

大肠癌中 DPC4 蛋白表达及与临床病理特征的关系

Expression of DPC4 Protein in Colorectal Cancer and Its Relationship with Clinicopathologic Features // YING Rong-pei

应荣培 (玉环县中医院, 浙江 玉环 317600)

摘要: [目的] 探讨大肠癌组织中 DPC4 蛋白的表达及其与患者临床病理特征的关系。[方法] 免疫组化 Elivison 二步法检测 60 例大肠癌手术切除标本中 DPC4 蛋白的表达, 并探讨其与患者组织学类型、浸润深度、淋巴结转移和远处转移等临床病理特征的关系。并取 40 例癌旁正常大肠组织作对照。[结果] DPC4 蛋白主要在大肠癌和癌旁正常大肠组织的胞浆表达, 呈棕黄色细颗粒。60 例大肠癌标本中 DPC4 的阳性表达为 21 例(35.0%), 其中强阳性为 4 例(6.7%)。40 例癌旁正常大肠组织中 DPC4 蛋白表达均为阳性, 其中强阳性 34 例(85.0%)。大肠癌组织中 DPC4 蛋白阳性表达率明显低于癌旁正常大肠组织($\chi^2=42.62, P<0.01$)。大肠癌组织中 DPC4 蛋白表达水平随组织分化程度的增加而增加($P<0.01$), 随原发病灶的浸润深度增加、淋巴结转移和远处转移的出现而下降($P<0.01$)。[结论] 且 DPC4 蛋白表达降低或缺失在大肠癌的发生发展过程起重要作用, 有望成为大肠癌基因诊断和治疗的新靶点。

主题词: 大肠肿瘤; 免疫组化; DPC4 蛋白; 临床病理学

中图分类号: R735.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2012)02-0124-03

大肠癌是临床上常见的胃肠道肿瘤之一, 其发生、发展是多阶段、多基因参与的分子病理过程, 受到多种相关基因的调控, 其中, 癌基因的激活和抑癌基因的失活导致的细胞异常增殖是该过程中的重要分子机制之一^[1]。胰腺癌抑癌基因(deleted in pancreatic cancer locus 4, DPC4)是一种新发现的抑癌基因, 其蛋白表达产物与癌症的发生有着密切的联系, 对该基因的研究, 可以揭示大肠癌的发病机制, 为大肠癌的基因治疗提供帮助^[2]。本研究通过免疫组化法检测 DPC4 蛋白在大肠癌组织中的表达, 并探讨其与患者的临床病理特征的关系。

1 资料与方法

1.1 临床资料

收集我院 2005 年 1 月~2011 年 11 月有完整临床资料且病理证实的大肠癌组织标本 60 例, 其中男性 38 例, 女性 22 例; 年龄 35 岁~89 岁, 平均 61.4±6.9 岁。所有标本的患者术前均未接受化疗及放疗。其中高分化 20 例, 中分化 23 例, 低分化 17 例; 肿瘤

浸润至黏膜下 18 例, 肌层、浆膜下 23 例, 浸润至浆膜层 19 例; 有淋巴结转移者 21 例; 有远处转移者 16 例。另取 40 例癌旁正常大肠组织(距肿瘤边缘>5cm)作对照。

1.2 免疫组化染色

采用免疫组化 Elivison 二步法。石蜡切片常规逐级脱蜡至水, 微波抗原修复, 加 1 滴 3% H₂O₂ 室温下孵育 10min, 以阻断内源性过氧化物酶的活性, 滴加正常的羊血清封闭 10min, 倾去血清分别滴加 DPC4 一抗工作液 4℃过夜, 滴加二抗羊抗鼠 IgG 37℃孵育 30min。各步骤间用 PBS 冲洗 5min×3 次。DAB 显色, 苏木素复染, 常规脱水, 透明和封片。以正常扁桃腺组织作阳性对照, 以 PBS 代替一抗作阴性对照。免疫组化 Envision 试剂盒以及兔抗人 DPC4 多克隆抗体购买自武汉博士得生物技术有限公司。

1.3 结果判定

免疫组化结果以胞浆出现棕黄色颗粒为阳性细胞。每张切片选择染色良好区域, 连续观察 10 个高倍视野, 每个视野至少观察 50 个细胞, 根据染色强度分级: <5%为阴性(-), 5%~25%为弱阳性(+), 26%~50%为中度阳性(++), >50%为强阳性(+++)。(+)~(+++)计为阳性。

收稿日期: 2012-01-03; 修回日期: 2012-02-02

1.4 统计学处理

应用 SPSS 13.0 统计软件,采用 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 DPC4 蛋白在大肠癌及癌旁正常组织中的表达

DPC4 蛋白主要在大肠癌和癌旁正常大肠组织的胞浆表达,呈棕黄色细颗粒(见图 1)。60 例大肠癌标本中 DPC4 的阳性表达为 21 例(35.0%),其中强阳性为 4 例 (6.7%)。40 例癌旁正常大肠组织中 DPC4 蛋白表达均为阳性,其中强阳性 34 例(85.0%)。大肠癌组织中 DPC4 蛋白阳性表达率明显低于癌旁正常大肠组织 ($\chi^2=42.62, P<0.01$), 两者差异有统计学意义。

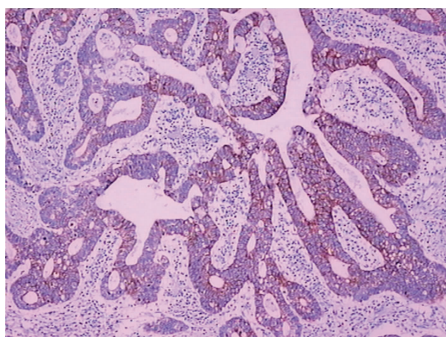


图 1 DPC4 强阳性的大肠癌组织,胞浆棕黄色,染色不完全均匀($\times 400$)

表 1 DPC4 蛋白在大肠癌中的表达与临床病理特征的关系

临床病理参数	例数	DPC4 的表达		阳性率 (%)	χ^2	P
		阴性 (-)	阳性 (+~+++)			
组织学类型					8.55	<0.05
高分化	20	8	12	60.0		
中分化	23	17	6	26.1		
低分化	17	14	3	17.8		
原发灶程度(T)					13.15	<0.01
黏膜下	18	6	12	66.7		
肌层、浆膜下	23	16	7	30.4		
浆膜层	19	17	2	10.5		
淋巴结转移(N)					9.22	<0.01
无	39	20	19	48.7		
有	21	19	2	9.5		
远处转移(M)					7.93	<0.01
无	44	24	20	45.5		
有	16	15	1	6.3		

2.2 DPC4 蛋白在大肠癌中的表达与临床病理特征的关系

大肠癌组织中 DPC4 蛋白表达水平在低分化癌中阳性率为 17.8%,中分化癌为 26.1%,高分化癌中为 60.0%,随组织分化程度的增加而增加,在不同组织分化程度中的差异有统计学意义 ($\chi^2=8.55, P<0.05$);随原发病灶的浸润深度增加、淋巴结转移和远处转移的出现,DPC4 蛋白表达水平下降 ($\chi^2=13.15, P<0.01; \chi^2=9.22, P<0.01; \chi^2=7.93, P<0.01$)。见表 1。

3 讨 论

大肠癌的发生是一个复杂的过程,其中促癌基因的激活与抑癌基因的失活引起的细胞异常的生长和增殖是大肠癌的发生和发展的重要分子机制。近年来,随着对大肠癌遗传易感性的研究的进展,导致对肿瘤发生内因的关注,各种大肠癌相关基因的研究也正逐步展开。DPC4 是近年发现的一个新的抑癌基因。DPC4 基因定位于染色体 18q21.1,含有 11 个外显子,10 个内含子,基因转录子长 2 680bp,其 cDNA 全长 1 656 碱基,编码由 552 个氨基酸残基组成的蛋白质^[3]。DPC4 蛋白是 TGF β 信号细胞内传导的枢纽,是一个候选抑癌基因。DPC 基因的缺失,使细胞缺乏 TGF β 诱导生长抑制作用,使细胞疯狂生长而形成肿瘤^[4]。另外,DPC4 基因突变使其结合的 DNA 活性丧失,导致 TGF β 通路基因转录失活,造成肿瘤形成。DPC4 基因其独特的作用途径和在多种人类肿瘤的发病机制中的重要作用而备受重视^[5]。

近年来国内外的研究均发现 DPC4 基因与大肠癌的发生、发展或转移关系密切。张东伟等^[6]研究发现大肠癌组织中 DPC4 蛋白的表达程度显著低于癌旁正常组织。DPC4 蛋白表达程度与肿瘤大小、细胞分化、临床分期及淋巴结转移有关,随着肿瘤增大、细胞分化程度降低、临床分期的增加以及淋巴结转移而逐渐降低。DPC4 的表达与大肠癌密切相关,可作为大肠癌诊断和治疗过程中一种具有重要价值的生物学标记物。吴和顺等^[7]研究发现大肠癌组织中 DPC4 阳性率为 32%(32/100),正常大肠组织 DPC4

阳性率 100 % (30/30), 大肠癌的 DPC4 表达率明显低于与正常大肠组织。在大肠癌组织中 DPC4 的阳性表达与 Duke 分期、分化程度有关。周海波等^[8]采用聚合酶链反应和单链构象多态性分析检测 30 例大肠癌及其癌旁组织的 DPC4 基因失活情况, 结果发现 30 例大肠癌标本中 3 例出现 DPC4 基因缺失, 4 例出现 DPC4 基因第 11 位外显子突变, 而其癌旁组织则无 DPC4 基因突变或缺失。本研究结果发现大肠癌患者标本中 DPC4 蛋白的表达降低或缺失, 阳性表达率明显低于癌旁正常大肠组织 ($P < 0.01$), 且 DPC4 表达水平随组织分化程度的增加而增加, 随原发病灶的浸润深度增加、淋巴结转移和远处转移的出现而下降 ($P < 0.01$)。表明 DPC4 蛋白表达降低或缺失在大肠癌的发生发展过程起重要作用, 随着大肠癌的浸润及转移, DPC4 蛋白表达下降, 在大肠癌癌变的启动、促进、发展或转移等阶段起着重要的作用, 对预后的判断有参考价值。有望成为大肠癌基因诊断和治疗的新靶点。但 DPC4 基因在肿瘤发生发展过程中与抑癌基因相互作用的关联性和作用模式仍需深入研究和探讨。

参考文献:

- [1] 朱小三. 大肠癌相关抑癌基因的研究进展[J]. 军医进修学院学报, 2011, 32(5): 536-538.
- [2] Hahn SA, Schutte M, Hoque ATMS, et al. DPC4, a candidate tumor suppressor gene at human chromosome 18q21.1[J]. Science, 1996, 271(5247): 350-353.
- [3] 李国庆, 丰义宽, 周海波, 等. 食管癌、胃癌和结直肠癌 DPC4 基因的失活与突变[J]. 中华消化杂志, 2002, 22(4): 253-254.
- [4] Malmot CN, Mild G, Reuter J, et al. Infrequent mutation of the tumor-suppressor gene SMAD4 in early-stage colorectal cancer[J]. Br J Cancer, 2003, 88(3): 420-423.
- [5] Oritaki N, Yamaguchi A, Goi T, et al. Spmat c alterations of the DPC4 and Mad2 genes in colorectal cancers and relationship to metastasis [J]. Int J Oncogene, 2002, 18 (2): 265-270.
- [6] 张东伟, 杨维良, 孙东升. 抑癌基因 DPC4 在大肠癌组织中的表达及其临床意义[J]. 中华实验外科杂志, 2004, 21 (5): 617-619.
- [7] 吴和顺, 曾昭孟, 陈树添, 等. 抑癌基因 DPC4 蛋白在大肠癌组织中缺失表达及临床意义[J]. 广东医学, 2010, 31 (9): 1111-1113.
- [8] 周海波, 张居民, 颜云. 结直肠癌组织中 DPC4 基因的分生物学研究 [J]. 世界华人消化杂志, 2002, 19(10): 1140-1142.