

· 研究原著 ·

文章编号 1000-2790(2007)09-0840-03

非小细胞肺癌组织 FHIT 和突变型 P53 表达的关联性及其相互作用

庄鹏晖¹, 梁景仁¹, 潘承恩², 付军科¹, 尚东³(西安交通大学医学院第一附属医院:¹胸外科,²老年外科,³呼吸内科,陕西西安 710061)

Correlation and potential interaction between FHIT and mutant P53 expression in non-small cell lung cancer

ZHUANG Peng-Hui¹, LIANG Jing-Ren¹, PAN Cheng-En², FU Jun-Ke¹, SHANG Dong³¹Department of Thoracic Surgery, ²Department of Geriatric Surgery, ³Department of Respiratory Diseases, First Affiliated Hospital, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China

【Abstract】 AIM: To investigate the correlation and potential interaction between FHIT and mutant P53 expression in non-small cell lung cancer (NSCLC). **METHODS:** The expressions of FHIT and mutant P53 in 63 specimens of NSCLC and 12 cases of benign lung lesion tissues (as controls) were examined by immunohistochemical technique. **RESULTS:** The positive rate of FHIT in NSCLC (42.9%) was significantly lower than that in the controls (75.0%); the expression of FHIT was significantly correlated with pathological grade ($r = 0.358, P < 0.05$), TNM stage ($r = 0.314, P < 0.05$) and lymph node metastasis ($r = 0.380, P < 0.05$). The positive rate of mutant P53 in NSCLC (52.4%) was significantly higher than that in the controls (8.3%); the expression of mutant P53 was significantly related to TNM stage ($r = 0.391, P < 0.05$) and lymph node metastasis ($r = 0.250, P < 0.05$), but not to pathological grade. The expressions of FHIT and mutant P53 in NSCLC were significantly correlated ($r = 0.258, P < 0.05$). **CONCLUSION:** The down-regulation of FHIT and mutant P53 possibly play important roles in the development of NSCLC.

【Keywords】 NSCLC; FHIT; mutant P53; immunohistochemistry

【摘要】目的:探讨 FHIT 和突变型 P53 在非小细胞肺癌(NSCLC)中表达的相关性以及两者潜在的相互作用。方法:采用免疫组化 PicTure™通用型二步法,检测 FHIT 和突变型 P53 蛋白在 63 例 NSCLC 和 12 例肺良性病变组织中的表达。结果:NSCLC 组织 FHIT 阳性率(42.9%)低于肺良性病变组织(75.0%)。FHIT 表达与病理分级($r = 0.358, P < 0.05$), TNM 分期($r = 0.314, P < 0.05$)及淋巴结转移($r = 0.380,$

$P < 0.05$)相关。突变型 P53 在 NSCLC 组织中阳性率(52.4%)高于正常肺组织(8.3%);突变型 P53 表达与 TNM 分期($r = 0.391, P < 0.05$)及淋巴结转移($r = 0.250, P < 0.05$)相关,与病理分级无关联性。FHIT 与突变型 P53 蛋白在 63 例 NSCLC 中表达相关($r = 0.258, P < 0.05$)。结论: P53 突变和 FHIT 表达下调对 NSCLC 发生、发展均可能起重要作用,在其病变过程中可能同时存在两条途径,并可能相互交叉。

【关键词】 非小细胞肺癌; FHIT; 突变型 P53; 免疫组化

【中图分类号】 R734.2 **【文献标识码】** A

0 引言

FHIT (fragile histidine triad)基因结构不稳定,肺癌及癌前病变组织中均有 FHIT 的缺失和转录异常,提示 FHIT 基因异常可能是肺癌发生的早期分子事件。目前研究认为, FHIT 和经典抑癌基因 P53 在肺癌发病机制中可能存在一定的联系^[1]。我们采用免疫组化 PicTure™通用型二步法,检测 63 例非小细胞肺癌(NSCLC)和 12 例肺良性病变组织 FHIT 和 P53 的表达,探讨两者的关联性及其潜在的相互作用。

1 材料和方法

1.1 材料 1994/2001 年根治性切除 NSCLC(病理证实)63(男 35,女 28)例,年龄 35~79(平均 58.2)岁。鳞癌 27 例,腺癌 36 例;分化 I, II 级 38 例, III 级 25 例。临床(pTNM)分期 I, II 期 43 例, III 期 20 例。有淋巴结转移 41 例,无淋巴结转移 22 例。石蜡组织标本制成 4 μm 厚的连续切片 3 张, 2 张进行免疫组化染色, 1 张进行 HE 染色复核诊断。肺良性病变组织 12(男 11,女 1)例,均来源于自发性气胸患者手术切除标本,年龄 19~27(平均 23.9)岁。PV-6000 通用型二步法免疫组化检测试剂盒, P53 小鼠抗人 mAb(浓缩液)(sc-8393), FHIT 兔抗人 mAb(浓缩液)(ZA-0410)均购于北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.2 方法 采用 PicTure™通用型二步法。石蜡切片脱蜡,置于甲醇双氧水中,以阻断内源性过氧化物酶活性。PBS 缓冲液(pH 7.4)洗涤,置于微波炉内加热修复抗原, PBS 缓冲液洗涤,滴加 FHIT 兔抗人 mAb,

收稿日期 2006-12-15; 接受日期 2007-02-01

作者简介:庄鹏晖, 博士,主治医师。Tel (029)85324005 Email:

phzhuang@mail.xjtu.edu.cn

P53 小鼠抗人 mAb 浓度分别均为 1:80,置湿盒内室温下孵育 120 min, PBS 缓冲液洗涤,滴加通用型 PV-6000 PicTure™ 通用型试剂 80 μ L,室温下孵育 30 min, PBS 缓冲液洗涤, DAB 液中显色,显微镜下控制染色时间 5 min. 自来水冲洗,苏木素复染,乙醇梯度脱水,二甲苯透明,中性树胶封片. 每次染色均设对照作为染色质量控制标准. 阳性对照采用已知的表达 FHIT 和突变型 P53 的乳腺组织,空白对照采用 PBS 液代替第一抗原. 所有对照均与实验标本在相同条件下严格按照试剂盒推荐方法进行. 另取一组切片供 HE 染色复核诊断. 标准免疫组化阳性反应为棕黄色或黄色颗粒状着色, FHIT 以细胞质中有棕黄色或黄色颗粒为阳性细胞,突变型 P53 以细胞核有棕黄色或黄色颗粒为阳性细胞. 阳性细胞数量记分 0~4 分(在 400 倍镜下选定 10 个视野,每个视野计数 100 个肿瘤细胞,共计 1000 个细胞,计算阳性细胞所占百分比. 计算公式:阳性细胞百分比 = 阳性细胞数/所记数细胞总数 \times 100%). 0 为 0 分, \leq 25% 为 1 分, 26%~50% 为 2 分, 51%~75% 为 3 分, $>$ 75% 为 4 分. 染色强度记分 0~3 分 0 分为无色, 1 分为淡黄色, 2 分为棕黄色, 3 分为棕褐色. 两项乘积即为该免疫组化得分,乘积 $>$ 3 分者定为阳性.

统计学处理:应用 SPSS 11.5 for windows 统计软件进行分析. FHIT 和 P53 蛋白表达的统计学处理采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

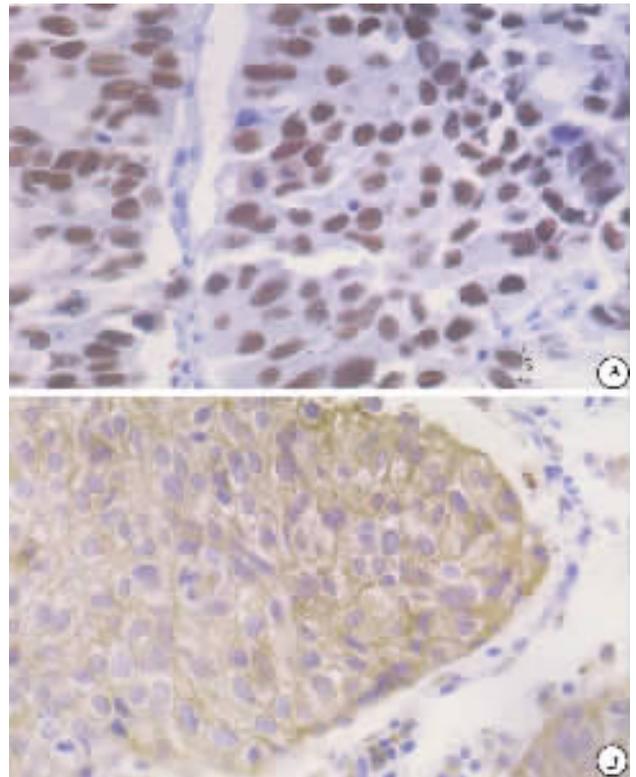
2 结果

2.1 FHIT 和突变型 P53 蛋白的表达 FHIT 和突变型 P53 蛋白阳性着色分别在细胞质和细胞核(图 1A, B). 在肺良性病变组织中 FHIT 阳性表达 9 例,阳性率为 75.0%, P53 阳性表达 1 例,阳性率为 8.3%,在 NSCLC 中两者阳性表达分别为 27 和 33 例,阳性率分别为 42.9% 和 52.4%. FHIT 和突变型 P53 在肺良性病变和 NSCLC 组织中表达水平有统计学差异($P < 0.05$).

2.2 FHIT 和突变型 P53 蛋白表达与 NSCLC 临床病理参数的关系 FHIT 蛋白表达水平与病理分级($r = 0.358, P < 0.05$), TNM 分期($r = 0.314, P < 0.05$), 淋巴结转移($r = 0.380, P < 0.05$)相关,但与年龄、性别、组织学类型均无关. 突变型 P53 蛋白表达水平与 TNM 分期($r = 0.391, P < 0.05$)和淋巴结转移($r = 0.250, P < 0.05$)相关,但与年龄、性别、组织学类型、病理分级均无关(表 1).

2.3 FHIT 和突变型 P53 蛋白表达的相关性 在 63 例 NSCLC 组织中, FHIT 和突变型 P53 表达均呈阳性

者 12 例,突变型 P53 阳性 FHIT 阴性 22 例,突变型 P53 阴性 FHIT 阳性者 18 例, FHIT 和突变型 P53 表达均呈阴性者 11 例. FHIT 和突变型 P53 蛋白在 NSCLC 组织中的表达相关($r = 0.258, P < 0.05$).



A: P53; B: FHIT.

图 1 非小细胞肺癌 FHIT 和 P53 蛋白阳性表达 $\times 400$

表 1 FHIT 和突变型 P53 阳性表达与非小细胞肺癌临床病理参数之间的关系 [n(%)]

临床病理	n	FHIT	P	P53	P
病理分级					
II	38	24(63.2)	0.002	17(44.7)	0.070
III	25	6(24.0)		17(68.0)	
TNM 分期					
I, II	43	26(60.5)	0.009	17(39.5)	0.001
III	20	5(25.0)		17(85.0)	
淋巴结转移					
+	41	14(34.1)	0.001	26(63.4)	0.004
-	22	17(77.3)		8(36.4)	

3 讨论

多种肿瘤抑癌基因的缺失被认为在肿瘤的生长中具有协调作用. FHIT 表达缺失和 P53 突变是肺癌发生早期的重要分子事件, NSCLC 中这种改变高度频发, FHIT 约 50%~75%, P53 $>$ 50%^[2],使得目前

研究的焦点集中在 FHIT 和 P53 在肺癌发病机制中可能存在有联系。然而阐明 FHIT 生物学作用以及它与 P53 潜在相互作用的研究却只得出体外实验的结果。Galmarini 等^[3]发现人类乳腺癌细胞株中突变型 P53 表达上调与 FHIT 表达下调相联系;Nishizaki 等发现^[4]FHIT 可下调 MDM2 蛋白,从而使野生型 P53 蛋白稳定和积聚;Cavazzoni 等^[1]发现 FHIT/P53 联合表达的细胞株通过 P21/waf1 途径协同抑制肿瘤细胞生长。因此更进一步研究两者潜在的关联,明确两者的关系显得尤为重要。我们应用免疫组化方法检测两者在 NSCLC 中的表达,探讨两者的关联性及其潜在相互作用,也发现了 FHIT 和 P53 相关的现象。我们的结果表明,NSCLC 中 FHIT 蛋白表达阳性率为 42.9%,并与病理分级、TNM 分期、淋巴结转移相关;突变型 P53 蛋白表达阳性率为 52.4%,与 TNM 分期和淋巴结转移相关,但与病理分级无关。值得注意的是 63 例 NSCLC 组织中两者表达相关($P=0.034$),当 FHIT 阳性表达时,突变型 P53 阳性率下降,反之 FHIT 阴性表达时,突变的无功能的 P53 阳性率上升($r=0.258, P<0.05$)。由此我们认为,P53 突变和 FHIT 表达下调对肺癌发生、发展可能起重要作用,

两者在 NSCLC 中的表达呈负相关。因此,在 NSCLC 病变过程中两条途径可能同时存在,并可能相互交叉。通过明确两种抑癌基因的相互关系,将为今后进一步寻找两者协调作用的关键位点指明方向,为阐明抑癌基因发挥作用的网络途径,以及最终攻克肺癌奠定基础。

【参考文献】

- [1] Cavazzoni A, Galetti M, Fumarola C, et al. Effect of inducible FHIT and p53 expression in the Calu-1 lung cancer cell line[J]. *Cancer Lett*, 2007, 246(1-2): 69-81.
- [2] Chang YL, Wu CT, Shih JY, et al. Roles of Fhit and p53 in Taiwanese surgically treated non-small-cell lung cancers[J]. *Br J Cancer*, 2003, 89(2): 320-326.
- [3] Galmarini CM, Kamath K, Vanier-Viornery A, et al. Drug resistance associated with loss of p53 involves extensive alterations in microtubule composition and dynamics[J]. *Br J Cancer*, 2003, 88(11): 1793-1799.
- [4] Nishizaki M, Sasaki J, Fang B, et al. Synergistic tumor suppression by coexpression of FHIT and p53 coincides with FHIT-mediated MDM2 inactivation and p53 stabilization in human non-small cell lung cancer cells[J]. *Cancer Res*, 2004, 64(16): 5745-5752.

编辑 袁天峰

·经验交流· 文章编号 1000-2790(2007)09-0842-01

钙化型脾结核超声表现 1 例

蔡江涛¹, 李建武², 白梅¹, 张越¹, 危红莉¹, 刘超¹ (武警陕西总队医院: 1 特诊科, 2 外二科, 陕西西安 710054)

【关键词】超声 脾脏 钙化

【中图分类号】R445.1 【文献标识码】B

1 临床资料 患者,女,72岁,来院行正常体检。查体:体温正常,血压 120/80 mmHg,心率 70 次/min,心肺未闻及异常,肝脾未触及,心电图正常,实验室检查:Hb 124 g/L, RBC $4.6 \times 10^{12}/L$, WBC $5.9 \times 10^9/L$ 。超声检查:脾脏大小正常,包膜光滑完整,脾脏实质内可见大量 2~3 mm 不均匀分布的强回声光点,后伴弱声影。肝、胆、胰、双肾未见异常。彩色多普勒血流显像:脾脏实质内未见血流。详细追问病史,患者幼年时曾与肺结核患者共同居住,但患者目前无异常症状。超声诊断:脾脏多发钙化灶,结合临床考虑钙化型脾结核。行 X 线检查:右上肺可见少量散在点片状高密度影。X 线诊断:陈旧性肺结核。

收稿日期 2007-03-09; 接受日期 2007-03-21

作者简介:蔡江涛,本科,住院医师。Tel (029) 82245128 Email:caijiangtao@tom.com

2 讨论 脾结核为临床少见的腹腔内脏器官结核,临床分为原发型和继发型两类,依据病理类型分为粟粒型、干酪坏死型、钙化型三类^[1]。不同阶段超声声像图表现不同。钙化型脾结核是结核菌通过血液或淋巴循环侵及到网状内皮系统,引起深部脏器病变,多年后形成钙化灶。超声表现为脾脏大量强回声光点。此种患者均为幼年时患过原发型肺结核后痊愈,临床无症状,多在正常查体时发现。超声检查能清晰显示脾结核的各种表现,并能反复检查对照,为临床治疗提供可靠的依据。



图 1 钙化型脾结核表现为脾脏多发钙化灶

【参考文献】

- [1] 刘爱民,雷得安. 脾结核的诊断与治疗[J]. *中国综合临床*, 2003, 19(4): 323.

编辑 王睿