

## · 论著 ·

## 早期肺癌组织中 P16、P21、P53 的表达

高文 张容轩 陈昶 丁嘉安

**【摘要】** 目的 探讨早期肺癌组织中 P21、P53、P16 蛋白表达及其相互关系。方法 57 例肺癌患者,男 49 例,女 8 例;年龄 33~83 岁,平均 60.7 岁。腺癌 13 例,鳞癌 43 例,腺鳞混合癌 1 例。采用免疫组织化学 S-P 法检测所有患者标本的基因表达,应用 SPSS 进行相关性分析(Pearson's correlation)和多因素分析(COX regression)。结果 P16、P21、P53 在病理分期 T2 期(肿瘤直径 $\geq 3$  cm)患者中的阳性表达率分别是 23.1%、43.1%、68.6%,三者之间无相关性。COX 回归分析表明 P16、P53 及肿瘤的病理分期是影响预后的重要指标。结论 P16 蛋白缺失、P53 蛋白阳性对早期肺癌的影响明显,且不具有明显的相关性,可作为判断预后的独立因素。

**【关键词】** 肺癌;癌基因;P16;P21;P53

**P16, P21 and P53 protein expressions in early-stage non small cell lung cancers** GAO Wen, ZHANG Rongxuan, CHEN Chang, et al. Department of Thoracic Surgery, Shanghai Pulmonology Hospital, Shanghai 200433, China

**【Abstract】** **Objective** To appraise the significance of P21, P53 and P16 protein expressions in stage-I NSCLC. **Methods** There were 49 males and 8 females in this group, age ranged 33-83 years(average 60.7 years). Pathologically, 13 cases were adenocarcinoma, 43 squamous cancer, and one of mixed type. 57 NSCLC tissue specimens were collected to detect the P21, P53 and P16 protein expressions. SPSS software was used for Pearson's correlation and COX regression analysis. **Results** P16, P21, P53 expressions in the specimens of T2 (tumor diameter  $\geq 3$  cm) cases were 23.1%, 43.1%, 68.6%, respectively with no obvious correlations. Multi-factor analysis with COX regression suggested that P16, P53 expressions and pathological staging (I a and I b) were the most important prognostic factors. **Conclusions** P16 and P53 expressions are independent prognostic factors for early stage NSCLC. (Shanghai Med J, 2004, 27:244-245)

**【Key words】** Lung cancer; Oncogene; P16; P21; P53.

根据新的肺癌 TNM 分期方法,将早期肺癌进一步分为 Ia (T<sub>1</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub>)、Ib (T<sub>2</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub>)两个亚分期。目前已有研究证实,P16、P21 及 P53 的蛋白表达与肺癌的恶性程度有关。本研究采用免疫组织化学方法对 57 例 I 期人肺癌组织中癌基因 p21 和抑癌基因 p53、p16 的蛋白表达进行同步检测,探讨早期肺癌中各组基因表达的相互关系及其预后。

### 材料与方 法

#### 一、研究对象

取材于我院 1991~1992 年 57 例肺癌患者在手术中切除的肺癌组织标本,男 49 例,女 8 例;年龄 33~83 岁,平均 60.7 岁。组织病理学类型:腺

癌 13 例,鳞癌 43 例,腺鳞混合癌 1 例。TNM 分期:Ia 期 6 例、Ib 期 51 例,均为早期肺癌。所有标本经常规 10% 中性甲醛固定、石蜡包埋,每例蜡块作 4  $\mu$ m 连续切片,其中 1 张经苏木精-伊红(HE)染色后用于病理诊断及免疫组织化学对照,其余用于基因的蛋白表达检测。

#### 二、材料

鼠抗人 P53、P21 单克隆抗体及兔抗人 P16 多克隆抗体为美国 Maxim 公司产品。S-P 试剂盒为美国 Zymed 公司产品。

#### 三、实验方法

采用免疫组织化学 S-P 染色法。抗体浓度均设为 1:50,在加第一抗体前用微波处理以充分暴露抗原。分别设定阳性及阴性对照。于显微镜下观察切片的着色范围及强度,不着色者为阴性,着色区呈棕黄色为阳性反应,阳性着色范围 $< 30\%$ 为

+, 30%~70% 为 ++, >70% 为 +++。

#### 四、统计学处理

应用 SPSS 统计软件进行计数资料相关性分析 (Pearson's correlation) 和多因素分析 (COX regression)。

### 结 果

#### 一、肺癌组织中 P16、P21、P53 表达与临床病理特征的关系

P16、P21、P53 在 T<sub>2</sub> 期患者中的阳性表达率分别为 21.6%、43.1% 和 68.6%，见表 1。P16、P21 阳性率与病理细胞类型均无相关性 ( $r$  分别 = 0.045 和 -0.061,  $P$  值分别 = 0.752 和 0.669)。P53 阳性表达率与病理细胞类型呈正相关 ( $r = 0.401, P = 0.004$ )。

表 1 P16、P21、P53 表达与临床病理特征(例)

项目	P16		P21		P53	
	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)
男性	4	4	4	4	6	2
女性	28	21	31	18	25	24
肿瘤 < 3 cm (T <sub>1</sub> )	4	2	6	0	3	3
肿瘤 ≥ 3 cm (T <sub>2</sub> )	40	11	29	22	16	35
鳞癌	24	19	28	15	20	23
腺癌	8	5	7	6	11	2
腺鳞癌	0	1	0	1	0	1

#### 二、蛋白表达相关性分析

所检测的 P16 与 P21 无关 ( $r = 0.152, P = 0.258$ )、P16 与 P53 无关 ( $r = 0.069, P = 0.608$ )、P21 与 P53 无关 ( $r = 0.098, P = 0.469$ )。

#### 三、蛋白表达与预后的多因素分析

采用 COX 回归分析 3 种蛋白的表达以及患者的性别、年龄、类型及肿瘤分期对预后的意义。结果表明, P16、P53 及肿瘤的病理分期是影响预后的重要因素。见表 2。

### 讨 论

p16 基因是一种抑癌基因, 具有调节细胞周期的作用, 其发生突变或缺失时, 可导致细胞发生癌变<sup>[1]</sup>。p21 基因亦称为 CIP1 基因、WAF1 基因或 SDI1 基因, 其导入肿瘤细胞可抑制肿瘤细胞的增

表 2 多因素 COX 回归结果

因素	系数	P 值
病理分期 (T <sub>1</sub> ~T <sub>2</sub> )	0.757 1	0.043 2
P16 表达	-0.464 7	0.048 9
P53 表达	0.497 4	0.046 9
P21 表达	0.005 4	0.941 5
性别	0.308 5	0.578 6
年龄	0.017 0	0.896 2
病理类型	0.000 0	0.994 4

殖。p21 基因的表达产物 P21 蛋白为细胞周期蛋白与细胞周期蛋白依赖激酶复合物的广泛抑制剂, 能抑制细胞的无限增殖<sup>[2,3]</sup>。研究证实, 食道癌、结肠癌、卵巢癌等都存在 p21 基因的缺失<sup>[4]</sup>。通常认为 p53 是抑癌基因, 当其发生突变时, 突变型 p53 即为癌基因<sup>[5]</sup>。

本组研究结果显示, T<sub>2</sub> 期患者 P21 和 P53 的阳性表达率分别为 43.1% 和 68.6%; 而 P16 阳性率仅为 21.6%, 表明在早期肺癌中, 上述基因的表达与预后有一定关系。

本研究结果表明, 在上述多种因素中, P16 蛋白缺失、P53 蛋白阳性对早期肺癌有明显影响, 且不具有明显的相关性, 可作为判断预后的独立因素, 提示与肿瘤发展有关。P16 蛋白缺失可能对肺癌淋巴结转移有显著影响, 是影响肺癌患者预后的原因之一。与肿瘤的病理分期相比, P16 和 P53 的意义更显著。早期肺癌的预后受到多因素的综合影响, 目前难以仅凭 P16、P21、P53 等作出判断, 尚有待于寻找更为精确的分子指标。

#### 参 考 文 献

- Marx J. How cells cycle toward cancer. *Science*, 1994, 263:319-321.
- El-Deiry WS, Tokino T, Velculescu VE, et al. WAF1, a potential mediator of p53 tumor suppression. *Cell*, 1993, 75:817-825.
- Xiong Y, Zhang H, Beach D, et al. Subunit rearrangement of the cyclin-dependent kinases is associated with cellular transformation. *Genes Dev*, 1993, 7:1572-1583.
- Shiohara M, El-Deiry WS, Wada M, et al. Absence of WAF1 mutations in a variety of human malignancies. *Blood*, 1994, 84:3781-3784.
- Isaacs WB, Carter BS, Ewing CM. Wild-type p53 suppresses growth of human prostate cancer cells containing mutant p53 alleles. *Cancer Res*, 1991, 51:4716-4720.

(收稿日期:2002-02-04)

(本文编辑:陈蔚)