

·论著·

# 原发性非小细胞肺癌中 MTS2/p15 的表达及临床意义

陈晓峰,丁嘉安,高文,易祥华,王律,李化  
(上海市肺科医院胸外科,上海 200433)

**[摘要]** 目的 探讨 p15 基因在人非小细胞肺癌中的表达及其转移和预后之间的关系。方法 应用免疫组化法对 138 例人非小细胞肺癌中 p15 基因表达进行研究,同时以 23 例正常肺组织作对照。结果 肺癌 p15 表达水平(65.66%)明显低于正常肺组织(89.43%)( $P < 0.05$ )。p15 表达水平降低的程度与肺癌的转移有密切关系( $P < 0.05$ ),而与肺癌的原发肿瘤大小(T)、肿瘤部位,患者年龄及吸烟与否均无明显关系( $P > 0.05$ )。p15 高表达组( $> 65\%$ )术后 5 年生存率明显高于低表达组( $\leq 65\%$ )( $P < 0.05$ )。Cox 比例风险模型的多因素分析表明 p15、淋巴结转移状态, TNM 分期是独立的判断预后的指标。结论 MTS2/p15 基因可能参与人体非小细胞肺癌的发生、发展和转移过程,它也是一个较有价值的预后判断指标。

**[关键词]** 肺肿瘤; p15 基因; 转移; 预后

**[中图分类号]** R734.2; R730.43 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-8664(2002)05-0019-03

**Expression of MTS2/p15 gene product and its clinical significance in primary non-small cell lung cancer**

CHEN Xiao-feng, DING Jia-an, GAO Wen, et al.

Department of Thoracic Surgery, Shanghai Pneumology Hospital, Shanghai 200433, China

**[Abstract]** **Objective** To explore the relationship between the expression level of MTS2/p15 gene and the metastasis and prognosis of human primary non-small cell lung cancer (NSCLC). **Methods** We studied the level of expression of the p15 gene in 138 human NSCLC tissues using immunohistochemistry, with 23 specimens of normal lung tissues as control. **Results** The level of p15 gene expression (65.66%) in lung cancer tissues was significantly lower than that in normal lung tissue (89.43%) ( $P < 0.05$ ). The level of its decrease was closely related to metastasis of lung cancer, but not to the size, location, age and history of smoking ( $P > 0.05$ ). The 5-year survival rate of the patients with high expression of p15 ( $> 65\%$ ) was significantly higher than those with low expression ( $\leq 65\%$ ). With Cox's multivariate analysis, we found that MTS2/p15 expression, lymph node metastasis and TNM stages had independent value in judging the prognosis of patients. **Conclusion** MTS2/p15 gene may be involved in the oncogenesis, development and metastasis of human non-small cell lung cancer, which is useful indicator in predicting the prognosis of NSCLC.

**[Key words]** lung neoplasms; MTS2/p15 gene; metastasis; prognosis

p15 基因位于 9 p21, 与 p16 基因毗邻<sup>[1]</sup>, 有关 p16 基因的研究较多而 p15 是 9 p21 上的重要基因, 与 p16 同源性达 82%, 对其研究较少报道, 本研究应用免疫组织化学法研究了 p15 基因产物的表达及其存在的状态, 以及与肺癌的转移和预后之间的关系, 现将结果报告如下:

## 材料与与方法

一、标本: 随机收集 1995~1996 年本院胸外科手术切除的非小细胞肺癌标本 138 例, 所有患者术前均未接受过化疗和放疗, 其中鳞癌 57 例, 腺癌 55 例, 腺鳞混合癌 26 例。取同期切除的肺良性病变标本 23 例。术前常规胸、头颅 CT、全身骨扫描、B 超或腹部 CT 检查, 除外远处转移。手术中所有患者均打开纵隔胸膜清扫上、下纵隔及肺门淋巴结, 所有淋巴结均按组分装、标本用福尔马林固定, 石蜡包埋, 制成 5 $\mu$ m 厚切片, 经 HE 染色观察, 病理学分级和 TNM 分期按 1997 年最新国际抗癌联盟标准, I 期 26 例, II 期 32 例, III 期 80 例。

二、方法与试剂: 采用免疫组织化学法 (LSAB 法), 免疫组化试剂盒为 DAKO 公司原装产品, 抗 p15 蛋白多克隆抗体为 Santa Cruz Biotech 公司原装产品。病理切片先经微波炉处理, 具体方法按说明书进行。每批染色设立阴性空白对照 (以 PBS 代替一抗), 同时用已知阳性表达的肺癌组织切片作阳性对照。p15 蛋白表达位于细胞核或细胞核和细胞浆呈清晰棕黄色颗粒染色为阳性, 在 400 倍光镜下找 5~10 个视野, 每个视野数 100~200 个细胞共计 1000 个癌细胞, 再计算出每张切片上 p15 蛋白表达的阳性染色的百分数。

三、统计学处理: 所有病例生存以手术之日算起。随访到 2001 年 1 月。按寿命表计算 1~5 年累积生存率, 用 Kaplan-Meier 生存曲线表示。实验数据及随访资料采用 t 检验、F 检验、对数秩和检验及 Cox 比例风险模型分析。

## 结果

一、p15 基因的表达在肺癌中、肺癌旁组织中和正常肺组织中有明显差异 肺癌组织 p15 表达阳性率为 65.66%, 癌旁组织为 68.39%, 正常肺组织为 89.43%。三组之间比较有显著性差异 ( $P < 0.05$ ); 两两比较发现, 肺癌组和癌旁组与正常肺组织之间有显著差异 ( $P < 0.05$ ), 肺癌组与癌旁组之间无显著性差异

收稿日期: 2001-07-23

作者简介: 陈晓峰 (1964-), 男, 河北人, 硕士, 副主任医师, 从事胸外科专业。

( $P > 0.05$ )。

二、p15 基因表达与肺癌临床及病理之间的关系  
p15 基因的表达与患者的性别、年龄、吸烟与否无明显关系( $P > 0.05$ )。在肺癌原发病灶大小之间,在中央型与周围型肺癌之间比较 p15 表达水平均无显著差异( $p > 0.05$ )。在肺癌原发灶与肺癌转移之间,在肺癌的组织学类型之间,TNM 分期之间,有无淋巴结转移以及肺癌细胞分级之间 p15 基因的表达见表 1。

表 1 138 例肺癌 p15 的表达水平与临床病理关系

项 目	例数	MTS2 表达水平		P 值
		均数(%)	标准(%)	
肿瘤大小				
T <sub>1</sub>	3	77.24	3.20	0.317
T <sub>2</sub>	68	63.88	5.39	
T <sub>3</sub>	67	66.23	5.67	
TNM 分期				
I + II	58	71.72	5.57	0.002
III	80	60.59	5.10	
年龄				
≤50 岁	27	68.33	4.18	0.364
50~60 岁	49	66.38	5.14	
≥60 岁	62	63.54	5.75	
淋巴结转移				
N <sub>0</sub>	39	70.30	6.49	0.010
N <sub>1-2</sub>	99	63.05	3.53	
细胞分化程度				
G <sub>1-2</sub>	98	71.10	2.88	0.002
G <sub>3</sub>	40	52.14	5.91	
组织学类型				
腺鳞混合癌	26	56.78	7.96	0.035
腺癌	55	67.21	4.44	
鳞癌	57	68.28	4.17	
原发灶与转移灶				
原发灶	138	65.66	3.17	0.001
转移灶	99	39.76	12.79	
不同肺组织				
肺癌组织	138	65.66	4.65	0.001
癌旁组织	138	68.39	8.59	
正常肺组织	23	89.43	2.80	

表 2 10 个临床病理指标对肺癌术后预后影响的 Cos 比例风险模型

变 量	风险比	95% 的可信区间	P 值
p15 基因表达(高、低)	0.597	0.196 0.997	0.004
淋巴结状态(有、无)	0.458	0.021 0.894	0.040
TNM 分期	0.137	0.178 0.731	0.047
肿瘤大小(T)	-0.012	-0.027 0.003	0.118
肿瘤部位(中央型、周围型)	-0.110	-0.476 0.025	0.556
患者年龄	0.058	-0.162 0.279	0.519
吸烟	-0.087	-0.523 0.347	0.693
肿瘤分化	-0.010	-0.225 0.245	0.932
性别	0.373	-0.323 0.398	0.119

三、p15 基因在肺癌术后预后中的作用 本研究将 p15 基因表达水平分为高表达组(阳性率  $> 65\%$ )和低表达组(阳性率  $\leq 65\%$ )，高表达组术后 5 年生存率为 58.12%；而低表达组 5 年生存率为 18.73%，两组 5 年生存率之间比较有显著性差异( $P < 0.05$ )，Ka-

plan-Meier 生存曲线见图。

四、Cox 比例风险模型分析 本研究应用 Cox 比例风险模型对 p15 的表达情况、TNM 分期、淋巴结有无转移、原发肿瘤大小(T)、患者年龄、肺癌细胞分化级别、吸烟与否、患者性别、肿瘤部位、9 个临床病理指标做多因素分析,以决定每个因素单独对预后的影响结果如表 2。从表 2 中可知 p15、淋巴结状态及 TNM 分期是独立的与预后相关的因素。

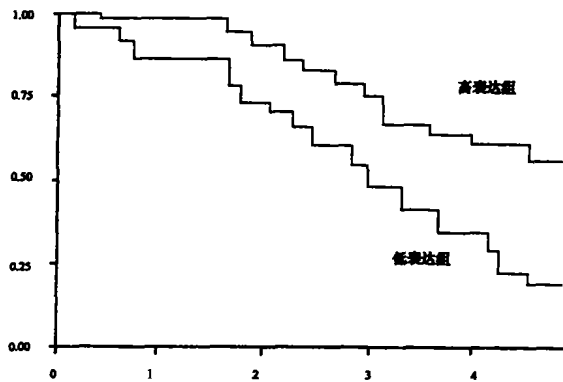


图 1 p15 高表达组和低表达组非小细胞肺癌病人的 5 年生存(Kaplan-Meier)曲线

讨 论

Beach 研究小组在 1994 年发现了一个编码 137 个氨基酸(分子量 14.7KD)的 p16 同类物,定名为 p15INK4B(inhibit of CDK4B)<sup>[1]</sup>。p16 是公认的多种肿瘤抑制基因,在许多肿瘤与细胞株中高频率纯合缺失。这种缺失消除了附近的第二个基因,它就是 p15 基因。在肿瘤细胞株中,除了 p16 的纯合子缺失,大约 80% 有 p15 的失活<sup>[1]</sup>。从而提示 p15、p16 基因可能均为人体多种肿瘤发生相关的抑癌基因。Nakagawa 等<sup>[2]</sup>通过 PCR-SSCP 来研究非小细胞肺癌标本。结果伴有 p16 基因缺失的 20 例肿瘤细胞系中有 p15 纯合性缺失的有 17 例(85%),但未发现有 p15 基因的突变。Okamoto 等<sup>[3]</sup>研究了 40 例原发性肺癌和 31 例转移的肺癌中 p16、p15、p18 的基因状态。发现有转移的非小细胞肺癌 6/22(2 例插入和 4 例纯合性缺失)发生 p16 基因的改变,表明 p16 基因的突变在非小细胞肺癌的发生过程中是一个迟发事件。在 25 例原发性非小细胞肺癌中有 3 例发生 p15 基因突变(12%)。在 22 例非小细胞肺癌中有 5 例发生纯合性缺失(23%),而在原发性和转移性小细胞肺癌中并没有发现有 p15 基因的改变。p18 基因在 71 例肺癌中均被探测为野生型,只有 1 例转移的非小细胞肺癌中显示有杂合性缺失。他们认为 p16 和 p15 基因的突变与非小细胞肺癌的进展密切相关,而与小细胞肺癌无关,而 p15 基因的突变可能是非小细胞肺癌的发生过程中的早期事件。Rusin 等<sup>[4]</sup>的研究却未发现肺癌标本中有 p15 基

因的改变。而最近 Dano 等<sup>[4]</sup>的报告示肺癌标本中有 30~80% 发生 p16, p15, FHIT 基因的缺失。

本研究对人非小细胞肺癌和良性肺组织中 p15 基因表达的检测发现, 肺癌组织 p15 基因表达阳性率 65.66%, 癌旁组织为 68.39%, 正常肺组织为 89.43%。三组之间比较有显著差异 ( $P < 0.05$ ), 两两比较, 肺癌组和癌旁组与正常肺组织之间有显著差异 ( $P < 0.05$ ), 癌组织与癌旁组织之间无显著差异 ( $P > 0.05$ )。p15 的表达与患者的性别、年龄、吸烟与否无明显关系 ( $P > 0.05$ )。在肺癌原发灶大小之间, 在中央型与周围型肺癌之间比较 p15 基因表达水平均无显著差异 ( $P > 0.05$ )。在肺癌原发灶表达率为 65.66%; 明显高于转移灶(淋巴结)的表达 39.76% ( $P < 0.05$ )。无淋巴结转移的肺癌表达率为 70.30%, 明显高于有淋巴结转移的肺癌组织表达率 63.05% ( $P < 0.05$ )。G<sub>1-2</sub>级肺癌组织表达率 71.10%, 明显高于 G<sub>3</sub> 级肺癌组织表达率 52.14% ( $P < 0.05$ )。同时也发现腺鳞混合癌组织的表达率明显低于腺癌和鳞癌组织的表达率 ( $P < 0.05$ )。并且随着 TNM 分期越晚, 肺癌组织的 p15 基因表达率越低 ( $P < 0.05$ )。提示 p15 基因表达的阳性率越高, 其肺癌组织的转移趋势越低, 其恶性程度越低, 同时也证实 p15 确实为一种抑癌基因而起作用。我们的研究结果也显示, 肺癌组织中 p15 的表达高与低直接关系到患者的预后, 高表达组 5 年生存率为 58.73%; 而低表达组 5 年生存率为 18.73%, 两组 5 年生存率之间比较有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。应用

Cox 比例风险模型对 p15 的表达情况, TNM 分期, 淋巴结有无转移, 原发肿瘤大小(T), 患者年龄, 肺癌细胞分化级别, 吸烟与否, 患者性别, 肿瘤部位 9 个临床病理指标做多因素分析, 以决定每个因素单独对预后的影响, 结果示 p15、淋巴结状态、TNM 分期是三个独立的与预后相关的因素。我们的研究提示 p15 基因可能参与调控人非小细胞肺癌的分化, 癌细胞的浸润及转移过程, p15 基因表达水平降低, 与人肺癌的发生、发展和转移密切相关。但 p15 在肺癌发生和发展中的确切功能和机理有待于深入探讨和研究。

#### 参 考 文 献

- [1] Stone S, Dayanath P, Jiang P, et al. Genomic structure, expression and mutational analysis of the p15(MTS2) gene [J]. *Oncogene*, 1995, 11(5): 987-991.
- [2] Nnakagawa K, Conrod NK, Williams JP, et al. Mechanism of inactivation of CDKN2 and MTS2 in non-small cell lung cancer and association with advanced stage [J]. *Oncogene*, 1995, 11(9): 1843-1851.
- [3] Okamoto A, Hussain SP, Hagiwara K, et al. Mutation in the p16INK4/MTS1/CKDN2, p15INK4B/MTS2, and p18 gene in primary and metastatic lung cancer [J]. *Cancer Res*, 1995, 55(7): 1448-1451.
- [4] Rusin MR, Okamoto A, Chorazy M, et al. Intragenic mutations of the p16(INK4), p15(INK4B) and p18 genes in primary non-small-cell lung cancers [J]. *Int J Cancer*, 1996, 65(6): 734-739.
- [5] Dano L, Guilly MN, Muleris M, et al. CGH analysis of radon-induced rat lung tumors indicates similarities with human lung cancers [J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2000, 29(1): 1-8.

## 骨水泥在老年病理性股骨粗隆间骨折 15 例应用

邵伟忠, 顾理中

(江苏省常熟市第六人民医院 骨科, 215500)

[中图分类号] R738.1; R730.59 [文献标识码] B [文章编号] 1005-8664(2002)05-0021-01

自 1995 年~2001 年 10 月, 采用内固定加骨水泥充填治疗老年粗隆间病理骨折, 经 15 例临床观察, 效果满意, 现报告如下:

**一般资料** 本组 15 例, 男 3 例, 女 12 例, 年龄最小 55 岁, 最大 84 岁, 骨折类型按 EVANS 标准: I 型 6 例, II 型 5 例, III 型 4 例。原发骨囊肿 3 例, 转移性骨肿瘤 12 例。

**治疗方法** 本组病例均在骨折后 7~10 天手术, 术前均行胫骨结节骨牵引。硬膜外麻醉下取仰卧位, 在骨科下肢牵引床上牵引, 外展内旋复位, "C" 臂电视证实正侧位复位良好后, 于粗隆下 2~2.5cm 钻  $\Phi 6.0$ mm 骨孔, 刮除肿瘤组织, 注意不能刮破对侧的皮质骨, 视骨折类型置入股骨颈加压螺钉或短孔加压滑槽鹅头钉, 于小粗隆水平股骨前外侧钻两骨孔, 直径分别为

3.2mm 和 6mm, 于 3.2mm 孔插入导气管, 于 6mm 孔用自制骨水泥加压泵注入骨水泥。术毕患肢皮肤牵引一周。

**结果** 本组病例随访 6 个月~1 年, 3 例骨囊肿患者愈合良好, 其余患者生存质量明显提高, 有 3 例 1 年内死于原发肿瘤。

**讨论** 一、老年股骨粗隆间骨折病人, 年老体弱, 既不能接受创伤大的手术, 又不宜长期卧床, 内固定选择也非常有限, 达不到坚强固定。本手术可使内固定牢靠, 患者可早期床头活动, 一般 3 个月可拄拐行走, 可减少褥疮, 肺炎等危及生命的并发症, 提高生存等。二、利用骨水泥充填骨肿瘤清除后留下的空腔, 加强了内固定, 同时由于骨水泥局部产热作用, 可杀伤大量肿瘤细胞, 减少再发及减轻患者疼痛, 提高生存质量。三、骨水泥充填骨髓腔病灶空腔能结合内固定物, 加强固定强度, 可早期功能锻炼, 提高体质, 利于活动, 为进一步明确原发病灶及治疗创造机会。

收稿日期: 2001-12-30

作者简介: 邵伟忠(1966-), 男, 江苏常熟人, 主治医师, 从事骨伤科专业。