

# 非小细胞肺癌中 p65 和 C-myc 的表达及意义

李奇志<sup>1</sup>, 张胜名<sup>2</sup>, 毛永荣<sup>1</sup>, 吴建平<sup>1</sup>, 吴昌明<sup>1</sup>, 罗萍<sup>1</sup>, 刘铭球<sup>2</sup>, 李蓓云<sup>2</sup>

## Expression and implication of p65 and C-myc proteins in non-small cell lung carcinoma

LI Qi-zhi, ZHANG Shen-g-ming, MAO Yong-rong, et al

Hubei Cancer Hospital, Wuhan 430079, China

**Abstract: Objective** To study the expression of protein p65 and C-myc in non-small cell lung carcinoma (NSCLC) and their mutual correlations and implication. **Methods** In 11 normal bronchial epithelium and 40 NSCLC, two immunohistochemical methods were used to monitor the expression of p65 and C-myc proteins, and the relationship between results and clinical pathological characteristics were analyzed. **Results** The positive expression rates of p65 and C-myc proteins in lung cancer tissues were quite significantly different from those in normal bronchial epithelium ( $P < 0.01$ ); the expression of p65 and C-myc proteins were not correlated with type and differentiation degree of lung cancer tissues, as well as it was not correlated with transferred lymph node. In lung cancer, p65 was correlated with C-myc positively (Pearson correlation coefficient = 0.4143,  $P < 0.01$ ). **Conclusion** Upregulation of p65 and C-myc protein expression in NSCLC manifest that it can promote lung carcinoma genesis by suppressing lung cancer cell apoptosis.

**Keywords:** Lung tumor; p65; C-myc; Immunohistochemistry

**摘要:**目的 探讨 p65 和 C-myc 蛋白在非小细胞肺癌 (NSCLC) 组织中的表达及临床意义。方法 在肺支气管粘膜上皮不典型增生 11 例、NSCLC 40 例中,用免疫组化二步法检测 p65 和 C-myc 蛋白的表达,并将结果进行相关分析。结果 p65 和 C-myc 蛋白在肺癌组织中的表达与在肺支气管粘膜上皮不典型增生的表达比较差异均有显著性 ( $P < 0.01$ ); p65 和 C-myc 蛋白在肺癌的表达与肺癌组织类型、分化及转移无关 ( $P > 0.05$ ); 肺癌中 p65 与 C-myc 的表达具有相关性 (Pearson 列联系数 = 0.4143,  $P < 0.01$ )。结论 p65 和 C-myc 蛋白在 NSCLC 组织中表达上调,提示可能通过抑制肺癌细胞凋亡,对肺癌的发生发展起重要促进作用。

**关键词:** 肺肿瘤; p65; C-myc; 免疫组化

中图分类号: R734.2 文献标识码: A 文章编号: 1000-8578 (2003) 05-0359-02

## 0 引言

肺癌为当前世界各地最常见的恶性肿瘤之一,而肺癌的病因和发病机制尚未明确。从分子生物学角度看,细胞癌变是多因素、多阶段、多基因变异的结果。这些改变除与癌基因被激活和抑癌基因失活有关外,生长调控失衡是肺癌发生、发展的另一个重要特征。为了解肺癌中生长调控的相关基因的表达情况,我们进行如下研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 病例选择

所有检测标本为湖北省肿瘤医院 1998 年 1 月

至 2002 年 10 月间病理科存档蜡块,所有患者术前未接受放疗、化疗,诊断均常规病理切片证实,共收集 51 例标本,其中男性 44 例,女性 7 例,年龄 33 ~ 72 岁,平均年龄 58.6 岁,其中肺支气管粘膜上皮不典型增生 11 例,非小细胞肺癌 (NSCLC) 40 例按病理学类型分鳞癌 26 例,腺癌 14 例;按组织分化程度分高分化肺癌 16 例,中分化肺癌 11 例,低分化肺癌 13 例;按有无淋巴结转移分有淋巴结转移的 21 例,无淋巴结转移的 19 例。

### 1.2 方法

采用免疫组化二步法,微波抗原修复,应用 DAB 溶液显色,苏木素复染,阴性对照以 PBS 代替一抗,具体实验步骤参照免疫组化二步法说明。

### 1.3 结果判断

p65 和 C-myc 阳性位于细胞浆及细胞核,呈棕黄色颗粒状。高倍镜下取 5 个不同视野,各计数

收稿日期: 2003-05-09; 修回日期: 2003-05-29

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (39870305)

作者单位: 1. 430079 武汉,湖北省肿瘤医院头颈外科;

2. 武汉大学医学院病理教研室

200 个细胞,按阳性细胞所占的百分率分为“阴性”~“阳性”。阳性细胞 <10% 为阴性,阳性细胞 >10% 为阳性<sup>[1]</sup>。实验时,均设立阳性及阴性对照。

#### 1.4 统计学处理

统计方法采用  $\chi^2$  检验和 Pearson 列联系数相关分析。

## 2 结果

### 2.1 p65 和 C-myc 蛋白在肺癌组织中的表达

p65 和 C-myc 蛋白阳性位于细胞浆及细胞核,呈棕黄色颗粒状。p65 和 C-myc 蛋白在肺癌组织中的表达与肺支气管粘膜上皮不典型增生中的表达差异均有显著性 ( $P < 0.05$ )。

### 2.2 p65 和 C-myc 蛋白在不同组织学类型、不同分化程度和有或无淋巴结转移的肺癌组织中的表达

p65 和 C-myc 蛋白在肺鳞癌与肺腺癌的同类癌蛋白阳性表达之间比较差异均无显著性 ( $P > 0.05$ );在肺癌中高、中、低分化阳性表达,两两相比差异均无显著性 ( $P > 0.05$ );伴有淋巴结转移的肺癌组织与无淋巴结转移的肺癌组织同类癌蛋白阳性表达之间比较差异均无显著性 ( $P > 0.05$ )。推测 p65 和 C-myc 蛋白在肺癌的表达与肺癌组织类型、分化及转移无关。

### 2.3 p65 和 C-myc 蛋白相互关系

肺癌中 p65 与 C-myc 共同阳性表达者有 22 例,共同阴性表达者有 7 例,p65 与 C-myc 的 Pearson 列联系数 = 0.4143,  $P = 0.00399$ ,两者具有相关性 ( $P < 0.01$ ),见表 1。

表 1 肺癌中 p65 和 C-myc 蛋白的阳性表达

| 病理学特征         | n  | p65 表达 |         | C-myc 表达 |         |
|---------------|----|--------|---------|----------|---------|
|               |    | 阳性例数   | 阳性率 (%) | 阳性例数     | 阳性率 (%) |
| 病理类型          |    |        |         |          |         |
| 肺支气管粘膜上皮不典型增生 | 11 | 4      | 36.36   | 3        | 27.27   |
| 肺癌            | 40 | 32     | 80.00 * | 23       | 57.50 # |
| 组织学分类         |    |        |         |          |         |
| 鳞癌            | 26 | 21     | 80.77   | 15       | 57.69   |
| 腺癌            | 14 | 11     | 78.57   | 8        | 57.14   |
| 分化程度          |    |        |         |          |         |
| 高分化           | 16 | 12     | 75.00   | 9        | 56.25   |
| 中分化           | 11 | 9      | 81.82   | 6        | 54.55   |
| 低分化           | 13 | 11     | 84.62   | 8        | 61.54   |
| 转移情况          |    |        |         |          |         |
| 无             | 19 | 15     | 78.95   | 10       | 52.63   |
| 有             | 21 | 17     | 88.95   | 13       | 61.90   |

\*  $\chi^2 = 7.91, P = 0.004428$ , #  $\chi^2 = 3.88, P = 0.020586$

## 3 讨论

NF- $\kappa$ B 是一类具有多向性转录调节作用的核蛋白因子,通常由 p50 和 p65 组成异源二聚体,体内实验表明二者以异二聚体形式结合才具有活性,且受上游被称作丝裂原激活蛋白激酶家族 (MAPK-KKK) MEKK1 及 NF- $\kappa$ B 诱导激酶 (NIK) 的调控,细菌毒素、细胞因子、病毒等刺激因子激活 NF- $\kappa$ B 使其由细胞质进入细胞核内<sup>[2]</sup>,然后与靶基因的基因序列上存在的 NF- $\kappa$ B 结合位点结合,促进靶基因的转录,包括参与多种调控凋亡基因和增生相关基因的转录,在肿瘤的发生发展过程中发挥重要作用。

本实验研究发现,p65 在肺鳞癌中的阳性表达与腺癌中的阳性表达差异无显著性 ( $P > 0.05$ );肺癌中伴有淋巴结转移者 p65 蛋白阳性表达与无淋巴结转移者比较差异无显著性 ( $P > 0.05$ );p65 蛋白在肺癌中高、中、低分化阳性表达,两两相比差异无显著性 ( $P > 0.05$ )。表明 p65 在肺癌中的表达与肺癌组织类型、分化及转移无关。p65 在肺癌中的表达显著高于肺支气管粘膜上皮不典型增生的表达 ( $P < 0.05$ ),表明肺癌组织中 p65 表达上调,提示细胞增生旺盛及癌变可能。这与大多数学者研究结果相同,认为 P65 在肿瘤组织中表达上调,高于正常对照组织,其可能通过转录凋亡调控基因和转录增生相关基因,参与细胞增生和凋亡的调控,在肿瘤的发生发展过程中发挥重要作用<sup>[3]</sup>。

C-myc 是一种原癌基因,在调节 DNA 合成、细胞凋亡、分化及细胞周期的进行中起重要作用,许多证据支持该基因是决定细胞从 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期进入 S 期的开关<sup>[4]</sup>。C-myc 蛋白是一种螺旋-环-螺旋亮氨酸的拉链蛋白,相似于 USFEYE2F 蛋白质家族。C-myc 在细胞由正常转向肿瘤性生长过程中起到了至关重要的作用<sup>[5]</sup>。

本研究发现,C-myc 蛋白在肺鳞癌中的阳性表达与腺癌中的阳性表达差异无显著性 ( $P > 0.05$ );肺癌伴有淋巴结转移者 C-myc 蛋白阳性表达与无淋巴结转移者比较差异无显著性 ( $P > 0.05$ );C-myc 蛋白在肺癌中高、中、低分化的阳性表达两两比较均无显著性差异 ( $P > 0.05$ )。提示 C-myc 表达与肺癌组织类型、分化及转移无关 ( $P > 0.05$ )。肺癌中 C-myc 蛋白的表达明显高于肺支气管粘膜上皮不典型增生 ( $P < 0.01$ ),提示 C-myc 表达上调可能与肺癌的发生有关,已有研究表明,在多种肿瘤中 C-myc 蛋白和 mRNA 水平均过度表达<sup>[6]</sup>。

本研究中还发现肺癌中 p65 与 C-myc 具有相关性,表明 p65 与 C-myc 在肺癌发生、发展中具有

(下转第 363 页)

表达,其过表达与结肠癌、头颈部肿瘤、肺癌、前列腺癌、胃癌、乳腺癌等肿瘤的浸润、淋巴结转移和预后不良有关<sup>[8]</sup>。本研究发现,COX-2 在胰腺癌中的表达率为 74.5%,而在癌旁的非肿瘤胰腺组织中未见表达;COX-2 的表达与病理学分级无关 ( $P > 0.05$ ),而与临床分期和淋巴结转移呈密切正相关 ( $P < 0.05$ )。由此可见,COX-2 可能在胰腺癌的发生、发展、肿瘤的浸润和转移中起重要作用,COX-2 的过表达可能是反映胰腺癌预后的有用指标。最近研究表明,COX-2 可能通过以下机制参与肿瘤形成,如促进前列腺素的合成,促进血管生成,抑制机体免疫监视功能,阻止细胞凋亡等<sup>[9]</sup>。至于哪种机制在胰腺癌的形成中起重要作用尚需进一步研究。

我们的研究发现,iNOS 的表达与 COX-2 的表达存在着相关性。最近有研究表明,由 iNOS 诱导生成的 NO 通过激活 COX-2 的活性来促进血管的生成<sup>[10]</sup>。Rao 等<sup>[11]</sup>联合应用 iNOS 的抑制剂 SC-51 和 COX-2 的选择性抑制剂 Celecoxib 比单独应用二者更能有效的阻止结肠粘膜上 COX-2。因而我们认为,iNOS 和 COX-2 在肿瘤的血管生成和肿瘤的浸润、转移中可能起协同作用。iNOS 和 COX-2 抑制剂在胰腺癌的治疗中具有潜在的应用价值。

参考文献:

[1] Vakkala M, Kahlos K, Lakari E, et al. Inducible nitric oxide synthase expression, apoptosis, and angiogenesis in situ and in invasive breast carcinomas [J]. Clin Cancer Res, 2000, 6 (6): 2408-2416.

[2] Moran EM. Epidemiological and clinical aspects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and cancer risks [J]. J Environ Pathol Toxicol Oncol, 2002, 21 (2): 193-220.

[3] Hao XP, Pretlow TG, Rao JS, et al. Inducible nitric oxide synthase (iNOS) is expressed similarly in multiple pleomorphic types of colorectal tumors from the same patients [J]. Cancer Res, 2001, 61 (2): 419-422.

[4] Shochina M, Fellig Y, Shugay M, et al. Nitric oxide synthase immunoreactivity in human bladder carcinoma [J]. Mol Pathol, 2001, 54 (4): 248-252.

[5] Rahman MA, Dhar DK, Yamaguchi E, et al. Coexpression of inducible nitric oxide synthase and COX-2 in hepatic cellular carcinoma and surrounding liver: possible involvement of COX-2 in the angiogenesis of the hepatitis C virus-positive cases [J]. Clin Cancer Res, 2001, 7 (5): 1325-1332.

[6] Ekmekcioglu S, Ellerhorst J, Smid CM, et al. Inducible nitric oxide synthase and nitrotyrosine in human metastatic melanoma tumors correlate with poor survival [J]. Clin Cancer Res, 2000, 6 (12): 4768-4775.

[7] Ristimaki A, Sivula A, Lundin J, et al. Prostaglandin synthase expression is associated with elevated cyclooxygenase-2 expression in breast cancer [J]. Cancer Res, 2002, 62 (3): 632-635.

[8] Costa C, Soares R, Reis-Filho JS, et al. Cyclooxygenase-2 expression is associated with angiogenesis and lymph node metastasis in human breast cancer [J]. J Clin Pathol, 2002, 55 (6): 429-434.

[9] Xu XC. COX-2 inhibitors in cancer treatment and prevention, are recent developments [J]. Anticancer Drugs, 2002, 13 (2): 127-137.

[10] Lala PK, Chakraborty C. Role of nitric oxide in carcinogenesis and tumor progression [J]. Lancet Oncol, 2001, 2 (3): 149-156.

[11] Rao CV, Indranie C, Simi B, et al. Chemopreventive properties of a selective inducible nitric oxide synthase inhibitor in colon carcinogenesis, administered alone or in combination with celecoxib, a selective cyclooxygenase-2 inhibitor [J]. Cancer Res, 2002, 62 (1): 165-170.

(刘红武校对)

(上接第 360 页)

协同作用,推测 NF- $\kappa$ B 通过上调增生相关基因 C-myc 的表达,抑制细胞凋亡和促进细胞增生,从而加速肺癌组织的恶变,导致肿瘤的发生,且 C-myc 基因序列上也存在 NF- $\kappa$ B 结合位点<sup>[7]</sup>,可见 C-myc 是 NF- $\kappa$ B 的靶基因。总之,p65 和 C-myc 蛋白在肺癌中的表达上调,提示癌基因异常表达,导致细胞增殖失控和细胞凋亡障碍,在肿瘤的发生发展过程中发挥重要作用。p65 和 C-myc 的生理功能以及在肿瘤中的作用等问题均都有待进一步研究。

参考文献:

[1] 陈洪雷,刁路明,刘铭球,等.大鼠肺癌侵袭转移中明胶酶 A 及其抑制剂的动态表达 [J]. 中华肿瘤杂志, 2002, 24 (2): 118-122.

[2] Jalen DC, Shenmin Y, David WG. A poptosis induced by the nuclear death domain protein p84N5 is associated with caspase-6 and NF- $\kappa$ B activation [J]. J Biol Chem, 2000, 275 (19): 25336-25834.

[3] Carsten G, Katja S, Andreas RG, et al. Luteinizing hormone-releasing hormone induces nuclear factor- $\kappa$ B activation and inhibits apoptosis in ovarian cancer cells [J]. JCEM, 2000, 85 (10): 3815-3820.

[4] Wan g Q, Lin ZY, Feng XL. Alterations in metastatic properties of hepatocellular carcinoma cell lines following goncogenetransection [J]. World J Gastroenterol, 2001, 7 (3): 335-339.

[5] Brabletz T, Herrmann K, Jung A, et al. Expression of nuclear beta-catenin and C-myc is correlated with tumor size but not with proliferative activity of colorectal adenomas [J]. Am J Pathol, 2000, 156 (7): 865-870.

[6] Xu AG, Li SG, Liu JH, et al. Function of poptosis and expression of the proteins Bcl-2, p53 and C-myc in the development of gastric cancer [J]. World J Gastroenterol, 2001, 7 (3): 403-406.

[7] Sunil KM, Valsala H, Bharat BA. Bcl-2 expression suppresses TNF-mediated apoptosis and activation of nuclear factor- $\kappa$ B, activation protein-1, and c-Jun N-terminal kinase [J]. J InterCK Res, 2000, 20 (5): 725-735.

(周永红校对)