

增殖细胞核抗原(PCNA)与胃癌预后关系的免疫组化研究^①

薛玲^② 周慕珩 吴惠茜

(中山医科大学病理学教研室;广州,510089)

提 要 应用 SLAB 免疫酶标法在石蜡切片上半定量分析增殖细胞核抗原(PCNA)的表达与 73 例胃癌患者预后的关系,探讨其临床应用价值。结果表明,以 PCNA 阳性细胞 50% 为界线,阳性率 > 50% 者术后生存期较短,5 年生存率较低,而淋巴结转移率则较高。提示 PCNA 检测可作为胃癌预后判断的良好指征。

关键词 增殖细胞核抗原;胃肿瘤;预后

中图分类号 R735.2

增殖细胞核抗原(PCNA)的分子量为 35,715u(36kdal),是 DNA 多聚酶 δ 的一种辅助蛋白,对 DNA 复制的调节起重要作用。PCNA 出现在细胞周期的 G1 后期,S 期含量最高,G2 期逐渐减低。PCNA 作为肿瘤细胞的增殖指标,近年来广泛用于各种良恶性肿瘤鉴别,与其它细胞增殖指标间关系及与肿瘤组织学分级-预后关系等研究。本研究用单克隆抗体在福尔马林固定、石蜡包埋切片中检测胃癌细胞 PCNA 的表达情况,探讨其与胃癌的组织学类型、肿瘤浸润深度、临床分期及患者预后的关系。

1 材料与方 法

1.1 病 例

收集本校附属第一医院 1979~1987 年手术切除胃癌标本 73 例,其中男性 53 例,女性 20 例,年龄 29~74 岁,平均 54.6 岁。全部病例均进行了随访。

1.2 标本处理及免疫染色

全部标本用福尔马林固定,石蜡包埋,常

规 HE 染色。PCNA 免疫组化染色采用 SLAB 法;PCNA(PC10)单克隆抗体购自 DAKO 公司,工作浓度为 1:300,DAB 显色,Mayer 苏木素复染,中性树胶封片,PBS 代替第一抗体作为阴性对照。

1.3 PCNA 阳性细胞计数

细胞核被染黄色,无论着色深浅,均为 PCNA 阳性。每例玻片选取阳性细胞最密集处,用高倍镜(40 \times)计数 500 个肿瘤细胞,算出阳性细胞百分率。统计分析时按阳性细胞率分为 1~4 级(1=0~25%;2=26%~50%;3=51%~75%;4=75%以上)。

1.4 统计 分析

统计学处理用卡方检验。生存期分析时,PCNA 阳性细胞率以 50% 为界分为弱级(<50%)和强级(\geq 50%)。

2 结 果

2.1 胃癌 PCNA 阳性细胞的分布

全部切片 PCNA 免疫组化染色结果满意。阳性细胞表现为细胞核染成棕黄色。在

① 本校科研基金资助项目;

② 第一作者,38 岁,女,副教授

癌旁正常粘膜的胃腺颈部及粘膜下层的淋巴滤泡生发中心可见阳性染色。在胃癌组织中,低分化腺癌和未分化癌的阳性细胞呈散在分布(图1)至弥漫分布(图2);高分化腺癌的腺体多数细胞为阳性(图3);印戒细胞癌和粘液腺癌的阳性细胞率较低,但从总体来看,各组织学类型间PCNA阳性率的差异不具统计学意义(方差分析, $P > 0.5$)。

2.2 PCNA阳性率与胃癌术后生存率关系

本组病例术后存活期5d~10a以上,其中存活5a以上者16例。当以PCNA阳性细胞率50%作为界线进行比较时,PCNA阳性率 $\geq 50\%$ 的患者术后存活期及5年生存率均低于阳性率 $< 50\%$ 者,二者间有显著性差异(表1)。

表1 PCNA阳性半定量与胃癌术后生存期的关系

存活期(t/a)	例数	PCNA阳性率 $< 50\%$	$\geq 50\%$
0~	17	6	11
1~	17	8	9
2~	12	6	6
3~	10	6	4
4~	1	1	0
5年及以上	16	12	4
总计	73	39	34

$$\chi^2 = 13.80, P < 0.025$$

2.3 PCNA阳性率与胃癌临床分期的关系

临床分期是根据癌组织局限于胃、侵犯邻近器官及发生远处转移将其分为3期。PCNA阳性率高低与临床分期有关(表2)。有淋巴结转移的Ⅲ期病人,PCNA阳性率 $\geq 50\%$ 者明显多于PCNA阳性率 $< 50\%$ 者(表3)。

表2 PCNA阳性率与胃癌临床分期的关系

临床分期	n	PCNA阳性率(%)			
		0~	25~	50~	75~
I	21	6	10	3	2
II	15	3	6	6	0
III	37	2	12	19	4
合计	73	11	28	28	6

$$\chi^2 = 8.25, P < 0.025$$

表3 PCNA阳性率与淋巴结转移的关系

	n	PCNA阳性率 $< 50\%$	$\geq 50\%$
有转移	37	14	23
无转移	36	25	11
合计	73	39	34

$$\chi^2 = 7.33, P < 0.01$$

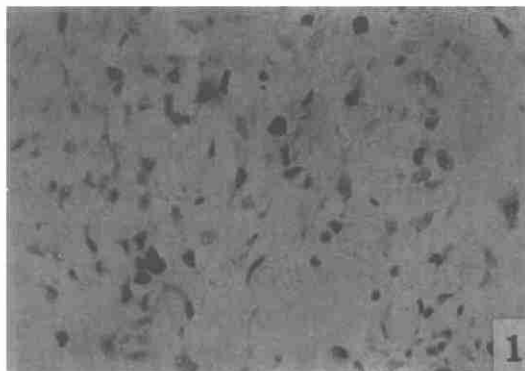


图1 胃低分化腺癌PCNA染色
PCNA阳性的肿瘤细胞呈散在分布, 10 \times

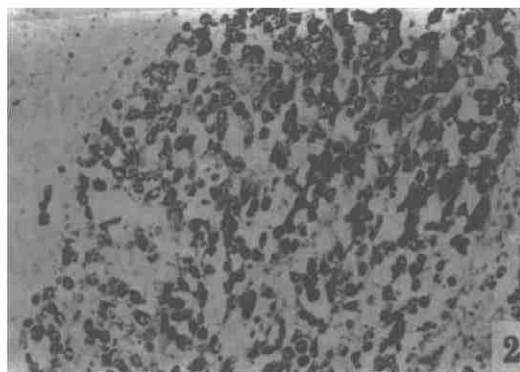


图2 胃低分化腺癌PCNA染色
PCNA阳性的肿瘤细胞呈弥漫分布, 10 \times

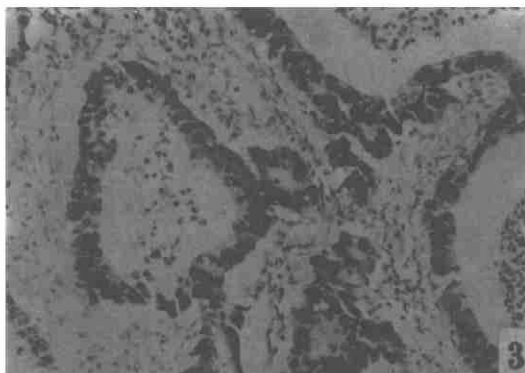


图3 胃高分化腺癌PCNA染色
腺体多数瘤细胞PCNA染色呈阳性反应, 10 \times

胃癌患者的性别,肿瘤的大体类型、浸润深度和组织学类型与PCNA表达间均无明显关系。

3 讨论

细胞生长动力学研究在评价正常和肿瘤组织的生物学特性方面具有重要意义,通常的研究方法包括:核分裂指数、 ^3H -胸苷摄取量、AgNORs、流式细胞术、DNA聚合酶 α 的免疫组化染色、Ki67、BrdU和PCNA。由于PCNA可用于福尔马林固定的石蜡切片,有利于进行回顾性研究,方法简便、快捷,故被认为是研究细胞增殖动力学的良好标记物,被越来越广泛地应用于良恶性肿瘤的鉴别^[1~3]、与肿瘤组织学分级^[1,4~6]及患者预后的关系^[6~9]等方面的研究。

一般认为,肿瘤分化程度越低,生长繁殖能力越强,恶性程度越高。因此许多人常根据组织学分级粗略估计肿瘤细胞群体增殖状态及患者预后,即将肿瘤的组织学分级作为估计预后的指标之一。但肿瘤具有异质性,肿瘤患者的生存率及术后生存期的长短与许多因素有关,诸如肿瘤的大小、组织学分级、临床分期、有无转移等。仅根据肿瘤的分化程度常难以预测患者的预后。我们以往的研究表明胃癌患者的预后与胃癌的组织学类型无明显关系证明了这一点^[10]。细胞增殖动力学一直被认为是预后指标之一,以往的研究表明,PCNA标记指数的高低与各种肿瘤的预后有关^[6~9],故认为PCNA是预后的良好标记物。但亦有人认为PCNA标记指数可变性大,可受许多因素影响,故不能作为预后的指标^[9]。本研究结果显示,PCNA阳性细胞率 $\geq 50\%$ 者;同样为低分化腺癌,PCNA阳性率低者术后生存期长,反之则短,提示检测肿瘤细胞PCNA的表达情况比仅根据形态学的分化程度来判断肿瘤细胞的增殖状况和恶性程度更为客观、可靠,可作为肿瘤患者的预后指征而运用于临床。

一般公认肿瘤有无发生远处转移与预后有关。本研究发现胃癌患者的PCNA阳性细胞率 $\geq 50\%$ 者发生淋巴结转移要较PCNA阳性率 $< 50\%$ 者明显多,从而进一步表明细胞增殖活性较高的胃癌无论其组织学类型及肿瘤浸润深度如何均更易发生远处转移,进而影响患者的预后。

参考文献

- 1 Terada T and Nakanuma Y. Cell proliferative activity in adenomatous hyperplasia of the liver and small hepatocellular carcinoma. *Cancer*, 1992, 70: 591
- 2 Hall PA, Levison DA, Woods AL, et al. PCNA immunolocalization in paraffin sections: an index of cell proliferation with evidence of deregulated expression in some neoplasms. *J Pathol*, 1990, 162: 285
- 3 Matsuno Y, Hirohashi S, Furuya S, et al. Heterogeneity of proliferative activity in nodule-in-nodule lesions of small hepatocellular carcinoma. *Jpn J Cancer Res*, 1990, 81: 1137
- 4 Schofield JB, Mansi J, Camplejohn RS, et al. Proliferating cell nuclear antigen and S phase fraction in endometrial stromal sarcoma. *J Clin Pathol*, 1992, 45: 664
- 5 Aaltomaa S, Lipponen P, Syrjanen K. Prognostic value of cell proliferation in breast cancer as determined by PCNA immunostaining. *Anti-cancer Res*, 1992, 12: 1281
- 6 Klemi PJ, Alanen K, Jalkanen S, et al. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) as a prognostic factor in non-Hodgkin's lymphoma. *Br J Cancer*, 1992, 66: 739
- 7 Visakorpi T. Proliferative activity determined by DNA flow cytometry and PCNA immunohistochemistry as a prognostic factor in prostatic carcinoma. *J Pathol*, 1992, 168: 7
- 8 Lipponen PK, Ekelinen MJ. Cell proliferation of transitional cell bladder tumor's determined by PCNA/cyclin immunostaining and its prognostic value. *Br J Cancer*, 1992, 66: 171

- 9 Figge C, Reifenberger G, Vogeley KT, et al. Immunohistochemical demonstration of proliferating cell nuclear antigen in glioblastom pronounced heterogeneity and lack of prognostic significance. *J Cancer Res Clin Oncol*, 1992, 118: 289
- 10 薛玲,周慕珩,叶玉玲. Langerhans 细胞、浆细胞、淋巴细胞、巨噬细胞与胃癌预后的关系. *癌症*, 1992, 2: 33

(1993-09-03 收稿 1994-06-21 修回)

IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDY ON RELATIONSHIP BETWEEN PCNA AND PROGNOSIS OF GASTRIC CARCINOMA

Xue Ling Zhou Muheng Wu Huixi

(Department of Pathology, Sun Yat-Sen University of Medical Sciences, Guangzhou, 510089)

Expression of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) in 73 cases of gastric carcinoma and its relationship to prognosis were semiquantitatively analysed by SLAB immunohistochemical method, and its clinical application was explored. The results showed that the patients with $>50\%$ PCNA positive rate correlated to a decreased survival, but higher rate of lymph node metastasis than that with $<50\%$ positive rate. Our data suggested that PCNA can be regarded as a significant prognostic indicator in gastric carcinoma.

Key words proliferating cell nuclear antigen; stomach neoplasm; prognosis

· 作者须知 ·

汉字用法以国家语文字委员会等(1986)的公布规定为依据,凡是可以使用阿拉伯数字而且又很得体的地方,均应使用阿拉伯数字。数字作为词素构成定型、词组、惯用语、缩略语或具有修辞色彩语句应用汉字。例如:二倍体、三级护理、十二指肠等。起迄数三到五可写成“3~5”,三万到五万应写成“3万~5万”; $50\% \sim 80\%$ 不能写成“50~80%”; $3 \times 10^5 \sim 5 \times 10^5$ 可写成 $(3 \sim 5) \times 10^5$,不能写成“ $3 \sim 5 \times 10^5$ ”。表示物体的体积和面积,每项数字后都应有单位符号。例如:10cm \times 5cm \times 3cm,不应写成10 \times 5 \times 3cm。小数点前后4位以上,每隔3位空1/4字距,不用千分撇。数值修约应按GB8170-87《数值修约规则》为准。