

3 讨论

恶性肿瘤并发 SVCS 多见于肺癌、恶性淋巴瘤及恶性胸腺瘤,也可并发于肺结核、梅毒等非肿瘤疾病,肺癌中右上肺癌最为常见,病理类型以小细胞未分化癌多见,占 SVCS 中 30% 以上。

对肺癌合并 SVCS 的诊断,临床上主要表现为急性或亚急性呼吸困难和面颈肿胀,检查可见面颈、上肢和胸部静脉回流受阻、瘀血、水肿,CT 可见上腔静脉受压变形,直径变小,纤支镜检查有助于明确病理类型。

对肺癌合并 SVCS 的治疗,可首先放射治疗或化疗,动脉介入化疗疗效优于全身化疗^[2],放化综合治疗中,先化疗后放疗优于先放疗后化疗^[3]。外科治疗手术方法包括:各种转流术,肿瘤切除加上腔静脉重建或松解术,经右房、经球囊导管下腔静脉扩张术和上腔、无名静脉内血栓内膜切除加心包补片等^[4,5]。近年来,上腔静脉血管内支架治疗亦取得了较好的疗效^[6,7]。

就放射治疗而言,大剂量冲击放射治疗加速缓解 SVCS 症状,疗效优于常规放射治疗^[8]。病理类型是影响即刻疗效及近期疗效的重要因素。小细胞未分化癌合并 SVCS 治疗后症状缓解率高,鳞癌次之,腺癌最低。

SVCS 系肿瘤急症,一旦明确诊断,应立即给予治疗,也有不少作者认为 SVCS 的病因 87%~97% 是恶性疾病,强调不一定明确诊断就可以进行放疗或/和化疗,治疗应先给予大剂量冲击化疗,继之大剂量冲击放

射治疗,可迅速缓解上腔静脉压迫征,但放射野不应太大,应根据胸部 CT,一般肿瘤边缘外放 2cm,以减少周围正常组织的放疗反应。放疗同时给以抗炎、给氧、利尿剂等缓解症状药物有助于治疗 SVCS,补液应从下肢静脉输注,以免加重上腔静脉的负担。毒副作用与常规放、化疗的毒副作用相同,予以对症治疗可缓解,一般均能耐受。该疗法安全有效,值得临床推广应用。

参考文献

- 1 Videtic-GM, Kocha-WI, Malthaner-RA. HIV complicates the management of oncological emergencies; a case involving the superior vena cava syndrome. *Clin Oncol R Coll Radiol*. 1999, 11(5): 355~357.
- 2 莫顺法, 汝复明, 叶强, 等. 动脉灌注化疗治疗并发于肺癌的上腔静脉综合症. *临床放射学杂志*, 1999, 18(11): 688~690.
- 3 王丽娜, 王树滨, 隋广杰. 肺癌合并上腔静脉综合症 59 例临床分析. *中国肿瘤临床*, 1999, 26(12): 921~923.
- 4 汪忠镐, 谷涌泉, 汪秀杰, 等. 上腔静脉综合症的外科治疗, 附 47 例分析. *中华胸心血管外科杂志*, 1998, 14(2): 81~83.
- 5 Ho-HT, Horowitz-AL, Ho-AC. Systemic to pulmonary venous communication (right-to-left shunt) in superior vena cava obstruction demonstrated. *Br J Radiol*. 1999, 72(859): 712~713.
- 6 谢晓东, 廖正银, 官泳松, 等. 肺癌合并上腔静脉梗阻的血管内支架治疗. *中国胸心血管外科临床杂志*, 1997, 4(4): 216~218.
- 7 Schindler-N, Vogelzang-RL. Superior vena cava syndrome. Experience with endovascular stents and surgical therapy. *Surg Clin North Am*. 1999, 79(3): 683~694.
- 8 权循风, 孔令玲, 杨家湘. 大剂量冲击和常规剂量放射治疗上腔静脉综合症疗效比较. *安徽医科大学学报*, 1999, 34(2): 125~126.

抑癌基因 p16 在肺鳞癌和肺腺癌中的表达及临床意义

谢博雄¹ 徐五音² 丁嘉安¹ 许凯黎³

¹上海市第一肺科医院 200433 ²苏州大学附属第一人民医院 215007 ³上海市肿瘤研究所 200433

摘要 目的 探讨 p16 基因产物在肺鳞癌和肺腺癌中的表达及其意义。方法 本组 56 例原发性非小细胞肺癌,其中鳞癌 37 例,腺癌 19 例。用免疫组织化学 PCR 法检测患者肺癌新鲜标本 p16 蛋白表达水平。结果 56 例肺癌标本中 p16 蛋白阳性表达率为 58.9% (33/56),伴有淋巴结转移者其阳性表达率 41.4% (12/29)显著低于无淋巴结转移者 (P16 阳性表达率为 77.8% (21/27), $P < 0.01$)。P16 蛋白阴性表达者的 1 年、3 年生存率分别为 59.7%、44.1%,显著低于 p16 蛋白阳性表达者 85.2%、71.8%。结论 p16 蛋白表达与肺鳞癌和肺腺癌的组织类型、淋巴结转移及预后有关。p16 蛋白状态可作为判断肺癌预后的指标之一。

关键词 肺肿瘤 基因 p16 免疫组织化学

Expression of P16 Gene in Primary Squamous Cell Carcinomas and Adenocarcinomas and its clinical significance

Xie Bo-xiong, Xu Wu-yin, DING Jia-an, et al. Thoracic Surgery Dept, Shanghai Pulmonology Hospital, Shanghai 200433

Abstract objective To study the expression of p16 gene in primary squamous cell carcinomas and adenocarcinomas, and to determine the relationship between the expression of the gene product and lung cancer. **Methods** Using primers to amplify exon 2 of p16 gene by PCR to analyze the homozygous deletion of the p16 gene in 56 patients with NSCLC from 1996. 2 to 2000. 6m, in-

cluding 37 squamous carcinomas, and 19 adenocarcinomas. We measured the correlation between clinicopathologic factors and homozygous deletion of the p16 gene in 56 cases. **Results** 33 cases showed positive staining in all (58.9%). The expression level of p16 were higher in adenocarcinomas and squamous cell carcinomas without hilar or mediastinal lymph node metastasis 21/27 (77.8%) than those with hilar or mediastinal lymph node involvement 12/29 (41.4%) ($P < 0.01$). Follow-up showed that 1a, 3a survival in p16 positive patients was 59.7% and 44.1% respectively, which was much lower than in p16 negative patients (85.2% and 71.8%) respectively. **Conclusion** Differentiation degree lymph node metastasis and prognosis of lung cancer were associated significantly with p16 expression. P16 expression was somewhat related to clinical stage. P16 expression may be used to effectively monitor the course of disease and to suggest prognosis of lung cancer.

Key words Lung neoplasm p16 gene Immunohistochemistry

抑癌基因 p16 是 1994 年由 Camb 等^[1]在人染色体 9p21 发现的一种新型抑癌基因 CDKN2 基因, 其外显子 2 编码为 6000 分子量的蛋白, 即 p16 蛋白。由三个外显子和两个内显子组成, 其编码的蛋白质产物为周期蛋白依赖性激酶(CDK)抑制因子。已发现 p16 基因的缺失和突变与许多肿瘤的发生和发展有较密切的关系^[5]。本文采用 PCR 方法检测病理证实的 56 例原发性肺鳞癌和肺腺癌组织中 p16 基因的丢失情况, 探讨 p16 基因产物在肺癌中表达的意义。

1 材料与方法

1.1 标本 收集诊断明确的肺癌病例 56 例(鳞癌 37 例, 腺癌 19 例)。男性 39 例, 女性 17 例。年龄 39~77 岁, 平均年龄 62.1 岁。标本均为手术后一小时内低温保存于液氮罐中。试剂为琼脂糖、dNTP、Tag 酶、PCR-Marker。

1.2 方法 纯化组织 DNA 大分子法参照 Manitis 法, 经紫外分光光度计作 DNA 定量。PCR 反应总体积为 50ul, 样本 DNA 量为 4ul。95 C 变性 5 分钟后, 进行 35 个循环。循环条件: 94 C 30 秒, 55 C 30 秒, 72 C 30 秒。引物扩增 p16 基因的 exon2, 引物顺序为:

5' - TGGCTCTGACCATTCTGT (-)

5' - AGCTTTGGAAGCTCTCAG (+)

扩增条件: 94 C 变性 5 分钟后, 进行 35 个循环, 循环条件为: 94 C 30 秒, 55 C 2 分钟, 72 C 3 分钟, 其引物顺序为:

5' - GAAACTACCTTCAACTCCATC (-);

5' - CTAGAAGCATTTGCGGTGGACGA

TGGATGGAGGGGCC (+)

同时用: B-action 基因作内对照, PCR 产物在 1.5% 琼脂糖凝胶电泳、照相。P16 基因丢失阴性, 未丢失为阳性。采用 X² 检验。

2 结果

2.1 P16 蛋白表达与组织分型, 淋巴结转移的关系

根据 WHO 肺癌组织病理学分类标准及 1997 年 the American Joint Committee Cancer (AJCC), the Union Internationale Contre Cancer (UICC) 重新修订的

TNM 分期标准对 56 例肺癌组织分类分期。

56 例肺癌新鲜组织纯化 DNA 后, 经 PCR 扩增 p16 基因, 同时以 β -Actin 作为内对照, 其中 p16 分子量约为 400bp, 而 β -Actin 分子量为 300bp 左右 (见附图 A)。结果发现 p16 基因有 23 例丢失, 阳性率为 58.9%, 其不同分型、分期情况见表 1、表 2。部分病例 PCR 法检测 p16 基因丢失电泳图见附图 B。

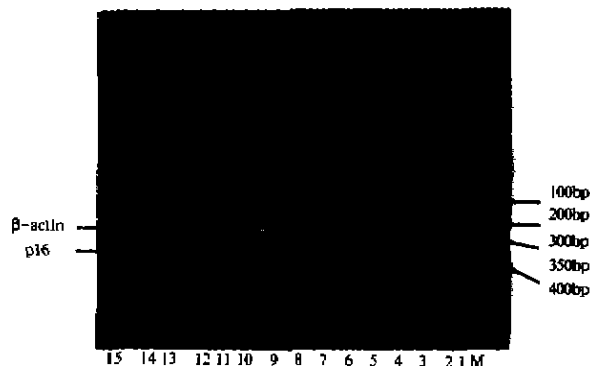


图 A: β -Actin 作内对照

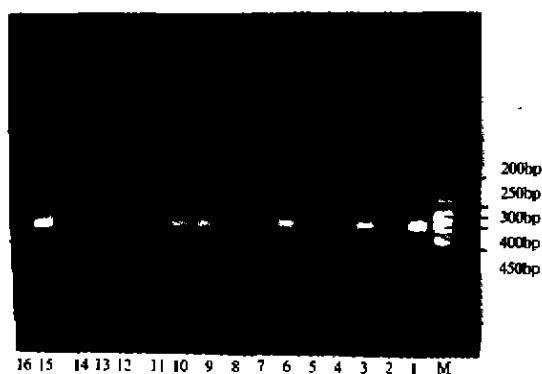


图 B: 部分病例 p16 基因丢失

表 1 P16 表达与肺癌分型的关系

分型	检测例数	阳性例数	阳性例数百分比
鳞癌	37	18	48.6%
腺癌	19	15	78.9%
合计	56	33	58.9%

表2 p16表达与肺癌淋巴结转移的关系

淋巴结	鳞癌			腺癌		
	例数	阳性例数	阳性例数百分比	例数	阳性例数	阳性例数百分比
N0	16	12	66.7%	11	9	81.8%
N1-N2	21	7	33.3%	8	5	62.5%

p16蛋白在肺癌组织中总阳性表达率为58.9%，腺癌p16蛋白阳性率明显高于鳞癌患者，有显著性差异($P < 0.05$)。伴有淋巴结转移的肺癌患者p16蛋白阳性表达率显著低于无淋巴结转移者($P < 0.01$)。

2.2 P16蛋白表达与肺癌分期的关系

表3 p16表达与肺癌分期的关系

分期	检测例数	阳性例数	阳性例数百分比
I	27	21	77.7%
II	11	7	63.6%
III	18	5	27.8%
合计	56	33	58.9%

在表3中可知在不同的肺癌分期中，I、II期p16表达的阳性率均高于III期患者，而I、II期患者之间无明显差异。p16蛋白阳性表达患者的生存率及中位存活月数均显著高于p16表达阴性者。

2.3 p16蛋白表达与肺癌手术预后的关系(应用SPSS8.0软件)

表4 p16表达与预后的关系

	病例数	生存期(月)	1年生存率	3年生存率
p16 阴性	23	33.5	69.7%	44.1%
p16 阳性	33	46.3	85.2%	71.8%

经过对56例肺癌患者的随访发现，p16蛋白表达阳性病人的3年生存率为71.8%，而p16蛋白表达阴性病人的3年生存率仅44.1%($P < 0.05$)，说明p16基因的表达与肺癌的预后有一定的联系，可以作为肺癌预后的参考。

3 讨论

在肿瘤的发生和发展过程中涉及多种基因参与的复杂过程，包括癌基因的激活和抑癌基因的失活。近年来，p16基因是受到人们关注的一种抑癌基因，它与cyclin D竞争结合CDK或CDK6，从而抑制cyclin D-CDK4或cyclin D-CDK6复合物形成，阻碍细胞从G₁期到S期的转渡，对细胞周期的运转进行负调控^[6]。p16基因失活机制有多种：纯合性缺失、基因突变、5' CPG岛异常甲基化等^[6]。p16基因突变在人恶性肿瘤中普遍存在。Kamb等^[1]检测包括肺癌、白血病、膀胱癌、乳腺癌等细胞系，p16基因突变率为30%~80%不等。Reed^[2]应用免疫组化法研究黑色素瘤中p16蛋白

表达，证实p16蛋白表达的阳性率与黑色素瘤的浸润和转移能力密切相关。Nakagawa等^[3]通过PCR杂交法，证实非小细胞肺癌p16基因缺失和突变与肿瘤进展密切相关^[4]。所以在研究肺癌的发生与发展了解p16基因的变异是有价值的。

本组所检测的肺腺癌和鳞癌中，腺癌p16蛋白表达阳性率高于鳞癌($P < 0.05$)。提示在不同类型肺癌发生过程中p16基因的作用不同。伴有淋巴结转移的肺癌p16蛋白的阳性表达率显著低于不伴有转移者，提示p16基因的失活可能与肺癌的转移有关。伴有转移的肺癌其临床分期属晚期，I期、II期肺癌p16表达阳性率均高于III期患者，说明p16基因的失活参与了肺癌的进展，是肺癌的一个晚期事件，可能与肺癌的早期关系不大。但p16表达原发性缺失还是晚期肺癌继发p16表达缺失，在肺癌的整个病程中是一个恒定的肿瘤标志，对此尚不清楚，只有对大量的同一病人的早、晚期p16基因进行动态检测才可能得出结论。对56例肺癌患者的随访研究发现，p16蛋白阳性表达者的1年、3年生存率均高于p16表达阴性者，说明p16基因的表达与肺癌的预后有一定的联系，可以作为肺癌预后的参考。

p16基因变异患者与未变异患者在性别、年龄等方面无差异。

参考文献

- 1 Cambia A, Gruis NA, Weaver-Feldhaus J, et al. A cell cycle regulator potentially involved in genesis of many tumor types. *Science*, 1994, 264(15):436.
- 2 Reed JA, Longanzo F, Shea CR, et al. Loss of expression of the P16/cyclin-dependent kinase inhibitor 2 tumor suppressor gene in melanocytic lesions correlated with invasive stage of tumor progression. *Cancer Res*, 1995, 55(13):2713.
- 3 Nakagawa K, Conrad NK, Williams Jp, et al. Mechanism of inactivation of CDKN2 and MTS2 in non-small cell lung cancer and association with advanced stage. *Oncogene*, 1995, 11(9):1843.
- 4 黄学胜, 刘颀, 王云杰等. 抑癌基因 p16 在肺癌中的表达. *中国胸心血管外科临床杂志*, 1997, 4(2):70~72.
- 5 Hayashi N, Sugimoto Y, Tsuchiya E, et al. Somatic mutations of the MTS(multiple tumor suppressor)1/CDK4I(cyclin-dependent kinase-4 inhibitor) gene in human primary non-small cell lung carcinomas. *Biochem Biophys Res Commun*, 1994, 202:1426.
- 6 石永玉, 魏海明. 非小细胞肺癌中抑癌基因 p16/MTS1 的基因突变和表达缺失. *肿瘤*, 1999, 19(1):27~29.
- 7 Minna D. Tumor suppressor genes and oncogenes in lung cancer: potential clinical applications. *Advan Oncol*, 1996, 12(1):3.
- 8 郭永庆, 关钧, 葛炳生等. p16 蛋白在肺癌中的表达及临床意义. *中华医学杂志*, 1998, 78(5):354~356.