

p⁵³ 蛋白及 c-erbB-2 蛋白在胆囊癌中的表达^①

金晓凌^② 邓宗是

(中山医科大学孙逸仙纪念医院外科; 广州, 510120)

摘要 目的: 研究 p⁵³ 及 c-erbB-2 蛋白在胆囊良恶性病变中的表达及意义, 探讨它们在胆囊癌早期诊断和鉴别诊断中的潜在价值。**方法:** 采用免疫组化 S-P 法及微波抗原修复法检测 29 例胆囊癌及 21 例胆囊良性病变的 p⁵³ 蛋白的表达, 同时仅用 S-P 法检测 c-erbB-2 蛋白的表达。**结果:** p⁵³ 蛋白在胆囊癌中表达的阳性率为 51.7%, 而在良性病变中无表达 ($P < 0.05$); p⁵³ 蛋白的表达在早晚期胆囊癌中无显著性差异 ($P > 0.05$); 仅 3 例胆囊癌 c-erbB-2 阳性表达, 其中 1 例 p⁵³ 亦阳性。**结论:** p⁵³ 蛋白检测可做胆囊癌早期诊断及鉴别诊断的一个重要指标。

关键词 蛋白质 p⁵³/生物合成; 原癌基因蛋白质; c-erbB-2 类/生物合成; 免疫组织化学; 胆囊肿瘤/免疫学

中图分类号 R 657.4

p⁵³ and c-erbB-2 Protein Expression in Gallbladder Carcinoma

Jin Xiaoling Den Zongti

(Department of Surgery, Memorial Hospital, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou, 510120)

Abstract Objective: To study the expression and significance of p⁵³ and c-erbB-2 proteins in the gallbladder carcinomas and the benign lesions of gallbladder and to explore their potential value in early and differential diagnosis. **Methods:** the S-P immunohistochemistry method was adopted for p⁵³ and c-erbB-2 immunostaining, and antigen retrieval method by microwave only for p⁵³ immunostaining. p⁵³ and c-erbB-2 proteins expression in 29 gallbladder carcinomas and 21 cases of the benign lesions of gallbladder were detected. **Results:** 51.7% of gallbladder carcinomas was p⁵³ protein positive, but no expression of p⁵³ protein in benign lesions of gallbladder ($P < 0.05$); there was no significance in the prevalence of p⁵³ protein expression between the early gallbladder carcinomas and the advanced ones ($P > 0.05$); three cases of gallbladder carcinomas were c-erbB-2 positive (10.3%), only one of which was also p⁵³ positive. **Conclusions:** p⁵³ protein can serve as an important marker for the early and differential diagnosis of gallbladder carcinoma.

Subject headings protein p⁵³/biosynthesis; proto-oncogene proteins; c-erbB-2/biosynthesis; immunohistochemistry; gallbladder neoplasms/immunology

胆囊癌是胆道常见恶性肿瘤, 5 年生存率甚低约 2%~5%, 预后好坏的关键在于早期诊断。胆囊癌的早期缺少特异性临床表现, B 超是首选的检查方法, 但不易将其与良性病变如炎症、腺瘤、胆固醇性息肉等相鉴别。如能结合特异性强的肿瘤标志物进行定性诊断, 则可弥补 B 超的不足。有报道^[1] 用 PCR 技术从膀胱癌患者的尿液脱落细胞检测到

p⁵³ 基因突变, 从而对膀胱癌作出诊断, 另有报道^[2] 在某些乳腺癌, 卵巢癌患者血清中出现 c-erbB-2 蛋白, 将为这两种癌症提供一种简易、灵敏及特异的血清学诊断方法。本文旨在通过检测 p⁵³ 及 c-erbB-2 蛋白在胆囊良恶性病变中的表达情况, 探讨它们在胆囊癌鉴别诊断、早期诊断中的潜在价值及与病理分级、淋巴结转移的关系。

1 材料和方法

1.1 标本来源及处理

所有标本取自中山医科大学孙逸仙纪念医院1983~1996年手术切除病例,包括24例腺癌,1例腺瘤癌变,1例腺棘癌,1例鳞癌,2例粘液腺癌,6例慢性胆囊炎,1例腺肌瘤样增生,9例胆囊腺瘤,5例胆固醇息肉。所有标本均经 $\varphi=10\%$ 福尔马林固定,石蜡包埋,连续切片,片厚4 μm 。

1.2 试剂来源

鼠抗人p53单克隆抗体DO-7,兔抗人c-erbB-2多克隆抗体(美国Zymed公司出品)及S-P试剂盒(美国Maxim公司出品)均购自福州迈新生物技术开发公司,为即用型。

1.3 染色及结果判断

按S-P试剂盒说明操作,其中p53染色用微波抗原修复法处理^[3]。阴性对照以PBS取代一抗,结果判断采用半定量积分法,即对每张切片阳性细胞着色强度及阳性细胞比例分别评分,然后再根据两项评分之和判断其阳性等级:阴性,0分;弱阳性1~2分;阳性,3~4分;强阳性,5~6分。阳性细胞数以10个高倍镜平均数为准,阴性为0分, $\leq 30\%$ 为1分; $30\% \sim 70\%$ 为2分; $> 70\%$ 为3分。根据总分将表达分为4级:0分为-;1~3分为+;4~6分为++,7~9分为+++。

1.4 胆囊癌分期

采用美国癌症联合会标准^[4]。

1.5 统计分析

确切概率法,Kruskal-Wallis法。

2 结果

2.1 p53蛋白在胆囊良恶性病变中的表达

p53蛋白阳性反应位于癌细胞核,少数胞浆亦着色,阳性率为51.7%(15/29)。周围正常细胞未见阳性反应,良性病变均为阴性(表1),良恶性阳性率比较有显著性差异($P < 0.05$)。

2.2 p53蛋白表达与病理分级的关系

I(高分化),II(中分化),III(低分化)级均有不同程度表达(表2),其差异无显著意义。

2.3 p53蛋白表达与临床分期的关系

29例胆囊癌仅获取25例临床资料,I、II期为

早期,III、IV A、IV B为晚期。p53在早、晚期胆囊癌中的表达无显著性差异($P > 0.05$),见表3。

表1 p53蛋白在胆囊癌及胆囊良性病变中的表达

Table 1 Expression of p53 protein in the gallbladder carcinomas and the benign lesions of the gallbladder

Histology	n	Positive (%) ¹⁾
Gallbladder carcinoma	29	15(51.7)
Adenom with canceration	1	1(100.0)
Adenocarcinomas	24	11(45.8)
Myxoadenomas	2	1(50.0)
Squamous carcinoma	1	1(100.0)
Adenoacanthoma	1	1(100.0)
Benign lesions	21	0(0.0)
Adenomas	9	0(0.0)
Chronic cholecystitis	6	0(0.0)
Cholesteroi polyps	5	0(0.0)
Adenomyomatous hyperplasia	1	0(0.0)

1) $P < 0.05$

表2 各病理分级胆囊癌p53蛋白的表达

Table 2 Expression of p53 protein in the gallbladder carcinomas by tumor grade

Tumor grade	n	p53 protein				Positive (%) ¹⁾
		-	+	++	+++	
I	13	6	4	2	1	53.8
II	12	7	0	2	3	41.7
III	4	1	2	1	0	75.0

1) $P > 0.05$

表3 早晚期胆囊癌p53蛋白的表达

Table 3 Expression of p53 protein in the early and advanced gallbladder carcinomas

Stage	n	p53 protein				Positive rate (%) ¹⁾
		-	+	++	+++	
I、II	4	2	2	0	0	50.0
III、IV A、IV B	21	9	3	5	4	57.1

1) $P > 0.05$

2.4 p53蛋白表达与胆囊癌淋巴结转移的关系

25例胆囊癌中,p53阳性15例,有5例淋巴结转移,转移率为35.7%,p53阴性11例,有5例转移,转移率为45.5%。p53阳性与阴性两组淋巴结转移率比较差别无显著意义($P > 0.05$)。

2.5 c-erbB-2 蛋白在胆囊良恶性病变中的表达

29 例胆囊癌中仅 3 例 c-erbB-2 阳性,阳性率为 10.3%,阳性表现为癌细胞膜染成棕黄色,部分胞浆染成相对较浅的颜色,正常组织未染色,21 例良性疾病全部为阴性。3 例 c-erbB-2 阳性病例均为 IV B 期,且有淋巴结转移,其中 1 例 p53 亦阳性。

3 讨论

正常人体中 p53 基因为一抑癌基因(野生型, wild type),编码 50 kdu 的核蛋白,其半衰期较短,免疫组化法难于检测,该基因失活后其编码产物半衰期较长,易于检测,若能检测到 p53 存在则间接表明该基因已失活。运用免疫组化法可以检测出 p53 突变蛋白的聚积情况。本资料显示 29 例胆囊癌中 15 例 p53 蛋白阳性,阳性率为 51.7%,p53 基因突变可在多种肿瘤中发生,有关 p53 蛋白与胆囊癌关系的研究较少^[5~8],主要着重于临床病理意义及对预后的意义。要么没有良性对照组^[8],要么不含常见多发病^[5~7]或者例数过少^[7],影响到对其在胆囊癌鉴别诊断中的作用的判断。本研究良性对照组含 9 例胆囊腺瘤,6 例慢性胆囊炎,5 例胆固醇息肉,全部为阴性。提示检测 p53 基因突变及其产物有助于胆囊癌良恶性疾病的鉴别诊断。文献报道^[5~8]p53 蛋白在胆囊癌中表达的阳性率各不相同(36.4%~92%),可能与不同地区胆囊癌的癌基因种类不同有关,反映了胆囊癌变的复杂性及多样性。Kamel 等^[5]的结果(47%)与我们的(51.7%)相似。从我们获得的阳性率(51.7%)及国外高表达率(92%)^[7]来看,用 p53 检测胆囊癌的敏感性比较令人满意,更具意义的是其特异性高(100%),临床应用价值较大。我们比较了早期(I、II)和晚期(III、IV A、IV B)p53 表达阳性率,二者差别无显著性意义($P > 0.05$),提示 p53 基因突变发生在胆囊癌变的早期,随着肿瘤的发展将持续存在。检测 p53 基因突变,有助于胆囊癌的早期诊断及监测。p53 蛋白表达与胆囊癌分化程度的关系目前尚无定论,我们的研究表明,胆囊癌 p53 蛋白表达与病理分级无关($P > 0.05$)。关于 p53 表达与胆囊癌淋巴结转移的关系国内、外均未见报道。我们的研究发现,p53 表达阳性组与阴性组比较淋巴结转移率差别无显著性意义,提示在胆囊癌中,p53 表达与淋

巴结转移无关。

c-erbB-2 基因位于人类染色体 17 q^[21]上,编码产物为 185 kdu 的跨膜糖蛋白简称 P 185^{neu},检测 P 185^{neu}可反映 c-erbB-2 基因状态。近年来的文献多集中在对乳腺癌的研究上。而有关胆囊癌方面的研究甚少。本研究发现在 29 例胆囊癌中,c-erbB-2 蛋白表达阳性的仅有 3 例,阳性率为 10.3%。我们的结果同 Kamel 等^[5]结果(10%)相似。关于 p53 及 c-erbB-2 基因突变在胆囊癌变过程中的协同作用有待积累更多的病例进行研究。

采用 p53 蛋白放免显像或穿刺抽取胆囊胆汁直接检测 p53 突变的方法有助于胆囊恶性病变的定性诊断,我们正在进行这方面的实验。同时还在研究胆囊癌中可能存在的其它癌基因及其产物,以便联合检测它们,提高胆囊癌的诊断率。

参 考 文 献

- 1 Sindansky D, Von Eschenback A, Tsai Y, *et al*. Identification of p53 gene mutation in bladder cancers and urine samples. *Science*, 1991, 252:706
- 2 许凯黎. 人体癌症的基因诊断研究进展. *肿瘤*, 1994, 14(3):175
- 3 Shi S R, Key M E, Kalra K L. Antigen retrieval in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues: an enhancement method for immunohistochemical staining based on microwave oven heating of tissue sections. *Histochem Cytochem*, 1991, 39:741
- 4 American Joint Committee on Cancer. Gallbladder. In: Beahrs O H, Henson D E, Hutter R V P, *et al*. *Manual for staging of cancer*. Philadelphia: J B Lippincott, 1988. 93~104
- 5 Oohashi Y, Watanabe H, Ajioka Y, *et al*. p53 and c-erbB-2 protein expression in adenocarcinomas and epithelial dysplasias of the gallbladder. *J Pathol*, 1993, 170:67
- 6 Yasuhiro O, Hidenobu W, Yoichi A, *et al*. p53 immunostaining distinguishes malignant from benign lesions of the gallbladder. *Pathol Int*, 1995, 45:58
- 7 Wee A, The M, Raju G C. Clinical importance of p53 protein in gallbladder carcinoma and its precursor lesions. *J Clin Pathol*, 1994, 47:453
- 8 Diamantis I, Karamitopoulou E, Perentes E, *et al*. p53 protein immunoreactivity in a extrahepatic bile duct and gallbladder cancer: correlation with tumor grade and survival. *Hepatology*, 1995, 22(3):774

(1998 - 02 - 05 收稿 1999 - 02 - 16 修回)