维普资讯 http://www.cqvip.com

321-323

文章编号：0253-3626(2000)03-0320-03

皮肤恶性肿瘤及其它皮肤疾病中p53的表达

单 葵 综述，李桂明 审校
（重庆医科大学临床学院皮肤科 400016）

中国图书分类法分类号：R739.5 文献标识码：A 收稿日期：1999-02-02

1979年，Lane和Crawford在SV大T抗原基因转染的细胞中首次发现了p53基因[1]。近二十年的研究表明，p53基因是与人类肿瘤关系最密切的基因、它存在两种类型：野生型和突变型。正常情况下，p53基因以野生型参与多种细胞内过程，其产物具有抑制G_0/G_1期细胞进入S期及诱导细胞凋亡的作用，故被认为是一种抑癌基因。而突变型p53基因由于结构变化丧失了上述功能，成为人类肿瘤中最常见的癌基因之一。现将皮肤恶性肿瘤及其它皮肤疾病中p53基因的突变情况及表达综述如下。

1 P_{53}基因的结构及生物学特征

人类P_{53}基因位于第17号染色体短臂17P13.1处，有11个外显子和10个内含子，其编码的产物为P53蛋白，一种分子量为53KD、由393个氨基酸组成，位于细胞核内的磷酸蛋白。正常的P53蛋白在细胞中易水解，半衰期为20min，突变型P_{53}蛋白半衰期1.4～7h[2]。大量的研究表明，p53基因与多种肿瘤有关，且人类肿瘤中p53突变主要位于高度保守区内，以175，248，249，273、282位点突变最高，因肿瘤的类别而不同。突变的p53基因不仅使其抑癌作用丧失，而且更具有促进恶性转化的活性，即由抑癌基因转化为癌基因。

2 P_{53}基因的检测方法

2.1 免疫组化检测方法

由于野生型p53半衰期太短，难以检测；而突变型p53具有较大的稳定性和延长的半衰期，故可用免疫组化方法检测出来。一般认为，在组织中检出P53蛋白的过度表达即提示有p53突变发生，P53蛋白染色以细胞核是否出现棕黄色颗粒为判断阳性或阴性的标准。目前常采用免疫过氧化物酶技术和链霉亲和素一过氧化物酶连接法（S—P法），多用于福尔马林固定、石蜡包埋的组织。实验过程中可应用微波加热法或压力锅高温高压加热法进行抗原修复。

2.2 PCR检测法

采用经典DNA提取法制成肿瘤标本的模板DNA，再运用标准PCR方法进行扩增，然后将扩增产物进行凝胶电泳，在紫外透射仪下观察结果。把扩增带切下作DNA测序，与正常的皮肤DNA相比，可发现P_{53}基因的突变，其中碱基改变有C→T，T→C，G→T等。

将PCR与单链构象多态性分析（SSCP）的方法结合起来，即PCR产物中p53编码的序列通过单链DNA分子电泳呈现出来，再与正常DNA比较。该法使检测更灵敏。

3 皮肤恶性肿瘤及其它皮肤疾病中p53的表达

3.1 基底细胞癌（BCC）中p53的表达

早在90年代初Shea等[3]就运用免疫组化方法检测36例头部和颈部BCC病人的切片，发现p53过度表达达到83%，作者还发现，邻近BCC的长期光照部位其正常表皮的角朊细胞中有局灶性p53表达，推测突变与长期日光照射可能有关,且多出现在BCC早期。Rady等p53[4]在进一步的研究中运用PCR技术检测14例BCC标本，结果7例阳性，且均为G：C—A：T的转变，其中有5例（71%）发生于热点CPG部位，分别位于编码区248和编码区273。作者认为，在该研究中所检测到的突变类型与紫外线诱导的突变类型极其相似，提出了紫外线在p53基因突变所导致的致癌作用中，扮演了特殊角色的假设。越来越多的研究表明，BCC中p53过度表达与日光暴露密切相关。一方面，日间照射皮肤的紫外线引起p53在表皮中的积聚，另一方面，这些p53突变细胞的克隆不断延伸至BCC邻近的表皮中，为紫外线成为BCC的高危因素提供了分子基础[5]。

作者介绍：单 葵（1968- ），女，主治医师，硕士

维普资讯 http://www.cqvip.com

3.2 Bowen病（BD）中p53的表达

Sim[6]等于九十年代初应用间接免疫过氧化物酶技术检测BD患者标本切片时发现，有57.7%发育异常的角朊细胞核染色阳性，且在多数非生殖器BD中都有突变的p53存在。作者推测，对邻近正常表皮细胞核中p53的检测，将成为鉴定早期肿瘤形成的一个潜在性指标。在对包括BD在内的皮肤肿瘤中抑癌基因p53的点突变的研究后提示，大多数突变是一种由紫外线诱导的二嘧啶光化物的形成，碱基CC→TT，或C→T，从而造成p53的突变[7]。尽管从BD发展为鳞状细胞上皮癌(SCC)的临床过程尚不清楚，Hughes等[8]在研究中发现，27例微侵袭性SCC中23例(85%)核染色阳性，10例BD中5例(50%)阳性，表明以上两种疾病中P53蛋白表达的增加是一种常规现象，它提示正常的抑癌基因p53的活动变化已成为肿瘤形成的重要机制。

3.3 鳞状细胞上皮癌（SCC）中p53的表达

为了解p53在SCC发生中的作用，Li等[9]将携带有多个已复制及突变的p53等位基因的小鼠分为被/不被B型紫外线慢性辐射的病例组和对照组。结果病例组发生了31个肿瘤，且伴有多发性肿瘤；而对照组只有14个肿瘤，且无多发性肿瘤。作者分析，p53基因的突变是SCC进程中非常重要的一步，它虽然不改变由紫外线诱导的SCC的潜伏期，但会增加肿瘤的数量，并有发生多发性肿瘤的倾向。Nagano等[2]观察到，长期日光照射所致SCC的P_{53}阳性表达为54%，而伦琴射线及瘢痕等混杂因素所致者为19%。作者总结，紫外线可作为p53基因的诱变因素，且p53基因的表达可以出现在由紫外线诱导的皮肤SCC的一个相当早的时期。王建力等[10]应用免疫组化ABC法，检测50例皮肤SCC及癌旁上皮中p53的表达，结果显示在正常上皮与癌旁轻、中度不典型增生上皮中未见P53蛋白的表达，在12.5%癌旁重度不典型增生上皮中和56%SCC中有p53表达，提示p53基因蛋白的表达与SCC的发生密切相关，是肿瘤进展为恶性的标志，并在SCC进展阶段呈稳定性增加。

3.4 皮肤T细胞淋巴瘤（CTCL）中P53的表达

Lauritzen等[11]应用DO-7检测25例CTCL中P53蛋白的表达，包括蕈样肉芽肿（MF）、Sezary's syndrome（SS）及多形性大细胞淋巴瘤等，结果发现半数以上的高恶性的淋巴瘤细胞中均能很容易检测出突变的，而低恶性的瘤细胞中则很少，甚至没有。作者推测在高恶性的CTCL的发病机理中存在有p53分子和/或基因的改变，而在低恶性的CTCL的发病机理中p53尚无特征性的改变。另一项最新的研究指出[12]，检测37例CTCL患者的p53表达，其中无大细胞变异（LCT）的病例中仅有1例p53阳性（$P<0.0004$），而合并LCT者有10例阳性且所有的p53阳性都来自于晚期病变。作者还对11例冰冻组织切片作PCR－SSCP法检测，发现6例阳性者p53无突变发生，提示在CTCL中合并LCT的p53表达的机制并不简单等同于p53基因的突变。

3.5 恶性黑色素瘤(MM)中p53的表达

为探讨p53在MM肿瘤发生中的表达情况，Kanoko等[13]分析51例原发MM中有27%阳性；而41例伴淋巴结转移者共有85%阳性；28例皮肤转移者中有57%阳性。作者总结，在原发性MM中反应细胞的平均值为2.3%，而在转移性MM中则为4.9%，提示在MM的病程中，P53蛋白的表达也许是一种晚期的表现。Talve等[14]研究80例原发性MM的p53表达及其核形态学参数时发现，64例出现了有丝分裂的标志，并且p53阳性表达的细胞核比阴性表达的核大，作者还指出，尽管与转移性MM相比，原发性MM中p53表达处于较低的水平，但仍不能将其作为评价MM预后的有普遍意义的指标。

3.6 银屑病中p53的表达

Tadini等[15]用免疫组化方法检测银屑病中p53及其它肿瘤基因的活度时发现，银屑病斑块中p53的反应性比正常皮肤明显升高。以后的研究表明，尽管在银屑病患者的皮损和非皮损部位p53的表达水平相似，但所有检测的银屑病标本中，其表皮内均能清楚地发现p53的存在[16]。近年来，银屑病患者较多使用补骨脂素（Psoralen）和A型紫外线（UVA）相结合的PUVA治疗，前者的光化作用在治疗的同时，也增加了SCC发生的可能。Wang等[17]运用PCR--SSCP方法，检测了10例病人的34个标本，发现50%的病人至少发生一种p53突变，如C→T，CC→TT，C→G等，而设想中AT位点由补骨脂素引起的突变则未检测到。作者认为，SCC可以由紫外线所致突变而引起，而PUVA则可能加速了肿瘤的进程或免疫抑制。

3.7 系统性红斑狼疮（SLE）中p53的表达

新近的研究表明，运用PCR方法检测8例SLE患者和8例正常对照者的骨髓细胞，其结果为多种肿瘤基因均有不同程度的下降，其中p53的$P \leqslant 0.05$。

维普资讯 http://www.cqvip.com

这些异常表达将规定SLE患者骨髓中细胞的生长和凋亡，有助于我们了解为何SLE患者的次级淋巴器官及外周血中存在有自身反应性细胞[18]。杨高云[19]运用免疫组化方法检测了5例狼疮性肾炎患者和3例正常同龄对照组的肾标本，并对结果进行了计算机图象灰度扫描分析，发现具有凋亡促进作用的抑癌基因p53在两组中表达均较弱，且无明显差异。尽管p53表达与SLE存在一定关系，但它在SLE发病机制中可能的作用，仍有待进一步研究。

4 结 语

大量的研究表明，p53基因突变已成为人类肿瘤中最常见的基因变化。在多种皮肤肿瘤中p53基因的异常表达，提示p53突变是表皮起源的侵袭性肿瘤的一个共同表现，且多发生在肿瘤进展的早期阶段。值得注意的是，紫外线已成为多数皮肤肿瘤p53基因突变中的一个重要因素[5]。另外，p53基因与其它皮肤疾病如银屑病、系统性红斑狼疮的关系也在进一步研究中。总之，目前人们对p53已有了广泛的认识，但有关p53突变与肿瘤分化、肿瘤转移及预后的关系等问题仍有待阐明。相信广大临床科研工作者对p53的不断深入研究，将大大有助于上述多种疾病的诊断、治疗和预防。

参 考 文 献

[1] Crawford LV,Pim DC,Lamb P, et al. The cellular protein P53 in human tumors[J]. Mol Biol Med, 1984; 2:261-263.

[2] Nagano T,Ueda M,Ichihashi M,et al. Expression of P53 protein is an early event in ultraviolet light-induced cutaneous squamous cell carcinogenesis[J]. Arch Dermatol, 1993;129:1157-1161.

[3] Shea CR, Mcnutt NS,Volkenandt M,et al. Overexpression of P53 protein in basal cell carcinomas of human skin[J]. Am J Pathol,1992; 141(1): 25-29.

[4] Rady P,Scinicariello F,Wagner RF Jr,et al. P53 mutation in basal cell carcinomas[J]. Cancer Res, 1992; 52(13): 3804-3086.

[5] Urano Y,Asano T,Yoshimoto K, et al. Frequent P53 accumulation in the chronically sun-exposed and clonal expansion of P53 mutant cells in the epidermis adjacent to basal cell carcinoma[J]. J Invest Dermatol, 1995; 104(6): 928-932.

[6] Sim CS,Slater SD,Mckee PH, et al. Mutant P53 protein is expressed in Bowens disease[J]. Am J Dermatopathol, 1992; 14 (3): 195-199.

[7] Lubbe J,Kleihues P,Berg G, et al. The tumor suppressor gene P53 and its significance for dermatology[J]. Hautarzt, 1994; 45(11): 741-745.

[8] Hughes JH,Robinson RA. P53 expression in Bowens disease and in microinvasive squamous cell carcinoma of the skin[J]. Mod Pathol, 1995; 8(5): 526-529.

[9] Li G,Ho VC,Berean K, et al. Ultraviolet radiation induction of squamous cell carcinoma in P53 transgenetic mice[J]. Cancer Res, 1995; 55(10): 2070-2074.

[10] 王建力，陈 莉. P53基因蛋白在皮肤鳞癌中的表达[J]. 中国皮肤性病学杂志，1996; 10(5): 269-270.

[11] Lauritzen AF,Vejlsgaard GL,Hou-Jesen K, et al. P53 protein expression in cutaneous T-cell lymphomas[J]. Br J Dermatol, 1995; 133(1): 32-36.

[12] Li G,Chooback L,Wolfe JT, et al. Overexpression of P53 protein in cutaneous T-cell lymphoma:relationship to large cell transformationand disease progression[J]. J Invest Dermatol, 1998; 110(5): 767-770.

[13] Kanoko M,Ueda M,Nagano T, et al. Expression of P53 protein in melanoma progression[J]. J Dermatol Sci ,1996; 12(2): 97-103.

[14] Talve L,Kainu J,Collan Y, et al. Immunohistochemical expression of P53 protein,mitotic index and nuclear morphometry in primary malignant melanoma of the skin[J]. Pathol Res Pract, 1996; 192(8): 825-833.

[15] Tadini G,Cerri A,Crosti L, et al. P53 and oncogene expression in psoriasis[J]. Acta Derm Venereol Suppl (Stockh), 1989; 146: 33-35.

[16] Schmid P,Cox D,McMaster GK,et al. In situ hybridization analysis of cytokine,proto-oncogene and tumor suppressor gene expression in psoriasis[J]. Arch Dermatol Res ,1993; 285(6): 334 -340.

[17] Wang XM,McNiff JM,Klump V, et al. An unexpected spectrum of P53 mutations from squamous cell carcinomas in psoriasis patients treated with PUVA[J]. Photochem Photobiol, 1997; 66(2): 294-299.

[18] Alvarado-de la Barrera C,Alcocer-Varela J,Rchaud-Patin Y,et al. Differential oncogene and TNF-alpha mRNA expression in bone marrow cells from systemic lupus erythematosus patients [J]. Scand J Immunol ,1998; 48(5): 551-556.

[19] 杨高云. 狼疮性肾炎患者肾组织bcl-2、c-myc、P53 的表达[J]. 中国皮肤性病学杂志，1998; 12(2): 67.