

p21^{WAF1/CIP1} 在原发性肺癌中的表达

张 旃¹, 李清泉², 杨 炯²

摘要: 目的 探讨 p21^{WAF1/CIP1} 在肺癌中的生物学功能。方法 用免疫组化法检测 62 例肺癌和 14 例正常肺组织石蜡切片 p21^{WAF1/CIP1} 的染色强度。结果 1. p21^{WAF1/CIP1} 定位于细胞核或细胞浆。2. 小细胞肺癌与非小细胞肺癌中核 p21^{WAF1/CIP1} 表达存在显著性差异 ($P < 0.005$), 浆 p21^{WAF1/CIP1} 则不存在显著性差异 ($P < 0.005$)。3. 核与浆 p21^{WAF1/CIP1} 表达的对比在高、低分化肺癌中具有显著性差异 ($P < 0.05$)。结论 肺癌细胞 p21^{WAF1/CIP1} 的生物学功能可能依其定位、量表达的高低及组织学类型的不同而存在差异。

关键词: p21^{WAF1/CIP1}; 肺肿瘤

中图分类号: R 734.202 文献标识码: A 文章编号: 1000-8578(2001)04-0281-03

The Expression of p21^{WAF1/CIP1} in the Primary Lung Cancer

ZHANG Zhan, LI QIN-quan, YANG Jiong

Department of Second Medicine, Guang Dong Province 177 Hospital, Guangzhou 510317, China

Abstract: **Objective** To explore the biological function of p21^{WAF1/CIP1} in the lung cancer. **Methods** p21^{WAF1/CIP1} expression was immunohistochemically analyzed in paraffin-embedded sample from 76 patients with surgically resected and fiberoptic bronchoscopy biopsy lung diseases, including 62 lung cancer samples and 14 normal lung tissue samples. **Results** 1. p21^{WAF1/CIP1} was located either in the cell nuclear or in the cell plasma. 2. Not plasma but nuclear p21^{WAF1/CIP1} expression was significantly different between SCLC and NSCLC, while neither of them was correlate with other clinical parameter of lung cancer. 3. Nuclear p21^{WAF1/CIP1}/plasma p21^{WAF1/CIP1} was related to the differentiation of lung cancer. **Conclusion** The biological function of nuclear p21^{WAF1/CIP1} and plasma p21^{WAF1/CIP1} may depended on their site, quantities and histologic tumor classification of lung cancer.

Key words: p21^{WAF1/CIP1}; lung cancer

p21^{WAF1/CIP1} 具有细胞周期阻滞、细胞分化、老化等抑制细胞增殖的效应^[1-3], 但也有研究显示 p21^{WAF1/CIP1} 可能具有促进细胞增殖的作用^[4]。本文检测了肺癌中 p21^{WAF1/CIP1} 的表达并探讨了肺癌中 p21^{WAF1/CIP1} 的生物学功能, 以期能为 p21^{WAF1/CIP1} 能否用于肺癌的治疗提供理论基础。

1 材料和方法

1.1 临床及病理资料 本研究包括湖北医科大学附属一医院及二医院 1995 年 7 月至 1999 年 6 月病理诊断为肺癌的 62 例样本以及 14 例肺正常组织样本, 其中 60 例 (79.0%) 为外科学术切除样本, 16 例 (21.0%) 为纤支镜活检样本。肿瘤样本均为原发性

肺癌, 组织学分型依赖于样本中的优势类型, 包括 28 例鳞癌, 17 例腺癌, 12 例小细胞癌和 5 例大细胞癌。肺癌临床分期依据世界抗癌联盟 (UICC) 1988 年所定的 TNM 系统分期法, 隐匿性转移依赖于临床检查 (头颅 CT, ECT 及腹腔 B 超、CT 检查)。患者的平均年龄为 56 岁 (从 18~74 岁)。

1.2 试剂 p21^{WAF1/CIP1} 一抗及免疫组化 S-P 法试剂盒购自福州迈新生物技术公司。

1.3 方法 全部病例均经 10% 福尔马林液固定, 石蜡包埋制成 4 μ m 切片。采用免疫组化 S-P 法染色, 微波抗原修复, DAB 显色。PBS 代替一抗作阴性对照。

1.4 结果判断 p21^{WAF1/CIP1} 蛋白染色阳性判断标准参照 Stein JP^[5], 计数连续 5 个高倍镜视野中染成黄褐色的阳性细胞所占比例。用半定量法评定样本分级 (0~2+), 虽然观察到样本中染色密度并不均衡, 但所有的阳性样本至少在局部显示不同程度

收稿日期: 2000-06-14; 修回日期: 2001-04-02

作者单位: 1. 510317 广州, 广东省 177 医院二内科; 2. 湖北医科大学附属第一医院呼吸内科

的强染色。等级 0、1+、2+ 分别对应 p21^{WAF1/CIP1} 无表达 (<10%)、低表达 (10% ~ 50%)、以及高表达 (>50%)。所有的阴性和阳性样本在定级之前均分批观察比较。所有样本均由 2 个独立的不知道样本临床资料的观察者评估。

1.5 统计学处理 采用 χ^2 检验, 显著性意义水平定为双向 $P < 0.05$ 。

2 结果

62 例肺癌样本有 4 例 p21^{WAF1/CIP1} 表达弱阳性, 49 例表达强阳性。p21^{WAF1/CIP1} 在肺癌细胞核及细胞浆中都有表达, 49 例 (79.0%) 核 p21^{WAF1/CIP1} 表达阳性, 其中 12 例为 1+, 37 例为 2+, 浆 p21^{WAF1/CIP1} 48 例表达阳性 (占 77.4%), 其中 8 例为 1+, 40 例为 2+, 而正常组织核、浆 p21^{WAF1/CIP1} 均表达阴性 (见表 1), 核或浆 p21^{WAF1/CIP1} 在肺癌的表达显著高于正常肺组织 ($P < 0.05$)。核 p21^{WAF1/CIP1} 在非小细胞肺癌中多呈高表达, 在小细胞肺癌中多呈低表达, 二者具有显著性差异 ($P < 0.005$), 见表 2。单独的核或浆 p21^{WAF1/CIP1} 表达与肺癌分化程度均无显著性相关, 但高分化肺癌中 p21^{WAF1/CIP1} 浆表达多高于核表达, 低分化肺癌中 p21^{WAF1/CIP1} 浆表达多低于核表达, 二者具有显著性差异 ($P < 0.05$)。核或浆 p21^{WAF1/CIP1} 表达与肺癌的肿瘤大小、淋巴结转移状态以及肺癌临床分期无显著性相关 ($P < 0.05$), 见表 3、4。

表 1 核 p21、浆 p21 在肺癌及肺正常组织中的表达

	p21			核 p21			浆 p21			合计
	1	1+	2+	1	1+	2+	1	1+	2+	
肺癌	9	4	49	13	12	37	14	8	40	62
正常肺组织	14	0	0	14	0	0	13	1	0	14
合计	23	5	49	27	12	37	27	9	40	76
P 值	<0.05			<0.05			<0.05			

表 2 SCLC 和 NSCLC 中核 p21 的强弱表达

肺癌组织学类型	核 p21		合计	P 值
	1+	2+		
NSCLC	7	35	42	<0.005
SCLC	5	2	7	
合计	12	37	49	

3 讨论

p21^{WAF1/CIP1} 具有介导细胞的生长停滞及抑制 DNA 的复制、促进损伤的细胞进行修复的效应^[1-3], 这些生物学效应的发挥与 p21^{WAF1/CIP1} 细胞核定位有关。Asada 等^[6] 研究发现外周血单核细胞和用 VitD₃ 处理的 U937 细胞中 p21^{WAF1/CIP1} 可定位于细胞浆, 认为这种胞浆定位可促进分化并具有抑制凋亡的作用。本研究用免疫组化法检测肺癌组织中核

p21^{WAF1/CIP1} 的表达时也发现了 p21^{WAF1/CIP1} 的胞浆定位, 我们同时检测了肺癌组织中核、浆 p21^{WAF1/CIP1} 的表达并分析了其临床意义。62 例肺癌样本中核和浆 p21^{WAF1/CIP1} 的阳性表达率显著高于正常肺组织中的表达 ($P < 0.05$), 提示核和浆 p21^{WAF1/CIP1} 可能都参与了肺癌的发生和进展过程。在 40 例浆 p21^{WAF1/CIP1} 强阳性表达的肺癌样本中只有 29 例核 p21^{WAF1/CIP1} 表达强阳性, 二者表达的不一提示肺癌细胞中核和浆 p21^{WAF1/CIP1} 功能可能存在差异。由此, 我们分别研究了核、浆 p21^{WAF1/CIP1} 表达与肺癌临床参数的相关性。

表 3 核 p21 和浆 p21 与肺癌临床参数的相关性比较

		核 p21			浆 p21			P 值
		-	1+	2+	-	1+	2+	
组织学类型	NSCLC	8	7	35	13	5	32	>0.05
	SCLC	5	5	2	1	3	8	
分化程度	I ~ II	2	4	17	3	8	12	>0.05
	III	5	6	9	5	1	14	
肿瘤大小	T ₁₋₂	4	3	17	5	2	18	>0.05
	T ₃₋₄	4	4	17	3	2	19	
淋巴结转移	N ₀	4	3	14	7	1	3	>0.05
	N ₁	4	3	18	5	2	18	
病理分期	I ~ II	1	5	13	5	0	14	>0.05
	III ~ IV	5	5	18	9	2	18	

表 4 核 p21/浆 p21 比值与肺癌分化状态的相关性比较

分化程度	核 p21/浆 p21		合计	P 值
	>1	<1		
I ~ II	12	8	20	<0.05
III	4	14	18	
合计	16	22	38	

本研究中核或浆 p21^{WAF1/CIP1} 表达与肺癌肿瘤大小、淋巴结转移状态及临床分期无显著相关, 这与 Takeshima 等^[7] 和 Caputi 等^[8] 的研究结果相似。但在非小细胞肺癌核 p21^{WAF1/CIP1} 表达较高, 小细胞肺癌核 p21^{WAF1/CIP1} 表达较低, 二者具有显著性差异。有研究显示核 p21^{WAF1/CIP1} 的生物学效应取决于 p21^{WAF1/CIP1} 蛋白的量^[1], 当核 p21^{WAF1/CIP1} 表达的量较多时阻滞细胞生长; 处于低水平表达时则促进细胞增殖。由此我们推测小细胞肺癌中核 p21^{WAF1/CIP1} 可能促进细胞增殖; 而非小细胞肺癌中核 p21^{WAF1/CIP1} 可能阻滞细胞生长, 但这需要进一步的研究以证实。Asada 等的研究显示浆 p21^{WAF1/CIP1} 表达既与细胞分化有关又和细胞凋亡抵抗关系密切^[6]。本研究中浆 p21^{WAF1/CIP1} 在小细胞肺癌和非小细胞肺癌中均有较强表达, 但在二者中的生物学功能是否一致有待于进一步的研究。

Asada 等的研究显示删除核定位信号

p21^{WAF1/CIP1} 既不能诱导单核细胞出现细胞周期停止,也不能诱导细胞分化,提示细胞分化不仅与 p21^{WAF1/CIP1} 胞浆定位有关,可能与胞核定位也有关^[6]。我们的研究结果显示尽管单独的核或浆 p21^{WAF1/CIP1} 的表达与肺癌细胞的分化程度无显著性相关,但低分化肺癌 p21^{WAF1/CIP1} 核表达多高于浆表达,而高分化肺癌中则相反,二者具有显著性差异。由此我们推测肺癌的分化程度可能由 p21^{WAF1/CIP1} 的核和浆表达共同决定,但二者在分化中所起的作用尚需作进一步的研究。

本研究结果显示,肺癌核和浆 p21^{WAF1/CIP1} 的生物学功能可能依其定位、量表达的高低及不同的组织学类型而作用不同。故以 p21^{WAF1/CIP1} 作为肿瘤抑制剂尚需要做进一步深入的研究。(本文图见封 2)

参考文献:

[1] Harper JW, Elledge SJ, Keyomarsi K, et al. Inhibition of cyclin-dependent kinases by p21[J]. Mol Biol Cell, 1995, 6 (4):387-400.
 [2] Chen J, Jackson PK, Kirchner MW, et al. Separate domains of p21 involved in the inhibition of cdk kinase and PCNA [J]. Na-

ture, 1995, 374 (6520):386-388.
 [3] Rousseau D, Cannella D, Boulaire J, et al. Growth inhibition by CDK-cyclin and PCNA binding domains of p21 occurs by distinct mechanisms and is regulated by ubiquitin-proteasome pathway [J]. Oncogene, 1999, 18 (21):3290-3320.
 [4] Welcker M, Lukas J, Strauss M, et al. p21^{WAF1/CIP1} mutants deficient in inhibiting cyclin-dependent kinases (CDKs) can promote assembly of active cyclin D/CDK4(6) complexes in human tumor cells [J]. Cancer Res, 1998, 58 (22):5053-5056.
 [5] Stein JP, Ginsberg DA, Grossfeld GD, et al. Effect of p21^{WAF1/CIP1} expression on tumor progression in bladder cancer [J]. J Natl Cancer Inst, 1998, 90 (14):1072-1079.
 [6] Asada M, Yamada T, Ichijo H, et al. (abstract) Apoptosis inhibitory activity of cytoplasmic p21 (CIP1/WAF1) in monocytic differentiation [J]. EMBO J, 1999, 18 (5):1223-1234.
 [7] Takeshima Y, Yamasaki M, Nishisaka T, et al. p21WAF1/CIP1 expression in primary lung adenocarcinomas: heterogeneous expression in tumor tissues and correlation with p53 expression and proliferative activities [J]. Carcinogenesis, 1998, 19 (10):1755-1761.
 [8] Caputi M, Esposito V, Baldi A, et al. p21waf1/cip1/mda-6 expression in non-small lung cancer: relationship to survival [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 1998, 18 (2):213-217.

(刘红武校对)

回盲部肿瘤并阑尾周围脓肿反复切开引流 2 例报告

郭永学, 刘邦芝, 陈勇军, 张煜

关键词: 回盲部肿瘤; 阑尾; 脓肿; 引流
 中图分类号: R 735.3⁺3; R 574.61 文献标识码: D
 文章编号: 1000-8578 (2001) 04-0283-01

结肠癌诱发急性阑尾炎而仅行阑尾切除术致诊治延误常见报道, 而回盲部肿瘤并阑尾周围脓肿反复切开引流少见报道, 现将我们所遇两例报道如下。

例 1: 女, 38 岁, 1999 年 3 月以“阑尾周围脓肿”非手术治疗无效在卫生院行“阑尾周围脓肿”切开引流术, 腹痛消失; 1999 年 5 月、7 月又因右下腹疼痛、包块伴发热在同一卫生院两次“阑尾周围脓肿”切开引流, 腹痛缓解, 包块未完全消失; 此后, 右下腹疼痛反复发作, 原引流处时有溢脓, 包块有所增大, 2000 年 2 月在省级医院住院半月, 行抗感染

瘻道冲洗, 腹痛缓解, 包块缩小, 因经济原因出院。2000 年 4 月 4 日因右下腹疼痛加重、发热, 以“阑尾周围脓肿、瘻管”收我院。体检: T 37.8, 右下腹见 3 个切口瘢痕, 两个引流管口肉芽组织外翻, 压时有脓液溢出, 右下腹及侧腰部触及 12cm × 8cm 包块, 边界不清, 压痛明显。CT 示: 右下腹脓肿。入院后经抗感染、瘻道置管冲洗, 症状减轻, 包块无明显缩小, 于 4 月 25 日剖腹探查见回盲部有约 8cm × 8cm × 6cm 肿块, 其周边形成 18cm × 16cm × 16cm 的腔, 腔内充满粘液及鱼肉样组织, 与原瘻道相通, 行局部肿瘤姑息性切除并置引流, 术后好转出院。病检: 粘液腺癌。

腹痛、发热在卫生院以“阑尾周围脓肿”切开引流, 术后 1 月再发右下腹痛, 原切口处红肿, 再次行脓肿切开引流。术后包块未消失, 腹痛时有发作, 症状加重 3 天来我院就诊, 因例 1 经验, 门诊钡灌肠见回盲部新生物, 于 5 月 6 日收入院。体检: T 36.60, 右下腹瘢痕处可触及 12cm × 12cm 包块, 质硬, 压痛明显。经术前准备后顺利地作了右半结肠切除术。肿块于回盲部累及升结肠, 病检为回盲部腺癌。

讨论: 结肠或回盲部肿瘤因梗阻等因素可诱发急性阑尾炎、阑尾周围脓肿。例 1 因诱发阑尾周围脓肿, 先后 3 次切开引流, 延误主要诊断达年余仅作姑息性切除; 例 2 反复切开引流两次, 幸有上例经验, 获得右侧结肠切除。临床上遇不易控制的阑尾周围脓肿, 在寻找原因中要想到有肿瘤存在可能; 凡阑尾周围脓肿经抗感染或引流症状缓解后, 仍有包块存在, 应作钡灌肠、结肠镜检查, 排除回盲部肿瘤; 必要时剖腹探查, 避免延误主要诊断而造成严重后果。

(刘红武校对)

收稿日期: 2000-08-02; 修回日期: 2000-10-12
 作者单位: 441300 湖北省随州市一医院

例 2: 女, 55 岁, 2000 年 1 月因右下

幽门螺杆菌感染与胃癌前病变及胃癌的相关性研究

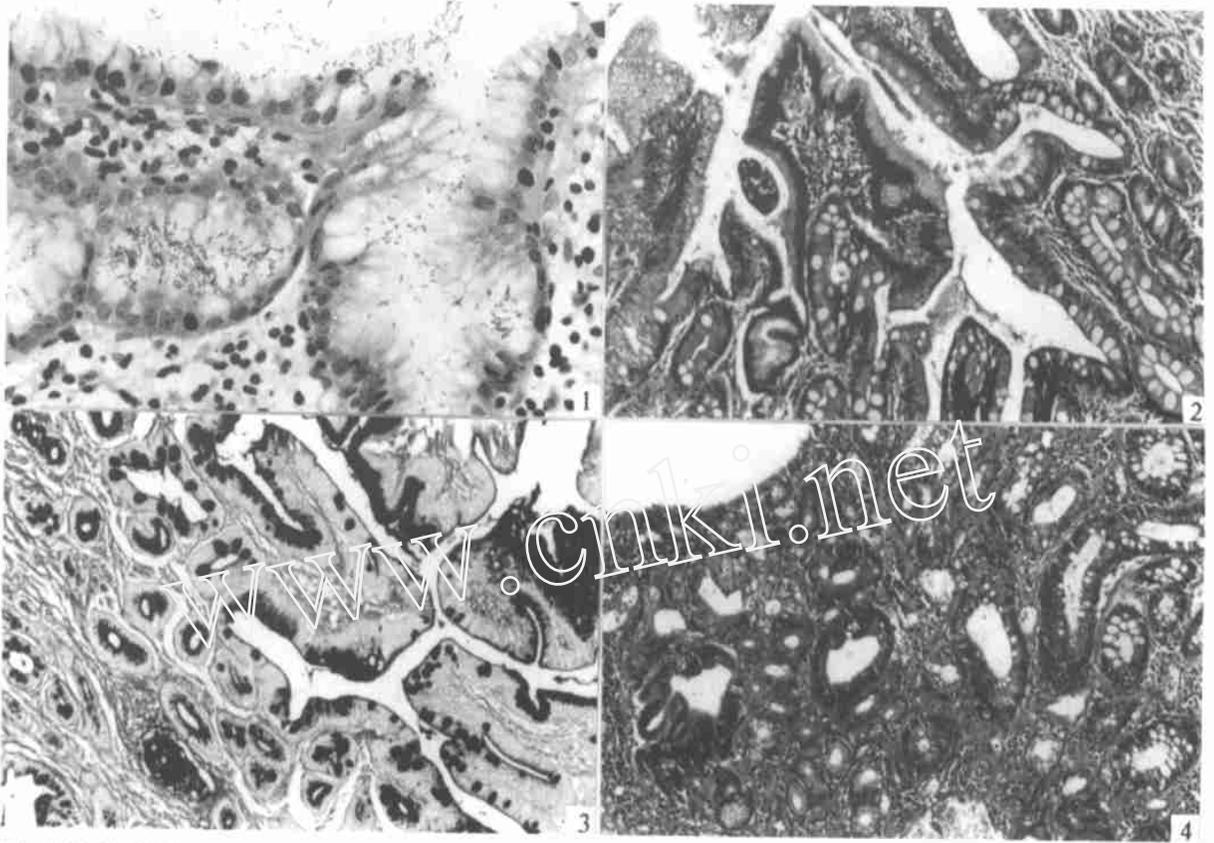


图1: 胃粘膜表面大量Hp粘附。Warthin-Starry染色。×132

图2: Hp感染的胃粘膜Ⅲ型肠上皮化生。HE染色。×132

图3: Hp感染的胃粘膜Ⅲ型肠上皮化生。HID-AB(pH2.5)-PAS染色。×132

图4: Hp感染的胃粘膜上皮不典型增生Ⅱ级。HE染色。×66

p21^{WAF1/CIP1}在原发性肺癌中的表达

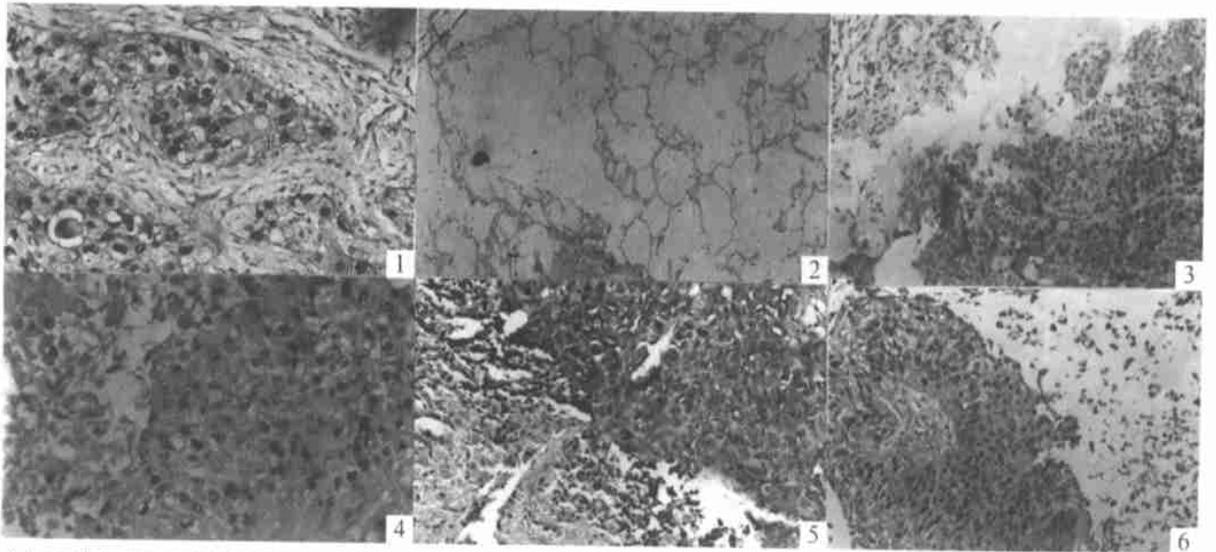


图1: p21^{WAF1/CIP1}蛋白在肺癌细胞核和胞浆的定位, 示核、浆呈黄褐色。(S-P法, ×200)

图2: 核、浆p21^{WAF1/CIP1}在正常肺组织中呈阴性表达。(S-P法, ×200)

图3: 核p21^{WAF1/CIP1}在小细胞肺癌呈弱阳性表达。(S-P法, ×200)

图4: 核p21^{WAF1/CIP1}在非小细胞肺癌呈强阳性表达。(S-P法, ×200)

图5: 高分化肺癌核p21^{WAF1/CIP1}表达低于浆p21^{WAF1/CIP1}。(S-P法, ×200)

图6: Ⅱ级分化肺癌核p21^{WAF1/CIP1}高于浆p21^{WAF1/CIP1}。(S-P法, ×200)