

[文章编号] 1674-8115(2011)03-0295-04

· 论著 ·

## p21、p53 和 c-erbB-2 在非小细胞肺癌组织中的表达及临床意义

宋懿懿，顾爱琴，韩宝惠

(上海交通大学附属胸科医院肺内科，上海 200030)

**[摘要]** 目的 探讨 p21、p53 和 c-erbB-2 在非小细胞肺癌(NSCLC)组织中的表达及其临床意义。方法 收集经手术后病理学检查确诊的 207 例 NSCLC 患者的临床资料和存档石蜡组织标本。免疫组织化学方法检测肿瘤组织中 p21、p53 和 c-erbB-2 蛋白的表达情况，分析 p21、p53、c-erbB-2 蛋白表达的相关性及其与患者临床病理学特征的关系。结果 NSCLC 组织中 p21 与 p53 表达呈显著正相关( $r=0.245, P<0.01$ )。207 例 NSCLC 组织标本中，p21、p53 和 c-erbB-2 的阳性表达率分别为 54.11%、38.16% 和 32.85%，其中低、中分化及有淋巴结转移患者明显高于高分化和无淋巴结转移患者( $P<0.05$ )。p21 和 p53 阳性表达率在有吸烟史、中央型和鳞癌患者中较高；c-erbB-2 阳性表达率在女性、无吸烟史、周围型和腺癌患者中较高( $P<0.05$ )。肿瘤组织中 p21、p53 和 c-erbB-2 表达阳性的患者 5 年生存率显著低于表达阴性的患者( $P<0.05$ )。结论 p21、p53 和 c-erbB-2 可能在 NSCLC 的发生和发展过程中起重要作用，可作为判断 NSCLC 患者预后的参考性指标。

**[关键词]** p21；p53；c-erbB-2；非小细胞肺癌

[DOI] 10.3969/j.issn.1674-8115.2011.03.010

[中图分类号] R734.2

[文献标志码] A

## Expression of p21, p53 and c-erbB-2 in tissues of non-small cell lung cancer and its clinical significance

SONG Yi-yi, GU Ai-qin, HAN Bao-hui

(Department of Respiratory Medicine, Shanghai Chest Hospital, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200030, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the expression of p21, p53 and c-erbB-2 in tissues of non-small cell lung cancer (NSCLC), and explore its clinical significance. **Methods** The clinical data and paraffin tissue samples of 207 patients with NSCLC confirmed by postoperative pathology were collected. The expression of p21, p53 and c-erbB-2 protein in tissues of NSCLC was detected by immunohistochemical method, the correlation among the expression of p21, p53 and c-erbB-2 protein was analysed, and the relationship between the expression of p21, p53 and c-erbB-2 protein and clinicopathological characteristics was explored. **Results** The expression of p21 was significantly positively related to that of p53 in tissues of NSCLC ( $r=0.245, P<0.01$ ). The positive expression rates of p21, p53 and c-erbB-2 in tissues of NSCLC were 54.11%, 38.16% and 32.85%, respectively in 207 patients, and patients with poor differentiation, medium differentiation and lymph node metastasis had significantly higher expression than those with high differentiation and no lymph node metastasis ( $P<0.05$ ). Patients with history of smoking, central type and squamous carcinoma had higher positive expression rates of p21 and p53, and females and those with no history of smoking, peripheral type and adenocarcinoma had higher expression rates of c-erbB-2 ( $P<0.05$ ). The 5-year survival rates of patients with positive expression of p21, p53 and c-erbB-2 in tissues of NSCLC were significantly lower than those with negative expression ( $P<0.05$ ). **Conclusion** p21, p53 and c-erbB-2 may play important roles in development and progression of NSCLC, which may serve as predictors for prognosis.

**[Key words]** p21；p53；c-erbB-2；non-small cell lung cancer

肺癌是临床常见的恶性肿瘤，现已成为人类因癌症死亡的主要原因之一。已证实 p21、p53 和 c-erbB-2 蛋白在非小细胞肺癌 (non-small cell lung

cancer, NSCLC) 肿瘤组织中表达上调。研究<sup>[1]</sup>显示，p21 基因是细胞周期抑制蛋白 CIP 家族中的一员，它与肿瘤的生长、浸润和转移有关，具有预测预

[作者简介] 宋懿懿(1979—)，女，住院医师，硕士生；电子信箱：lygasong@msn.com。

[通信作者] 顾爱琴，电子信箱：guaiqin11@126.com。

后的作用。p53 是抑癌基因, 参与细胞生长的负调控和抑制肿瘤细胞的生长, 与细胞的程序性凋亡密切相关; p53 发生突变则可阻止凋亡, 促进增殖<sup>[2]</sup>。c-erbB-2是原癌基因, 参与肿瘤的血管形成、侵袭和转移<sup>[3]</sup>。本研究应用免疫组织化学方法检测 NSCLC 肿瘤组织中 p21、p53 和 c-erbB-2 的表达, 并探讨三者间的关系及其与 NSCLC 患者临床病理学特征以及预后的关系。

## 1 对象与方法

### 1.1 病例和标本

收集 2003 年 7 月—2004 年 12 月上海交通大学附属胸科医院收治的由术后病理学检查确诊的 NSCLC 患者资料及存档石蜡组织标本。患者均无远处转移, 且术前均未接受化疗、放疗或其他抗癌治疗。在入选的 207 例患者中, 男性 132 例, 女性 75 例; 年龄 25 ~ 71 岁, 中位年龄 52 岁; 无吸烟史 102 例, 有吸烟史 105 例; 腺癌 92 例, 鳞癌 76 例, 腺鳞癌 39 例; 中央型肺癌 87 例, 周围型肺癌 120 例; 无淋巴结转移 97 例, 有淋巴结转移 110 例; 高分化 43 例, 中分化 105 例, 低分化 59 例; 生存时间 <5 年 110 例, ≥5 年 97 例。肿瘤 T 分期中, T<sub>1</sub> ~ T<sub>2</sub> 期 131 例, T<sub>3</sub> ~ T<sub>4</sub> 期 76 例。所有病例采取电话或信件随访方式, 随访截止日期为 2009 年 12 月 31 日。

### 1.2 主要试剂

Dako REALTM EnVision™ Detection System(DAKO); 鼠抗人 p21 单克隆抗体(浓缩型 1:100 稀释)、鼠抗人 p53 单克隆抗体(浓缩型 1:200 稀释)和鼠抗人 c-erbB-2单克隆抗体(浓缩型 1:100 稀释)(上海长岛生物技术有限公司)。

### 1.3 免疫组织化学染色检测 p21、p53 和 c-erbB-2 的表达

**1.3.1 免疫组织化学染色** 采用 Envision 免疫组织化学二步法。首先, 聚-L-赖氨酸处理载玻片, 连

续石蜡切片(4 μm), 56 ℃烘干 1h, 常规脱蜡、水化组织切片; 以枸橼酸柠檬酸钠修复液(pH = 6.0)进行热修复; 切片用蒸馏水洗 1 次(3 min), PBS 洗 2 次(每次 3 min); 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理 10 min(抑制内源性过氧化物酶), PBS 洗 3 次(每次 3 min); 滴加一抗, 置湿盒内, 4 ℃过夜; PBS 洗 3 次(每次 3 min), 滴加 EnVision™ 孵育 30 min, PBS 洗 3 次(每次 3 min); DAB 显色 3 ~ 5 min; 苏木精复染, 中性树脂封片。用 PBS 代替一抗作为阴性对照, 用已知的阳性病例作为阳性对照。

**1.3.2 结果判定** p21 和 p53 主要表达于癌细胞胞核, c-erbB-2 主要表达于癌细胞胞质或胞膜, 呈棕黄色或棕褐色颗粒。采用染色指数法计算阳性结果, 综合考虑阳性细胞百分数和染色强度。阳性细胞数计分方法: 0% ~ 5% 为 0 分, 6% ~ 25% 为 1 分, 26% ~ 50% 为 2 分, 51% ~ 75% 为 3 分, 76% 以上为 4 分; 染色强度计分方法: 肿瘤细胞不着色为 0 分, 淡黄色为 1 分, 棕黄色为 2 分, 棕褐色为 3 分。如在同一病变中存在不同评分标准的视野, 则取最大值和最小值的平均值作为评分结果。上述两项之和即为该肿瘤细胞的染色指数评分, 染色指数 0 ~ 2 分定义为阴性表达, 3 ~ 7 分定义为阳性表达。计算阳性表达率。

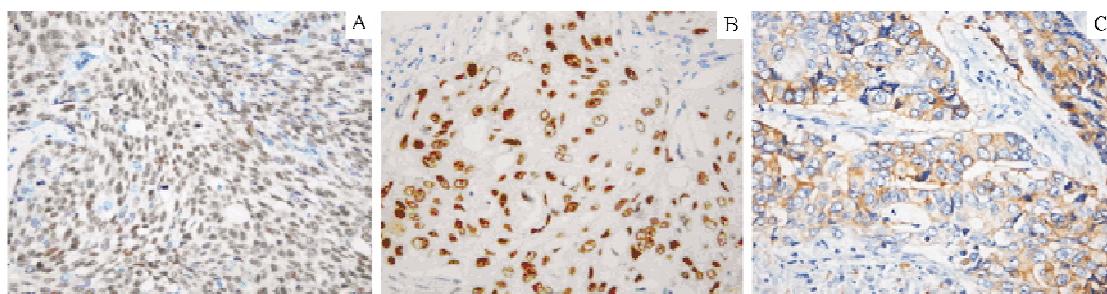
### 1.4 统计学方法

应用 SPSS 13. 0 软件进行统计学分析。计数资料采用  $\chi^2$  检验; 采用 Kaplan-Meier 法进行生存分析; 配对资料采用 Spearman 等级相关分析。P < 0.05 表明差异有统计学意义。

## 2 结 果

### 2.1 p21、p53 和 c-erbB-2 蛋白的表达

免疫组织化学检测结果显示: NSCLC 组织中 p21、p53 和 c-erbB-2 的阳性表达率分别为 54.11% (112/207)、38.16% (79/207) 和 32.85% (68/207) (图 1)。



A. p21 在鳞癌组织中阳性表达; B. p53 在鳞癌组织中阳性表达; C. c-erbB-2 在腺癌组织中阳性表达。

图 1 NSCLC 组织中 p21、p53 和 c-erbB-2 的表达 ×200  
Fig 1 Expression of p21, p53 and c-erbB-2 in tissues of NSCLC ×200

## 2.2 p21、p53 和 c-erbB-2 表达与患者临床病理特征的关系

NSCLC 组织中, 低、中分化及有淋巴结转移患者肿瘤组织中 p21、p53 和 c-erbB-2 阳性表达率显著高于高分化和无淋巴结转移患者 ( $P < 0.05$ ); 有吸烟史、中央型、鳞癌患者肿瘤组织中 p21 和 p53 阳性表达率明显高于无吸烟史、周围型、腺鳞癌及腺癌者 ( $P < 0.05$ ), 不同性别、年龄及肿瘤 T 分期患者肿瘤组织中 p21 和 p53 阳性表达率比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 女性、无吸烟史、周围型、腺癌患者肿瘤组织中 c-erbB-2 阳性表达率明显高于男性、有吸烟史、中央型、腺鳞癌及鳞癌患者 ( $P < 0.05$ ), 不同年龄和肿瘤 T 分期患者肿瘤组织中 c-erbB-2 阳性表达率比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ) (表 1)。

表 1 p21、p53 和 c-erbB-2 的表达与 NSCLC 患者临床病理学特征的关系

Tabl 1 Relationship between expression of p21, p53 and c-erbB-2 and clinicopathological characteristics of NSCLC

项目	n	p21 阳性率/%	p53 阳性率/%	c-erbB-2 阳性率/%
性别				
男性	132	59.09	40.15	26.52
女性	75	45.33	34.67	44.00 <sup>①</sup>
年龄				
≤60岁	152	54.61	40.79	32.89
>60岁	55	52.73	30.91	32.73
吸烟史				
无	102	46.08	31.37	41.20
有	105	61.90 <sup>②</sup>	44.76 <sup>②</sup>	25.71 <sup>②</sup>
组织学类型				
腺癌	92	45.65	27.17	44.57
鳞癌	76	67.11 <sup>③</sup>	53.95 <sup>③</sup>	22.37 <sup>③</sup>
腺鳞癌	39	48.72	33.33	25.64
肿瘤部位				
中央型	87	68.97	47.13	22.99
周围型	120	43.33 <sup>④</sup>	31.67 <sup>④</sup>	40.00 <sup>④</sup>
淋巴结转移				
无	97	46.39	30.93	25.77
有	110	60.91 <sup>⑤</sup>	44.55 <sup>⑤</sup>	39.09 <sup>⑤</sup>
T 分期				
T <sub>1</sub> ~ T <sub>2</sub>	131	49.62	37.40	34.35
T <sub>3</sub> ~ T <sub>4</sub>	76	61.84	39.47	30.26
分化程度				
高	43	23.26 <sup>⑥</sup>	13.95 <sup>⑥</sup>	16.28 <sup>⑥</sup>
中	105	60.00	42.86	34.29
低	59	66.10	47.46	42.37

<sup>①</sup>  $P < 0.05$  与男性比较; <sup>②</sup>  $P < 0.05$  与无吸烟史比较; <sup>③</sup>  $P < 0.05$  与腺癌或腺鳞癌比较; <sup>④</sup>  $P < 0.05$  与中央型比较; <sup>⑤</sup>  $P < 0.05$  与无淋巴结转移比较; <sup>⑥</sup>  $P < 0.05$  与低、中分化比较。

## 2.3 p21、p53 和 c-erbB-2 表达与患者预后的关系

Kaplan-Meier 生存分析结果显示: 肿瘤组织中 p21、p53 和 c-erbB-2 表达阳性患者的 5 年生存率均

明显低于表达阴性患者(均  $P < 0.05$ ) (图 2~4)。

## 2.4 NSCLC 患者肿瘤组织 p21、p53 和 c-erbB-2 表达的相关性

Spearman 相关分析结果显示: NSCLC 组织中, p21 与 p53 表达呈显著正相关 ( $r = 0.245, P < 0.01$ ), p21 与 c-erbB-2 表达无明显相关性 ( $r = -0.016, P = 0.815$ ), p53 与 c-erbB-2 表达无明显相关性 ( $r = 0.022, P = 0.751$ )。

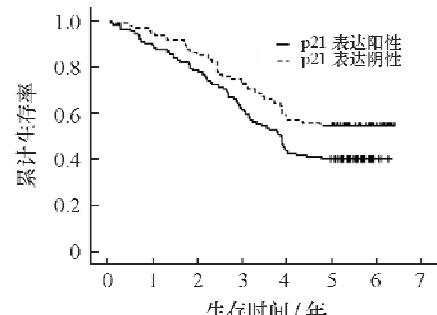


图 2 NSCLC 组织中 p21 表达阳性和阴性患者的生存曲线

Fig 2 Survival curves of patients with positive and negative expression of p21 in tissues of NSCLC

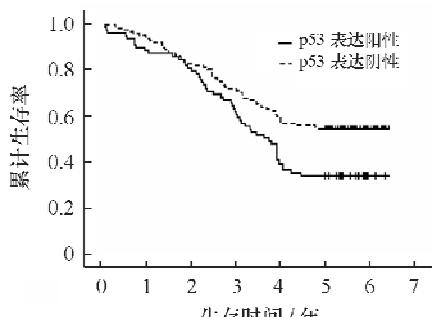


图 3 NSCLC 组织中 p53 表达阳性和阴性患者的生存曲线

Fig 3 Survival curves of patients with positive and negative expression of p53 in tissues of NSCLC

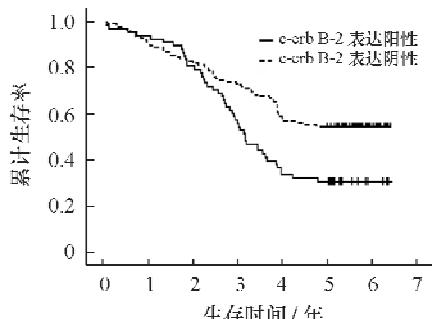


图 4 NSCLC 组织中 c-erbB-2 表达阳性和阴性患者的生存曲线

Fig 4 Survival curves of patients with positive and negative expression of c-erbB-2 in tissues of NSCLC

## 3 讨论

p21 基因是细胞周期抑制蛋白 CIP 家族中的一员, 位于 p53 基因下游的细胞周期素依赖性激酶抑

制因子, p21 可以和 p53 共同构成细胞周期 G<sub>1</sub>检查站。p21 基因表达有多种途径, 其中最主要是依赖 p53 途径的激活。p21 可以通过细胞周期调控作用间接参与细胞凋亡(依赖 p53 途径)和直接导致细胞异化或恶变(非依赖 p53 途径)<sup>[4]</sup>。p53 是抑癌基因, 位于人类第 17 号染色体短臂 17p13.1 位置, 分为野生型和突变型。野生型参与细胞生长的负调控和抑制肿瘤细胞的生长, 与细胞的程序性凋亡密切相关; p53 发生突变则可阻止凋亡, 促进增殖。由于野生型 p53 蛋白的半衰期短, 用免疫组织化学法不易检出, 而突变型 p53 蛋白抑癌功能丧失, 致癌功能激活, 半衰期大大延长, 含量高出正常 100~1 000 倍, 且能与一些癌蛋白形成稳定的复合物, 免疫组织化学法的检出率较高, 因此免疫组织化学法检测阳性即提示突变型 p53 基因的存在<sup>[5]</sup>。

本研究结果显示:p21 和 p53 阳性表达率分别为 54.11% 和 38.16%, 与相关文献<sup>[6~9]</sup>报道的数据相近。研究<sup>[10]</sup>指出, p21 和 p53 的阳性表达提示 NSCLC 合并淋巴结转移, 患者的生存期较短。本研究结果表明: NSCLC 组织中 p21 和 p53 阳性表达率均在低分化和中分化、有淋巴结转移、有吸烟史和鳞癌患者中较高; 肿瘤组织中 p21 和 p53 蛋白表达阳性的患者的 5 年生存率较低; p21 和 p53 阳性表达率与 NSCLC 患者的临床病理学特征以及预后的关系密切。Spearman 等级相关分析结果显示: NSCLC 组织中 p21 与 p53 表达呈显著正相关, 这可能与细胞 DNA 受到损伤时, p53 被诱导表达, p53 又诱导 p21<sup>WAF1/CIP1</sup> 基因表达有关<sup>[11]</sup>。

c-erbB-2 是已确定的原癌基因, 又名为 HER-2/neu, 编码的跨膜受体蛋白为上皮生长因子的受体, 与配体结合后能激活第二信使转导通路, 将胞外的生长因子信号传递入核, 激发细胞内信号级联反应, 导致下游信号分子的激活, 刺激细胞增殖, 从而参与肿瘤的血管形成、侵袭及转移<sup>[3]</sup>。研究<sup>[12~13]</sup>发现, 有 20%~54% 的 NSCLC 组织 c-erbB-2 呈高表达, 可导致患者化疗反应率低和预后差。本研究结果显示: c-erbB-2 阳性表达率为 32.85%; 腺癌、低分化和中分化、有淋巴结转移、女性、无吸烟史患者的 c-erbB-2 阳性表达率较高; c-erbB-2 表达阳性的患者的 5 年生存率较低。朱剑等<sup>[14]</sup>发现, 有淋巴结转移且分化差的 NSCLC 组织中 c-erbB-2 表达阳性率较高, 与本研究结果相仿, 提示肿瘤组织中 c-erbB-2 表达阳性的 NSCLC 患者预后较差。

综上所述, p21、p53 和 c-erbB-2 表达阳性提示 NSCLC 分化程度差且合并淋巴结转移可能。p21、

p53 在有吸烟史、鳞癌和中央型 NSCLC 组织中呈高表达, c-erbB-2 在女性、无吸烟史、腺癌和周围型 NSCLC 组织中呈高表达。NSCLC 组织中 p21 与 p53 的表达具有相关性。p21、p53 和 c-erbB-2 可能在 NSCLC 发生和发展的过程中起重要调控作用, 均可作为判断 NSCLC 患者预后的参考性指标。

### [参考文献]

- [1] 李作生, 李保庆. p21 和 p27 基因多态性与肿瘤的相关性[J]. 国际遗传学杂志, 2006, 29(4): 317~320.
- [2] Morgunkova AA, Almazov VP, Strunina SM, et al. Dominant-negative inactivation of p53: the effect of the proportion between transdominant inhibitor and its target[J]. Mol Biol (Mosk), 2003, 37(1): 112~120.
- [3] Prenzel N, Fischer OM, Streit S, et al. The epidermal growth factor receptor family as a central element for cellular signal transduction and diversification[J]. Endocr Relat Cancer, 2001, 8(1): 11~31.
- [4] 李向荣, 林星余, 肖忠秀, 等. p21 结构功能与研究新进展[J]. 医学综述, 2008, 14(14): 2094~2097.
- [5] Charoenkwan P, Senger C, Weitzmna S, et al. Significance of p53 expression in immature teratomas[J]. Pediatr Dev Pathol, 2002, 5(5): 499~507.
- [6] 张海青, 吕福东, 岳文涛, 等. p53、p21<sup>WAF1</sup> 蛋白在非小细胞肺癌中的表达及其临床意义[J]. 中华病理学杂志, 2000, 29(5): 328~330.
- [7] 章雪林, 薛松, 郑家豪, 等. 非小细胞肺癌中骨桥蛋白和 P21 的相关性研究[J]. 中国肺癌杂志, 2007, 10(4): 288~290.
- [8] 宋娜, 金波, 刘云鹏, 等. 非小细胞肺癌组织 COX-2 和 p53 表达及临床意义的研究[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2008, 15(16): 1247~1250.
- [9] 周玉宁, 束永前, 黄文斌, 等. Her-2/neu, p53 和 P-gp 在非小细胞肺癌中的表达[J]. 肿瘤学杂志, 2007, 13(4): 287~289.
- [10] 宋宇, 左云, 陈亚楠. Survivin、p53、p21 在非小细胞肺癌中的表达及其临床意义[J]. 临床肿瘤学杂志, 2008, 9(13): 788~791.
- [11] Cazzalini O, Perucca P, Valsecchi F, et al. Intracellular localization of the cyclin-dependent kinase inhibitor p21<sup>CENPA</sup> fusion protein during cell cycle arrest[J]. Histochem Cell Biol, 121(5): 377~381.
- [12] Schneider PM, Prauner HW, Stoeltzing O, et al. Multiple molecular marker testing (p53, C-Ki-ras, c-erbB-2) improves estimation of prognosis in potentially curative resected non-small cell lung cancer [J]. Br J Cancer, 2000, 83(4): 473~479.
- [13] Meert AP, Martin B, Paesmans M, et al. The role of HER-2/neu expression on the survival of patients with lung cancer: a systematic review of the literature[J]. Br J Cancer, 2003, 89(6): 959~965.
- [14] 朱剑, 夏和顺. p16、p53、p21ras 和 C-erbB-2 在非小细胞肺癌中的表达与病理学相关性研究[J]. 肿瘤防治研究, 2000, 27(4): 266~268.