

III-IV 期结、直肠癌中医证型与 p16 蛋白表达的相关性研究*

谢晓平¹, 林阿丰², 陈晓帆²

(1. 福建省三明职业技术学院, 福建 三明 365000; 2. 福建医科大学附属三明第一医院, 福建 三明 365000)

摘要:目的 研究 p16 蛋白表达与 III-IV 期结、直肠癌中医辨证分型的相关性。方法 应用免疫组化染色法检测正常组织及 III-IV 期结、直肠癌 p16 的表达,对 III-IV 期结、直肠癌进行辨证分型,将其中医证型和 p16 的表达的相关性进行分析。结果 ①正常对照组中 p16 蛋白表达水平明显高于 III-IV 期结、直肠癌组织,差异有统计学意义($P<0.05$),且随着病理分期的进展,其差异明显增加。② III-IV 期结、直肠癌中医辨证分型与 p16 蛋白表达存在相关性,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 ① p16 蛋白表达的缺失与结、直肠癌的发生发展有关,p16 蛋白表达的缺失可作为临床评估结、直肠癌生物学行为和判断预后的指标。② p16 蛋白表达在不同中医证型的 III-IV 期结、直肠癌中存在一定的差异。

关键词:晚期结、直肠癌; 中医辨证分型; p16 蛋白; 免疫组化

中图分类号: R273 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-2723(2016)03-0084-03

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2016.03.021

近年来,结、直肠癌的发病率一直呈逐年上升的趋势,由于早期结、直肠癌患者往往没有典型的临床症状,多数患者确诊时已经发展为 III-IV 期。笔者运用中西医辨证与辨病相结合的理论,对 III-IV 期结、直肠癌进行了中医辨证分型与 p16 蛋白表达相关性的研究。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 一般资料

采用回顾性分析,观察病例均来源于 2012 年 1 月—2015 年 12 月就诊于福建医科大学附属三明第一医院的体检和住院患者。其中,368 例确诊为 III-IV 期结、直肠癌患者,100 例为正常成人大肠标本。

1.2 诊断标准

1.2.1 病理分期

参照卫生部颁发的《中国常见恶性肿瘤诊治规范》^[1]大肠癌的病理分期标准。本次研究所选 368 例 III-IV 期结、直肠癌病例中 Dukes C 期 214 例,D 期 154 例。

1.2.2 中医辨证分型

参照国家“十一五”重点专科重点病种结、直肠癌诊疗规范的分型,分为脾虚湿毒、湿热瘀毒、脾肾两虚、气血两虚、肝肾阴虚 5 型。

1.2.3 纳入标准与排除标准

纳入标准:经病理检查确诊为结、直肠癌 III-IV 期,年龄在 25~82 岁;无心、脑血管、肝、肾和造血系统等严重原发性疾病者。

排除标准:不符合纳入病例标准者,随访不配合;依从性差者;因其它原因在进入研究 3 个月内死亡者。

1.3 研究方法及结果判断标准

采用免疫组化染色法检测 p16 在细胞中的表达。结果判断标准:每张切片选择 10 个高倍视野($\times 200$),p16 主要表达在细胞浆及细胞核,其阳性着色呈棕黄色颗粒,阳性范围 5%以下为(-)、5%~25%为(+),>25%为(++)^[2]。

1.4 统计学处理

使用 SPSS16.0 软件处理,对 III-IV 期结、直肠癌中 p16 的表达与中医证型之间的相关性进行比较分析,数据采用卡方检验进行分析。

* 基金项目:福建省教育厅中青年教师教育科研项目(JB14200)

收稿日期:2016-04-05

作者简介:谢晓平(1979-),女,福建惠安人,讲师,研究方向:中西医结合肿瘤消化内科。E-mail:mary197910@126.com

2 结果

2.1 p16在正常大肠组织和结直肠癌Dukes分期C期、D期组织中的表达

正常对照组中p16蛋白表达水平明显高于大肠癌Dukes C期和D期,差异有统计学意义($P < 0.05$),且随着病理分期的进展,其差异明显增加。见表1。

表1 不同组织中p16的表达($\bar{x} \pm s$)

组织类别	n	阴性	阳性	阳性表达率/%
正常对照组	100	13	87	87.00
结、直肠癌 Dukes C 期	214	155	59	27.57
结、直肠癌 Dukes D 期	154	126	28	18.18
合计	468	294	174	37.18

2.2 p16蛋白在III-IV期结、直肠癌各中医证型中的表达

湿热瘀毒证与脾虚湿毒证病例数太少,故不加以比较。卡方检验结果显示:在正常对照组、气血两虚证、肝肾阴虚证、脾肾两虚证各组间存在明显性差异($P < 0.05$)。见表2。

表2 p16在各中医证型中的表达($\bar{x} \pm s$)

组织类型	n	阴性	阳性	阳性表达率/%
正常对照组	100	13	87	87.00
气血两虚证	53	39	14	26.41
肝肾阴虚证	95	71	24	25.26
脾肾两虚证	197	153	44	22.34
湿热瘀毒证	9	7	2	22.22
脾虚湿毒证	14	11	3	21.43
合计	368	281	87	23.64

3 讨论

近年来人们发现p16基因是一个抑癌基因,p16基因可以阻止肿瘤细胞的生长^[3],因此,人们认为p16蛋白属于CDK4的抑制剂。目前,国内外的临床研究结果表明,p16蛋白的表达异常在许多恶性肿瘤中都出现,如Kamhc^[4]认为在多种恶性肿瘤中都出现不同程度的p16突变^[5]。有研究发现直肠癌组织中p16蛋白的阳性表达率与肿瘤病理类型、分化程度及临床分期有一定的关系^[6-8]。但是,也有

学者提出,结直肠癌的发生并不与p16基因失活为唯一原因^[9]。本研究结果显示,III-IV期结、直肠癌Dukes C期和D期中p16的阳性表达率明显低于正常对照组,这说明III-IV期结、直肠癌的发生与p16蛋白缺失有一定的相关性。且随着病理分期的进展,其差异明显增加,说明p16蛋白与结、直肠癌的恶性程度相关,即恶性度越高,其阳性表达率越低。

祖国医学认为,大肠癌属“肠溜”“锁肛痔”“肠蕈”“肠积”等范围,且随着病程的发展,中医证型由实证转向虚证,病邪由浅入深,虚证由气血两虚向阴虚、阳虚发展。多数学者认为湿热蕴结、脾肾阳虚为大肠癌的基本证型^[10-14]。朱旭东等^[15]将大肠癌分为脾虚湿滞、气血两虚、脾肾阳虚、肝肾阴虚、湿热瘀毒等5种证型。林胜友等^[16]对大肠癌中医证候与生存期相关性的研究,结果显示大肠癌预后较差者为阴虚证气虚证预后相对较好。

本研究结果显示,III-IV期结、直肠癌临床中医证型以脾肾两虚证所占的例数最高,其次分别是肝肾阴虚证、气血两虚证,湿热瘀毒证与脾虚湿毒证病例数明显不足。故本实验选取脾肾两虚证、肝肾阴虚证和气血两虚证3个证型作为研究对象,这符合中医理论中关于疾病的转归规律,即初病多实证,久病以虚证为主。本实验结果显示,p16蛋白在脾肾两虚证、肝肾阴虚证、气血两虚证的阳性表达率分别是22.34%、25.26%、26.41%,均明显低于正常对照组的87.00%,且有明显的差异性($P < 0.05$)。

通过本研究证实,p16蛋白表达的缺失与结直肠癌的发生发展有关,这可作为临床评估结直肠癌生物学行为和判断预后的指标。笔者认为,中医证型能够反映出疾病发生、发展的基本特性,对III-IV期结、直肠癌辨证分型与p16蛋白相关性的研究,对于今后中西医结合治疗III-IV期结、直肠癌具有重要意义。

参考文献:

- [1] 中国抗癌协会. 新编常见恶性肿瘤诊治规范[M]. 北京:北京医科大学中国协和医科大学联合出版社,1999:12-15.
- [2] Fukuyo Y, Takahashi A, Hara E, et al. E2FBP1 antagonizes the p16INK4A-Rb tumor suppressor machinery for growth

- suppression and cellular senescence by regulating promyelocytic leukemia protein stability [J]. *Int J Oral Sci*, 2011, 3 (4): 200–208.
- [3] 王小强, 张远, 王键华, 等. P16 蛋白在直肠癌组织中的表达及其临床意义[J]. *中华肿瘤杂志*, 2001, 23(3): 227.
- [4] Kamb A. ccll-cycle regulators and cancer[J]. *Trends in Genetics*, 1995, 11(4): 136–140.
- [5] Lgaki H, Sasaki H, Tachimori Y, et al. Mutation frequency of the p16/CDKN2 gene in primary cancers in the upper digestive tract[J]. *Cancer Res*, 1995, 55(15): 3421–3423.
- [6] Lee MH, HY Yang. Negative regulators of cyclin-dependent kinases and their roles in cancers [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2001, 58(12–13): 1907–1922.
- [7] 谢敏, 夏晓勤, 毛永荣, 等. p16 蛋白在大肠癌组织中表达的研究[J]. *中国现代医学杂志*, 2001, 11(6): 68–69.
- [8] 葛畅, 王鲁平, 许春伟. 结直肠锯齿状病变与 P16 基因甲基化的研究进展[J]. *诊断病理学杂志*, 2013, 20(5): 310–312.
- [9] 周峰, 何显力, 邢金良. 结直肠癌相关肿瘤标志物的最新研究进展 [J]. *医学与哲学 (临床决策论坛版)*, 2010, 31 (4): 7–9.
- [10] 张新, 孙华, 李亚东. 孙桂芝治疗大肠癌经验[J]. *山东中医杂志*, 1998, 17(4): 173–175.
- [11] 张代钊. 张代钊治癌经验辑要[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2001: 13–18.
- [12] 周岱翰. 临床中医肿瘤学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 170–171.
- [13] 郁仁存. 郁仁存中西医结合肿瘤学[M]. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2008: 282–283.
- [14] 丁金芳, 黄云胜, 李明花. 施志明治疗大肠癌经验举要 [J]. *上海中医药杂志*, 2007, 41(5): 43–44.
- [15] 朱旭东, 蔡明明, 吴燕波, 等. 辨证分型治疗中晚期大肠癌 76 例[J]. *江苏中医*, 1998, 19(2): 28–29.
- [16] 林胜友, 沈敏鹤, 蓝继, 等. 780 例大肠癌中医证候与生存期的相关性分析 [J]. *中医杂志*, 2012, 53 (5): 410–412.

(编辑: 徐建平)

Relationship between TCM Syndrome Types of III–IV and p16 Protein Expression in Colorectal Cancer

XIE Xiaoping¹, LIN Afeng², CHEN Xiaofan²

(1. Sanming Vocational Technical College, Sanming 365000, China;

2. The First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Sanming 365000, China)

ABSTRACT: **Objective** To study the correlation between the expression of p16 protein and TCM syndrome differentiation type of III–IV phase and rectal cancer. **Methods** The expression of p16 in normal tissues and III–IV in colorectal carcinoma was detected by immunohistochemical staining, differentiation and typing of III–IV phase and rectal carcinoma, the correlation between TCM syndrome types and the expression of p16 was analyzed. **Results** 1. The expression level of p16 in the normal control group was significantly higher than that in the III–IV phase and colorectal carcinoma tissues, the difference was statistically significant ($P < 0.05$), and with the progress of pathological staging, the difference was significantly increased. 2. Correlation between TCM syndrome differentiation type of III–IV and p16 protein expression in colorectal cancer, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** 1. The loss of p16 protein expression is related to the occurrence and development of colorectal cancer, the loss of p16 protein expression can be used as an index to evaluate the biological behavior and prognosis of colorectal cancer. 2. p16 protein expression in different TCM syndrome types of III–IV stage, there are some differences in colorectal cancer.

KEY WORDS: advanced colorectal cancer; TCM syndrome differentiation and typing; p16 protein; immuno histochemistry