DOI:10.16016/j.1000-5404.2000.02.011
第22卷第2期 第三军医大学学报 Vol. 22, No. 2
126 2000年2月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Feb. 2000

论著

文章编号:1000-5404(2000)02-0126-03

P21、P185、P53蛋白表达及P53基因突变与膀胱癌移行细胞生物学行为关系的研究

周占松,金锡御,宋 波,熊恩庆 (第三军医大学附属西南医院泌尿外科,重庆 400038)

提 要 目的:探讨癌基因及抑癌基因改变与膀胱癌生物学行为的关系。方法:采用免疫组织化学方法及分子生物学技术,检测了82例膀胱移行细胞癌P21、P185、P53蛋白表达及38例P53基因突变。结果:P21、P185、P53蛋白表达阳性率分别为62.2%(51例)、58.5%(48例)、31.7%(26例)。12例(31.6%)有P53抑癌基因突变,其中全部有第280位密码子G-C突变;3例合并有248密码子突变;1例有249密码子点突变。结论:P21、P53蛋白表达阳性率与膀胱移行细胞癌病理分级及临床分期呈正相关($P<0.01$);P185蛋白阳性率与分级、分期呈负相关($P<0.05$)。P53抑癌基因点突变与病理分级和临床分期呈显著正相关($P<0.05$);与预后显著相关($P<0.05$);且死亡率高于点突变阴性者。

关键词 膀胱肿瘤;癌;移行细胞;癌基因产物;预后
中图法分类号 R394.2;R737.14 文献标识码 A

Relation of expression of P21, P185 and P53 proteins and point mutation of P53 gene to prognosis of cystic transitional cell carcinoma

ZHOU Zhan-song, JIN Xi-yu, SONG Bo, XIONG En-qing (Department of Urology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038)

Abstract Objective: To investigate the relationship between changes of oncogenes and antioncogenes and biological behaviors of cystic carcinoma. Methods: The expression of P21, P185 and P53 and mutation in P53 gene were studied in 82 cases of cystic transitional cell carcinoma by immunohistochemical and molecular biological methods. Results: The positive rates of P21, P53 and P185 were 62.2%, 31.7% and 58.5% respectively. The rates of P21 and P53 were increased with the progression of the pathological grade and the clinical stage ($P<0.01$) while that of the P185 decreased with them ($P<0.05$). The point mutation rate in P53 gene was 31.6%. All the P53 point-mutation positive cases had G-C transition at codon 280. Point mutation at codons 248 and 249 were detected in 3 and 1 respectively among the 12 P53 point-mutation positive cases. Conclusion: The positive expression of p21 and p53 protein was positively correlated to the pathological grading and clinical staging of transitional cell carcinoma ($P<0.01$) while that of p185 was negatively correlated to the grading and staging of the carcinoma ($P<0.05$). The point mutation of P53 antioncogene is closely related to the high grade and/or high stage subsets of bladder cancer. The point-mutation positive cases have a higher recurrent rate and death rate.

Key words bladder neoplasm; carcinoma; gene; prognosis

应用免疫组织化学及聚合酶链式反应-限制性片段长度多态性分析和斑点杂交法检测膀胱移行细胞癌ras、c-erb-2及P53蛋白表达及P53基因点突变,旨在探讨癌基因及抑癌基因的改变与膀胱移行细胞癌生物学行为的关系,为临床诊断及判断预后提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

选取有完整随访资料的膀胱移行细胞癌手术标本82例,随访时间3~10年,平均5.2年,另取10例非癌膀胱粘膜作对照。标本经10%福尔马林固定、石蜡包埋。其中对38例膀胱移行细胞癌标本进行基因突变检测。ras P21、P53鼠抗人抗体购自中山生物技术公司。P185鼠抗人抗体为美国Oncogene Science公司产品。ABC试剂盒为美国Vector Lab公司产品。P53基因引物及寡聚核苷酸探针由中科院上海细胞生物所合成。蛋白酶K、TaqDNA多聚酶、4种脱氧核苷酸、DNA分子量标记物,限制性内

作者简介:周占松(1965.6),男,河北省饶阳县人,硕士,主治医师,主要从事膀胱癌的发病机制及治疗方面的研究,发表论文3篇。电话:(023)68752543

收稿日期:1999-09-15;修回日期:2000-01-06

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

切酶 *Msp* Ⅰ、*BstN* Ⅰ、*Hae* Ⅲ均购自华美生物工程公司。

1.2　临床资料

膀胱移行细胞癌 82 例，作基因产物 (P21、P53、P183) 检测，男 70 例，女 12 例。年龄 26～82 岁，平均 56.34 岁。肿瘤大小：最大直径 8.5 cm，最小者 0.4 cm。组织学分级：Ⅰ级 18 例，Ⅱ级 38 例，Ⅲ级 26 例。临床分期：Tis-T1 期 22 例；T2 期 36 例；T3～4 期 24 例。82 例随访结果，复发 30 例，死亡 17 例，其中 4 例复发后死亡。38 例作基因突变检测，男 33 例，女 5 例，年龄 25～80 岁，平均年龄 60.6 岁。肿瘤组织学分级：Ⅰ级 10 例，Ⅱ级 15 例，Ⅲ级 13 例。临床分期：Tis-T1 期 12 例；T2 期 13 例，T3～4期 13 例。38 例随访结果：复发 27 例，死亡 5 例。

1.3　方法

1.3.1　免疫组化染色　　石蜡包埋组织连续厚 4 μm 切片。其中 1 张行 HE 染色，其组织病理分级按 WHO 标准，临床分期采用 UICC 标准。免疫组织染色采用 ABC 法，一抗 P21、P53、P185 (1∶50)。以 PBS 代替第一或第二抗体作为阴性对照。以已知阳性切片作阳性对照。按染色范围及强度判断染色结果。

1.3.2　基因突变检测　　①提取 DNA；②聚合酶链式反应 (PCR)；③酶切分析(RFLP)；④斑点杂交(dot blot)。

1.4　统计学分析

所有资料进行 χ^2 检验。

2　结果

2.1　免疫组化结果分析

10 例正常膀胱粘膜中，2 例 P185 蛋白呈弱阳性，P21、P53 蛋白均阴性。82 例膀胱移行细胞癌中 P21 蛋白阳性率 62.2% (51 例)，P53 蛋白阳性率 31.7% (26 例)，P185 蛋白阳性率 58.5%(48 例)。P21 蛋白、P53 蛋白与预后关系：本组 82 例膀胱移行细胞癌，复发 30 例，复发时间≤3 年 20 例，3～5 年 3 例，≥5 年 7 例。仅 P53 阳性者复发率 33.6%，显著高于阴性者复发率 (17.1%，$P \leqslant 0.05$)。各种蛋白表达与复发时间无关。死亡 17 例，其中生存时间≤3 年 10 例，3～5 年 4 例，≥5 年 3 例。P21 阳性者死亡率 33.4%，高于阴性者死亡率 (6.2%，$P < 0.01$)。P53 阳性者死亡率 34.6%，高于阴性者死亡率 (12.4%，$P < 0.01$)。与生存时间长短无明显关系。3 种蛋白检测结果显示，2 种以上基因产物表达者计 32 例 (39%)，P21、P53 蛋白共同表达阳性率 10.7%，共同表达者复发率为 63.2%，显著高于非共同表达者 ($P < 0.05$)；P185，P53 蛋白共同表达阳性率 5.1%，其复发率为 60.3%，显著高于非共同表达者 P21，P185、P53 蛋白共同表达阳性率 24.6%。2 种以上蛋白共同表达者复发率为29.6%，显著高于非共同表达者复发率 (11.7%，$P < 0.05$)，而死亡率比较无显著差异 ($P > 0.05$)，见表 1。

表 1　82 例膀胱移行细胞癌 P21、P185、P53 蛋白表达结果

Tab 1　Results of expression of P21、P185、P53 protein in 82 cases of transitional cell carcinoma

Historical classification	P21			P185			P53		
	+	++	+++	+	++	+++	+	++	+++
Normal mucosa(n = 10)	0	0	0	2	0	0	0	0	0
Transitional cell carcinoma(n = 82)	13	15	23	20	12	16	13	7	6

2.2　P53 基因突变结果分析

用 PCR-RFLP 方法对 38 例膀胱移行细胞癌组织 P53 基因检测发现，3 例有 248 密码子点突变，1 例有 249 密码子突变。应用 PCR-dot blot 方法对 38 例膀胱肿癌组织 DNA 进行检测，发现 12 例发生 P53 基因 280 密码子 G-C 突变，没有发现 175 和 273 密码突变。P53 基因突变随病理分级和临床分期增高而增高 ($P < 0.01$)。P53 基因突变与预后关系：P53 基因 12 个点突变阳性的病例全部复发，5 例死亡；点突变阴性者 10 例复发 (38.5%)，没有死亡病例。两者间差异非常显著 ($P < 0.01$)。

3　讨论

本组对膀胱移行细胞癌 P21 蛋白检测结果表明：阳性率分别为Ⅰ级 31%、Ⅱ级 59%、Ⅲ级 74%，各级间相差显著 ($P < 0.05$)；Tis-T1 期 29.7%、T2 期 61.2%、T3～4期 74%，各期间相差显著 ($P < 0.05$)。本文结果与文献报道基本相符[1,2]，但亦有相反结论的报道[3]。P21 蛋白阳性表达者预后差，死亡率高，反之则预后好，死亡率低。因此我们认为 P21 蛋白表达可作为膀胱癌恶性程度高和预后不良的重要指标之一。

本实验对膀胱移行细胞癌 P185 蛋白检测结果表明：Ⅰ级 69.6%、Ⅱ级 56.4%、Ⅲ级 41%；Tis-T1 期 68.1%、T2 期 57.9%、T3～4期 41%。统计学分析表明：各级及各期间相差显著 ($P < 0.05$)。与文献报道基本一致[4]，但国外有相反结果报道[5]。提示 P185 蛋白表达可能是膀胱移行细胞癌早期表现。统计学分析表明：P185 蛋白与预后无显著关系 ($P > 0.05$)。

Soini 等[6] 检测膀胱移行细胞癌中 P53 蛋白阳性表达随病理分级及临床分期增高而增高。我们的结果与其相一致，其中Ⅰ级阳性率 13.8%，Ⅱ级阳性率 41.2%，Tis-T1 期阳性率 12.5%，T3～4期41.2%。在分化差的膀胱癌中表达最强。P53 蛋白阳性表达者局部淋巴结转移率高，死亡率高，预后差；阴性者则预后好。因此我们认为 P53 蛋白表达可作为判断膀胱癌恶性程度及预后的指标。

资料表明：膀胱移行细胞癌的发生、发展表现为多基因协同作用。叶定伟等[7] 报道了膀胱移行细胞癌中 ras 和 c-erb-2 癌基因产物的表达。Lipponen[8] 报道了 c-erb-2 癌基因产物表达同时伴有 P53 蛋白表达。本研究检

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

测 3 种基因蛋白的结果，说明多个基因协同激活在膀胱移行细胞癌发生、发展中起一定作用。

我们检测 P53 基因突变率为 31.6%。其中全部有 280 密码子 G-C 突变。其中Ⅲ级及 T3～4 突变率高于Ⅰ、Ⅱ级和 Tis-T1、T2($P<0.01$)，与 Fujimoto 等[9]的结论相一致。P53 突变者死亡率高，预后差。说明 P53 抑癌基因突变与膀胱癌的生物学行为密切相关。280 密码子 G-C 突变是否热点突变还有待进一步研究。

参考文献

[1] Viola M V, Fromo Witz F, Oravez S, *et al*. Ras oncogene P21 expression is increased in premalignant lesions and high-grade bladder carcinoma[J]. J Exp Med, 1985, 161(5): 2 113－2 118.
[2] 何兆伟，陆灿辉，申鹏飞，等. ras-P21 和 P53 在膀胱癌表达的临床意义[J]. 中华泌尿外科杂志, 1996, 17(1): 20－23.
[3] 缪延杰，王　泽. 癌基因 ras 产物 P21 表达与膀胱癌生物学行为之间的关系[J]. 临床泌尿外科杂志, 1990, 5(2): 156－158.
[4] 邹　文，吴明明，虞颂庭，等. 膀胱癌原癌基因 c-erb-2 蛋白产物表达[J]. 中华泌尿外科杂志, 1995, 16(2): 84－85.
[5] Sato K, Moriyama M, Mori S, *et al*. An immuno-histoloicale-valuation of c-erb-2 gene product in patient with urinary bladder carcinoma[J]. Cancer, 1992, 70(10): 2 493－2 498.
[6] Soini Y, Turpeenniemi-Hujanen T, Kamel D, *et al*. P53 immunohistochemistry in transitional cell carcinoma and dysplasia of the urinary bladder correlates with disease progression[J]. Br J Cancer, 1993, 68(5): 1 029－1 035.
[7] 叶定伟，郑家富，钱松溪，等. P53 基因突变与泌尿系肿瘤关系的初步研究[J]. 中华医学杂志, 1994, 74(11): 656－658.
[8] Lipponen P K. Interrelationship between expression of P53 proliferation cell nuclear antigen and c-erb-2 in bladder cancer[J]. Pathology, 1993, 61(3～4): 178－182.
[9] Fujimoto K, Yamada Y, Okajima E, *et al*. Frequent association of P53 gene mutation in invasive bladder cancer[J]. Cancer Res, 1992, 52(6): 1 393－1 398.

（编辑　潘式文）

经验与短篇

文章编号：1000-5404(2000)02-0128-01

改良 CT 扫描检查肺部小病灶

Improved CT scanning of small lesions in chest

席道友　（第三军医大学附属新桥医院放射科，重庆 400037）

肺部 CT 扫描小病灶易遗漏，扫描前对定位图像观察细致，定位准确，则可达到检出病灶的目的，现报告如下。

1　临床资料

1997 年 8 月至 1998 年 1 月 10 例肺部 0.5～0.8 cm 小病灶，男 7 例，女 3 例，年龄 17～83 岁，平均年龄 57 岁。

病人仰卧于检查床上，双手抱紧头部，臀部垫高 15°～25°，定位线对准锁骨连线中心，先扫描全肺像，再根据病变情况，设定扫描程序。我科采用美国 GE systec 3 000 型全身 CT 机，取 XY 轴线，从小病灶上缘，以 3 mm 层厚，3 mm 层距，扫到病灶下缘为止。其他肺野，可用 10 mm 层厚，10 mm 层距设定，条件设定为 80 MA、120 KV、3.5 s 的时间间隔，肺窗 WW 1 500，WL 600，纵隔 WW 400，WL＋10[1]。

2　结果

10 例小病灶在我科 CT 检查发现后，均经过 3～5 个月的追踪复查，其中 4 例诊断为结核性硬结灶，3 例为肺癌放疗过程中，发现新的小病灶。2 例为直肠癌术后肺内转移灶。1 例在查体时发现肺的小病灶，进行第 2 次 CT 复查时，病灶有增大，结合临床确定为肺内较小肿瘤，此病例已手术病理证实。

3　体会

①详细阅读 CT 申请单，特别注意临床病历体征及其他检查结果。②病人体位一定要将臀部垫高 15°～25°左右，这样才能符合支气管的走行，较容易发现支气管分叉处的小病灶。③认真阅读部平片及 CT 定位图像。找出 1 cm 以下可疑或较明确的病灶部位。④根据病灶所在部位，尽可能选用小的层厚及层距扫描，这样不易遗潜心小病灶。⑤注意窗宽窗位的调节，直致使小病灶边缘显示清楚为佳。⑥尽量取平扫加增加扫描，这样容易对比，能及时发现小病灶的性质。⑦有螺旋 CT 机的情况下，尽量选用螺旋 CT 机检查，将会更能及早发现较小的病灶。⑧及时追踪随访，收集资料，对肺部小病灶及早诊断，及时治疗会起到很好的帮助。

关键词　小病灶；CT
中图法分类号　R814.42　　文献标识码　B

参考文献

[1] 易习之，戴书华，王文献. CT 的临床应用[M]. 成都：四川科学技术出版社, 1997. 156－158.

（编辑　王　红）

作者简介：席道友(1954. 4)，男，湖北省襄樊市人，主要从事影像技术方面的研究，发表论文 10 篇。电话：68755438

收稿日期：1999-03-30，修回日期：1999-12-29

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