

P63 蛋白在宣威与非宣威地区非小细胞肺癌表达的对比研究

刘 君 李高峰 陈 楠 彭 俊 陈新隆 王 平 毛 新 彭 浩 张 勇 向旭东 宁显谷

摘 要 **目的** 研究宣威与非宣威地区非小细胞肺癌 P63 蛋白的表达,探讨其与生物学行为的关系。**方法** 免疫组织化学法。**结果** P63 蛋白在肺鳞癌组织中高表达;非小细胞肺癌中,P63 蛋白的表达与患者的 TNM 分期、组织分化程度及淋巴结转移情况有关,与患者性别无关;P63 蛋白在非小细胞肺癌中在相同病理类型、分期、组织分化、淋巴结转移情况及相同性别的阳性表达率,宣威组与非宣威组比较,差异无统计学意义。**结论** P63 蛋白的表达在宣威并无地区特异性,并不是宣威肺癌高发的原因。

关键词 非小细胞肺癌 P63 蛋白 免疫组化

[中图分类号] R734.2 [文献标识码] A

Expression of P63 Protein in Non - Small - Cell Lung Cancer between Xuanwei and Non - Xuanwei Region. Liu Jun, Li Gaofeng, Chen Nan, Peng Jun, Chen Xinlong, Wang Ping, Mao Xin, Peng Hao, Zhang Yong, Xiang Xudong, Ning Xiang. Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, The First People's Hospital of Yunnan Province, The Affiliated Kunhua Medical College of Kunming University of Science and Technology, Yunnan 650032, China

Abstract Objective Study the expression of P63 protein in the non - small - cell lung cancer (NSCLC) tissues between Xuanwei and Non - Xuanwei region, and to explore the relationship between it and the biological behavior. **Methods** Immunohistochemical method. **Results** It was indicated that the expression of P63 in lung squamous cell carcinoma was extraordinarily higher. P63 was related with the TNM staging system, tissue differentiation degree and lymph node metastasis, but it was not related with sexuality. Compared Xuanwei group with the Non - Xuanwei group, the positive expression rate of P63 in non - small - cell lung cancer with the same pathological types, staging, tissue differentiation degree, lymph node metastasis and sexuality, had no statistically significant difference. **Conclusion** It indicated that the expression of P63 has no region - specificity in Xuanwei. It is not the reason why it has high incidence of lung cancer in Xuanwei region.

Key words Non - small cell lung cancer; P63 protein; Immunohistochemistry

近些年来我国的肺癌发生率逐年增加,全国肿瘤登记中心发布的《2012 中国肿瘤登记年报》显示,肺癌居全国恶性肿瘤发生率第 1 位,病死率第 1 位。而云南是癌症高发区之一,云南省的肺癌发生率是全国发生率的两倍。云南宣威地区有地区特异性,其女性肺癌病死率居全国第 1 位^[1]。

本研究应用免疫组织化学法,研究宣威与非宣威地区非小细胞肺癌 P63 蛋白的表达,探讨其与生物学行为的关系,并将宣威组与非宣威组 P63 蛋白的表达情况进行比较,以探究 P63 的表达在宣威地区有无特

异性,探究宣威肺癌高发与 P63 的表达是否有关。

材料与方法

1. 临床资料:(1)实验组:收集 2012 年 10 月~2013 年 6 月云南省第一人民医院(昆明理工大学附属昆华医院)胸外科手术切除的 30 例宣威地区非小细胞肺癌患者的癌组织和正常肺组织(正常组织规定为:距癌组织边缘 > 5cm)。在 30 例患者中,男性 16 例,女性 14 例,年龄 38 ~ 70 岁,平均年龄 55.6 岁;鳞癌 13 例,腺癌 17 例;Ⅰ期 9 例,Ⅱ期 15 例,Ⅲ期 6 例;高分化 9 例,中分化 14 例,低分化 7 例;淋巴结转移阳性的患者 16 例,淋巴结转移阴性的患者 14 例。(2)对照组:同期 30 例非宣威地区非小细胞肺癌患者的癌组织和正常肺组织(正常组织规定为:距癌组织边缘 > 5cm)。在 30 例患者中,男性 14 例,女性 16 例,年龄 36 ~ 72 岁,平均年龄 56.2 岁;鳞癌 14 例,腺癌 16 例;Ⅰ期 10 例,Ⅱ期 16 例,Ⅲ期 4 例;高分化 10 例,中分化 12 例,低分化 8 例;淋巴结转移阳性的患者 13 例,淋巴结转移阴性的患者 17 例。每例均有详细的病历资料及手术记录,术前检查所有患者均无远处转移,全部

作者单位:650032 云南省第一人民医院、昆明理工大学附属昆华医院胸心血管外科(刘君、彭俊、陈新隆、王平、毛新、彭浩、宁显谷);650118 昆明医学院第三附属医院、云南省肿瘤医院胸外科(李高峰、陈楠、张勇、向旭东)

通讯作者:李高峰,电子信箱:ligaofenghl@126.com

肺癌病例术前均未接受放疗或化疗。

2. 方法:所有标本常规取材,甲醛固定,石蜡包埋,3μm 厚连续切片;即用型 P63 蛋白鼠抗人单克隆抗体,免疫组化法。细胞质、细胞核出现棕色颗粒为阳性细胞,随机选择 4 个高倍视野,计数 100 个细胞;其中 P63 染色呈深棕色、大颗粒的阳性细胞 >50% 者为(+++),浅棕色、小颗粒的阳性细胞 10%~50% 为(++),阳性细胞 <10% 为(+)。

3. 统计学方法:数据处理采用 SPSS 19.0 软件处理,行 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. P63 蛋白在癌和正常组织中的表达情况:P63 蛋白在非小细胞肺癌中的阳性表达率为 81.67% (49/60)与正常肺组织 5.00% (3/60)相比差异有统计学意义($P<0.05$,表 1)。

表 1 P63 蛋白在非小细胞肺癌和正常肺组织中的表达

组织类型	n	P63 蛋白		
		+	-	阳性率(%)
非小细胞肺癌	60	49	11	81.67
正常肺组织	60	3	57	5.00

$P=0.000$

2. P63 蛋白在宣威、非宣威肺组织中的表达:P63 蛋白在鳞癌组织中的表达,明显高于腺癌组织($P=0.028$)及正常组织($P=0.000$)中的表达。宣威地区,P63 蛋白在鳞癌组织中的阳性表达率高于腺癌组织,但差异无统计学意义($P=0.259$);非宣威地区,P63 蛋白在鳞癌组织中的阳性表达率同样高于腺癌组织,但差异无统计学意义($P=0.058$);而非宣威鳞癌组织中的阳性表达率高于宣威鳞癌组织,但差异无统计学意义($P=0.648$);宣威腺癌组织与非宣威腺癌组织中的阳性表达率差异无统计学意义($P=1.000$,表 2)。P63 蛋白在鳞癌中的表达明显高于腺癌或许与 P63 蛋白受表皮生长因子的下游通路——磷酰肌醇激酶 3 调节有关^[2]。

表 2 P63 蛋白在宣威、非宣威肺组织中的表达

分类	n	P63 蛋白		
		+	-	阳性率(%)
宣威鳞癌	13	10	3	76.92
宣威腺癌	17	9	8	52.94
宣威正常组织	30	2	28	6.66
非宣威鳞癌	14	12	2	85.71
非宣威腺癌	16	8	8	50.00
非宣威正常组织	30	1	29	3.33

3. P63 蛋白表达与临床分期的关系:P63 蛋白在癌组织中阳性表达率随 TNM 分期增加呈上升趋势,在分期晚的病人中阳性表达率较高,这与宋宇^[3]的研究结果一致。I 期与 II 期患者比较,差异无统计学意义($P=0.073$),II 期与 III 期患者比较,差异无统计学意义($P=0.402$),I 期与 III 期患者比较,III 期患者 P63 蛋白表达阳性率明显高于 I 期患者,差异有统计学意义($P=0.019$)。P63 蛋白表达在 I、II、III 期患者中宣威组与非宣威组比较,差异无统计学意义($P>0.05$,表 3)。

表 3 P63 蛋白表达与临床分期的关系

临床分期	n	P63 蛋白		
		+	-	阳性率(%)
宣威 I 期	9	4	5	44.44
宣威 II 期	15	10	5	66.67
宣威 III 期	6	5	1	83.33
非宣威 I 期	10	4	6	40.00
非宣威 II 期	16	12	4	75.00
非宣威 III 期	4	4	0	100.00

4. P63 蛋白表达与组织分化程度的关系:P63 蛋白在癌组织中阳性表达率与组织分化程度呈负相关,在分化低的患者中表达率较高。低分化癌组织中 P63 蛋白的阳性表达率高于中分化癌组织,但差异无统计学意义($P=0.445$);中分化癌组织中 P63 蛋白的阳性表达率显著高于高分化癌组织,差异有统计学意义($P=0.031$);低分化癌组织中 P63 蛋白的阳性表达率显著高于高分化癌组织,差异有统计学意义($P=0.005$);高、中、低分化癌组织宣威组与非宣威组相比较,差异无统计学意义($P>0.05$,表 4)。

表 4 P63 蛋白表达与组织分化程度的关系

组织分化程度	n	P63 蛋白		
		+	-	阳性率(%)
宣威高分化	9	3	6	33.33
宣威中分化	14	10	4	71.43
宣威低分化	7	6	1	85.71
非宣威高分化	10	4	6	40.00
非宣威中分化	12	9	3	75.00
非宣威低分化	8	7	1	87.50

5. P63 蛋白表达与淋巴结转移的关系:P63 蛋白在淋巴结转移组的阳性表达率高于无淋巴结转移组,P63 蛋白在淋巴结转移组的阳性表达率为 89.66%,在无淋巴结转移组的阳性表达率为 41.94% ($P=$

0.000, $P < 0.05$) 差异有统计学意义。P63 蛋白在淋巴结转移组阳性表达率, 宣威组与非宣威组比较, 差异无统计学意义 ($P = 1.000$)。P63 蛋白在无淋巴结转移组阳性表达率, 宣威组与非宣威组比较, 差异无统计学意义 ($P = 0.473$)。陈洪雷等^[4]的研究同样发现 P63 蛋白表达与淋巴结转移有关(表 5)。

表 5 P63 蛋白表达与淋巴结转移的关系

淋巴结情况	n	P63 蛋白		
		+	-	阳性率(%)
宣威有淋巴结转移	16	14	2	87.50
宣威无淋巴结转移	14	5	9	35.71
非宣威有淋巴结转移	13	12	1	92.31
非宣威无淋巴结转移	17	8	9	47.06

6. P63 蛋白表达与性别的关系: P63 蛋白的表达与性别无关 ($P = 1.000$)。P63 蛋白的表达宣威男性与非宣威男性比较, 差异无统计学意义 ($P = 1.000$)。P63 蛋白的表达宣威女性与非宣威女性比较, 差异无统计学意义 ($P = 1.000$)。这与宋宇^[3]的研究结果一致(表 6)。

表 6 P63 蛋白表达与性别的关系

性别	n	P63 蛋白		
		+	-	阳性率(%)
宣威男性	16	10	6	62.50
宣威女性	14	9	5	64.29
非宣威男性	14	9	5	64.29
非宣威女性	16	11	5	68.75

讨 论

1997 年, Schmale 等^[5]经探索发现了鼠 KET。这是一种与 P53 高度同源的蛋白。而人的 P63 蛋白基因和 P63 蛋白在 1998 年被一些研究所发现^[6]。目前的研究提示, P63 蛋白与肿瘤的发生、发展具有显著的相关性^[7]。P63 蛋白作为 P53 家族的新成员, 是一种核转录因子, 它与 P53 蛋白具有高度同源性, 可以通过激活 P53 的靶基因, 参与 P53 蛋白介导的细胞信号转导途径, 从而抑制细胞增殖和诱导细胞凋亡。那么 P63 是不是和 P53 一样, 是一种抑癌基因呢? 曾经是有争论的^[9]。后来的研究发现, P63 生物学功能的表现, 是与它所表达的两种亚型蛋白的结构和功能密切相关的, 如 P63 表达 TAp63 亚型, 因其能激活或抑制 P53 的靶基因, 从而发挥肿瘤抑制因子的功能^[10]; 如 P63 表达 $\Delta Np63$ 亚型, 因其缺乏 TA 区而不能诱导

转录, 而不能发挥肿瘤抑制因子的功能, 但其却有 DNA 结合域, 可竞争 DNA 结合位点, 从而发挥负性调节的功能, 因此具有潜在癌基因的功能^[10,11]。宣威地区肺癌发病率显著高于非宣威地区, 本实验通过比较 P63 蛋白在宣威地区与非宣威地区非小细胞肺癌中的表达, 探究 P63 蛋白的表达在宣威地区有无特异性, 以探究宣威肺癌高发的原因。本研究得出 P63 蛋白在非小细胞肺癌中的阳性表达率为 81.67% (49/60) 与正常肺组织 (3/60) 相比差异有显著意义, $P < 0.05$, 提示 P63 在非小细胞肺癌中作为癌基因而不是抑癌基因起作用, 与 Choi 等^[12]研究结果类似。P63 的阳性表达率明显高于正常组织, 充分说明了 P63 与非小细胞肺癌的发生、发展具有密切的相关性。

实验结果发现, 鳞状细胞癌与腺癌相比较, P63 蛋白在鳞状细胞癌中高表达, 差异有统计学意义, $P < 0.05$, 这提示 P63 蛋白与鳞状细胞癌发生关系密切。陈洪雷等^[4]应用免疫组化法研究发现 P63 蛋白在人非小细胞肺癌中的阳性表达率为 80.0%, P63 蛋白表达与肺癌的组织学类型和淋巴结转移有关, 在肺鳞癌中阳性表达率显著高于腺癌, 与本实验结果一致。Di Como 等^[13]发现 P63 主要表达于基底细胞和鳞癌, 转化细胞癌, 而不是在腺癌包括乳腺和前列腺等, 本文研究结果与之一致。同时在 TNM 分期中, TNM 分期越晚, P63 蛋白表达越强。P63 蛋白的表达与组织分化程度负相关, 说明 P63 蛋白的高表达常提示非小细胞肺癌恶性程度高。P63 蛋白与淋巴结转移情况正相关, 则说明 P63 蛋白高表达常提示易于淋巴转移。所以 P63 蛋白的高表达提示预后差, 其可用于判断非小细胞肺癌的恶性程度以及预后^[3]。本实验结果发现, P63 蛋白在非小细胞肺癌中在相同病理类型、分期、分化程度、淋巴结转移情况及性别的阳性表达率, 宣威组与非宣威组比较, 差异无统计学意义, 表明虽然 P63 蛋白在非小细胞肺癌中作为癌基因而不是抑癌基因起作用, 但是 P63 蛋白的表达在宣威并无地区特异性, 说明 P63 蛋白的表达并不是宣威肺癌高发的原因。

P63 蛋白在非小细胞肺癌中呈高表达, 提示 P63 蛋白与非小细胞肺癌的发生、发展有密切的相关性。P63 蛋白的表达可能与非小细胞肺癌的生长、浸润、转移有关, 而与性别无关。P63 蛋白在鳞癌中的表达显著高于腺癌, 有助于鉴别诊断鳞癌与腺癌。非小细胞肺癌中 P63 蛋白在相同病理类型、分期、分化程度、

淋巴结转移情况及性别的阳性表达率,宣威组与非宣威组比较,差异无统计学意义,这表明 P63 蛋白的表达在宣威并无地区特异性,并不是宣威肺癌高发的原因。

参考文献

1 吕任齐,赵体德. 云南省 - 县市肺癌死亡率趋势分析[J]. 中国肿瘤, 2002, 11(12): 701

2 Morgunkova A. The p53 gene family: control of cell proliferation and developmental programs[J]. Biochemistry, 2005, 70(9): 321 - 323

3 宋宇. Survivin、p53、p63、p73、p21 在非小细胞肺癌中的表达及其临床意义[D]. 苏州:苏州大学, 2007

4 陈洪雷,陈福春,王敏,等. 人非小细胞肺癌组织 p63 和 p73 的表达及意义[J]. 肿瘤防治杂志, 2003, 10(10): 1015 - 1018

5 Schmale H, Bamberger C. A novel protein with strong homology to the tumor suppressor p53 [J]. Oncogene, 1997, 15(11): 1363 - 1367

6 Fishman SJ, Mulliken JB. Hemangiomas and vascular malformations of infancy and childhood[J]. Pediatr Clin North AM, 1993, 40(6): 1177 - 1200

7 van Bokhoven H, Brunner HG. Splitting P63 [J]. Am J Hum Genet,

2002, 71(1): 1 - 13

8 张超,代红艳,卿晋,等. P63 基因的研究进展[J]. 皮肤病与性病, 2012, 34(3): 142 - 144

9 Sallone C, Caggese C, Lanare C, *et al.* Molecular clock and gene function[J]. Journal of Molecular Evolution, 2003, 57(1): 277 - 285

10 Mangiulli M, Valletti A, Caratozzolo MF, *et al.* Identification and functional characterization of two new transcriptional variants of the p63 gene [J]. Nucleic Acids Res, 2009, 37(18): 6092 - 6104

11 Weber A, Langhanki L, Schutz A, *et al.* Expression profiles of p53, p63 and p73 in benign salivary gland tumors [J]. Virchows Arch, 2002, 441(5): 428 - 436

12 Choi HR, Batsakis JG, Zhan F, *et al.* Differential expression of p53 gene family members p63 and p73 in head and neck squamous tumorigenesis [J]. Hum Pathol, 2002, 33(2): 158 - 164

13 Di Como CJ, Urist MJ, Babayan I, *et al.* P63 expression profiles in human normal and tumor tissues [J]. Clin Cancer Res, 2002, 8(2): 494 - 501

(收稿日期:2013 - 10 - 22)

(修回日期:2013 - 11 - 14)

血乳酸、胆碱脂酶与 APACHE II 评分在评估危重症患者病情预后中的研究

朱睿瑶 张 迪 冯丽芝 邹捍东 周青山

摘 要 目的 探讨危重症患者血乳酸、血清胆碱酯酶水平与 APACHE II 评分的相关性及指导预后的意义。**方法** 回顾性分析 65 例入住笔者医院 ICU 中危重症患者的临床资料,根据其预后将患者分为存活组和死亡组,比较血乳酸、血清胆碱酯酶水平与不同 APACHE II 分值组之间的关系,分析上述指标与患者预后的关系。**结果** 死亡组患者的血乳酸、血清胆碱酯酶水平及 APACHE II 评分明显高于存活组($P < 0.05$);APACHE II 评分 21 ~ 30 分组血乳酸及血清胆碱酯酶水平明显高于 ≤ 10 分及 11 ~ 20 分组($P < 0.05$),APACHE II 评分 > 30 分组血乳酸及血清胆碱酯酶水平明显高于 21 ~ 30 分组($P < 0.05$);血乳酸水平与 APACHE II 分值的相关性呈显著正相关($r = 0.909, P < 0.01$),血清胆碱酯酶水平与 APACHE II 评分密切相关,呈现负相关($r = -0.795, P < 0.05$),血清胆碱酯酶与血乳酸的变化呈现负相关($r = -0.783, P < 0.05$)。**结论** 血乳酸、血清胆碱酯酶水平与 APACHE II 评分均与病情严重程度相关,在危重症患者预后判断中具有一定临床指导意义。

关键词 乳酸 胆碱酯酶 APACHE II 评分 预后
[中图分类号] R459.7 [文献标识码] A

Application of Blood Lactic Acid, Cholinesterase and APACHE II Score in Evaluation of Prognosis of Critically Ill Patients. Zhu Ruiyao, Zhang Di, Feng Lizhi, Zou Handong, Zhou Qingshan. Intensive Care Unit, Renmin Hospital of Wuhan University, Hubei 430060, China

Abstract Objective To investigate the correlation between the blood lactic acid, serum cholinesterase and APACHE II score and the prognostic value in critically ill patients. **Methods** The clinical data of 65 critically ill patients, admitted in intensive care unit (ICU), were retrospectively analyzed. Patients were divided into two groups: the survival group and the death group according to prognosis. Grouped according to APACHE II score comparison among all groups of blood lactic acid and serum cholinesterase of the differences. Its correlation with the prognosis of patients was analyzed. **Results** Blood lactic acid, serum cholinesterase and APACHE II score in the