

# 突变型 P53蛋白、C-erbB-2癌蛋白 和 PCNA在大肠上皮性肿瘤中的表达

## Expression of P53 Protein C-erbB-2 Oncoprotein and Proliferating Cell Nuclear Antigen in Colorectal Tumours

罗元 苏建家 覃思繁 梁秀就\*  
Luo Yuan Su Jianjia Qin Sifan Liang Xiujie

(广西医科大学附属肿瘤医院病理科 南宁市滨湖路6号 530021)  
(Dept. of Pathology, Affiliated Tumour Hospital,  
Guangxi Medical University, 6 Binghulu, Nanning, Guangxi, 530021)

**摘要** 用免疫组化方法检测突变型 P53蛋白、C-erbB-2癌基因蛋白和增殖细胞核抗原(PCNA)在60例大肠腺癌、29例腺瘤及33例息肉石蜡切片中的表达情况。结果 P53在大肠癌与腺瘤中均过表达,阳性率分别为70%和48.28%;而在息肉与正常粘膜中不表达。P53的表达还与大肠癌的分化程度和 Duke's分期以及与腺瘤的大小、类型和不典型增生程度有关( $P < 0.05$ )。C-erbB-2仅在大肠癌中表达,阳性率63%。其表达与大肠癌的分化、淋巴结转移及 Duke's分期等均无关( $P > 0.05$ )。PCNA 100%表达,其所表示的细胞增殖指数与 P53的表达在大肠癌与腺瘤中均呈正相关(分别为  $r = 0.6887, P < 0.01$  及  $r = 0.8696, P < 0.01$ )。结果表明 P53的表达与大肠上皮性肿瘤的生物行为有着非常密切的关系。检测 P53与 PCNA的表达水平将对大肠癌的早期诊治以及分析大肠癌的增殖活性和恶性度等方面均有重要意义。C-erbB-2是大肠癌的癌性标志,有可能作为鉴别诊断依据之一。

**关键词** 大肠肿瘤 P53 C-erbB-2 PCNA 免疫组化  
中图法分类号 R 735.34

**Abstract** The expressions of P53 protein C-erbB-2 oncoprotein and proliferating cell nuclear antigen (PCNA) in 60 colorectal carcinomas (CC), 29 colorectal adenomas (CA) and 33 colorectal polypus (CP) were detected by immunohistochemistry. The positive rate for P53 was 70% in CC and 48.26% in CA; CP and normal mucosa were uniformly negative. Expression of P53 protein showed a significant association with differentiation and Duke's stage in CC ( $P < 0.05$ ), and association with the size, type and dysplasia in CA. ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). C-erbB-2 expression was found only in CC, and its positive rate was 63%. Expression of C-erbB-2 had no correlation with differentiation, lymphatic metastasis and Duke's stage in CC ( $P > 0.05$ ). Expression of PCNA was found in all colorectal tumours and a significant correlation was found between PCNA index and P53 positive rate in CC ( $r = 0.6887, P < 0.01$ ) and CA ( $r = 0.8696, P < 0.01$ ). The results suggested that there were very closely relation between P53 and colorectal tumours behaviour. The expression level of P53 and PCNA index might be considerably important to analysis of proliferative activity and malignancy of CC, and C-erbB-2 is a CC marker and might be used for differential diagnosis.

**Key words** colorectal tumour, P53, C-erbB-2, PCNA, immunohistochemistry

由于大肠癌的癌变过程经历了粘膜增生、腺瘤、

原位癌及浸润转移癌等阶段,所以大肠癌是研究演进过程中分子遗传学改变较理想的一类人类肿瘤。有关癌基因和抗癌基因产物在大肠肿瘤表达的报道日趋增多,但结果不一。本研究用免疫组化方法测定石蜡切片中突变型 P53蛋白(P53)、C-erbB-2癌基因蛋白

1997-06-06收稿

\* 广西医科大学第一附属医院,南宁,530021(Dept. of Pathology, Guangxi Medical University, First Affiliated Hospital, Nanning, Guangxi, 530021).

(C-erbB-2)和增殖细胞核抗原(PCNA)在大肠非新生物性息肉、腺瘤和腺癌中的表达情况,进一步探讨在大肠癌发生发展过程中,上述因素所起的作用及它们之间的关系。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

选用广西肿瘤医院病理科档案保存的石蜡标本大肠腺癌60例(其中高分化腺癌10例、中分化腺癌33例、低分化腺癌17例);腺瘤29例(其中管状腺瘤11例、绒毛状腺瘤6例、管绒毛状腺瘤12例);非新生物性息肉(增生性及炎性息肉)共33例。并选用正常大肠粘膜10例作正常对照。

### 1.2 免疫组化染色

免疫组化染色采用链霉素抗生物素蛋白—过氧化物酶连结法(S-P法)。每个蜡块连续切片3张,分别标记P53、C-erbB-2和PCNA, DAB显色,苏木素复染,光镜下观察结果。P53(DO-鼠抗人,单抗)和C-erbB-2(兔抗人,多抗)为DAKO公司产品。稀释度P53为1:60, C-erbB-2为1:120。PCNA和S-P kit为Maxim公司产品,即用型。均设阳性对照,并用PBS代替一抗作阴性对照。

### 1.3 结果判断标准及观察项目

P53与PCNA标记,肿瘤细胞核呈棕黄色为阳性,C-erbB-2标记胞浆棕黄色为阳性。此外,PCNA标记尚在光镜下随机观察10个高倍视野1000个细胞中的阳性细胞数,按阳性细胞占观察细胞总数的 $\leq 25\%$ 、 $26\% \sim 50\%$ 、 $51\% \sim 75\%$ 、 $> 75\%$ 分为I、II、III、IV四个级别。参照《中国常见恶性肿瘤的诊治规范(等三册)·大肠癌》标准进行诊断,并参照其中的病理组织学观察项目观察P53、C-erbB-2和PCNA在腺瘤的大小、类型、不典型增生程度以及在大肠癌的大小、分化程度、淋巴结转移和Duke's分期等项中的表达情况,分析其意义。

表1 P53、C-erbB-2和PCNA的总表达

Table 1 P53, C-erbB-2 and PCNA expression in normal mucosa, polypus, adenomas and carcinomas of colon

	例数 No. cases	P53阳性率 P53 positive(%)	C-erbB-2 阳性率 C-erbB-2 positive(%)	PCNA indexes			
				I	II ( $\leq$ II %)	III	IV ( $\geq$ III %)
正常粘膜 Normal mucosa	11	0(0)	0(0)	3	8(100)	0	0(0)
息肉 Polypus	33	0(0)	0(0)	29	4(100)	0	0(0)
腺瘤 Adenoma	29	14(48.28) <sup>a</sup>	0(0)	11	12(79.31)	4	2(20.69)
腺癌 Carcinoma	60	42(70) <sup>b</sup>	39(65) <sup>c</sup>	2	10(20)	19	29(80) <sup>d</sup>

a, b, d. 与正常粘膜比较,均  $P < 0.01$ . Compared with normal mucosa,  $P < 0.01$ ; c. 与正常粘膜、息肉及腺瘤比较,均  $P < 0.01$ . Compared with normal mucosa, polypus and adenoma,  $P < 0.01$ .

## 1.4 数据处理

结果输入计算机用华西医科大统计学软件包处理

## 2 结果

### 2.1 P53、C-erbB-2和PCNA在大肠癌、腺瘤及息肉中的总表达

表1结果表明,在大肠癌中,P53与C-erbB-2均过表达,阳性率分别为70% (42/60)和65% (39/60)。在腺瘤中,P53亦过表达,阳性率为48.28% (14/29),C-erbB-2不表达。在息肉与正常粘膜中,P53与C-erbB-2均不表达。PCNA在大肠癌、腺瘤、息肉及正常粘膜中100%表达,但其所表示的细胞增殖指数(PCNA指数)级别分布则明显不同:在正常粘膜及息肉中100%为II级以下,而在腺瘤及腺癌中,III级以上分别占20.68%和80%。统计学分析表明:P53的表达不仅在大肠癌与正常粘膜及息肉之间均有非常显著性差异( $P < 0.01$ );而且在腺瘤与正常粘膜及息肉之间亦如此。C-erbB-2的表达在大肠癌与腺瘤、息肉及正常粘膜之间均存在非常显著性差异( $P < 0.01$ )。PCNA指数在大肠癌和腺瘤中均与P53的阳性率呈正相关;分别为 $r = 0.6887, P < 0.01$ 和 $r = 0.8696, P < 0.01$ 。

### 2.2 大肠癌中P53、C-erbB-2和PCNA的表达

表2结果显示P53的表达与癌组织的分化程度有明显关系,高分化癌与中分化及低分化癌之间均有显著性差异( $P < 0.05$ );与Duke's分期有关,A期与C期之间差异有显著性( $P < 0.05$ ),且B期和D期阳性率亦均高于A期;此外,随着肿块的增大、浸润肠壁深度的增加,P53的阳性率逐渐增加,有淋巴结转移组阳性率亦高于无转移组,但均无显著性差异( $P < 0.05$ )。C-erbB-2的表达与癌分化程度无关,其阳性率随肿块增大而增高,而随癌浸润肠壁深度增加及Duke's分期的延后而递减,有淋巴结转移组亦低于无转移组,但差异均无显著性( $P > 0.05$ )。

表2 P53, C-erbB-2和 PCNA在大肠癌中的表达

Table 2 P53, C-erbB-2 and PCNA expression in colorectal carcinoma

	例数 No. cases	P53阳性率 P53 positive (%)	C-erbB-2 阳性率 C-erbB-2 positive(%)	PCNA indexes			
				I	II (≤ II %)	III	IV (≥ III%)
组织学分级 Histologic grade							
高分化 Well differentiated	10	3(30)	6(60)	0	2(20)	6	2(80)
中分化 Moderately differentiated	33	25(75.76) <sup>a</sup>	24(72.72)	2	7(27.27)	11	13(72.73)
低分化 Poorly differentiated	17	14(82.35) <sup>a</sup>	9(52.94)	0	2(11.76)	3	12(88.24)
肿块大小(最大径) Size							
< 5 cm	31	20(64.51)	19(61.29)	1	7(25.81)	11	12(74.19)
≥ 5 cm	29	22(75.86)	20(68.97)	1	3(13.79)	8	17(86.21)
浸润肠壁深度 Invasive depth							
浅肌层以上 Superficial layer	9	4(44.44)	7(77.78)	1	2(33.33)	5	1(66.67)
深肌层 Deep muscular layer	14	10(71.43)	10(71.43)	0	3(21.43)	4	7(85.71)
浆膜	37	28(75.67)	22(59.46)	1	5(16.22)	10	21(83.78)
淋巴结转移 Lymph-node							
无	45	31(68.89)	31(68.89)	2	8(22.22)	13	22(77.78)
有	15	11(73.33)	8(53.33)	0	2(13.33)	6	7(86.67)
Duke's分期 Duke's stage							
A	9	4(44.44)	7(77.78)	1	2(33.33)	5	1(66.67)
B	36	26(72.22)	23(63.89)	1	5(16.67)	10	20(83.33)
C	11	10(90.91) <sup>b</sup>	7(63.64)	0	1(9.09)	4	6(90.91)
D	4	2(50)	2(50)	0	2(50)	0	2(50)

a. 与高分化癌比较,  $P < 0.05$ . Compared with well differentiated carcinomas,  $P < 0.05$ ; b. 与 A期比较,  $P < 0.05$ . Compared with Duke's A stage  $P < 0.05$ .

PCNA指数随着癌组织学分级增高、肿块增大、浸润肠壁深度增加及出现淋巴结转移而增高,但差异均无显著性 ( $P > 0.05$ ); 然而在 Duke's A期与 B期之间有显著性差异 ( $P < 0.05$ ).

### 2.3 P53与 PCNA在大肠腺瘤中的表达

表 3 结果表明 P53的表达 (1)与腺瘤的大小有关,最大径  $< 1\text{ cm}$  与  $\geq 1\text{ cm}$  的腺瘤之间有显著性差异 ( $P < 0.05$ ); (2)与腺瘤的组织学类型亦有关,管状

与管绒毛状腺瘤之间差异有显著性 ( $P < 0.05$ ); (3)与腺瘤的不典型增生程度关系更为密切,无不典型增生的腺瘤与伴有重度不典型增生的腺瘤之间有非常显著性差异 ( $P < 0.01$ ),伴有轻、中度不典型增生的腺瘤 P53阳性率亦均高于无不典型增生的腺瘤 (但  $P > 0.05$ ). PCNA的表达亦与腺瘤的不典型增生程度有明显关系 ( $P < 0.01$ 或  $P < 0.05$ ),但与其大小、类型等无明显关系。

表3 P53与 PCNA在大肠腺瘤中的表达

Table 3 P53 and PCNA expression and histopathology of adenomas

	例数 No. cases	P53阳性率 P53 positive (%)	PCNA indexes			
			I	II (≤ II %)	III	IV (≥ III%)
腺瘤大小 Size						
< 1 cm	11	2(18.18)	5	6(100)	0	0(0)
≥ 1 cm	18	12(66.67) <sup>a</sup>	6	8(77.78)	3	1(22.22)
组织学类型 Type						
管状 Tubular	11	2(18.18)	5	6(100)	0	0(0)
绒毛状 Villous	6	3(50)	2	2(66.67)	1	1(33.33)
管绒毛状 Tubulovillous	12	9(75) <sup>b</sup>	4	4(66.67)	3	1(33.33)
不典型增生程度 Displasia						
无 Non-displasia	10	1(10)	5	5(100)	0	0(0)
轻~中度 Low-middle	15	9(60) <sup>c</sup>	6	5(73.33)	4	0(26.67)
重度 High	4	4(100) <sup>c</sup>	0	1(25)	1	2(75) <sup>c</sup>

a. 与  $< 1\text{ cm}$  腺瘤比较,  $P < 0.05$ . Compared with size  $< 1\text{ cm}$  adenomas,  $P < 0.05$ ; b. 与管状腺瘤比较,  $P < 0.05$ . Compared with tubular adenomas,  $P < 0.05$ ; c. 与无不典型增生腺瘤比较,  $P < 0.05$ . Compared with non-displasia adenomas,  $P < 0.05$ ; d. 与无不典型增生腺瘤比较,  $P < 0.01$ . Compared with non-displasia adenomas,  $P < 0.01$ .

### 3 讨论

P53基因是近几年研究得最多的一种抑癌基因,有关人类各种恶性肿瘤中P53蛋白表达变化的报道很多。一般认为在正常情况下,野生型P53蛋白的半衰期很短(6 min~30 min),当P53基因突变后,其蛋白构型发生改变或与其他物质结合形成复合物,则半衰期延长,从而可用免疫组化方法测出。突变型P53蛋白在大肠癌发生发展中表达变化的报道近两年增多,但结果不一。我们的结果是:P53在正常大肠粘膜及非新生物性(增生性和炎性)息肉中均不表达,而在大肠癌和腺瘤中均过表达。在腺瘤中P53的表达随腺瘤直径的增加及不典型增生程度的增加而增高,并与腺瘤的类型无关。这与Kaklamani<sup>[3]</sup>和庄小强等<sup>[4]</sup>的报道结果相似,充分表明P53基因突变与大肠腺瘤癌变有非常密切的关系,甚至可能在其中起着相当重要的作用。在大肠癌中,P53的表达随着癌组织恶性程度的增加,肿块的增大,浸润肠壁深度的增加以及出现淋巴结转移,即Duke's分期的延后,呈逐渐增高趋势。以往的研究认为,P53基因突变可失去对细胞生长的调控,导致细胞恶性增殖,并可使细胞获得侵袭转移的能力。我们的结果与该理论相符。由此看来,P53基因的变化与大肠肿瘤发生发展中的一系列生物学行为关系十分密切。因此,突变型P53蛋白的表达有可能作为判断大肠腺瘤恶变倾向以及大肠癌增殖活性和预后的指标之一。

本研究结果大肠癌及腺瘤的P53阳性率较高(以往报道的阳性率分别在42%~70%和5%~54.47%)<sup>[2-6]</sup>,这与标本中抗原的保存、制片条件和技术方法等诸多因素有关。同时还提示广西地区大肠癌的发生发展可能与P53基因的改变有更为密切的关系。

PCNA是DNA多聚酶 $\delta$ 的辅助蛋白,已有许多报道证实其在细胞增殖中起重要作用。本研究结果亦表明PCNA的表达与大肠肿瘤细胞的增殖、侵袭及转移能力呈平行关系,其所表示的细胞增殖指数对判断大肠腺瘤的增殖能力及腺瘤的恶性程度有重要意义,同时可以间接地反映预后<sup>[8]</sup>。

有关C-erbB-2与大肠癌关系的报道很少,研究其与乳腺癌关系的报道很多,且多数结果认为其表达

与乳腺癌的类型、淋巴结转移及预后等有明显关系<sup>[9]</sup>。我们的研究结果未发现C-erbB-2的表达与大肠癌的恶性度、浸润深度、淋巴结转移及Duke's分期等无关。这也许是C-erbB-2在不同的肿瘤中有不同的表现特点。本研究发现C-erbB-2仅在大肠癌中有高表达,而所有非恶性肿瘤及正常粘膜均不表达,这与Arnaout等报道<sup>[7]</sup>的结果不同。值得一提的是,本研究原选腺瘤33例,其中4例检出C-erbB-2阳性。经复查病历发现2例为癌旁腺瘤,另两例则为第一次活检未取到癌变部位的体积较大(最大径 $\geq 3.5$  cm),伴有癌变的腺瘤。因此我们的结果表明,C-erbB-2是大肠癌的癌性标志,有可能作为大肠癌的鉴别诊断依据之一。

### 参考文献

- 1 全国肿瘤防治办公室,中国抗癌协会.中国常见恶性肿瘤诊治规范:大肠癌,第三册.北京:北京医科大学和中国协和医科大学联合出版社,1990.14~23.
- 2 Purdie CA, O'Grady J, Bris T et al. P53 expression in colorectal tumours. *Am J Pathol*, 1991, 138: 807~813.
- 3 Kaklamani L, Gattar KC, Mortensen N et al. P53 expression in colorectal adenomas. *Am J Pathol*, 1993, 142: 87~93.
- 4 庄小强,袁世珍,王晓怀等.大肠肿瘤中抑凋亡基因**bel-2**和**p5**蛋白产物的表达和意义.临床与实验病理学杂志,1996,12:23~26.
- 5 柳红,张佩瑜.结直肠肿瘤P53蛋白表达与肿瘤临床病理特征及预后关系.临床与实验病理学杂志,1995,11:88~91.
- 6 Slarzynska T, Bromley M, Chosh A et al. Prognostic significance of P53 overexpression in gastric and colorectal carcinoma. *Br J Cancer*, 1992, 66: 558~562.
- 7 Arnaout A H, Dawson PM, Soomro S et al. HER 2 oncoprotein expression in colorectal adenocarcinoma: an immunohistological study using three different antibodies. *J Clin Pathol*, 1992, 45: 726~730.
- 8 AL-Shenker IF, Shibata HR, Sampalis J et al. Prognostic significance of proliferating cell nuclear antigen expression in colorectal cancer. *Cancer*, 1993, 71: 1954~1959.
- 9 施作霖,陈小岩,王清水等.C-erbB-2癌基因产物在良恶性乳腺病变中的表达.中华病理学杂志,1993,22:359.

(责任编辑:蒋汉明)