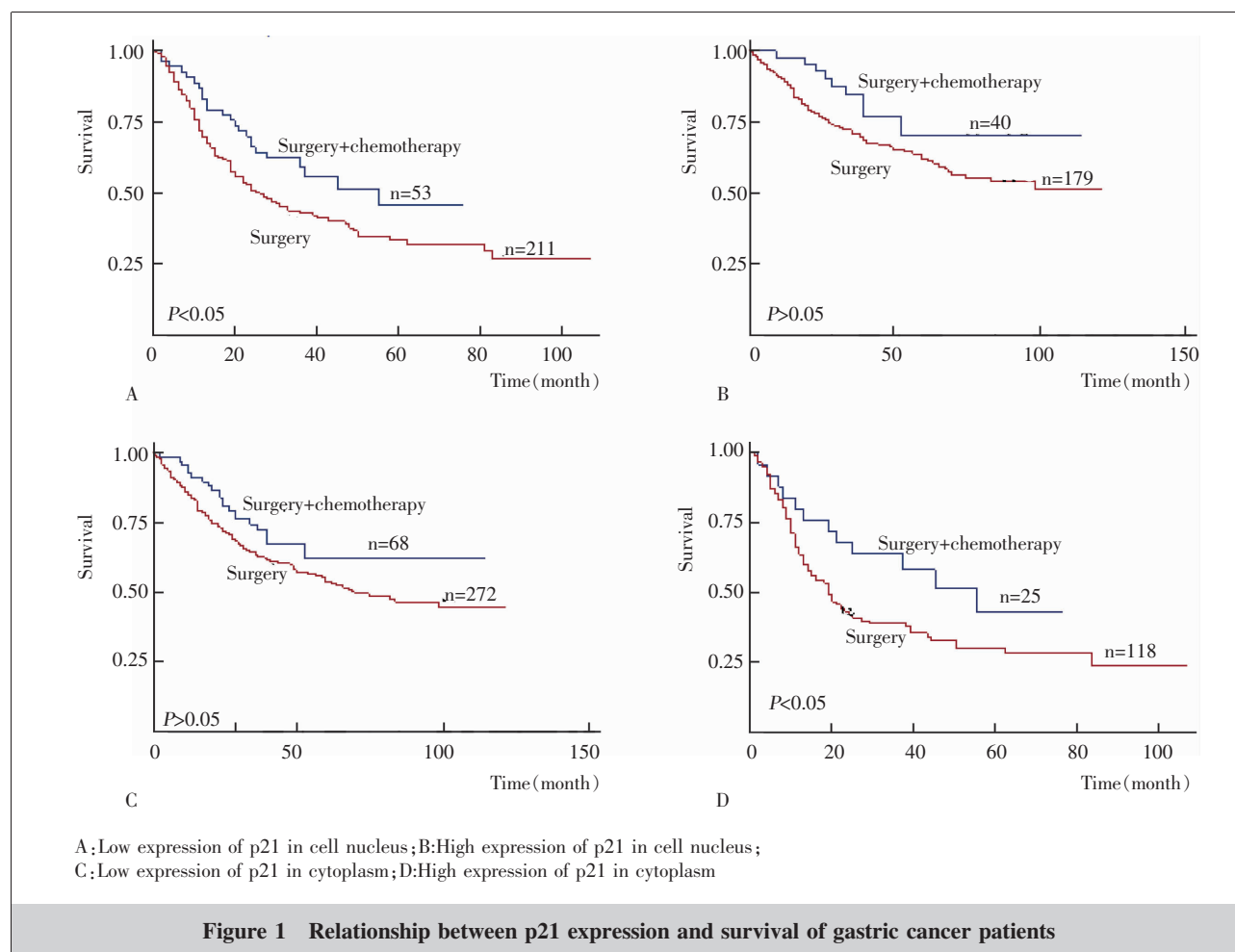
2.2 p21 蛋白表达与胃癌患者生存期之间的关系

浆 p21 高表达、核 p21 低表达者术后采用 FLO 方案化疗均能从总生存期上获益($P<0.05$);相反,浆 p21 低表达、核 p21 高表达者在 OS 上未能获益($P>0.05$)(Figure 1)。

3 讨论

近年来,胃癌的总体发病率已有明显下降趋势,但仍是世界上发病率居第二位的恶性肿瘤,其中 60%病例发生在发展中国家^[9]。手术切除、辅助化疗、新辅助化疗以及分子靶向治疗等仍然是目前胃癌治疗的重要手段^[10]。胃癌晚期患者术后仍存在较高的复发率。因此,对于胃癌术后辅助化疗患者,寻找高效低毒的化疗方案依然是临床肿瘤学界面临的巨大挑战。

p21 基因是 1993 年发现的一种新型抑癌基因,其机制在于 p21 能够与 Cyclin D/CDK 形成复合物使细胞周期停滞在 G₁ 期^[11,12];还可以通过 C 端与



pCNA 相互作用,阻断 pCNA 活化 DNA 聚合酶的活性从而抑制 DNA 的合成,使细胞周期停滞^[13]。研究数据表明 p21 是细胞周期负性调控基因,可被野生型 p53 蛋白诱导表达而使细胞周期停滞于G₁ 期^[14]。p21 参与细胞的生长、分化、衰老及凋亡,同时又与肿瘤发生密切相关,在细胞的生理、病理过程中发挥重要的作用^[15]。

本课题前期研究结果显示:浆 p21 低表达或核 p21 高表达的胃癌患者在总生存期上具有明显优势,p21 蛋白可以作为胃癌术后患者预后的重要生物学指标之一^[8]。本研究主要分析细胞浆、核内 p21 蛋白与 FLO 方案化疗疗效之间的关联性,结果显示:浆 p21 高表达、核 p21 低表达者术后采取 FLO 方案化疗均能从总生存期上获益。由此可知,p21 蛋白表达可以预测胃癌术后患者对 FLO 方案化疗的有效率,可为胃癌术后患者的个体化治疗提供临床理论依据。

参考文献:

- [1] Ji JF. Three decades review of gastric cancer prevention research[J]. Chin J Clin Oncol,2013,40(22):1345-1351. [季加孚.我国胃癌防治研究三十年回顾[J]. 中国肿瘤临床,2013,40(22):1345-1351.]
- [2] Ji JF, Ji X. Recent progress in gastric cancer treatment[J]. The Journal of Evidence-Based Medicine,2011,11(2):82-86.[季加孚, 季鑫. 胃癌治疗的新进展 [J]. 循证医学, 2011,11(2):82-86.]
- [3] Cervantes A, Rode D, Tarazona N, et al. Current questions for the treatment of advanced gastric cancer [J]. Cancer Treat Rev,2013,39(1):60-67.
- [4] Tian HP, Wang JJ. Meta analysis: the effects of neoadjuvant chemotherapy for 5-year survival rates of the patients with gastric cancer[J]. Chongqing Medical,2012,41(2):142-144. [田洪鹏, 王继见. 新辅助化疗对胃癌 5 年生存率影响的 Meta 分析[J]. 重庆医学,2012,41(2):142-144.]
- [5] Li Y, Yan PW, Huang XE, et al. MDR1 gene C3435T polymorphism is associated with clinical outcomes in gas-

- tric cancer patients treated with postoperative adjuvant chemotherapy [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2011, 12(9): 2405-2409.
- [6] Zhang J, Zhu ZG, Lin YZ. Molecular targeted therapy of gastric cancer in advances [J]. J Surg Concepts Pract, 2011, 16(3): 221-223. [张俊, 朱正纲, 林言箴. 胃癌分子靶向治疗进展 [J]. 外科理论与实践, 2011, 16 (3): 221-223.]
- [7] Liu X, Yu H, Cai H, et al. Expression of CD24, p21, p53, and c-myc in alpha-fetoprotein-producing gastric cancer: correlation with clinicopathologic characteristics and survival[J]. J Surg Oncol, 2014, 109(8): 859-864.
- [8] Huang Y, Wang W, Chen Y, et al. The opposite prognostic significance of nuclear and cytoplasmic p21 expression in resectable gastric cancer patients [J]. J Gastroenterol, 2014, 49(11): 1441-1452.
- [9] Siegel R, Ma J, Zou Z, et al. Cancer statistics, 2014[J]. CA Cancer J Clin, 2014, 64(1): 9-29.
- [10] Son T, Kwon IG, Hyung WJ. Minimally invasive surgery for gastric cancer treatment: current status and future perspectives[J]. Gut Liver, 2014, 8(3): 229-236.
- [11] Wang L, Wang G, Yang D, et al. Euphol arrests breast cancer cells at the G1 phase through the modulation of cyclin D1, p21 and p27 expression [J]. Mol Med Rep, 2013, 8(4): 1279-1285.
- [12] Liu J, Shen M, Yue Z, et al. Triptolide inhibits colon-rectal cancer cells proliferation by induction of G1 phase arrest through upregulation of p21 [J]. Phytomedicine, 2012, 19 (8): 756-762.
- [13] Adeyemi RO, Fuller MS, Pintel DJ. Efficient parvovirus replication requires CRL4Cdt2-targeted depletion of p21 to prevent its inhibitory interaction with PCNA [J]. PLoS Pathol, 2014, 10(4): e1004055.
- [14] Xu H, Wang Z, Jin S, et al. Dux4 induces cell cycle arrest at G1 phase through upregulation of p21 expression [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2014, 446(1): 235-240.
- [15] Warfel NA, El-Deiry WS. p21WAF1 and tumorigenesis: 20 years after[J]. Curr Opin Oncol, 2013, 25(1): 52-58.

《中国肿瘤》编辑部关于启用稿件远程处理系统的通知

本刊已启用稿件远程处理系统,该系统包括作者在线投稿/查询、主编办公、专家审稿、编辑办公等功能,通过网上投稿、网上查稿、网上审稿,实现作者、编辑、审稿专家的一体化在线协作处理,从而构建一个协作化、网络化、角色化的编辑稿件业务处理平台。对于广大作者而言,该系统最大的优点是支持在线投稿,方便作者及时了解稿件处理进程,缩短稿件处理时滞。

使用过程中具体注意事项如下:

(1)第1次使用本系统投稿的作者,必须先注册,才能投稿。注册时各项信息请填写完整。作者自己设定用户名和密码,该用户名密码长期有效。

(2)已注册过的作者,请不要重复注册,否则将导致查询稿件信息不完整。如果遗忘密码,可以致电编辑部查询。

(3)作者投稿请点击“作者登录”,登录后按照提示操作即可。投稿成功后,系统自动发送回执邮件,作者投稿后请随时关注邮箱提示,也可随时点击“作者登录”,获知该稿件的审理情况、处理进展、审稿意见等。

(4)网上投稿成功1周内,请将以下文件邮寄至编辑部:①单位介绍信;②文章若属于基金项目资助,附上基金项目批文的复印件。编辑部收到上述文件后,稿件将进入审稿程序。

稿件远程处理系统启用后,我刊只接受网上投稿,不再接收电子邮件投稿和纸质稿。

《中国肿瘤》网址:<http://www.chinaoncology.cn>

如有任何问题,请与编辑部联系!联系电话:0571-88122280。