

[文章编号] 1000-2200(2004)04-0293-03

·基础医学·

非小细胞肺癌 p53、增殖细胞核抗原表达及其意义

刘东华¹, 胡华震¹, 黄文斌², 王莹¹, 徐国祥³, 张丽琴¹, 张菊华³

[摘要] 目的: 研究非小细胞肺癌(NSCLC)中 p53 及增殖细胞核抗原(PCNA)表达与细胞增殖的关系。方法: 采用免疫组化法(S-P法)检测 60 例 NSCLC 中 p53 和 PCNA 表达情况。结果: 在 NSCLC 中 p53 表达率(53.3%)及 PCNA 增殖指数均高于癌旁组织($P < 0.001 \sim P < 0.05$), 且两者表达与淋巴结转移、临床分期和临床病理分级有一定关系($P < 0.05 \sim P < 0.005$)。p53、PCNA 表达与组织类型无相关性($P > 0.05$)。结论: p53 参与了 NSCLC 的发生发展与淋巴结转移、临床分期及肿瘤分化程度相关。有促进细胞增殖的作用, 在肿瘤的诊断及预后评估中具有重要意义。

[关键词] 癌, 非小细胞肺; p53; 增殖细胞核抗原; 免疫组织化学; 预后

[中国图书资料分类法分类号] R 734.2 [文献标识码] A

Expression of p53, proliferating cell nuclear antigen in non-small cell lung carcinoma and its significance

LIU Dong-hua, HU Hua-zhen, HUANG Wen-bin, WANG Ying, XU Guo-xiang, ZHANG Li-qin, ZHANG Ju-hua

(Department of Respiratory Diseases, Yijishan Hospital, Affiliated to Wannan Medical College, Anhui 241001, China)

[Abstract] **Objective** To study the relationship between the expression of p53, proliferating cell nuclear antigen(PCNA) and cell proliferative activity of non-small cell lung carcinoma(NSCLC). **Methods** The expression of p53, PCNA was studied in 60 cases of NSCLC by S-P immunohistochemical method. **Results** The positive rate of p53 in NSCLC was 53.3%, which was higher than that in the per cancerous tissues($P < 0.001$ to $P < 0.05$). There was positive correlation between p53 expression and lymph node metastasis, clinical stage and pathological grade($P < 0.05$ to $P < 0.005$), but there was no statistically correlation between p53 expression and histological type($P > 0.05$). **Conclusions** p53 protein, which may have some effects on genesis and development of tumor, relates to lymph node metastasis, clinical stage and degree of differentiation of NSCLC, and increases tumor cell proliferations. The examination of p53 protein has value great in the assessment of prognosis and diagnosis of lung cancer.

[Key words] carcinoma, non-small-cell lung; p53; proliferating cell nuclear antigen; immunohistochemistry; prognosis

[收稿日期] 2003-10-15

[基金项目] 皖南医学院中青年科研资助项目(WK200318A)

[作者单位] 皖南医学院附属弋矶山医院 1. 呼吸科, 2. 病理科, 3. 病理学教研室, 安徽 芜湖 241001

[作者简介] 刘东华(1955-), 女, 北京人, 副主任医师。

肺癌的发病率近年来呈上升趋势, 其发病与死亡已位居我国男性肿瘤患者的首位。由于缺乏有效的早期诊断手段, 大多数患者发现时已属中晚期, 五年生存率不足 15%^[1]。因此, 寻找有效的早期诊断指标, 以及对疾病的预后评估, 是目前研究的重点。

同程度改善脑组织损伤而致的大鼠神经行为障碍, 能减轻脑梗死组织重量, 提高缺血大鼠脑组织 SOD 活性, 降低 MDA 含量, 均提示 NFL 对大鼠局灶性脑缺血有较好的保护作用, 该作用可能与其抗自由基、抗氧化、减轻细胞凋亡有关。由于脑缺血的损伤机制非常复杂, 不同部位、不同阶段的缺血性损害可能涉及到不同的机制^[9], 因此, NFL 对脑缺血损伤的保护作用机制仍需要进一步探讨。

[参 考 文 献]

- [1] 祝晓光, 韦颖梅, 顾丽英, 等. 脑复灵散剂对小鼠心脑缺血的保护作用[J]. 蚌埠医学院学报, 1997, 22(5): 289~290.
- [2] 祝晓光, 韦颖梅, 顾丽英, 等. 脑复灵对鼠脑缺血的保护作用[J]. 中药新药与临床药理, 1999, 10(1): 34~35.

- [3] 祝晓光, 韦颖梅, 葛敏, 等. 脑复灵对脑缺血再灌注损伤影响[J]. 时珍国医国药, 1999, 10(1): 52~54.
- [4] 陈前芬, 田鹤邨. 脑复灵对心肺脑复苏后脑损伤的保护作用[J]. 中国病理生理杂志, 2000, 16(10): 1 125.
- [5] 徐叔云, 卞如廉, 陈修主编. 药理实验方法学[M]. 第3版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 1 065~1 068.
- [6] 林春, 郑淑秋, 陈崇宏, 等. 阿司匹林对大鼠局灶性脑缺血的保护作用及其机制[J]. 中国药理学通报, 1999, 15(5): 418~421.
- [7] 李忠编著. 缺血性脑血管疾病[M]. 北京: 北京科学技术出版社, 2002: 50~62.
- [8] 江苏新医学院主编. 中药大辞典[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 517, 993, 1 771, 2 036, 2 473.
- [9] 罗祖明, 董佑忠, 彭国光主编. 脑血管疾病治疗学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000: 209~215.

p53 基因是目前研究较多的抑癌基因,在许多恶性肿瘤中均发现有 p53 功能的丢失。增殖细胞核抗原(PCNA)与 p53 一样参与肺癌的发生与发展。为此,我们采用免疫组化的方法,联合检测两者在肺癌组织中的表达,分析两者与 NSCLC 的临床和病理相关性,以期为 NSCLC 的诊断以及治疗效果的评价、预后评估提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料 材料来源于本院 1999~2002 年肺癌患者手术切除及肺穿刺标本,经病理苏木精-伊红染色证实为 NSCLC 共 60 例,其中鳞癌 33 例,腺癌 17 例,腺鳞癌 10 例。男 48 例,女 12 例;年龄 36~73 岁。按 TNM 分期,Ⅰ期 31 例,Ⅱ期 24 例,Ⅲ期 5 例,伴淋巴结转移者 29 例,另取 10 例癌旁正常组织作为对照。

1.2 试剂 采用单克隆抗体 p53(DO-7)、PCNA(PC-10)(ZM-0213)SP 试剂盒为美国 ZYMED 产品,购自北京中山生物技术有限公司,用 PBS 代替一抗做阴性对照。

1.3 方法 所有标本经 10%福尔马林液固定后,石蜡包埋,经 4 μm 连续切片,常规脱蜡至水,3%过氧化氢溶液孵育 5~10 min,消除内源性过氧化物酶的活性,并用蒸馏水冲洗,PBS 浸泡,微波修复,滴加 1:100 的 p53 或 PCNA 单克隆抗体按步骤直至封

片,用已知阳性片做对照。

1.4 判定标准 p53、PCNA 定位于癌细胞核,呈黄褐色颗粒。p53 阳性标本,连续计数 10 个(×400)高倍视野,胞核染成黄褐色的阳性细胞所占比例>10%为阳性,切片中未见阳性染色为阴性。PCNA 指数的测定,每例切片计数 10 个高倍视野(×400),每一视野计数 100 个癌细胞中的 PCNA 阳性细胞数取均值以百分数表示。

1.5 统计学方法 采用 χ^2 、 t 检验、方差分析和秩和检验。

2 结果

2.1 p53 表达 60 例中有 32 例阳性表达,阳性率为 53.3%,p53 表达与 NSCLC 的病理分型无相关性($P>0.05$);与组织学分级、临床分期及淋巴结转移均有相关性($P<0.05\sim P<0.005$)。而对照组中仅见 1 例 p53 表达,阳性率为 10%,低于癌组织($P<0.05$)。

2.2 PCNA 表达 本组实验中 PCNA 细胞增殖指数在癌组织中明显高于癌旁组织($P<0.001$)。PCNA 在不同组织类型中差异无显著性($P>0.05$),而在不同临床分期、淋巴结有无转移和不同病理分级之间差异均有显著性($P<0.05\sim P<0.01$)(见表 1)。

表 1 NSCLC 临床病理参数与 p53、PCNA 的关系

观察项目	n	p53		χ^2	P	PCNA($\bar{x}\pm s$)	F	P	MS _{组内}
		+	-						
癌旁组织	10	1	9			34.30±7.30	6.96 ^{△△}	<0.001	—
癌组织	60	32	28	4.84	<0.05	58.63±10.61			
组织学类型									
鳞癌	33	17	6			57.58±10.68			
腺癌	17	9	8	0.22	>0.05	59.18±11.47	0.45	>0.05	118.739
腺鳞癌	10	6	4			61.20±10.61			
临床分期									
Ⅰ期	31	11	20			55.74±10.71			
Ⅱ期	24	17	7	8.21 [△]	<0.05	59.79±9.14	5.40	<0.01	97.871
Ⅲ期	5	4	1			71.00±7.35			
淋巴结转移									
阳性	29	20	9			61.72±9.74	2.26 ^{△△}	<0.05	—
阴性	31	12	19	4.36	<0.05	55.74±10.71			
病理分级									
Ⅰ级	27	8	19			55.63±9.72			
Ⅱ级	19	13	6	11.42	<0.005	58.26±10.20	3.91	<0.05	102.356
Ⅲ级	14	11	3			64.93±10.76			

△示 Hc 值,△△示 t 值;鳞癌、腺癌病理分级各分Ⅰ~Ⅲ级,因例数太少难以进行统计分析,为分析方便,将所有癌分为Ⅰ级、Ⅱ级、Ⅲ级分析

3 讨论

p53 是目前已知的最重要的抑癌基因,位于 17 号染色体上,它转录出一个约有 2.5 kB 的

mRNA。其产物是一个分子量为 53 kD 的蛋白质 (p53), 称为 p53 基因。在人体的各种细胞中都有低含量的 p53 蛋白质, 其半衰期 10 min 左右, 一般手段很难检测到^[2]。正常情况下 p53 具有控制细胞周期活动、凋亡及保持基因组稳定性的功能^[3]。有文献表明, 在一些非整倍体细胞, 或已有基因扩增的细胞, 在未演变成肿瘤细胞之前, 已多有 p53 基因的突变, 表明 p53 突变可发生在癌前病变^[2], 其突变通常可引起 p53 水平的增高, 因而容易在检测中发现。这种异常表达是肿瘤中最常见的遗传学改变, 这种改变可能是人类肿瘤产生的主要发病因素^[4]。我们的研究发现, p53 在癌组织中的表达阳性率为 53.3%, 与文献报道相近, 而癌旁组织为 10%。对非小细胞肺癌(NSCLC)及癌旁正常组织进行免疫组化检查, 证实 p53 阳性表达与肿瘤的病理分型无明显相关 ($P > 0.05$), 与临床分期、淋巴结转移、临床病理分级均有一定关系 ($P < 0.05 \sim P < 0.005$)。本组资料显示随着临床分期、病理分级的增高, p53 的表达也明显增高, 提示病变进展、肿瘤恶性程度与 p53 表达呈正相关, 这也说明了 p53 基因在抑制肿瘤的发生、发展中具有重要的作用。试验中发现, 伴淋巴结转移的 NSCLC 中, p53 阳性表达率明显高于无淋巴结转移者 ($P < 0.05$), 表明 p53 高表达的 NSCLC 可能具有较强的转移率, 预后差。因而我们认为 p53 测定在基因诊断 NSCLC 方面有一定的参考价值。有文献报道 p53 表达与 NSCLC 预后呈反比^[5]。p53 功能丧失使肿瘤细胞逃逸放化疗所致的 DNA 损伤诱导的细胞凋亡, 使用 p53 基因替换疗法可使晚期常规治疗无效的 NSCLC 肿瘤组织退变及

显著缩小, 并可提高肿瘤组织对放化疗的敏感性^[6], 作为 NSCLC 预后判断亦有一定的意义。

PCNA 为 DNA 多聚酶 δ 辅酶蛋白, 是 DNA 合成必不可少的因子。在细胞增殖的初始阶段发挥关键性作用^[7]。PCNA 可在正常组织中存在, 但在肿瘤组织中含量增高。我们检测了肺癌和癌旁组织中 PCNA 表达情况, 显示了两者均有表达, 癌组织中明显高于癌旁组织 ($P < 0.001$)。PCNA 指数在不同的临床分期、淋巴结转移及肿瘤不同分化程度之间差异均有显著性 ($P < 0.05 \sim P < 0.001$), 提示肿瘤发展与细胞无限增殖及病变进展密切相关。

由于 p53、PCNA 均与细胞周期调节有关, 而且 PCNA 是反映细胞增殖状态的一种客观指标, 因此两者增高表明细胞失控后的无序增生。同时检测 p53、PCNA 的活性, 有助于对非小细胞肺癌预后的判断、临床疗效的评价提供参考依据。

[参 考 文 献]

- [1] 齐协飞. 肺癌早期基因诊断研究进展[J]. 国外医学·肿瘤学分册, 2002, 29(6): 426~429.
- [2] 冯作化主编. 医学分子生物学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 232, 238.
- [3] 冯晓莉, 李 凌, 孙耘田, 等. 肺癌中 p53 和 p63 蛋白表达的高通量组织微阵研究[J]. 肿瘤, 2003, 23(5): 397.
- [4] 祝 峙. p53 基因网络的研究进展[J]. 癌症, 2003, 22(5): 547~551.
- [5] 王新允, 李玉皓, 赵 辉, 等. p53、Cyclin D1 及 PCNA 在非小细胞肺癌的表达[J]. 中国肺癌杂志, 2001, 4(5): 321~323.
- [6] 周承志. 肺癌耐药相关基因及逆转耐药策略的研究进展[J]. 国外医学·呼吸系统分册, 2002, 22(1): 30.
- [7] 尹 玲, 欧玉荣, 张洪福. p27、PCNA 在子宫内膜增生过长、腺癌中的表达及意义[J]. 肿瘤, 2003, 23(3): 211.

《蚌埠医学院学报》征订启事

《蚌埠医学院学报》为公开发行的医学综合性学术期刊, 国内外公开发行, 主要刊登实验医学论文和应用医学论文; 是中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊), 中国科学引文数据库期刊, 中国学术期刊综合评价数据库统计源期刊; 是《中国学术期刊(光盘版)》、“中国期刊网”、“万方数据——数字化期刊群”入编期刊。先后获“全国高等医药院校优秀学报二等奖”、“全国高等学校自然科学学报系统优秀学报三等奖”、“安徽省高等院校自然科学学报系统优秀学报二等奖”、“安徽省优秀科技期刊三等奖”; 是“安徽省优秀科技期刊”、“安徽省高校优秀学报”。

本学报为双月刊, 逢单月 15 日出版, 国际标准 A4 开本, 96 页, 铜版纸印刷, 标准刊号: ISSN 1000-2200; CN34-1067/R。2005 年每册定价 8.00 元, 全年 48.00 元。邮发代号 26-37, 欢迎广大读者及时向当地邮局订阅, 也可直接向本刊编辑部订阅, 免收邮寄费。本刊参加了《全国非邮发报刊联合征订》, 欲订者可汇款至天津市大寺泉集北里别墅 17 号, 全国非邮发报刊联合征订服务部(邮编 300385)。

本刊地址: 安徽省蚌埠市治淮路 801 号; 邮政编码: 233003; 电话: (0552) 3066412-2061; E-mail: bang@chinajournal.net.cn; byxb@163.com