维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253－3626(2005)03－0426－03

非小细胞肺癌中 p53、bcl－2 的表达

邓红彬[1], 张幸平[1], 刘　宇[2]

(1.重庆医科大学临床学院肿瘤科,重庆　400016,2.上海市肺科医院放疗科,上海　200433)

【摘　要】目的:研究 p53、bcl－2 在非小细胞肺癌(NSCLC)中的表达及其相关性,以探讨其在肺癌的发生、发展中所起的作用及其与凋亡的关系。方法:选取手术切除术后联合放疗±化疗的 NSCLC 病例共 56 例,运用免疫组织化学方法(SP 法)检测术后病理标本中 p53、bcl－2 的表达,分析二者在 NSCLC 中表达的相关性及其与凋亡的关系。结果:p53 阳性表达率 55.36%(31/56),bcl－2 阳性表达率 53.57%(30/56)。p53,bcl－2 的表达无相关性($P>0.05$),二者与患者的临床病理特征无相关性($P>0.05$)。结论:p53、bcl－2 与 NSCLC 的发生、发展有关。p53、bcl－2 的表达无相关性,可能提示 bcl－2 对细胞凋亡的调控作用可能与 p53 有不同的作用机制。

【关键词】非小细胞肺癌;p53;bcl－2;凋亡

【中国图书分类法分类号】R734.202　　【文献标识码】A　　【收稿日期】2004－10－15

Expressions of p53 and bcl－2 in non－small－cell lung cancer

DENG Hongbin, et al

(*Department of Oncology, College of Clinical Medicine, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To study expressions and correlations of p53 and bcl－2 in NSCLC and to discuss their significance in oncogenesis and progression of lung cancer and apoptosis. *Methods*: 56 surgically resected NSCLC patients treated with radiotherapy ± chemotherapy were enrolled in the study group. The expressions of p53 and bcl－2 were tested by immunohistochemical SP method. The correlation of expressions and their relationship with apoptosis in NSCLC were analyzed. *Results*: Positive expressions of p53 and bcl－2 were 55.36%(31/56) and 53.57%(30/56) respectively. There was no significant difference between p53 and bcl－2($P>0.05$). Significant correlations were not found between their expressions and clinical pathological characteristics($P>0.05$). *Conclusion*: p53 and bcl－2 have relationship with oncogenesis and progression of NSCLC. p53 and bcl－2 have no significant correlation, which suggests that bcl－2 has control mechanism for apoptosis different from p53.

【Key words】NSCLC; p53; bcl－2; Apoptosis

恶性肿瘤不仅是增殖和分化异常的疾病,同时也是凋亡异常的疾病。凋亡受凋亡相关基因调控,调控细胞增殖/凋亡的基因异常可影响肿瘤的发生、发展和预后。bcl－2 基因能抑制细胞凋亡,野生型 p53 作为肿瘤抑制基因则能介导细胞凋亡。本文通过研究 p53、bcl－2 在非小细胞肺癌(NSCLC)中的表达及其相关性,探讨其在肺癌的发生、发展中所起的作用及其与凋亡的关系。

1　材料与方法

1.1　标本来源

选取我科 1996 年 6 月～2003 年 3 月手术后联合放疗±化疗的 NSCLC 病例共 56 例。其中男性 44 例,女性 12 例,中位年龄 56 岁(33～74 岁)。诊断标准参照 WHO1999 年病理组织学分类标准:鳞状细胞癌 40 例,腺癌 11 例,腺鳞癌 5 例。临床分期根据 WHO1997 年肺癌 TNM 分期标准:Ⅰ期 16 例,Ⅱ期 18 例,Ⅲ期 21 例,Ⅳ期 1 例。外科手术方式为肺叶切除术或楔形切除术±淋巴结清扫术。56 例病人均行术后放疗:采用直线加速器 6MV/15MV－X 线或 $^{60}Co\gamma$ 射线外照射,照射范围为手术区加同侧肺门及纵隔区,部分病例行同侧锁骨上区照射。均用常规分割法放疗,每次 2Gy,每周 5 次,放疗总量(D_T):50～60Gy/25～30 次/5～6 周。56 例中 33 例病人接受辅助性化疗,化疗方案为 MVP、NP、TP、Gem＋DDP 等,化疗周期为 4～6 个周期。

1.2　检测试剂

鼠抗人 p53 单克隆抗体,鼠抗人 bcl－2 单克隆抗体,SP 试剂盒,DAB 试剂盒均购自北京中山生物技术有限公司。

作者介绍:邓红彬(1974－　),男,住院医师,硕士,主要研究方向:肺癌的综合治疗。

维普资讯 http://www.cqvip.com

1.3 检测方法

选取收集的石蜡块进行 5μm 连续切片，免疫组化方法采用 SP 法，取肿瘤周边 1～2cm 正常组织做阴性对照。

1.4 结果判断标准

p53 蛋白阳性细胞为细胞核呈棕黄色，胞浆或胞膜不着色。bcl－2 蛋白阳性细胞为胞浆或胞膜呈现棕黄色颗粒，细胞核无着色。根据切片中阳性细胞的百分比分为阳性和阴性。高倍镜（×400）下随机选择 5 个视野，每个视野计数不少于 200 个细胞，在排除非特异性染色前提下，免疫组化结果判断标准如下：p53 蛋白阳性细胞数≥10％者为 p53 表达阳性，bcl－2 阳性细胞数≥10％者为 bcl－2 表达阳性。

1.5 统计学方法

采用 SPSS11.5 统计软件对数据进行处理。计数资料使用 χ^2 检验，$P<0.05$ 具有统计学意义。

2 结 果

p53 蛋白在 56 例 NSCLC 中表达情况见表 1，其阳性表达率为 55.36％（31/56），肺癌周边正常肺组织的 p53 表达阴性（见图 1、2）。p53 阳性表达率在鳞癌中（60.00％）有高于腺癌（36.36％）的趋势，但未达到统计学差异（$P>0.05$）。p53 表达在不同的性别、年龄、淋巴结转移、临床分期和病理分化程度组间无统计学差异（$P>0.05$）。

56 例 NSCLC 中 bcl－2 阳性例数为 30 例（53.57％，而肺癌周边正常肺组织的 bcl－2 表达阴性（见图 3、4）。本实验中 bcl－2 表达情况见表 1。表中 bcl－2 染色阳性表达率在Ⅰ、Ⅱ期中（58.82％）有高于Ⅲ、Ⅳ期（45.45％）的趋势，在鳞癌中（60.00％）有高于腺癌（36.36％）的趋势，但未达到统计学差异（$P>0.05$）。bcl－2 表达在不同的性别、年龄、淋巴结转移和病理分化程度组间无统计学差异（$P>0.05$）。

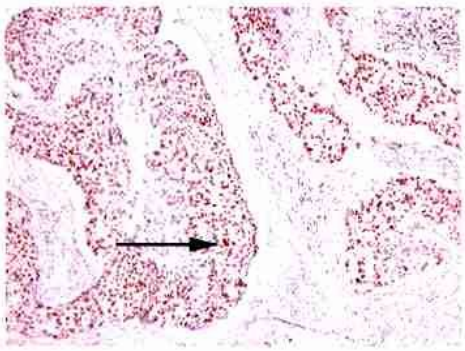


图 1 肺鳞癌 p53 免疫组化染色阳性（SP×100 箭头→示阳性染色）

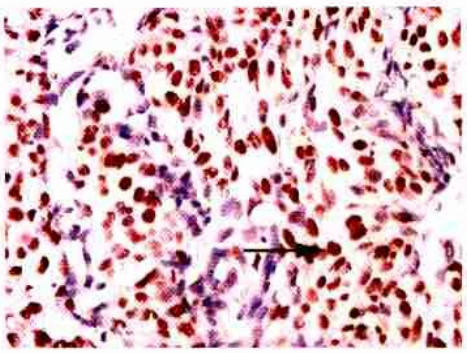


图 2 肺鳞癌 p53 免疫组化染色阳性（SP×400 箭头→示阳性染色）

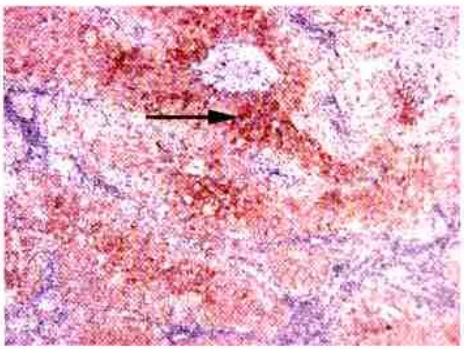


图 3 肺鳞癌 bcl－2 免疫组化染色阳性（SP×100 箭头→示阳性染色）

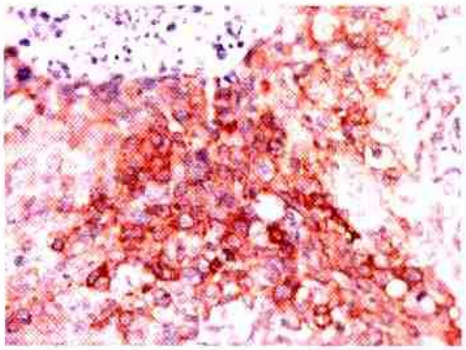


图 4 肺鳞癌 bcl－2 免疫组化染色阳性（SP×400 箭头→示阳性染色）

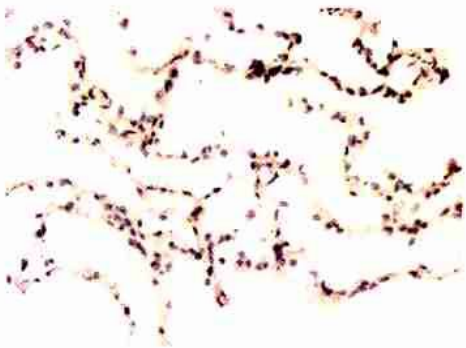


图 5 正常肺组织免疫组化染色阴性（SP×100）

由表 2 可知 NSCLC 中 bcl－2 表达阳性的 30 例标本中 p53 阳性表达率为 53.33％，bcl－2 表达阴性 26 例的标本中 p53 阳性表达率为 57.69％。

维普资讯 http://www.cqvip.com

经列联表 χ^2 检验 $P>0.05$，提示 p53 与 bcl－2 表达无相关性。

表 1 NSCLC 中 p53、bcl 的表达与的临床病理指标的关系

临床病理特点	N (56)	p53 +	p53 −	P	bcl－2 +	bcl－2 −	P
年龄							
≥60	18	11	7	>0.05	9	9	>0.05
<60	38	20	18		21	27	
性别							
男	44	26	18	>0.05	23	21	>0.05
女	12	5	7		7	5	
淋巴结转移							
有	34	17	17	>0.05	17	17	>0.05
无	22	14	8		13	9	
TNM 分期							
Ⅰ、Ⅱ	34	21	13	>0.05	20	14	>0.05
Ⅲ、Ⅳ	22	10	12		10	12	
病理类型							
鳞癌	40	24	16	>0.05	24	16	>0.05*
腺癌	11	4	7		4	7	
腺鳞癌	5	3	2		3	2	
病理分化程度							
低分化	4	4	0	>0.05	3	1	>0.05
中高分化	52	27	25		27	25	

*分别采用方差分析和两两比较法，$P>0.05$。

表 2 NSCLC 中 p53 与 bcl－2 之间的关系

p53 表达	bcl－2 表达 阳性	bcl－2 表达 阴性	P
阳性	16(53.33%)	15(57.69%)	>0.05
阴性	14(46.67%)	11(42.31%)	>0.05

3 讨 论

p53 基因是肿瘤抑癌基因家族中的重要成员之一。野生型 p53 基因(wild－type p53, wtp53)是维持细胞基因稳定和完整的卫士。当细胞发生 DNA 损伤等遗传改变时，wtp53 促进 DNA 修复，或诱导 DNA 不能修复的细胞凋亡，从而抑制肿瘤形成。突变型 p53 基因(mutant－type p53, mtp53)则丧失了抑癌基因的功能，与肿瘤的发生发展密切相关。wtp53 蛋白半衰期仅 6～20min，而 mtp53 蛋白半衰期约 4～12h[1]，由于后者稳定性增加，故用免疫组化方法检测到的常是 mtp53 蛋白[2]。mtp53 蛋白不但丧失抑癌活性，反而具有显性癌基因功能。研究表明 p53 基因异常表达在肺癌的发生、发展过程中起着重要作用，本实验结果显示 NSCLC 的 p53 阳性表达率为 55.36%，而肺癌周边正常肺组织的 p53 表达阴性，表明由于 p53 基因突变导致其抑癌作用失活，不能介导受损细胞凋亡，参与了肺癌的发生发展。Sozzi G[3]等发现大约 2/3 的鳞癌有 p53 基因突变，而在腺癌中 p53 基因突变仅占 1/3。但多数文献报道，不同组织类型肺癌的 p53 蛋白表达率无明显差异。本研究中 p53 蛋白表达阳性率在鳞癌(60.00%)和腺癌(36.36%)间无显著性差异($P>0.05$)，我们认为在 NSCLC 中 p53 基因突变与组织类型无关。另外，p53 蛋白阳性表达率在不同患者年龄、性别、临床分期、淋巴结转移和病理分化程度组间均无统计学差异($P>0.05$)。

bcl－2 基因即 B 淋巴细胞瘤/白血病基因－2，从滤泡型淋巴细胞瘤中分离出来的一种抑制细胞凋亡的癌基因。由于染色体易位，导致 bcl－2 蛋白过度表达，在多种人体肿瘤中通过抑制细胞凋亡过程，延长细胞寿命而参与肿瘤发生过程[4]。文献报道 bcl－2 表达可能与临床分期有关[5]。本实验结果显示，bcl－2 阳性例数为 30 例(53.57%)，而肺癌周边正常肺组织的 bcl－2 表达阴性，提示 bcl－2 参与了肺癌的发生发展。bcl－2 蛋白表达在Ⅰ期、Ⅱ期肺癌(61.76%)中有高于Ⅲ、Ⅳ期(45.45%)的趋势，但未达到统计学差异($P>0.05$)，提示 bcl－2 蛋白表达与肺癌临床分期无相关性，原因值得进一步探讨。此外，在本实验中 bcl－2 的阳性表达率在不同的年龄、性别、淋巴结转移、病理类型和病理分化程度组间均无统计学差异($P>0.05$)。

wtp53 引发细胞程序性死亡，即促进凋亡(Apoptosis)过程，防止具有基因损伤、可能癌变的细胞产生。mtp53 丧失了介导受损细胞凋亡的功能，从而延长受损细胞的存活时间。而 bcl－2 过度表达则抑制细胞凋亡过程，通过延长细胞寿命而参与肿瘤发生。二者之间可能存在一定的关系。体外试验和临床试验研究表明，bcl－2 蛋白表达与突变型 p53 蛋白相关[6,7]。而本实验结果显示，bcl－2 表达阳性的 30 例 NSCLC 中 p53 阳性表达率为 53.33%，bcl－2 表达阴性 26 例的 NSCLC 中 p53 阳性表达率为 57.69%，无显著性差异($P>0.05$)，即 p53 与 bcl－2 表达无相关性，与 Walker[8]等的研究一致。表明 bcl－2、p53 对细胞凋亡的调控可能是通过不同的途径来发挥作用。

(下转第 474 页)

维普资讯 http://www.cqvip.com

理论上通过该项治疗可借助超大剂量化疗和移植物抗白血病效应提供治愈机会。患儿移植后无病生存>110 天,pH 染色体持续(-),初步疗效优于化疗,揭示异基因干细胞移植可能是该病的重要挽救措施。一般认为,无血缘关系异基因外周血干细胞移植,其回输单个核细胞应>5×10^8/kg,CD_{34}^+细胞数应>4×10^6/kg。本例移植回输单个核细胞>5×10^8/kg,但 CD_{34}^+细胞数<4×10^6/kg,实际造血重建恢复时间并未受影响。本例患儿在+14 天到+35 天出现显著非凹陷性水肿,伴低热、尿少,类似毛细血管渗漏症,时间上与移植综合症相吻合,但无呼吸困难,皮质激素治疗无效,下调 CsA 血药浓度后改善,因此移植期间出现毛血管渗症除移植综合症外还应考虑药物副作用。

参 考 文 献

[1] 吴敏媛,刘继华,王 彬,等.3 例以急性淋巴细胞白血病为起始的儿童慢性粒细胞白血病[J].中华血液杂志,2000;21(1):48.

[2] Fujie H, Tsuchiya S, Morita D, et al. bcl/abl mRNA in leukemia blasts of an unusual patient with acute lymphoblastic leukemia followed after 5 - year remission by chronic myelogenous leukemia inblast crisis[J]. Leukemia, 1994; 8: 1592 - 1595.

[3] Schenk TM, Keyhani A, Bottcher S, et al. multilineage involvement of Phildelphia chromosome positive acute lymphoblastic leukemia[J]. Leukemia, 1998;12(5):666 - 674.

[4] Shteper PJ, Siegfried Z, Asimkopoulos FA, et al. ABL I methylation in Ph - positive ALL is exclusively associated with the P210 form of BCR - ABL[J]. Leukemia, 2001;15(4):575 - 582.

[5] Kelson P. Philadelphia chromosome positive CML developing in a patient with ALL[J]. Cancer, 1979;43:1782.

(上接第 428 页)

参 考 文 献

[1] Lee JS, Yoon A, Kalapuakal SK, et al. Expression of p53 oncoprotein in non - small - cell lung cancer: a favorable prognostic factor[J]. J Clin Oncol, 1995;13:1893 - 1903.

[2] Pomerantz J, Schreiber AN, Liegeois NJ, et al. The ink 4a tumor suppressor gene product p19 interacts with mam2 and neu trailizes mdmz's inhibition of p53[J]. Cell, 1998;92:713 - 723.

[3] Sozzi G, Miozzo M, Donghi R, et al. Deletions of 17p and p53 mutations in preneoplastic lesions of the lung[J]. Cancer Research, 1992;52:6079 - 6082.

[4] Koty PP, Zhang H, Franklin WA, et al. In vivo expression of p53 and bcl - 2 and their role in programmed cell death in premalignant and malignant lung lesions[J]. Lung Cancer, 2002;35(2):155 - 163.

[5] Laudanski J, Chyczewski L, Niklinska WE, et al. Expression of bcl - 2 protein in non - small cell lung cancer: correlation with clinicopathology and patient survival[J]. Neoplasma, 1999; 46(1):25 - 30.

[6] Haldar S, Negrini M, Monna M, et al. Down - regulation of bcl - 2 by p53 in breast cancer cells[J]. Cancer Res, 1994; 54:2095 - 2097.

[7] Fontanini G, Vignati S, Bigini D, et al. Bcl - 2 protein: a prognostic factor inversely correlated to p53 in non - small - cell lung cancer[J]. Br J Cancer, 1995;71:1003 - 1007.

[8] Walker C, Robertson L, Myskow M, et al. Expression of the bcl - 2 protein in normal and dysplastic bronchial epithelium and in lung carcinoma[J]. Br J Cancer, 1995;72:164 - 169.

(上接第 460 页)

[2] 张举之.口腔内科学[M].第 3 版,北京:人民卫生出版社,1995;108 - 111.

[3] 朱天岭.激光治疗牙本质过敏症[J].国外医学口腔医学分册,1990;17(5):287 - 289.

[4] 岳松龄.关于牙齿过敏症[J].牙体牙髓牙周病学杂志,1991;1(1):63 - 65.

[5] 任常群.Gluma CPS 脱敏性粘接系统治疗牙本质过敏症的临床研究[J].牙体牙髓牙周病学杂志,2001;11(5):328 - 329.

[6] 韩吉书.Gluma 脱敏剂与 Single Bond 脱敏剂治疗牙齿过敏症的观察[J].广东牙病防治,1998;6(2):21 - 22.

[7] Lir HC, Lin CP, Lan WH. Sealing depth Of nd: YAG laser On human dentinal tubules[J]. J Endod, 1997;23:691.

[8] 俞海英.ONE - SEPT 粘接剂治疗牙本质过敏症的临床疗效[J].临床口腔医学杂志,2003;12(19):733 - 734.