

# 鼻咽癌 P53 的表达与癌细胞增殖状态的关系<sup>①</sup>

李锦添<sup>②</sup> 邓清泉 黄宝珍 张锦明 吴荫棠 闵华庆 汪慧民 肖永波

(中山医科大学附属肿瘤防治中心, 广州, 510060)

**提 要** 本实验检测了 63 例鼻咽癌(NPC)活检标本的 P53 蛋白和增殖细胞核抗原(PCNA)的阳性细胞数量,核仁组成区嗜银蛋白平均数(AgNORs)及丝状分裂细胞数(MC)。上述 4 项指标的水平在间变性大的 A 亚类 NPC 明显高于间变性小的 B 亚类(均  $P < 0.05$ ),表明这 4 项指标可以作为判断 NPC 恶性程度和估计预后的辅助指标。P53 蛋白阳性细胞数量和 PCNA 阳性细胞数量之间呈正相关( $P < 0.01$ ),这可能是 P53 正常功能丧失,无力阻止 NPC 细胞活跃增生所致。PCNA 阳性细胞数量与 AgNORs 和 MC 的水平呈正相关(均  $P < 0.01$ ),提示 AgNORs 和 MC 的水平可能受到 PCNA 水平的调控。

**主题词** 鼻咽肿瘤; 蛋白质 P53; 增殖细胞核抗原; 核仁组成区; 细胞计数; 有丝分裂

**中图分类号** R 361.2; 739.63

野生型 P53 基因及产物作为细胞周期的“审核点”(checkpoint),能有效地阻止肿瘤的发生。倘若 P53 突变或 P53 非突变产物在细胞环境因素作用下,造成 P53 正常功能丧失,可引致肿瘤的发生。采用免疫组化方法已发现多种恶性肿瘤,有 P53 蛋白的过分积聚,其在肿瘤诊断、预后和发展的研究中具有相当的价值<sup>[2,3]</sup>。PCNA、AgNORs 和 MC 均作为细胞增殖的指标,已被应用于判断肿瘤良、恶性程度和估计患者预后<sup>[4,5]</sup>等方面。本实验拟通过检测 NPC P53 蛋白和 PCNA 等细胞增殖指标,了解这些指标在 NPC 的表现及它们之间的关系,探讨它们在 NPC 诊断、预后和发展等研究的意义及指导临床实践的可能性。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与制备

收集本单位 1990~1991 年鼻咽纤维镜活检组织,病理初诊为 NPC 的各期标本 63 例,中性福马林液室温固定 4~6h,常规处理切片备用。

### 1.2 组织学分类

参照 Hau's 分类法<sup>[6]</sup>,分 NPC 为角化型鳞状细胞癌(本实验未收集此型)、圆形细胞癌、梭形细胞癌和混合细胞癌;后 3 型又按肿瘤的间变性分为 A(间变性较大)和 B(间变性较小)亚类。

### 1.3 P53 蛋白、PCNA 的检测和观察方法

采用免疫组化 ABC 法。一抗分别为抗 P53(Ab

—6)单克隆抗体(Oncogene Science Inc. 出品)和 PCNA(19A<sub>2</sub>)单克隆抗体(Coulter Co. 出品)。设已知抗原性的 NPC 组织作阳性对照及封闭血清代一抗作阴性对照。

P53 蛋白或 PCNA 表达阳性时,细胞核呈棕色反应(伴或不伴胞浆染色)。根据阳性细胞的比例分为 4 级:阳性细胞数占 60%以上为卅级;21%~60%为卅级;20%以下,但有明确阳性细胞为十级和阴性。

### 1.4 AgNORs 的检测和观察方法

硝酸银明胶法染色后,油镜下计算不同部位 200 个肿瘤细胞核内嗜银颗粒的平均数。

### 1.5 MC 的检测和观察方法

H·E 染色后,高倍视野(40×10)下不同部位的 10 个视野内(肿瘤细胞占满为准)丝状分裂细胞总数(/10HPFs)。

以上检测项目,部分病例因组织太少,P53 蛋白和 AgNORs 只分别检测了 52 例和 53 例。

### 1.6 统计学处理

计数资料用  $\chi^2$  检验,计量资料用  $F$  检验,相关分析用 Spearman 相关系数( $r_s$ )检验。

## 2 结 果

### 2.1 不同组织类型、亚类 NPC 的各项检测指标

无论 P53 蛋白或 PCNA 的阳性细胞数、AgNORs 和 MC 在鼻咽圆形细胞癌、梭形细胞癌和混

① 本实验为 C. M. B 和“八·五”攻关资助课题;

② 第一作者,1946 年出生,女,硕士,副研究员

合细胞癌之间均无显著差异(分别  $P > 0.05$ );而在  
这 3 类型 NPC 的 A、B 亚类之间均有显著差异(分  
别  $P < 0.05$ ) 如表 1。

表 1 A、B 亚类鼻咽癌 P53 和 PCNA 阳性细胞数, AgNORs 和 MC 的比较

亚类	P53				PCNA				AgNORs		MC	
	卅	廿	十~一	n	卅	廿	十~一	n	$\bar{x} \pm s$ (/细胞)	n	$\bar{x} \pm s$ (/10HPFs)	n
A	10	10	11	31	16	16	3	35	$5.78 \pm 2.11$	30	$17.80 \pm 14.06$	35
B	0	8	13	21	4	12	12	28	$4.11 \pm 1.53$	23	$9.45 \pm 8.59$	27
	$\chi^2 = 8.79$		$P < 0.05$		$\chi^2 = 12.55$		$P < 0.01$		$F = 9.92$	$P < 0.01$	$F = 7.15$	$P < 0.05$

2.2 NPC 的 P53 蛋白和 PCNA 表达的关系(表 2)

表 2 P53 蛋白和 PCNA 阳性细胞数的联系

P53 (数量分级)	PCNA <sup>1)</sup>				
	卅	廿	+	-	合计
卅	8	1	1	0	10
廿	6	12	1	0	19
+	5	8	2	0	15
-	0	4	1	3	8
合计	19	25	5	3	52

$r_s = 0.476 P < 0.01$

从表 2 可见, NPC 的 P53 蛋白和 PCNA 表达之  
间存在正相关, 当前者的阳性细胞数量较高时, 后者  
的阳性细胞数量亦较高。

2.3 NPC 的 PCNA 表达与 AgNORs、MC 的关系  
(表 3)

表 3 鼻咽癌 PCNA 阳性细胞数与 AgNORs 和 MC 的联系

PCNA	AgNORs(粒/细胞) <sup>1)</sup>								MC(个/10HPFs) <sup>2)</sup>								
	8.50	7.50	6.50	5.50	4.50	3.50		2.50	合计	30	25	20	15	10	5	合计	
	8.50↑	/	/	/	/	/	/	2.50↓		30↑	/	/	/	/	/	/	
	7.51	6.51	5.51	4.51	3.51	2.51				26	21	16	11	6	1		
卅	2	2	1	4	6	1	1	1	18	2	1	3	2	5	5	2	20
廿	1	0	2	6	4	6	3	2	24	1	3	3	5	6	4	6	28
+	0	0	0	1	0	3	3	1	8	0	0	0	0	1	1	8	10
-	0	0	0	1	1	0	1	0	3	0	0	0	1	1	0	2	4
合计	3	2	3	12	11	10	8	4	53	3	4	6	8	13	10	18	62

1)  $r_s = 0.380, P < 0.01$ ; 2)  $r_s = 0.405, P < 0.01$

从表 3 可见, PCNA 表达和 AgNORs 或 MC 之  
间分别存在正相关, 当前者的阳性细胞数量较高时,  
后两者水平亦较高。

3 讨 论

3.1 检测 P53 蛋白等 4 项指标的意义

肿瘤的间变性是衡量其恶性程度的重要病理指  
征。Hau's 观察了近 500 例 NPC 患者, 显示间变性  
大的 A 亚类患者 5 年生存率(30%~40%)明显低  
于间变性小的 B 亚类患者(60%~70%)<sup>[6]</sup>。然而, 仅  
以常规的形态学改变作为衡量标准恐怕带有一定的  
主观性和片面性; 为了能找到更客观可靠的指标, 本  
实验在观察肿瘤的间变性等的同时检测了 P53 蛋白

和 PCNA 等 4 项指标。结果显示这 4 项指标的水平  
与肿瘤的间变性有明显的关系, 说明这些指标有可  
能作为估价 NPC 恶性程度及预后的辅助指标, 通过  
进一步追踪患者的预后, 将会从中找到更理想的衡  
量指标。

3.2 P53 蛋白和 PCNA 表达的关系

本实验结果显示 P53 蛋白过分表达的 NPC 通  
常有高水平的 PCNA, 表明这些积聚的 P53 蛋白并  
不能有效地阻止肿瘤细胞的活跃增生, P53 正常功  
能已丧失。而 NPC 中 P53 蛋白的过分表达除了基因  
突变之外, 更大的可能是 EB 病毒感染后病毒蛋白  
和非突变 P53 蛋白结合所致<sup>[2,3]</sup>。

3.3 PCNA 表达和 AgNORs、MC 的关系

PCNA 是细胞核内的磷酸多肽, 在 G1 后期与 S  
期的水平有明显的升高, 与 DNA 多聚酶  $\delta$  辅助蛋白

的功能一致,在 DNA 复制的延长阶段起作用<sup>[4]</sup>。核仁组成区(NORs)是位于顶缢染色体的环状 DNA,与 rRNA 转录有关<sup>[6]</sup>。因此,PCNA、AgNORs 和 MC 分别代表着细胞增殖过程的某一阶段。本实验显示 PCNA 表达水平较高时,AgNORs 和 MC 水平亦较高,提示 AgNORs 和 MC 的水平会受到 PCNA 水平调控的可能性。

### 参 考 文 献

- 1 Robbins P. The P53 tumor suppressor gene and c-erbB-2/HER-2 oncogene in breast cancer. 20 International Congress of International Academy of Pathology, 1994
- 2 Sheu LF, Chen A, Tseng HH, et al. Expression of P53 protein in nasopharyngeal carcinoma. J Pathol, 1994, 172 : 294
- 3 Hall PA, Lane DP. P53 in tumor pathology: Can we trust immunohistochemistry? — Revisited! J Pathol, 1994, 172 : 1
- 4 Prelich G, Tan CK, Kostura M, et al. Functional identity of proliferating cell nuclear antigen and a DNA polymerase —  $\delta$  auxiliary protein. Nature, 1987, 326 : 517
- 5 Celily MQ & Nicholas AW. The clinical assessment of methods and applications as prognostic variables. J Pathol, 1990, 160 : 93
- 6 Hau HC, Chen CL, Hsu MM, et al. Pathology of nasopharyngeal carcinoma proposal of new histologic classification correlated with prognosis. Cancer, 1987, 59 : 945

(1995-04-28 收稿 1995-07-05 修回)

## THE RELATIONSHIP BETWEEN THE EXPRESSION OF P53 PROTEIN AND THE PROLIFERATING STATUS OF TUMOR CELLS IN NASOPHARYNGEAL CARCINOMA

Li Jintian Deng Manquan Huang Baozhen Zhang Jinming  
Wu Yintang Min Huaqing Wang Huimin Xiao Yongbo

(Cancer Institute & Tumor Hospital,  
Sun Yat-Sen University of Medical Sciences, Guangzhou, 510060)

The positive cell quantity of P53 protein and PCNA (proliferating cell nuclear antigen), AgNORs (mean count of nucleolar organizer region — argyrophilia proteins) and MC (mitotic count) were examined in 63 biopies of nasopharyngeal carcinoma (NPC). The level of above 4 criteria were higher in group A with more anaplasia than in group B with less anaplasia (all  $P < 0.05$ ). So these 4 criteria might be served as the auxiliary indicators for identifying the extent of NPC malignancy and predicting the prognosis of NPC patients. There was positive correlation between the positive cell quantity of P53 and that of PCNA (all  $P < 0.01$ ). It might be caused by loss of P53 function leading to incapacity for stopping active proliferation of tumor cells in NPC. There were positive correlations between the positive cell quantity of PCNA and the level of AgNORs or MC (all  $P < 0.01$ ). It might be suggested that the level of AgNORs and MC were regulated by the level of PCNA.

**Subject headings** nasopharyngeal tumor; protein P53; proliferating cell nuclear antigen; nucleolus organizer region; cell count; mitosis