

口腔鳞癌 p53 基因表达及临床意义

龙彦 凌涤生 岳文 戚向敏 孙善珍 马伯龙

摘要 采用单克隆抗体DO-1和免疫组化S-P法检测了口腔鳞癌和癌前病变组织中P53蛋白表达。结果显示,正常口腔粘膜和轻、中度上皮异常增生中P53蛋白阴性;33.3%的上皮重度异常增生和56.8%的鳞癌P53表达阳性,癌组织中P53表达与其分化程度、淋巴结转移和临床分期有关。由此作者认为,p53基因突变是口腔粘膜癌变过程中的早期事件并与口腔癌的进展有关,检测P53蛋白有助估计口腔粘膜癌变可能性及口腔癌预后的潜在价值。

关键词 P53 鳞状细胞癌 口腔肿瘤

近年来研究表明,抑癌基因p53的突变或失活是多种肿瘤发生发展中的重要事件,并可能与某些肿瘤转移及患者预后有关。本文应用免疫组化方法,对口腔鳞癌(SCC)中P53蛋白进行检测,探讨其在口腔癌中的表达特征和临床病理意义,为进一步深入研究提供有益的线索。

1 材料和方法

1.1 材料

标本来自山东医科大学附属医院和上海市第九人民医院1991至1994年的手术活检组织102例。包括正常口腔粘膜10例,轻度上皮异常增生20例,中度上皮异常增生16例,重度上皮异常增生12例。口腔鳞状细胞癌44例,其中高分化鳞癌16例,中分化14例,低分化14例;I~II级早期鳞癌18例,III~IV期晚期鳞癌26例,伴有局部淋巴结转移的13例。所有标本均经10%福尔马林固定,石蜡包埋,4mm连续切片。

1.2 方法

采用免疫组化S-P法,鼠抗人P53单克隆抗体DO-1及S-P试剂盒均购自北京中山公司。按S-P试剂盒说明书操作,以已知阳性宫颈鳞癌切片作阳性对照,以PBS取代一抗作阴性对照。

1.3 结果判定

每例随机选取5~10个不同高倍视野,根据阳性细胞占视野中细胞总数的比例分为4个等级:无阳性细胞为阴性(-);阳性细胞占1%~20%为弱阳性(+);21%~50%为中度阳性(##);>50%为强阳性(###)。

2 结果

2.1 各组标本中P53蛋白表达分布

P53蛋白定位于细胞核,胞浆不着色,背景清晰。正常粘膜和轻、中度上皮异常增生中,P53蛋白阴性;重度上皮异常增生中33.3%P53表达阳性,阳性胞核主要分布在增生性上皮钉突的末端(图1);鳞癌组织中P53阳性率56.8%(见表1),染色分布形式不一,可出现在整个肿瘤区或肿瘤部分区域,胞核着色强度在不同病例之间或同一瘤体之内均有差异。分化好的癌巢中,P53蛋白积聚常位于癌巢边缘部分,中央部分的癌细胞染色阴性(图2);分化较差的肿瘤组织中,阳性细胞密集或弥散分布,无一定规律(图3)。

表1 P53蛋白表达阳性率及强度

组别	n	-	+	##	###	阳性率(%)
正常口腔粘膜	10	16	0	0	0	0
轻度异常增生	20	20	0	0	0	0
中度异常增生	16	16	0	0	0	0
重度异常增生	12	8	3	1	0	33.3
鳞癌	44	19	11	7	7	56.8

2.2 P53蛋白表达与口腔鳞癌组织分化的关系

高分化鳞癌P53蛋白多为弱阳性(+),低分化鳞癌P53蛋白多为中、强阳性(##~###),各组间阳性率有显著差异(表2)。

2.3 P53蛋白表达与口腔鳞癌淋巴结转移的关系

P53蛋白阳性者具有较高的转移率,见表3。

本课题为山东省自然科学基金资助项目

作者单位:250012 山东医科大学附属口腔医院

表2 P53 蛋白表达与口腔鳞癌组织分化的关系

癌组织分化	n	-	+	##	###	阳性率 (%)
高分化	16	10	4	2	0	37.5
中分化	14	6	4	2	2	57.1*
低分化	14	3	3	3	5	78.6**

* 与高分化鳞癌比较 $P < 0.01$
 ** 与中分化鳞癌比较 $P < 0.01$

表3 P53 蛋白表达与口腔鳞癌淋巴结转移的关系

P53 蛋白表达	淋巴结(+)	淋巴结(-)	转移率 (%)
阴性	2	17	10.5
阳性	11	14	44.0*

* $P < 0.05$

2.4 P53 蛋白表达与口腔癌临床分期的关系

晚期鳞癌中 P53 蛋白表达阳性率较早期鳞癌增高,见表4。

表4 P53 蛋白表达与口腔癌临床分期的关系

临床分期	n	阴性	阳性	阳性率 (%)
早期(I~II)	18	11	7	38.9
晚期(III~IV)	26	8	18	69.2*

* $P < 0.05$

3 讨 论

p53 基因位于人 17 号染色体短臂,其野生型作为抗癌基因行使功能,对细胞的生长增殖起调控作用;突变型则具致癌活性,与人类一半以上肿瘤的发生密切相关。p53 基因的产物即 P53 蛋白,野生型 P53 蛋白起分子警察作用,监视细胞基因组的完整性,阻止具有癌变倾向的基因突变细胞产生;突变型 P53 蛋白失去抑癌功能,并促进细胞的恶性转化。由于野生型 P53 蛋白在细胞中含量很低且半衰期短,一般方法很难测出。突变型 P53 蛋白构象发生改变,稳定性增加,半衰期大大延长,在细胞中的积聚较正常细胞高出许多倍,可用免疫组化方法检出。目前已从宫颈癌、乳腺癌、胃癌、肠癌、食道癌等多种肿瘤中检出了 p53 基因突变及蛋白产物的过量表达。本组资料表明,口腔鳞癌中 P53 蛋白阳性表达率为 56.8%,与国外同类研究的结果相近^{1,2}。从 P53 蛋白表达依正常口腔粘膜——重度上皮异常增生——鳞状细胞癌的顺序明显递增可以看出, P53 蛋白积聚与口腔上皮的恶性转化密切

相关,是口腔癌发生发展中的一个重要因素。

关于肿瘤发生过程中 p53 基因突变发生的时间点(time point),目前尚不清楚,推测是依肿瘤的类型而异²。在结肠癌、前列腺癌、恶性黑色素瘤、多发性骨髓瘤中, p53 基因突变被认为是肿瘤进展中的晚期事件³⁻⁶,而 Nees 等³对头颈癌的研究表明, p53 基因突变发生在细胞恶性转化的早期,本实验从口腔癌中也观察到了类似现象。在尚未出现恶变的上皮重度异常增生中, P53 蛋白阳性表达率达 33.3%,提示这种重度异常增生在不同程度上具有与癌组织相似的癌基因产物积聚。由于 P53 蛋白表达很大程度上代表着 p53 基因的突变^{1,2},故 p53 基因突变也发生在口腔上皮恶性转化的早期。或者说,口腔粘膜出现形态学癌变之前,生物学状态已有“癌变”。因此,对 P53 蛋白的检测,有助于识别那些有恶变倾向的粘膜病损,可作为早期诊断口腔癌前病变和口腔癌的重要分子标志。

近来有人提出 P53 蛋白表达与恶性肿瘤预后的关系。Martin 等⁴通过检测 125 例胃癌中 P53 蛋白表达和临床随访,令人信服地指出有 P53 蛋白积聚的胃癌患者预后较差; Thorlacius 等⁵的研究表明, p53 基因突变与乳癌患者生存期短相关;在食道癌中, P53 蛋白表达已被认为是一项预后指标⁶。口腔癌预后主要受其分化程度,有无转移和临床分期的影响。本实验中,低分化鳞癌与高分化鳞癌相比, P53 蛋白阳性例数多,表达强度大; P53 蛋白阳性组的淋巴结转移率较 P53 蛋白阴性组明显增高;晚期口腔癌中 P53 蛋白表达率较早期患者明显增加,可见 P53 蛋白表达总是与较差的预后指标相关。这种关联究竟是突变型 p53 基因本身的作用抑或与其它未知基因的协同作用尚不清楚,但毕竟显示出 P53 蛋白检测有助估计口腔癌预后的价值。至于能否象在食道癌中那样成为一项独立的预后指标,有待于进一步扩大病例和收集随访资料加以研究。

(本文图见中心插页 7)

4 参考文献

1 Langdon JD, Partridge M. Expression of the tumour suppressor gene p53 in oral cancer. Br J Oral Maxillofac Surg, 1992, 30: 214

(下转第 122 页)

ections: an index of cell proliferation with evidence of deregulated expression in some neoplasms J Pathol, 1990, 162: 285

- 6 Kawakita N, Seki S, Sakaguchi H, et al Analysis of proliferating hepatocytes using a monoclonal antibody agair

nst proliferating cell nuclear antigen/cyclin in embedded tissues from various liver diseases fixed in formaldehyde Am J Pathol, 1992, 142(2): 513

(1996- 08- 19 收稿)

A Study on the Significance of p53 Gene Mutation, P53 Protein Positive Staining and PCNA Staining

Chen Qianming, Fu Jiliang, Yang Guanghua, et al

College of Stomatology, West China University of Medical Sciences

Abstract

After obtaining the results of p53 gene mutation by a silver staining method to polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism (PCR-SSCP) analysis, P53 protein staining and proliferation cell nuclear antigen (PCNA) index by double-blind method, multivariate correlation analysis two by two showed that PCR-SSCP, P53 positive protein staining and PCNA index had markedly correlation not only in oral precancerous lesions (OPL) but also in primary sites and regional metastatic lymph nodes of oral squamous cell carcinomas (OSCC). This indicated that the nature of the three indexes was the same. After introducing the sex and age of patients which have been proved to be related to the initiation and development of OPL and OSCC according to other researchers and are easy to be obtained in clinics, multivariate discriminatory analysis was carried on and three groups of discriminatory equations were gotten about the pathological grading of OPL and OSCC and metastasis condition of OSCC. the accuracy of these equations was 82.5%, 78% and 80%, individually. This suggests that the equations have applicable potentiality already.

Key words: human oral mucosal precancerous lesions oral squamous cell carcinoma p53 gene mutation PCR-SSCP

(上接第 116 页)

- 2 Nylander K, Stenling R, Gustafsson H, et al P53 expression and cell proliferation in squamous cell carcinomas of the head and neck. Cancer, 1995, 75(1): 87
- 3 Nees M, Homann N, Discher H, et al Expression of mutant P53 occurs in tumor-distant epithelia of head and neck patients: a possible molecular basis for the development of multiple tumors. Cancer Res, 1993, 53: 4189
- 4 Martin H, Filipe M, Morris R, et al P53 overexpression and prognosis in gastric carcinoma. Int J Cancer, 1992, 50:

859

- 5 Thorlacius S, Borresen AL, Eyfjord JE, et al Somatic P53 mutations in human breast carcinomas in an Icelandic population: a prognostic factor. Cancer Res, 1993, 53: 1637
- 6 Shimaya K, Shizaki H, Inoue M, et al Significance of P53 expression as a prognostic factor in esophageal squamous cell carcinoma. Virchows Arch [A], 1993, 422: 271

(1996- 03- 26 收稿)

P53 Expression and Clinical Significance in Oral Squamous Cell Carcinoma

Long Yan, Ling Disheng, Yue Wen, et al

Stomatological Hospital, Shandong Medical University

Abstract

P53 protein expression was investigated in oral squamous cell carcinomas and oral premalignant lesions by monoclonal antibody Do-1 and immunohistochemistry technique. 4 of 12 (33.3%) samples of severe epithelial dysplasia and 25 of 44 (56.8%) samples of squamous cell carcinoma expressed P53 protein while all the normal mucosa, mild and moderate epithelial dysplasia were negative. The P53 expression in carcinomas was associated with differentiation, lymph node metastasis and tumor stage. This result indicated that P53 gene mutation might be an early event in oral mucosa carcinogenesis and related to oral tumor progression. Detection of P53 protein probably has clinical significance in identifying the premalignant lesions of oral mucosa and predicting the prognosis of oral carcinoma.

Key words: P53 squamous cell carcinoma mouth neoplasms