

# p53 蛋白及细胞增殖指数与子宫颈鳞状细胞癌的关系

罗淑桂, 李英勇

(广东医学院附属医院妇产科, 广东 湛江 524001)

**摘要:**【目的】研究子宫颈鳞癌细胞增殖指数 (PI) 以及突变 p53 蛋白表达与组织病理学的关系。【方法】采用流式细胞术和免疫组化方法对 44 例子宫颈鳞癌组织及 10 例正常子宫颈上皮组织进行了研究。【结果】各临床分期及不同组织学分级的子宫颈鳞癌组织细胞增殖指数及突变 p53 蛋白阳性表达率均显著高于正常子宫颈上皮组织 ( $P < 0.01$ ), 但在不同临床期别及不同组织学类型间无统计学差异 ( $P > 0.05$ )。【结论】子宫颈鳞状上皮癌组织的细胞增殖活性增加, 突变 p53 蛋白表达增高, 但与子宫颈鳞癌临床分期及恶性程度无关。

关键词: 子宫颈鳞状细胞癌; 增殖指数; p53 蛋白

中图分类号: R737.31

文献标识码: A

文章编号: 1672-3554(2004)05-0438-03

## Relationship Between p53 Protein and Cell Proliferative Index in Squamous Cell Carcinoma of Cervix

LUO Shu-gui, LI Ying-yong

(Department of Gynecology and Obstetrics, The Affiliated Hospital of Guangdong Medical College, Zhanjiang, 524001, China)

**Abstract:** 【Objective】To study the cell proliferative index (PI) and expression of mutant p53 protein in cervix carcinoma and their relations with histopathology. 【Methods】Forty-four cases squamous cell carcinoma of uterine cervix and 10 cases normal cervical epithelial tissue were studied using flow cytometry and immunohistochemistry method. 【Results】The cell proliferative index and positive expression ratio of mutant p53 protein in all different clinical stage and different histopathological grade were significantly higher than that of normal control ( $P < 0.01$ ). But there was no significantly different among different clinical stages or different histopathological grades ( $P > 0.05$ ). 【Conclusion】Comparing with normal tissue, the expression of mutant p53 protein and the cell proliferation activity are higher in squamous cell carcinoma of uterine cervix, but there was no correlation between the increased level and the clinical stage or the histopathological grade of squamous cell carcinoma of uterine cervix.

**Key words:** squamous cell carcinoma of cervix; proliferative index; p53 protein

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci) 2004, 25(5):438-440]

宫颈癌是妇科最常见的恶性肿瘤,近年来其发病率呈增加趋势,且患者年龄年轻化,其病因可能与人乳头瘤病毒(HPV)感染有关,而 HPV 感染可使 p53 蛋白等抑癌基因发生突变,细胞增殖异常,致癌变发生。p53 蛋白基因全长约 20 kb,定位于人类染色体 17 p13.1,与细胞周期的调控、DNA 修复、细胞分化、细胞凋亡等重要的生物学功能有

关<sup>[1,2]</sup>。突变型 p53 蛋白具有癌基因的作用,可促进细胞恶性转化<sup>[3]</sup>。因此,了解宫颈鳞癌组织中突变 p53 蛋白及细胞增殖功能变化对了解宫颈癌发生、变化规律有一定意义。本文对 44 例子宫颈鳞状细胞癌细胞周期 S + G<sub>2</sub>M 期细胞分布百分比和突变 p53 蛋白的表达进行了研究,以探讨其与组织病理学检查的关系。

收稿日期: 2004-01-08

基金项目: 广东省卫生厅科研基金资助项目(A2001513)

作者简介: 罗淑桂(1958-),女,广西合浦人,副主任医师。

# 1 资料与方法

## 1.1 资料

我院 2000 年 6 月至 2002 年 6 月收治子宫颈鳞状细胞癌 44 例, 患者平均年龄 46 岁, 全部行手术治疗, 手术切除标本常规病理切片, HE 染色, 光镜下观察, 按 FIGO 标准进行临床分期。

## 1.2 流式细胞术

把组织蜡块制成 50 μm 厚石蜡切片, 脱蜡水化, 用网搓法制备单细胞样品, 离心洗涤, 用溴化乙啶 (EB) 一步插入法进行 DNA 染色, 采用 FAC-CA-420 型流式细胞仪测定细胞周期。计算 S + G<sub>2</sub>M 期细胞分布百分比, 即细胞增殖指数 PI 值, 反映细胞增殖活性。10 例正常宫颈组织标本作为正常对照组。

## 1.3 免疫组织化学研究

制备 5 μm 厚切片, 脱蜡水化, 1 g/L 胰蛋白酶消化, 采用 ABC 法进行免疫组化染色, 正常羊血清封闭后依次滴加 p53 单克隆抗体 (华美生物工程公司, OPO9T, 工作浓度 1 : 100), 4 °C 过夜, 生物素化羊抗鼠 IgG 孵育 30 min。30 mL/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 5 min, ABC 复合物孵育 10 min, DAB 显色, 每步后用磷酸缓冲液 (PBS) 冲洗, 以 PBS 代替一抗作空白对照。所有试剂均为 Sigma 公司产品。正常宫颈组织标本作为对照。突变 p53 阳性表达以细胞核内出现清晰的棕褐色颗粒并与原核等大为阳性细胞。结果观察采用半定量积分法, 对每例切片阳性细胞着色强度及阳性细胞比例分别打分 0、1、2、3 分, 每例观察 5

张切片, 每张切片观察 1 000 个细胞, 阳性细胞数 < 5% 为 0 分, 6% ~ 25% 为 1 分, 26% ~ 70% 为 2 分, > 70% 为 3 分, 阳性细胞着色强度浅棕色为 1 分, 深棕色为 3 分, 介于二者之间为 2 分, 累计积分 0 分为阴性, 1 ~ 2 分为阳性 (+), 3 ~ 4 分为 (++) , 5 ~ 6 分为 (+++) , 阳性 (+) 为低表达, 阳性 (++) ~ (+++) 为高表达。结果采用 χ<sup>2</sup> 检验进行统计学分析。

# 2 结果

## 2.1 病理学观察

44 例子宫颈鳞状细胞癌中, 根据组织学分级 G<sub>1</sub> (高分化鳞癌) 12 例, G<sub>2</sub> (中分化鳞癌) 18 例, G<sub>3</sub> (低分化鳞癌) 14 例, 按国际妇产科联合会 (FIGO) 标准进行临床分期 0 期 (原位癌) 4 例, I<sub>b</sub> 期 4 例, II<sub>a</sub> 期 28 例, II<sub>b</sub> 期 8 例。

## 2.2 细胞周期分布

细胞增殖指数与组织病理学及临床分期的关系见表 1。子宫颈鳞癌 S 期和 G<sub>2</sub>M 期细胞数均分别较正常子宫颈组织增多, 其 S + G<sub>2</sub>M 期细胞分布百分比显著高于正常对照组 (3.6 ± 5.6, 15.6 ± 4.5, P < 0.01), 说明子宫颈鳞癌细胞增殖活性高于正常。但细胞增殖活性与宫颈癌的组织学分级及临床分期期间无显著性差异 (P > 0.05)。

## 2.3 p53 蛋白表达

突变 p53 蛋白表达与组织病理学分级及临床分期的关系见表 1。通过免疫组化检测, 对照组子宫颈组织 p53 表达均为阴性, 12 例子宫颈鳞癌组

表 1 细胞增殖指数、p53 蛋白表达与组织病理学及临床分期的关系

Table 1 Relationship between cell proliferative index, p53 protein expression and histopathology, clinical stage					
Groups	Cases	PI (%)	p53 positive	Positive ratio (%)	P
Histological grade					
G <sub>1</sub>	12	21.7 ± 4.7	3	25	
G <sub>2</sub>	18	22.5 ± 5.5	5	28	< 0.01
G <sub>3</sub>	14	26.7 ± 4.8	4	29	
Clinical stage					
0	4	22.6 ± 6.2	1	25	
I <sub>b</sub>	4	21.5 ± 5.7	1	25	
II <sub>a</sub>	28	20.7 ± 6.0	8	29	< 0.01
II <sub>b</sub>	8	23.4 ± 3.2	2	25	
Control	10	15.6 ± 4.5	0	0	

Every different histological grade and clinical stage compared with control group, P < 0.01. Among different histological grade, clinical stage compared with, P > 0.05 (χ<sup>2</sup> test)

织突变 p53 蛋白呈阳性表达, 阳性细胞核被着色, 阳性率为 27% ,与正常宫颈组织 p53 蛋白表达相比有显著差异 ( $P < 0.01$ )。突变 p53 蛋白表达在宫颈癌的不同组织学分级及临床分期期间无显著差异 ( $P > 0.05$ )。

### 3 讨 论

p53 基因是一种研究较深入的抑癌基因, 人体正常组织 p53 基因为野生型, 野生型 p53 基因可对细胞的增殖和分化起调控, 特别是在细胞周期中 G<sub>1</sub>/S 交界处起作用, 称为“分子关卡”。另外, 野生型 p53 基因的蛋白产物还是诱导细胞凋亡的重要因子, 突变型 p53 蛋白不仅丧失了上述功能, 还能与野生型 p53 蛋白结合, 使之失活。子宫颈癌是最常见的妇科恶性肿瘤, 研究有关的肿瘤标志物以探讨其与组织病理学及疾病预后的关系是研究的重点课题<sup>[4, 5]</sup>。已证实某些类型的人乳头状瘤病患 (HPV) 感染是子宫颈癌发生中的重要因素。已发现 HPV16、18 型与宫颈癌相关, 但单纯病毒感染并不足以引起宫颈癌, 已证实 HPV16 和 18 编码的病毒蛋白 E<sub>6</sub> 能与 p53 蛋白结合使之发生突变, 促进 p53 蛋白的降解和细胞增殖的失控<sup>[4]</sup>。有研究表明子宫颈癌发生可能与突变型 p53 蛋白失去了 p53 抑癌基因对细胞增殖周期的正常调控, DNA 损伤不能修复致癌变发生有关<sup>[6-8]</sup>。因 p53 蛋白基因突变后其表达产物的半衰期延长, 所以突变 p53 蛋白才能在癌细胞中得以积累, 易被免疫组化的方法检测到<sup>[9, 10]</sup>。在妇科恶性肿瘤中, 卵巢癌的 p53 阳性率最高达 50%, 宫颈癌的突变 p53 阳性率在 20% ~ 40% 的水平, 说明了抑癌基因调控的复杂性, 本研究的宫颈癌的突变 p53 阳性率为 27%, 与其它研究基本相同<sup>[5, 9, 10]</sup>。本文的研究表明突变 p53 蛋白表达及细胞增殖活性在子宫颈鳞癌组织与正常组织相比有显著差异 ( $P < 0.01$ ), 而与其它病理因素如病理组织学分级及临床分期无明显相关性 ( $P < 0.05$ ), 提示突变的 p53 蛋白表达虽然可能与子宫颈癌发生有关, 但与肿瘤的恶性程度, 病情进展关系不大。以往的研究结果和本研究结果一致, 这也可能与所研究的病例多集中较早期的病例有关<sup>[10]</sup>。癌细胞的恶性程度、浸润和转移等生物学行

为可能与其它因素的影响和控制有关。

参考文献:

- [1] Huh J J, Wolf J K, Fightmaster D L, *et al.* Transduction of adenovirus-mediated wild-type p53 after radiotherapy in human cervical cancer cells[J]. *Gynecol Oncol*, 2003, 89(2): 243-7.
- [2] 魏欣净, 王美清. 子宫颈不典型增生, 鳞癌 P21、p53 蛋白表达的临床意义 [J]. *中华病理学杂志*, 2000, 29(2): 126-8.
- [3] Khaled A, Imamura Y, Noriki S, *et al.* Early progression stage of malignancy of uterine cervical dysplasia as revealed by immunohistochemical demonstration of increased DNA-instability[J]. *Eur J Histochem*, 2000, 44(2): 143-9.
- [4] Chou R H, Huang H. Restoration of p53 tumor suppressor pathway in human cervical carcinoma cells by sodium arsenite[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, 293(1): 2981-4.
- [5] Graflund M, Sorbe B, Karlsson M. MIB-1, p53, bcl-2, and WAF-1 expression in pelvic lymph nodes and primary tumors in early stage cervical carcinomas: correlation with clinical outcome[J]. *Int J Oncol*, 2002, 20(5): 1041-5.
- [6] Costa S, Terzano P, Santini D, *et al.* Neoadjuvant chemotherapy in cervical carcinoma: regulators of cell cycle, apoptosis, and proliferation as determinants of response to therapy and disease outcome[J]. *Am J Clin Pathol*, 2001, 116(5): 729-33.
- [7] Clarke B, Chetty R. Cell cycle aberrations in the pathogenesis of squamous cell carcinoma of the uterine cervix [J]. *Gynecol Oncol*, 2001, 82(2): 238-41.
- [8] Quade B J, Yang A, Wang Y, *et al.* Cviko A. Expression of the p53 homologue p63 in early cervical neoplasia[J]. *Gynecol Oncol*, 2001, 80(1): 2-7.
- [9] Unger T, Nau M M, Segal S, *et al.* p53: a transdominant regulator of transcription whose function is ablated by mutations occurring in human cancer[J]. *EMBO J*, 1992, 11(3): 1383-8.
- [10] Schoell W M, Janicek M F, Mirhashemi R. Epidemiology and biology of cervical cancer[J]. *Semin Surg Oncol*, 1999, 16(3): 203-9.

(编辑 张恩健)