DOI:10.16016/j.1000-5404.2001.08.018

文章编号:1000-5404(2001)08-0915-03

论著

大肠癌 $P21^{WAF1/CIP1}$ 和 P53 蛋白表达及其与预后的关系

阎晓初,柳凤轩,贺光友,于冬梅,王宗前 (第三军医大学附属西南医院病理学研究所,重庆 400038)

提 要:目的 探讨细胞周期调控因子 $P21^{WAF1/CIP1}$ 和 P53 蛋白表达在大肠癌发生发展中的作用及其临床意义。**方法** 采用免疫组化染色对113例大肠癌 P21 和 P53 的蛋白表达进行了检测。**结果** 高分化腺癌 P21 蛋白阳性表达率显著高于低分化腺癌($P<0.05$),大肠癌中 P53、$P21^{WAF1/CIP1}$ 蛋白表达有显著负相关($r=-0.585$, $P<0.01$)。P53 阳性表达患者的3、5年生存率显著低于阴性表达者($P<0.05$),而 P21 阳性表达者高于阴性表达者,且 $P21^{+}/P53^{-}$ 大肠癌死亡率较 $P21^{-}/P53^{+}$ 患者显著降低。**结论** P21 蛋白过度表达可能与大肠癌分化有关,p53 基因突变,介导 P21 蛋白产生减少,阻止细胞周期的作用减弱,从而加速大肠癌的发展。P21 与 P53 蛋白联合检测可能有助于其预后判断。

关键词: 大肠癌;细胞周期;免疫组化
中图法分类号: R394.3;R735.34 **文献标识码:** A

Expression of $P21^{WAF1/CIP1}$ and P53 and its relation with prognosis in large intestine carcinoma

YAN Xiao-chu, LIU Feng-xuan, HE guang-you, YU Dong-mei, WANG Zhong-qian (Institute of Pathology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To explore the expression of cell cycle regulators $P21^{WAF1/CIP1}$ and P53 in colorectal carcinogenesis, and their clinical significance. **Methods** The expressions of P21 and P53 in 113 cases of colorectal carcinomas were detected by immunohistochemical technique. **Results** The expression of P21 protein was significantly lower in poorly differentiated adenocarcinomas than in well differentiated one ($P<0.05$). Furthermore, P21 and P53 staining were inversely correlated with each other ($r=-0.585$, $P<0.01$). The 3 or 5 year survival rate was significantly lower in the P53 positive tumor patients than that in P53 negative patients ($P<0.05$), the 3 or 5 year survival rate in the patients with P21 strongly positive tumors was higher than that with P21 negative tumors. The mortality in patients with $P21^{+}/P53^{-}$ tumors was significant lower than that with $P21^{-}/P53^{+}$ tumors ($P<0.05$). **Conclusion** The overexpression of P21 protein might inhibit the tumor cell proliferation and induce the differentiation of carcinoma cells, and the p53 gene mutation might reduce the expression of P21 protein, and promote the progression of colorectal carcinoma. The combined assessment of P53 and P21 expression might be useful for the prognosis of colorectal carcinoma.

Key words: colorectal neoplasm; cell cycle; immunohistochemistry

近年研究发现细胞周期调控异常是肿瘤发生发展的重要机制。有关大肠肿瘤细胞周期调控因子表达及其与预后关系的研究报道不多[1~3]。为此,本研究采用免疫组化方法对113例大肠癌的细胞周期调控因子 $P21^{WAF1/CIP1}$ 和 P53 蛋白进行检测,探讨其在大肠癌发生发展中的作用及对预后判断的意义。

1 材料与方法

1.1 标本

收集我院1987-1996年间手术切除的大肠癌113例,男性54例,女性59例;年龄20~83岁,平均年龄55.6岁。右半结肠50例;左半结肠63例。高分化腺癌33例,中分化腺癌58例,低分化腺癌22例。Dukes分期:A期22例,B期37例,C期41例,D期13例。所有病例均获得随访结果,随访时间20~87个月,平均45.6个月。所有标本经10%中性福尔马林液固定,石蜡包埋,连续切片,厚度3~5 μm,行 HE 染色和免疫组化染色。

作者简介:阎晓初(1963-),男,四川省苍溪县人,博士,副主任医师,副教授,主要从事大肠肿瘤临床病理与分子病理方面的研究,发表论文25篇。电话:(023)68754434

收稿日期:2000-12-21;修回日期:2001-04-16

1.2 免疫组化染色

采用 S-P 法,第一抗体 P21(1:50)和 P53(1:100)均为美国 Santo Cruz 公司产品。S-P 试剂盒系丹麦 Dako 公司产品。其中 P21 进行微波抗原修复。每批染色均设立阳性和阴性对照。结果判定:根据阳性细胞所占视野面积的百分比和染色强度分别记为阴性(-):无明显阳性反应细胞;弱阳性(+):阳性细胞的面积小于25%,着浅棕色;强阳性(++):阳性细胞面积大于25%,呈棕色或深棕色。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 统计软件进行 χ^2 检验和 Kaplan-Meier 和 Log rank 检验及等级相关检验。

2 结果

2.1 大肠癌中 P21 和 P53 蛋白的表达

大肠癌组织中 P21 和 P53 显示不同程度的表达,P21 阳性72例(63.72%),P53 阳性64例(56.64%),其阳性染色部位均以细胞核着色为主,见图1、2,两者表达在不同性别、年龄者间的差异无显著性,在肿瘤大小、部位间的差异亦无显著性;组织学类型中,高分化腺癌 P21 蛋白阳性表达率69.70%,显著高于低分化腺癌组(40.91%,$P<0.05$),Dukes D 期中,P21 阳性表达率38.46%,

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

显著低于 Dukes B 期组(78.38%, $P<0.05$),P53 阳性率 84.62%,显著高于 Dukes B、C 期组(51.35%、53.66%, $P<0.05$)。

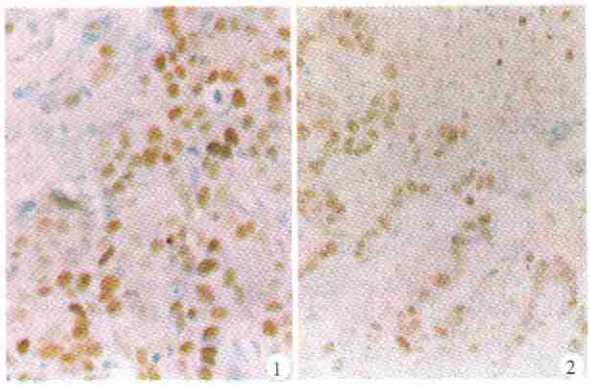


图 1 大肠低分化腺癌 P53 蛋白呈阳性表达 (S-P×400)

Fig 1 The positive expression of P53 protein in poorly differentiated colorectal adenocarcinomas (S-P×400)

图 2 大肠高分化腺癌 P21 蛋白呈细胞核散在阳性表达 (S-P×200)

Fig 2 The positive expression of P21 protein in nuclear of well-differentiated colorectal adenocarcinomas (S-P×200)

2.2 大肠癌 P21 和 P53 蛋白表达的相互关系

大肠癌 P53 与 P21 蛋白表达的相关性,见表 1,P53 呈阳性的大肠癌,其 P21 表达强度降低,阳性率为 43.75%(28/64);而 P53 阴性表达者,P21 阳性表达率为 89.80%(44/49)。P53 与 P21 蛋白共同表达均阴性仅 5 例,均阳性 28 例,但无共同呈强阳性表达。经统计学处理两者表达间存在显著负相关($r=-0.585$, $P<0.01$)。

表 1 大肠癌中 P53 蛋白与 P21 蛋白表达比较

Tab 1 Comparison of expression of P53 and P21 in colorectal carcinomas

P53	n	$P21^{WAF1/CIP1}$		
		-	+	++
-	49	5	26	18
+	39	17	11	11
++	25	19	6	0

2.3 大肠癌 P21 和 P53 表达与预后关系

本组病例中,P21 阴性患者死亡 13 例,占 29.27%(13/41),而 P21 阳性表达者死亡 18 例,占 25.00%(18/72),经 Log rank 检验两者差异无显著性。计算 P21 阴性组与 P21 弱阳性和强阳性组的 3 年生存率分别为 76.05%、79.72% 和 84.21%,5 年生存率分别为 60.29%、62.42% 和 71.86%,三组间差异无显著性,见图 3。统计 $P21^-/P53^+$ 患者死亡 14 例,死亡率 38.89%(14/36),而 $P21^-/P53^-$ 患者死亡 8 例,死亡率为 18.18%(8/44),两者间差异有显著性($P<0.05$)。

P53 阴性大肠癌患者死亡 9 例,占 18.37%(9/49),P53 阳性患者死亡 22 例,占 34.38%,经统计学处理两组间差异无显著性($P>0.05$),在 P53 表达阳性的病例中,弱阳性表达者死亡 10 例,占 25.64%(10/39),强阳性表达患者死亡 12 例,占 48.00%(12/25),与阴性组相比后者差异非常显著($P<0.01$)。采用 Kaplan-Meier 生存曲线分析,也显示 P53 阳性表达患者较阴性患者预后差,尤其为强阳性者预后最差,见图 4。其中 P53 阴性患者 3、5 年生存率分别为 88.84%、72.63%,弱阳性和强阳性患者 3 年生存率分别为 79.05% 和 59.00%,5 年生存率分别为 65.35% 和 48.00%,经 Log rank 检验阴性组与强阳性组 3、5 年生存率相比差异均有显著性($P<0.05$, $P<0.01$)。

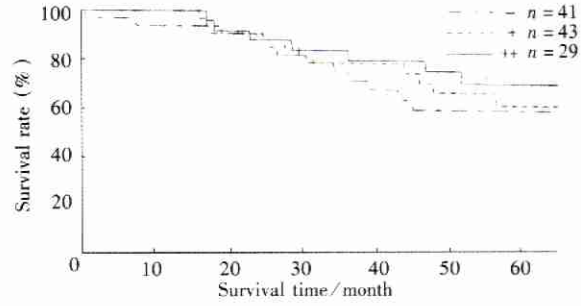


图 3 P21 蛋白表达与大肠癌预后的关系

Fig 3 Relationship between expression of P21 protein and prognosis in colorectal carcinomas

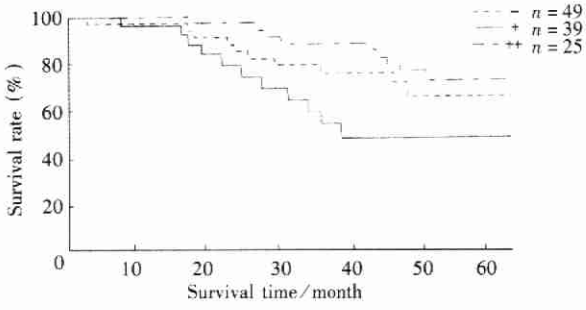


图 4 P53 蛋白表达与大肠癌预后的关系

Fig 4 Relationship between expression of P53 protein and prognosis in colorectal carcinomas

3 讨论

细胞周期调控调控是近年来肿瘤研究的热点之一,现已发现细胞周期调控因子与许多肿瘤发生发展有关[4]。P21 蛋白为 WAF1/CIP1 基因的编码蛋白,它能抑制细胞周期蛋白依赖激酶(Cyclins dependent kinase, CDK)活性,以阻止细胞周期的进程。有报道 P21 在大肠癌表达率约为 35%~68%,腺瘤表达率约 50% 左右,并发现其表达强度与癌分期呈负相关[2,5,6]。本组检出大肠癌中 P21 阳性率为 63.72%,其阳性表达与组织学类型和 Dukes 分期相关,低分化腺癌和 Dukes D 期 P21 阳性率明显降低,与 Yasui 等[2] 研究结果相吻合。表明 P21 蛋白表达可能与大肠癌分化相关,P21 表达减弱可导致细胞增殖失去有效监控及瘤细胞恶性表型的增加,从而促进大肠癌的发生。

P21 与 P53 的关系比较密切,研究表明野生型 P53 可诱导 P21 蛋白形成。本组对大肠癌 P21 与 P53 表达比较观察,发现 P21 表达阴性者,P53 蛋白大多数呈阳性表达,而 P53 阴性者,P21 也多呈阳性表达,这与本研究采用免疫组化检测到的 P53 为突变型有关,由于 P53 突变,从而丧失了野生型 P53 蛋白功能,因此,刺激 $P21^{WAF1/CIP1}$ 的表达力亦丧失。故 P53 阳性者其 P21 表达强度明显低于 P53 阴性者,与文献[7,8]报道相符,也进一步证实 P21 表达相当程度上依赖野生型

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

P53蛋白的介导。而P53蛋白阴性者亦存在P21不同程度的表达,可能又存在非依赖P53介导的其它途径刺激其表达所致。

有关P53蛋白表达对大肠癌预后的影响已有研究报道,但结果不尽一致[9,10]。一些研究显示P53表达与大肠癌预后无关,而多数研究认为P53突变或过度表达可影响其预后。本组结果显示P53阴性大肠癌的3、5年生存率明显高于阳性表达者,提示大肠癌P53蛋白过度表达时预后较差。Aoyagi等[11]对一组胃癌P53、P21表达与预后关系研究,发现$P53^+/P21^-$者3年生存率显著低于$P53^-/P21^+$组。还有人对乳腺癌P21蛋白检测同样发现,P21阳性表达者预后较好。本实验结果也显示P21蛋白表达阳性的大肠癌,其3、5年生存率较阴性者高,提示大肠癌P21蛋白过度表达时,预后较好,且P21与P53蛋白联合应用有助于其预后判断。

参考文献:

[1] Wang A, Yoshimi N, Ino N, *et al*. Overexpression of cyclin B1 in human colorectal cancers[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 1997, 123(2): 124 - 127.
[2] Yasui W, Akama Y, Yokozaki H, *et al*. Expression of $p21^{WAF1/CIP1}$ in colorectal adenomas and adenocarcinomas and its correlation with P53 protein expression[J]. Pathol Int, 1997, 47(7): 470 - 477.
[3] 张桂芬,刘 嵘,孙智才,等.大肠腺癌中细胞增殖周期调控因子P16和CyclinD1的表达和意义[J].诊断病理学杂志,1997,4(2):142 - 144.
[4] Hortwell L H, Kastan M B. Cell cycle control and cancer[J]. Science, 1994, 266(5 192): 1 821 - 1 828.
[5] Wang A, Yoshimi N, Ino N, *et al*. WAF1 expression and p53 mutations in human colorectal cancers[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 1997, 123(2): 118 - 123.
[6] Slebos R J C, Baas J O, Clement M, *et al*. Clinical and pathological association with p53 tumor-suppressor gene mutations and expression of $p21^{waf1/cip1}$ in colorectal carcinoma[J]. Br J Cancer, 1996, 74(2): 165 - 171.
[7] el-Deiry W S, Tokino T, Velculescu V E, *et al*. WAF1, a potential mediator of p53 tumor suppression[J]. Cell, 1993, 75(4): 817 - 825.
[8] Ropponen K M, Kellokoski J K, Lipponen P K, *et al*. p22/WAF1 expression in human colorectal carcinoma: association with p53, transcription factor AP-2 and prognosis[J]. Br J Cancer, 1999, 81(1): 133 - 140.
[9] Yamaguchi A, kurosaka Y, Fushida S, *et al*. Expression of p53 protein in colorectal cancer and its relationship to short term prognosis[J]. Cancer, 1992, 70(2): 2 778 - 2 784.
[10] Nathanson S D, Linden M D, Tender P, *et al*. Relationship among p53, stage, and prognosis of large bowel cancer[J]. Dis Colon Rectum, 1994, 37(6): 527 - 534.
[11] Aoyagi K, Koufuji K, Kodama I, *et al*. The significance of p21 expression in gastric cancer[J]. Gan To Kagaku Ryoho, 1997, 24(2): 285 - 291.

(编辑 陈聪连)

文章编号:1000-5404(2001)08-0917-01

个案与短篇

SLE伴发侵袭性肺曲菌病误诊1例

Misdiagnosis of a case of erosive pulmonary aspergillosis in systemic lupus erythematosus

丁雯刚,王 鲁,张春明,郝 飞 (第三军医大学附属西南医院皮肤科,重庆 400038)

患者男,27岁,因间断发热、咳嗽、面部红斑伴光敏感3月余入院,盗汗明显。查:Hb 87 g/L, PLT 97×10^9/L; dS-DNA(+); C_3 0.50 g/L;皮肤狼疮带试验(+);血沉73 mm/h;咽试子培养有白念珠菌生长。胸部X线片见双上肺斑片状及条状模糊阴影。诊断:"SLE"、"肺结核"。给予口服酮康唑0.2 g/d(共7 d)、强的松30 mg/d、抗痨等,治疗15 d病情好转出院,院外维持原抗痨治疗方案及强的松30 mg/d。1月后患者突发高热,伴面部红斑、痰中带血,遂再次入院,查:WBC 2.4×10^9/L,淋巴细胞0.938, PLT 81×10^9/L;尿蛋白(4+),血沉45 mm/h; C_3 0.31 g/L, IgG 20.8 g/L,血尿酸514 μmol/L;胸片见双上肺尖后段散在片状致密影,以右肺明显,伴双肺散在分布细小结节状致密阴影,考虑双上肺结核伴双肺血源性播散。给予强的松30 mg/d、抗痨及对症治疗等,患者体温不能控制,病情进行性加重,入院第4天因呼吸衰竭死亡。

尸检:双肺上叶均见质硬区,其内散在多个灰白色小结节。镜检:左右肺实变区背景皆为大量纤维结缔组织,见多个结节样病变,结节中央为坏死组织,几乎所有结节内都可见多少不等的菌丝,蓝染,呈锐角分枝,PAS染色阳性。多次抗酸染色未找到抗酸杆菌。

讨论

患者SLE诊断明确,本病起病即有发热、盗汗,X线见双上肺致密阴影,提示Ⅲ型肺结核。在口服强的松及抗痨治疗2月后,虽病人症状一度好转,但胸片阴影反而扩大,误诊为激素作用下Ⅲ型肺结核并发血行播散型肺结核。本例尸检证实肺部为曲霉菌感染,且未能查见抗酸杆菌,亦未发现肺脏其他病变,故诊断为原发性侵袭性肺曲菌病。SLE合并感染十分常见,但伴肺曲菌病报道甚少,且多合伴其他肺疾病,而伴发原发性侵袭性肺曲菌病十分罕见[1,2]。因曲霉感染临床缺乏特征性,痰镜检及培养的阳性率较低,故诊断较困难。

关键词: SLE;肺曲菌病;误诊
中图法分类号: R593.241 **文献标识码**: B

参考文献:

[1] Kate A, Ehrenfeld M, Livneh A, *et al*. Aspergillosis in systemic lupus erythematosus[J]. Semin Arthritis Rheum, 1996, 26(3): 635 - 640.
[2] Kim W V, Rim S I, Yoo W H, *et al*. Adult respiratory distress syndrome in systemic lupus erythematosus: cause and prognostic factors: a single center, retrospective study[J]. Lupus, 1999, 8(7): 552 - 557.

(编辑 冯崇英)

作者简介:丁雯刚(1975 -),女,河南省南阳市人,医师。电话:(023)68773099
收稿日期:2000-12-20;**修回日期**:2001-04-16

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net