

肺癌组织中 p63 和 Survivin 蛋白的表达及其意义

张惠忠¹, 李海刚², 张 华¹, 熊利华¹, 陈 炬¹, 吴东霞²

(中山大学附属第二医院 1. 心胸外科, 2. 病理科, 广东 广州 510120)

摘要:【目的】研究 p63 和 survivin 两种蛋白在肺癌组织中的表达及其临床意义。【方法】通过免疫组织化学染色检测 77 例肺癌组织和 10 例非肿瘤性肺组织中 p63 和 survivin 两种蛋白的表达及其与肺癌的组织类型、分化程度、复发转移和预后的关系。【结果】①10 例非肿瘤性肺组织中, 仅在支气管的假复层柱状上皮中见到 p63 的表达, 未见 survivin 表达。②肺癌组织中 p63 的阳性细胞百分数为(51.7±32.7)%; 其在无淋巴结转移组的阳性细胞百分数明显较淋巴结转移组低($P=0.010$); p63 的阳性细胞百分数与肿瘤大小、组织类型、分化程度、临床分期、复发和预后均无关($P>0.05$)。③肺癌组织中 survivin 的阳性表达率为 53.2%; 其在复发组和淋巴结转移组的阳性表达率均明显高于无复发组和无淋巴结转移组($P=0.025$ 和 0.015); survivin(++~+++)组的生存期明显较(-~+)组短。【结论】p63 和 survivin 均与肺癌的发生发展有关, survivin 尤其与肺癌的复发、淋巴结转移有着密切关系, 它的高表达提示肿瘤患者预后不良。

关键词: 肺肿瘤; 免疫组织化学; p63 蛋白; survivin 蛋白

中图分类号: R734.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-257X(2003)01-0068-03

Expression and Significance of p63 and Survivin Protein in Lung Carcinoma

ZHANG Hui-zhong¹, LI Hai-gang², ZHANG-Hua¹, XIONG Li-hua¹, CHEN-Ju¹, WU Dong-xia²

(1. Division of Cardiothoracic Surgery, 2. Department of Pathology, The Second Affiliated Hospital,

SUN Yat-sen University, Guangzhou 510120, China)

Abstract: 【Objective】To investigate the expression and significance of p63 and survivin protein in lung carcinoma. 【Methods】The expression of p63 and survivin protein was detected in 77 cases of lung carcinoma and 10 cases of non-tumor lung tissue with immunohistochemistry. 【Results】①Only p63 was found in the pseudostratified ciliated columnar epithelia of bronchi, and no survivin was found in all 10 cases of non-tumor lesions of lung. ②The percentage of p63 positive-stain cells of lung carcinomas was(51.7±32.7)%. The percentage of p63 in the non-metastasis group was significantly lower than that in the lymphoid node metastasis group ($P=0.010$). No relationship was found between the percentage and the tumor size, histological type, grade, clinical stage, recurrence, lymphoid node metastasis and prognosis ($P>0.05$). ③The expressive rate of survivin was 53.2%, close relationship was found between the expression of survivin and the recurrence, lymphoid node metastasis ($P=0.025$ and 0.015) and shorter survival time. 【Conclusion】There is close relationship between p63, survivin and lung carcinomas, especially between the expression of survivin and recurrence, lymphoid node metastasis and prognosis.

Key words: lung neoplasms; immunohistochemistry; protein p63; protein survivin

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2003, 24(1):68~70]

p63 基因是最近发现的 p53 基因的同源基因 (homologue), 它参与上皮组织的正常发生和分化,

并可促进肿瘤的生长^[1-4]。Survivin 蛋白是一种抑制肿瘤细胞凋亡的蛋白质, 可影响肿瘤患者的预

收稿日期: 2002-10-18

基金项目: 广东省中医药管理局科研基金资助项目(99537)

作者简介: 张惠忠(1963-), 男, 广东阳江人, 硕士, 副主任医师。

后^[5]。鉴于国内外罕见由 p63 基因编码的 p63 蛋白与 survivin 这两种蛋白在肺癌组织中表达的研究报道。因此,我们拟通过免疫组织化学方法,比较肺癌和肺部非肿瘤性病变组织中 p63 和 survivin 两种蛋白表达的差异,并探讨它们的表达与肺癌肿瘤大小、组织类型、分化程度、临床分期、淋巴结转移、复发和临床预后的关系。

1 材料与方 法

1.1 研究对象

选取我院胸外科 1994~1996 年行手术切除并经病理证实的肺癌 77 例,其中鳞癌 27 例,腺癌 47 例,腺鳞癌 3 例;男 61 例,女 16 例;年龄 27~77 岁(中位数 61 岁)。以上病例均有随访资料。另外选取同期非肿瘤性肺组织 10 例(8 例肺气肿,2 例炎性假瘤)作对照分析。

1.2 免疫组化检测

p63(4A4 + 63P02) 和 SP 试剂盒均购自福州迈新公司,survivin(多克隆抗体)为 Santa Cruz 公司产品。作 p63 和 survivin 染色的切片,分别先行微波和高温高压抗原修复,一抗的稀释度分别为 1:50 和 1:200,试剂盒为即用型。染色按 SP 法进行。以 PBS 代替一抗作阴性对照,以已知阳性的喉鳞癌组织切片作阳性对照。

1.3 结果判断

镜下观察肿瘤细胞核出现棕黄色颗粒为 p63 蛋白阳性表达,按阳性细胞百分数分组:高倍镜下取 5 个不同视野各计数 200 个细胞,计算阳性细胞所占的百分数;镜下观察肿瘤细胞胞浆出现棕黄色颗粒为 survivin 阳性表达,按染色深浅分组:阴性(-),无染色;弱阳性(+),浅染色;阳性(++),中度染色;强阳性(+++)强染色^[5]。病理科医生是在不了解病例临床预后情况下进行观察分组。

1.4 统计分析

p63 蛋白阳性与各参数间采用 *t* 检验方差分析法及 *q* 检验;survivin 采用秩和检验(Kruskal-Wallis 法和 Wilcoxon 法)和 Kaplan-Meier 法(生存分析);survivin 与 p63 两种蛋白的关系采用方差分析。以上统计分析均在计算机上由统计软件包 SPSS 8.0 进行。

2 结 果

2.1 p63 蛋白和 survivin 在非肿瘤性肺组织中的表达

非肿瘤性肺组织中,仅在支气管的假复层柱状上皮中见到 p63 蛋白的表达(图 1),未见 survivin 的表达。

2.2 p63 蛋白在肺癌组织中的表达

77 例肺癌组织中,p63 蛋白阳性细胞的百分数为(51.70 ± 32.70)% (其中有 2 例呈阴性),在高分化鳞癌组,阳性细胞分布于癌巢周围一圈(图 2),其他病例中则呈弥漫分布;在无淋巴结转移组,p63 蛋白阳性细胞百分数为(44.2 ± 32.2)%,而在淋巴结转移组则为(61.0 ± 30.8)%,两组比较统计学上有显著性差异($P = 0.010$);p63 蛋白的阳性细胞百分数与肿瘤的大小、组织类型、分化程度、临床分期、复发和生存期均无关。

2.3 Survivin 蛋白在肺癌组织中的表达

Survivin 蛋白在肺癌组织中的阳性表达率为 53.2%(41/77),其阳性细胞的分布无规律性(图 3);在复发组和淋巴结转移组,survivin 蛋白阳性表达率均明显高于无复发组和无淋巴结转移组($P = 0.025$ 和 0.015 ,表 1);survivin 蛋白(++~++)组的生存期明显较(-~+)组短(图 4);survivin 蛋白的表达与肿瘤的大小、组织类型、分化程度和临床分期无关。随 survivin 蛋白表达的增强,p63 蛋白的阳性细胞百分数呈上升趋势,但总体方差分析在统计学上无显著性差异($F = 1.928$, $P = 0.133$),只有以强阳性(+++)组与其他组分别作比较,才能表现出显著性差异(表 2)。

表 1 肺癌组织 survivin 蛋白表达与复发和淋巴结转移关系
Table 1 The relationship between the expression of survivin and recurrence and lymph node metastasis of lung carcinoma

| Groups ¹⁾ | <i>n</i> | Survivin | | | |
|----------------------|----------|----------|----|----|-----------------|
| | | - | + | ++ | +++ |
| R - | 48 | 27 | 13 | 6 | 2 |
| + | 29 | 9 | 6 | 12 | 2 ²⁾ |
| M - | 38 | 24 | 9 | 4 | 1 |
| + | 39 | 12 | 10 | 14 | 3 ³⁾ |

1) M: lymph node metastasis, R: recurrence; 2) $P = 0.025$, rank test(Wilcoxon); 3) $P = 0.015$, rank test(Wilcoxon)

3 讨 论

3.1 p63 蛋白对肺癌患者临床预后的影响

表2 肺癌组织中 p63 与 survivin 两种蛋白关系

Table 2 The relationship between the expression of survivin and p63 of lung carcinoma (%)

| Survivin | n | p63 positive-stain cells (%) |
|----------|----|------------------------------|
| - | 36 | 46.6 ± 33.6 ¹⁾ |
| + | 19 | 50.3 ± 32.9 ¹⁾ |
| ++ | 18 | 56.2 ± 31.1 ²⁾ |
| +++ | 4 | 85.0 ± 5.8 |
| F | | 1.928 |
| P | | 0.133 |

Note: *t* test, group "+++" vs groups "-", "+", "++", respectively: 1) *P* = 0.000, 2) *P* = 0.002

p63 蛋白常表达于许多上皮组织的基底层,它对各上皮和间叶组织(如肢体、头面部)的正常发生和分化以及形态学发生具有重要作用^[1,2]。研究认为,癌肿中 p63 的过度表达,抑制了野生型 p53 (wt p53)的活性,阻止 wt p53 诱导的细胞凋亡,促进肿瘤的生长和发展^[6]。Nylander 等^[3]对口腔癌肿和 Park 等^[4]对膀胱癌的研究已证实了该论点。在本研究的 77 例肺癌组织中,p63 阳性细胞百分数为(51.7 ± 32.7)%,显示肺癌组织中 p63 的表达很普遍。本研究将淋巴结转移组和无淋巴结转移组进行比较,发现在淋巴结转移组中,p63 阳性细胞的百分数明显比无淋巴结转移组高(*P* = 0.010),提示表达 p63 的肿瘤细胞具有较强的转移能力,肺癌组织中 p63 阳性细胞的百分数越高,发生淋巴结转移的机会越大,患者的临床预后越差。

3.2 Survivin 蛋白对肺癌患者临床预后的影响

Survivin 是用效应细胞蛋白酶受体-1 的 cDNA,在人类基因组库杂交筛选中首先分离出来的一种凋亡抑制蛋白(inhibitor of apoptosis proteins, IAP),是迄今为止发现的最强凋亡抑制因子^[7]。它表达于胚胎和发育的胎儿组织,而不见于终末分化的成人组织(胸腺、生殖腺除外)。它通过级联式激活并溶解蛋白质,主要抑制 Caspase-3 和 Caspase-7 的活性,阻断细胞的凋亡,从而使细胞获得永生性(immortality)。国外的研究显示,在大多数肿瘤组织内都发现 survivin 蛋白的表达,由此推断 survivin 蛋白可能含有相应的致癌基因,其参与肿瘤的发生发展,并与肿瘤的预后密切相关^[8]。在本研究的免疫组织化学检测中也发现,survivin 蛋白在非肿瘤性病变的肺组织中没有表达,而在肺的鳞癌

和腺癌组织中,则出现较高的阳性表达率,且这种表达与肿瘤的复发、淋巴结转移和患者的预后有密切关系,即 survivin 蛋白的表达越强,其对癌细胞凋亡抑制的能力也越强,癌细胞的生存能力也相应增强,由此导致肿瘤复发和淋巴结发生转移,使患者的术后生存期缩短。因此,survivin 蛋白的高表达提示肺癌患者的预后不良。

3.3 Survivin 蛋白与 p63 蛋白的关系

本研究还发现:随着 survivin 蛋白表达的增强,p63 蛋白阳性细胞百分数逐渐升高,且 survivin 蛋白呈强阳性表达组的 p63 蛋白阳性细胞百分数均明显高于其他组,但因强阳性组的病例数只有 4 例。因此,survivin 和 p63 两者蛋白和基因在肿瘤发展过程中的相互关系仍有待进一步研究。

(本文图 1~4 见插页 4. Fig. 1~4 shown in back coloured page 4)

参考文献:

- [1] Mills A A, Zheng B, Wang X J. p63 is a p53 homologue required for limb and epidermal morphogenesis[J]. Nature, 1999, 398(6729): 708.
- [2] Yang A, Schweitzer R, Sun D. p63 is essential for regenerative proliferation in limb, craniofacial and epithelial development[J]. Nature, 1999,398(6729): 714.
- [3] Nylander K, Coates P J, Hall P A. Characterization of the expression pattern of p63 alpha and delta Np63 alpha in benign and malignant oral epithelial lesions[J]. Int J Cancer, 2000,87(3):368.
- [4] Park B J, Lee S J, Kim J I. Frequent alteration of p63 expression in human primary bladder carcinoma[J]. Cancer Research, 2000,60(13): 3370.
- [5] Lu C D, Altieri D C, Tanigawa N. Expression of a novel antiapoptosis gene, survivin, correlated with tumor cell apoptosis and p53 accumulation in gastric carcinoma[J]. Cancer Research,1998,58(9): 1808.
- [6] Crook T, Nicholls J M, Brooks L. High level expression of deltaN-p63: a mechanism for the inactivation of p53 in undifferentiated nasopharyngeal carcinoma (NPC) [J]? Oncogene, 2000,19(30):3439.
- [7] 王卫东. 凋亡抑制因子 Survivin 的研究进展[J]. 国外医学肿瘤学分册,2001,28(4):250~251.
- [8] Bao R, Connolly D C, Murphy M, et al. Activation of Cancer-specific gene expression by the survivin promoter [J]. J Natl Cancer Inst, 2002,94(7):522.

(编辑 张敏瑞)

Expression and Significance of p63 and Survivin Protein in Lung Carcinoma (Text in page 68)

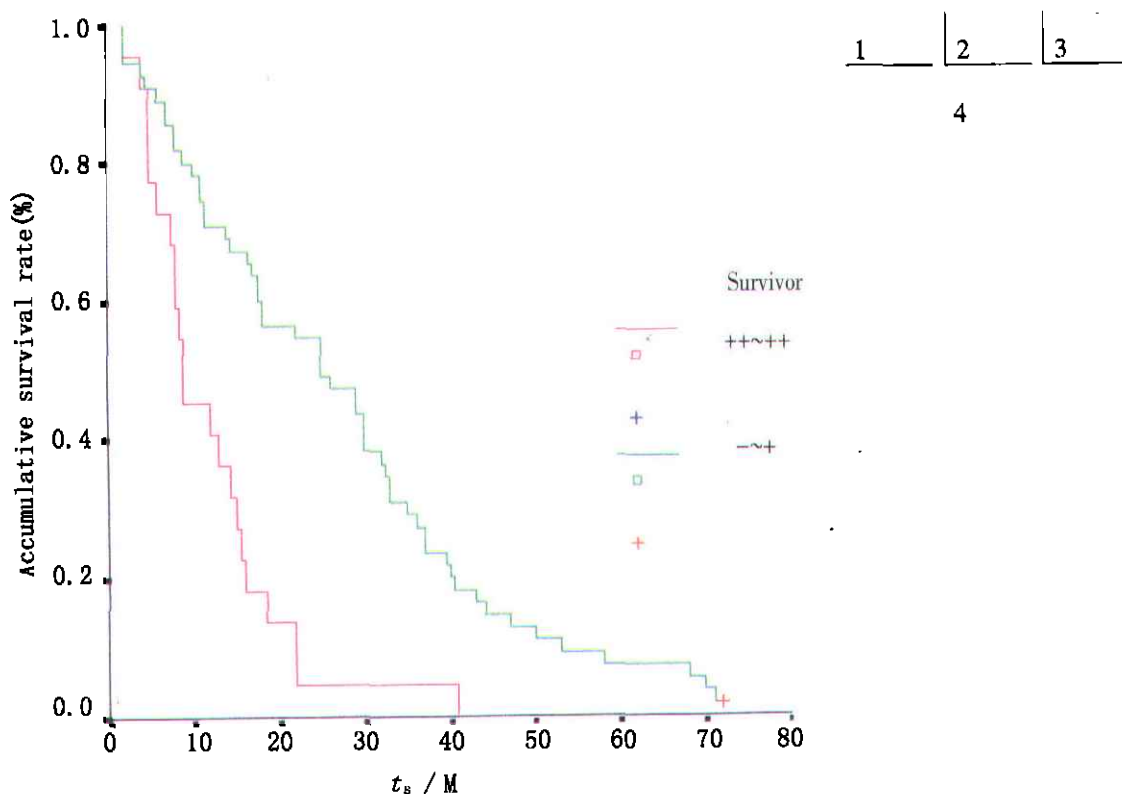
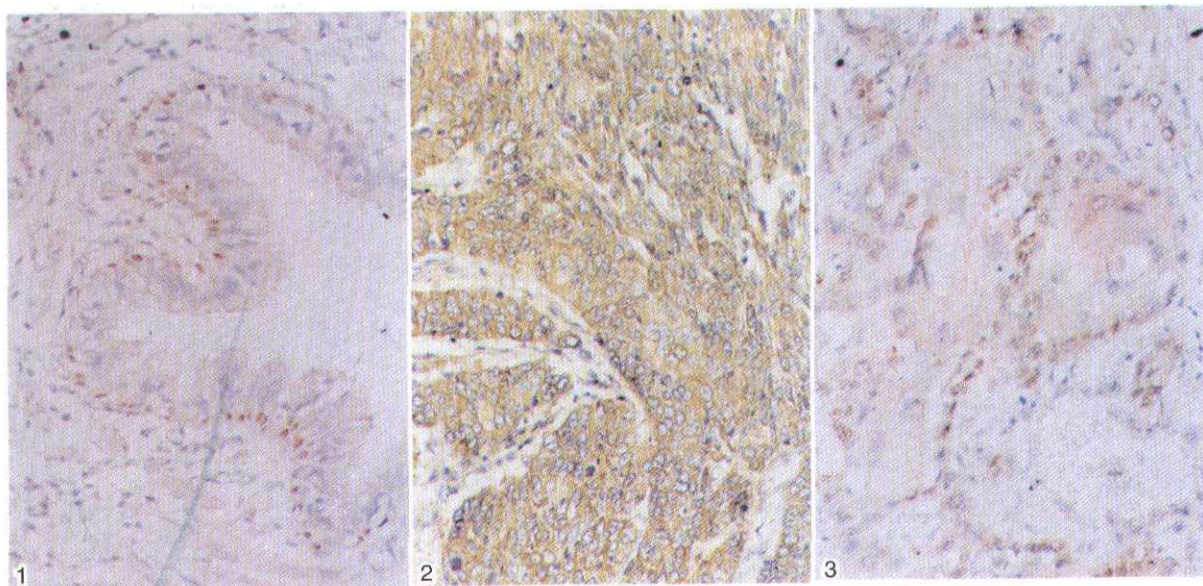


图 1 p63 蛋白仅表达于支气管的假复层柱状上皮中
 图 2 p63 蛋白表达于高分化肺鳞癌癌巢外面的癌细胞中
 图 3 Survivin 在中分化肺鳞癌细胞中的强阳性表达
 图 4 Survivin (+ + ~ + + +) 组与 (- ~ +) 组的生存分析
 Fig. 1 p63 protein expressed only at the base of the pseudostratified ciliated columnar epithelium of bronchiole (SP, × 200)
 Fig. 2 p63 protein expressed in the surrounding cells of well - differentiated squamous cell carcinoma of lung (SP, × 400)
 Fig. 3 Survivin protein expressed extensively in the cells of moderately differentiated squamous carcinoma of lung (SP, × 200)
 Fig. 4 Analysis of survival time and the expression in survivin protein in carcinoma of lung (Kaplan - Meier method)
 t: Survival time; M: month(s)