

DOI:10.3971/j.issn.1000-8578.2012.01.017

usp22 和 ki67 在大肠癌组织中的表达及其临床意义

周 飞¹, 崔滨滨², 刘彦龙², 刘建玲¹, 阎广真¹, 杨 钰³

Expression and Clinical Significance of usp22 and ki67 in Colorectal Carcinoma

Zhou Fei¹, Cui Binbin², Liu Yanlong², Liu Jianling¹, Yan Guangzhen¹, Yang Yu³

1. Department of The Fourth Anorectal Surgery, Qiqihar Chinese Medical Hospital, Qiqihar 161000, China; 2. Department of The Colorectal Surgery, The Tumor Hospital Affiliated of Harbin Medical University; 3. Department of General Surgery, The Third Affiliated Hospital of Qiqihar Medical University

Corresponding Author: Cui Binbin, E-mail: cbb222@hotmail.com

Abstract: Objective To investigate the expression of usp22 and ki67 in colorectal carcinoma and to study their correlation with tumorigenesis and progression of colorectal carcinoma. **Methods** The expression of usp22 and ki67 in specimens was detected by immunohistochemistry. The correlation between expression of usp22 and ki67, and the relationship of their expressions with clinicopathological factors was statistically analyzed. **Results** The expression of usp22 and ki67 was upregulated with decrease of differentiation level in colorectal carcinoma ($P < 0.05$). In colorectal carcinoma, the expression level of usp22 was positively correlated with that of ki67 ($r = 0.4066, P < 0.05$). **Conclusion** In colorectal carcinoma, both usp22 and ki67 was upregulated, meanwhile they are positive correlated. These findings suggest that usp22 and ki67 may play important roles in the tumorigenesis and progression of carcinoma.

Key words: Colorectal cancer; Ubiquitin-specific peptidase 22; Antigen identified by monoclonal antibody ki-67

摘要: 目的 检测 usp22 和 ki67 在大肠癌组织中的表达, 探讨其与大肠癌发展的关系以及两者的相关性。 **方法** 采用免疫组织化学法检测 usp22 和 ki67 在大肠癌和正常肠组织中的表达。 **结果** 在大肠癌中, usp22 的阳性表达率以及染色强度均随组织分化程度的降低而呈现出上升趋势 ($P < 0.05$)。 ki67 的阳性表达率随分化程度的降低而呈现出上升趋势 ($P < 0.05$)。 usp22 与 ki67 的表达呈现正相关性。 **结论** 在大肠癌组织中 usp22 的高表达与 ki67 的表达升高显示二者存在正相关, 对大肠癌的发生发展起一定促进作用。

关键词: 大肠癌; usp22; ki67

中图分类号: R735.3⁺4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-8578(2012)01-0068-03

0 引言

近 20 年来,在我国,尤其在大城市大肠癌的疾病率明显上升。即使处于同一分期的患者,预后往往存在很大差异,可能是一些分子机制造成了这种差异。细胞周期调控蛋白的失调可能是肿瘤发生的原因之一^[1-3]。细胞周期调控因子分两类:正调控因子(cyclin-Cdk)和负调控因子(Ckis)。特异性泛素肽酶 22(ubiquitin-specific peptidase 22, usp22),是去泛素酶的一种,是细胞周期正调节因子促进细胞在调定点 G₁/S 期、G₂/M 期过渡,使肿瘤发生和发

展。同时它也是肿瘤预后不良基因,是一种潜在的干细胞因子,属于癌症死亡相关基因,与肿瘤患者的预后相关,它在人类不同组织中表达不尽相同,在心脏、骨骼肌等表达较强,其他组织中表达相对较弱^[4]。ki-67 为单克隆抗体 ki-67 的抗原标志物,它是增生细胞中表达的核抗原。ki67 表达越高,肿瘤越难消退。对于两者在大肠癌中的表达及其相关性的研究国内尚未见报道,我们用免疫组织化学法对此进行了研究,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象

收集 2004 年—2009 年之间 126 例有完整随访资料的大肠癌患者不同组织学类型的蜡块标本,所有患者术前均未经任何治疗且均为腺癌。

1.2 试剂

一抗为兔抗人 usp22 多克隆抗体和兔抗人 ki67

收稿日期:2010-09-03;修回日期:2011-07-07

作者单位:1. 161000 黑龙江齐齐哈尔,黑龙江省齐齐哈尔市中医院肛肠分院肛肠外科;2. 哈尔滨医科大学附属肿瘤医院结直肠外科;3. 齐齐哈尔医学院附属三院普外一科

通信作者:崔滨滨, E-mail: cbb222@hotmail.com

作者简介:周飞(1974-),男,博士在读,主要从事肛肠疾病及结直肠肿瘤的外科治疗工作

单克隆抗体。操作按 PV6000 试剂盒完成,DAB 染色看试验结果。usp22 抗体的工作浓度为 1:250,ki67 抗体的工作浓度为 1:50。

1.3 检测方法

采用免疫组织化学 PV-6000 两步法,按说明书进行操作。

1.4 结果判定

usp22 定位于细胞核,呈暗红色。ki67 定位于细胞核,为暗红色。以有 20% 的肿瘤细胞内出现棕黄色颗粒者为阳性细胞,少于 20% 定为阴性。200 倍光学显微镜下随机选取 5 个视野计数,判断 usp22 和 ki67 的阳性表达率。

1.5 统计学方法

所有数据用 SPSS10.0 统计软件包进行 χ^2 检验。Spearman 秩相关性进行比较。

2 结果

2.1 usp22 蛋白在不同临床病理特征大肠癌组织中的表达

126 例患者按年龄、性别、肿块大小分组。因 Dukes A、D 期大肠癌标本量太少,将 Dukes A、B 期大肠癌标本合并为一组,Dukes C、D 期标本合并为一组。结果显示,usp22 蛋白在大肠癌的表达与患者性别、年龄、肿瘤大小无关,而随着肿瘤分化程度变化表达率有所变化。肿瘤分化程度越差,表达率越高。黏液腺癌表达率为 60%,考虑为黏液腺癌有黏液湖存在,影响了染色剂细胞核染色。TNM 分期,随着分期级别的升高,染色率随之升高,表达差异有统计学意义。有淋巴结转移组阳性率高于无淋巴结转移组 ($P<0.05$)。作为对照的正常大肠黏膜,染色率低于 20%,为阴性,和其他组比较差异无统计学意义。详细资料见表 1、图 1。

2.2 ki67 蛋白在不同临床病理特征大肠癌组织中的表达

结果显示,ki67 蛋白在大肠癌的表达与患者性别、年龄、肿瘤大小及有无淋巴结转移无关;而随着肿瘤

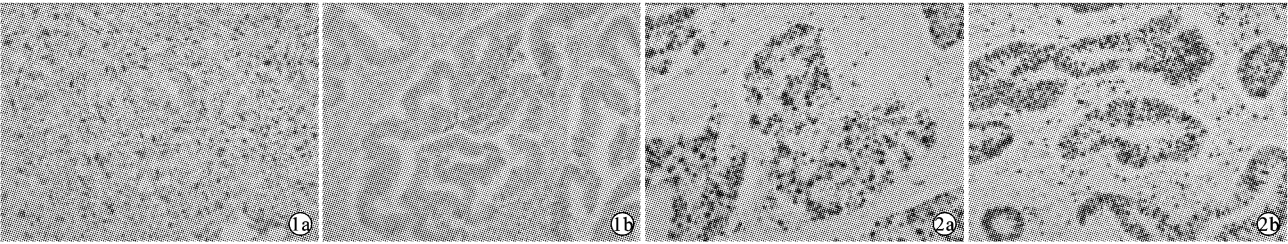
表 1 usp22 蛋白在不同临床病理特征大肠癌组织中的表达
Table 1 Expression of usp22 in various pathologic colorectal carcinoma tissues

Items	<i>n</i>	usp22 (+)	usp22 (-)	usp22 positive rate	χ^2	P
Gender						
Male	78	45	33	58	0.37	>0.05
Female	48	25	23	52		
Age						
≥60	49	25	24	51	0.218	>0.05
<60	77	36	41	46		
Size						
≤3 cm	37	20	17	54	0.01	>0.05
>3 cm	89	49	40	55		
Differentiation						
High	20	5	15	25	8.66	<0.05
Middle	70	25	45	35.7		
Low	26	20	6	76.9		
Muscus adenocarcinoma	10	7	3	60		
Dukes stage						
A + B	85	25	60	29	4.51	<0.05
C + D	41	20	21	48.7		
TNM stage						
I	38	5	33	13	13.12	<0.05
II	46	12	34	26		
III	40	20	20	50		
IV	2	1	1	50		
Lymph node metastasis						
No	84	17	67	20	9.66	<0.05
Yes	42	20	22	47.6		

分化程度变化表达率有所变化,肿瘤分化程度越差,表达率越高,差异具有统计学意义。随着分期级别的升高,染色率随之升高,但差异无统计学意义 ($P>0.05$),见表 2、图 2。

2.3 大肠癌中 usp22 和 ki67 蛋白表达的关系

经 Spearman 等级相关分析发现 usp22 与 ki67 之间存在明显正相关 ($r = 0.4066, P = 0.05$),见表 3。



1a:low level colorectal carcinoma tissues;1b:high level colorectal carcinoma tissues
图 1 usp22 在大肠癌中表达(免疫组织化学×200)

Figure 1 The expression of usp22 in colorectal carcinoma tissues (IHC×200)
2a:low level colorectal carcinoma tissues;2b:high level colorectal carcinoma tissues

图 2 ki67 在大肠癌中表达(免疫组织化学×200)
Figure 2 The expression of ki67 in the colorectal carcinoma tissues (IHC×200)

表 2 ki67 蛋白在不同临床病理特征大肠癌组织中的表达
Table 2 Expression of ki67 in various pathologic
Colorectal carcinoma issues

Items	n	ki67			χ^2	P
		+	-	positive rate		
Gender						
Male	78	51	27	65	0.0124	>0.05
Female	48	26	22	54		
Age						
≥60	49	26	23	53	1.25	>0.05
<60	77	33	44	42.8		
Size						
≤3 cm	37	16	21	43	2.425	>0.05
>3 cm	89	52	37	58		
Differentiation						
High	20	6	14	30	22.17	<0.05
Middle	70	55	15	78		
Low	26	21	5	80		
Mucous adenocarcinoma	10	4	6	40		
Dukes stages						
A + B stages	85	45	40	53	0.1109	>0.05
C + D stages	41	23	18	56		
TNM stages						
I	38	7	31	18	11.49	<0.05
II	46	16	30	35		
III	40	22	18	55		
IV	2	1	1	50		
Lymph node metastasis						
No	84	21	63	25	3.18	>0.05
Yes	42	17	25	40		

表 3 大肠癌中 usp22 和 ki67 蛋白表达的关系
Table 3 The relation of expression between usp22
and ki67 in colorectal carcinoma

usp22	ki67		
	-	+	++
-	18	10	19
+	38	5	11
++	14	4	7

3 讨论

usp 家族,为特异性蛋白酶家族,通过去除共轭复合物中的泛素来调节一系列细胞机制,如前植入、生长和分化、细胞周期进展、肿瘤形成、转录活性和信号转导等^[5-7]。usp22 是去泛素酶的一种,为肿瘤预后不良基因,是一种潜在的干细胞因子,属于癌症死亡相关基因,与肿瘤患者的预后显著相关,它也是细胞周期正调节因子促进细胞通过的调定点,使肿瘤产生和发展。实验发现 usp22 蛋白在正常大肠组织表达阴性,其表达与肿瘤分化程度和有无淋巴结转移、Dukes 分期呈正相关,提示此蛋白的过度表达在大肠癌侵袭过程中发挥一定的作用。检测 usp22 可以预测出肿瘤是否具有侵袭性和耐药性等特点,使癌症病人的诊断和病情分级的划分成为可能^[8-9]。单克隆抗体 ki-67 的抗原标志物(ki67),是增生细胞中表达的核抗原。除了 G₀ 和 G₁ 早期,ki-67 抗原在

细胞周期中一直存在,被认为是促细胞核增生的核抗原细胞。一些研究认为 S 期过长与肿瘤发生和降低生存期有关,尽管尚未被确切观测及证实到^[10-11],但表明 ki67 表达越高,肿瘤越难消退。本实验显示 ki67 在大肠癌组织中高表达,而在癌旁正常大肠黏膜组织中为阴性表达(表达率<20%),据此认为 ki67 的高表达促进了肿瘤的发生。本实验还显示 ki67 的表达水平随分化程度的降低,表达率升高。本实验中 ki67 的表达与有无淋巴结转移无关,表明 ki67 在大肠癌淋巴结转移过程中可能只是起协同作用。本研究还发现 usp22 与 ki67 表达强度呈明显正相关($r = 0.4066, P = 0.05$),这说明了高表达 usp22 的肿瘤细胞其增殖能力强,这与 Polycomb/癌症干细胞信号可以准确预测恶性肿瘤细胞的生长状态^[12]的说法一致。

参考文献:

- [1] Keenan SM, Lents NH, Baldassare JJ. Expression of cyclin E renders cyclin D-CDK4 dispensable for inactivation of the retinoblastoma tumor suppressor protein, activation of E2F, and G1-S phase progression [J]. J Biol Chem, 2004, 279 (7): 5387-5396.
- [2] Wang C, Fu M, Mani S, et al. Histone acetylation and the cell-cycle in cancer[J]. Front Biosci, 2001, 6: D610-D629.
- [3] Hulleman E, Bijvelt JJ, Verkleij AJ, et al. Nuclear translocation of mitogenactivated protein kinase p42MAPK during the ongoing Cell cycle[J]. J Cell Physiol, 1999, 180(3): 325-333.
- [4] Lee HJ, Kim MS, Shin JM, et al. The expression patterns of deubiquitinating enzymes, USP22 and Usp22 [J]. Gene Expr Patterns, 2006, 6(3): 277-284.
- [5] Baek KH. Conjugation and deconjugation of ubiquitin regulating the destiny of proteins[J]. Exp Mol Med, 2003, 35 (1): 1-7.
- [6] Chung CH, Baek SH. Deubiquitinating enzymes; their diversity and emerging roles[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1999, 266(3): 633-640.
- [7] Kim JH, Park KC, Chung SS, et al. Deubiquitinating enzymes as cellular regulators[J]. J Biochem, 2003, 134(1): 9-18.
- [8] Glinsky GV. Genomic models of metastatic cancer: functional analysis of death-from-cancer signature genes reveals aneuploid, anoikis-resistant, metastasis-enabling phenotype with altered cell cycle control and activated Polycomb Group (PcG) protein chromatin silencing pathway [J]. Cell Cycle, 2006, 5 (11): 1208-1216.
- [9] Glinsky GV. "Stemness" genomics law governs clinical behavior of human cancer; implications for decision making in disease management[J]. J Clin Oncol, 2008, 26(17): 2846-2853.
- [10] Ahnen DJ, Feigl P, Quan G, et al. Ki-ras mutation and p53 overexpression predict the clinical behavior of colorectal cancer; a Southwest Oncology Group study[J]. Cancer Res, 1998, 58(6): 1149-1158.
- [11] Witzig TE, Loprinzi CL, Gonchoroff NJ, et al. DNA ploidy and cell kinetic measurements as predictors of recurrence and survival in stages B2 and C colorectal adenocarcinoma[J]. Cancer, 1991, 68(4): 879-888.
- [12] Glinsky GV, Berezovska O, Glinskii AB. Microarray analysis identifies a death-from-cancer signature predicting therapy failure in patients with multiple types of cancer[J]. J Clin Invest, 2005, 115(6): 1503-1521.

[编辑:刘红武;校对:安 凤]