

p53和nm23联合表达对食管鳞癌淋巴结转移的影响

王永康 陈景寒 孟龙 杜德利 刘静

摘要 目的：探讨p53和nm23表达作为食管鳞癌转移标志物的实用价值。方法：采用免疫组化方法检测85例原发性食管鳞癌中p53和nm23蛋白表达。结果：63.53% (54/85) 肿瘤呈p53阳性表达，p53阳性表达与肿瘤淋巴结转移和TNM分期有关（P值均为0.001）。40% (34/85) 肿瘤为nm23低表达。nm23低表达与肿瘤浸润深度、淋巴结转移、TNM分期有关（P值分别为0.032、0.001、0.001）。单因素分析显示：p53和nm23表达为影响淋巴结转移的主要因素（OR值分别为6.984和0.087, $P < 0.001$ ）。多因素分析显示：nm23表达是影响淋巴结转移的一个独立因素（ $b = -0.8481$, OR=0.181, $P = 0.0001$ ）。p53阳性肿瘤具有高度淋巴结转移的倾向（ $b = 0.3150$, OR=2.284, $P = 0.0565$ ），其它临床病理学参数与淋巴结转移之间未见明显关系（ $P > 0.05$ ）。p53和nm23异常表达之间呈负相关（ $r_s = -0.3849$, $P = 0.0003$ ），在促进肿瘤的进展和转移过程中起联合作用。结论：p53和nm23联合表达对判断食管鳞癌患者淋巴结转移倾向和预后差是一个有用的指标。

关键词 p53, nm23; 癌, 鳞状细胞; 食管肿瘤; 淋巴结转移; 免疫组织化学

分类号 R735.1 **文献标识码** A

文章编号 1001-7399(1999)05-0414-03

Influences of p53 and nm23 co-expressions to lymph node metastasis in esophageal squamous cell carcinoma

Wang Yongkang, Chen Jinghan, Meng Long et al

(Dept of Pathol, Shandong Provincial Hospital, Jinan 250021)

ABSTRACT **Purpose** To investigate the applied value of p53 and nm23 expression as markers of lymph node metastasis (LNM) in esophageal squamous cell carcinoma (ESCC). **Methods** The expression of p53 and nm23 proteins were studied immunohistochemically in 85 primary ESCC. **Results** p53 over-expression was observed in 63.53% (54/85) of carcinoma tissues. It was associated with LNM and the TNM staging ($P = 0.001$). In 40% (34/85) of tumors, nm23 expressions were negative, with correlated with the depth of invasion, LNM and TNM staging ($P = 0.032$, 0.001 and 0.001, respectively). Univariate analyses showed that p53 and nm23 expression were mainly influential factors for LNM (OR=6.984 and OR=0.087, $P < 0.001$ respectively). In multivariate analysis, nm23 expression

was the independent risk factor for LNM ($\bar{b}=-0.8481, OR=0.181, P=0.0001$), while p53 expression exhibited highly trend toward metastasis ($\bar{b}=0.3150, OR=2.284, P=0.0565$). None of the other clinic-pathological parameters had significant effect on LNM. The significant negative correlation was found between p53 and nm23 expression ($r_s=-0.3849, P=0.0003$), which played combined role in LNM. **Conclusion** The p53 and nm23 co-expression may be useful markers for predicting of tumor metastatic risk and poor prognosis in the patients with ESCC.

KEY WORDS p53, nm23 ; carcinoma, squamous cell; esophageal neoplasms ; lymphatic metastasis ; immunohistochemistry

正确判断肿瘤有无转移对肿瘤治疗方案的选择和预测患者的预后具有十分重要的意义。近年来研究表明,肿瘤的发生、发展和转移受多种相关基因的调控,在某些肿瘤中p53和nm23基因的失活与肿瘤的发生和转移关系密切,可以作为评估肿瘤的转移和患者预后的指标^[1,2]。笔者结合临床病理学观察结果,分析p53和nm23在食管鳞癌中的联合表达与肿瘤生物学行为的关系以及对淋巴结转移的影响。

1 材料与方法

1.1 材料 收集1987~1992年间经我院诊治的85例原发性食管鳞癌患者。男性66例,女性19例,年龄30~76岁,平均56岁。全部患者经根治性肿瘤切除和区域淋巴结切除。共检出淋巴结518枚,每例平均6枚(3~15枚),肿瘤直径0.5~8 cm(平均4.06 cm)。所有患者术前均未接受放疗或化疗。

1.2 方法 新鲜标本常规固定,石蜡包埋,4 μm厚连续切片,HE染色。按照WHO(1986年)和国际抗癌联盟TNM分期(1987年)标准进行分级和分期。免疫组化染色采用S-P法。鼠抗人p53单克隆抗体(DO-7)和兔抗人nm23多克隆抗体分别为丹麦Dako公司和美国Oncogene Sci公司产品,工作浓度1:50。S-P免疫组化试剂盒为美国Maxim公司产品。操作按说明书进行,染色前经微波修复抗原。PBS代替一抗做阴性对照。DAB显色,苏木精复染。

1.3 结果判断和统计学处理 p53染色为细胞核内呈明显棕黄色颗粒;nm23染色以细胞浆或(和)细胞核内呈棕黄色颗粒且明显高于背景者为染色阳性细胞。根据阳性细胞占肿瘤细胞的比例,以无着色或阳性细胞<10%为阴性表达(-),11%~50%为弱阳性表达(+),>51%为强阳性表达(++)。资料统计和分析采用 χ^2 检验, Pearson等级相关分析, Logistic回归模型分析。

2 结果

2.1 p53和nm23表达与临床病理学参数的关系 见表1。85例患者中, p53阳性肿瘤54例(63.53%), 其中弱阳性41例, 强阳性13例。nm23阴性肿瘤34例(40%), 17例为弱阳性, 34例为强阳性。p53和nm23阳性表达的细胞在不同肿瘤亚型中呈异质性分布, 肿瘤间质未见染色(图1, 2)。p53阳性表达与肿瘤淋巴结转移和TNM分期有关(P值均为0.001), 而与患者性别、年龄、肿瘤部位、生长类型、肿瘤大小、浸润深度及分化程

度未见明显的统计学意义 ($P > 0.05$)。nm23阴性表达与肿瘤浸润深度、淋巴结转移、TNM分期有关 (P 值分别为0.032、0.001、0.001)，但与其它临床病理学参数无关。

表1 p53和nm23表达与食管鳞癌临床病理学特征的关系

临床病理学参数	n	p53 (+)			nm23(-)		
		例数 (%)	χ^2	P值	例数 (%)	χ^2	P值
肿瘤直径(cm)							
< 3	16	8(50.00)	1.812	0.404	6(37.50)	0.871	0.647
3 ~ 5	39	25(64.10)			14(35.89)		
>5	30	21(70.00)			14(46.67)		
浸润深度							
粘膜下层	7	3(42.86)	1.495	0.473	1(14.29)	6.868	0.032
肌层	30	19(63.33)			8(26.27)		
外膜	48	32(66.67)			25(52.08)		
分化程度							
级	18	9(50.00)	2.044	0.360	5(27.78)	2.476	0.290
级	46	30(65.22)			18(39.13)		
级	21	15(71.43)			11(52.38)		
淋巴结转移							
无	36	14(38.89)	16.365	0.001	1(2.78)	36.051	0.001
有	49	40(81.63)			33(67.35)		
肿瘤分期							
+ a期	36	14(38.89)	18.685	0.001	1(2.78)	47.687	0.001
b+ 期	36	28(77.78)			22(61.11)		
期	13	12(92.31)			11(84.62)		

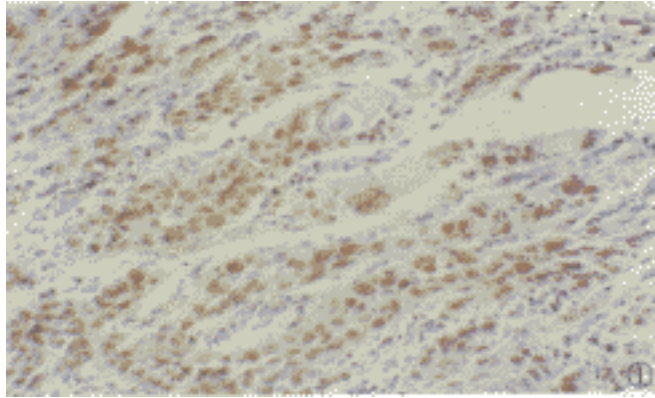


图1 食管鳞癌中p53阳性染色位于细胞核内，p53阳性细胞呈巢状或片状弥漫分布。在具有角化的癌巢中，p53阳性细胞分布于癌巢的外周，而中央角化细胞染色阴性。S-P × 200

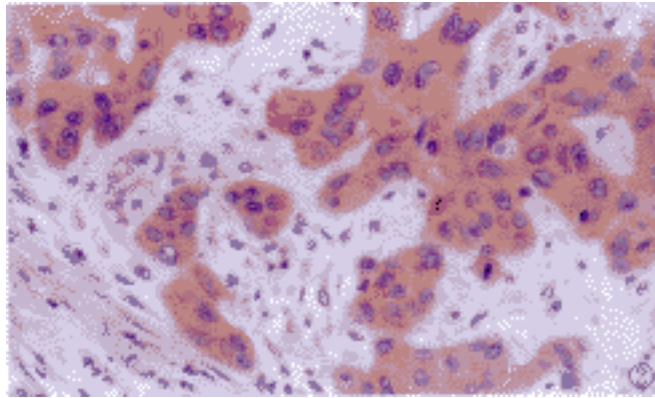


图2 食管鳞癌中nm23阳性染色主要位于胞浆内，部分伴有胞核染色，癌巢nm23阳性细胞呈片状弥散分布。S-P × 200

2.2 p53和nm23表达对肿瘤淋巴结转移的影响 手术时发现85例患者中有淋巴结转移者49例，其中，肿瘤浸润粘膜下层者p53阳性3例（3/3，100%），p53阴性0例（0/4，0%）；nm23阴性1例（1/1，100%），nm23阳性2例（2/6，33.33%）。分达肌层者p53阳性13例（13/19，68.42%），p53阴性5例（5/11，45.45%）；nm23阴性7例（7/8，87.5%），nm23阳性11例（11/22，50%）。侵及外膜者p53阳性24例（24/32，75%），p53阴性4例（4/16，25%）；nm23阴性25例（25/25，100%），nm23阳性3例（3/23，13.04%）。在肿瘤浸润深度相同情况下，p53阳性和nm23阴性表达的肿瘤淋巴结转移率分别高于p53阴性和nm23阳性表达者。

单因素Logistic回归分析显示：p53和nm23表达是影响淋巴结转移的主要因素，其患者淋巴结转移的风险比（OR值）分别为6.984（95%CI：2.61,18.72，P=0.0006）和0.087（95%CI：0.031，0.5242，P=0.0001）。多因素Logistic回归分析显示：nm23表达为影响淋巴结转移的一个独立因素（ $\bar{b}=-0.8481$ ，OR=0.181，P=0.0001）。p53过表达肿瘤具有淋巴结转移的倾向（ $\bar{b}=0.3150$ ，OR=2.284，P=0.0565）。其它临床病理学参数与淋巴结转移之间未见明显关系（P > 0.05）。进一步分析显示，85例肿瘤中，30例（35.29%）p53过表达的肿瘤同时伴

有nm23低表达，p53和nm23表达之间呈显著负相关（Pearson等级相关系数 $r_s=-0.3849$ ， $P=0.0003$ ）。根据p53和nm23不同的联合表达形式作为单一的变量分为四组（见表2），以p53（-）、nm23（+）为标准组（OR=1.00）与其它三组相比较，其患者淋巴结转移的风险比（OR值）分别为3.301、51.568、170.238。

表2 多因素Logistic回归法估计食管鳞癌淋巴结转移的相对危险性

表达情况	n	淋巴结转移阳性（%）	OR值
p53（-）nm23（+）	27	5（18.52）	1.000
p53（+）nm23（+）	24	11（45.83）	3.301
p53（-）nm23（-）	4	4（100）	51.568
p53（+）nm23（-）	30	29（96.67）	170.238

3 讨论

p53基因突变和p53蛋白的聚积是人类肿瘤中最常见的分子生物学改变，但其临床病理学意义目前尚有争议^{〔3〕}。与大多数肿瘤的研究结果相同，Wang等^{〔4〕}的研究表明，p53蛋白过表达不但与食管鳞癌的发生有关，而且与肿瘤的侵袭转移以及患者的生存期缩短有关。Casson等^{〔5〕}在食管腺癌的研究也有相同的发现。nm23基因和蛋白产物抑制肿瘤转移的作用在体外及动物模型实验中已得到证实。对人类乳腺癌、胃癌和结肠癌的研究也发现，nm23基因的丢失和蛋白水平的下降与肿瘤的侵袭力增强，转移率增高有密切关系。可作为预测肿瘤转移和患者预后不良的一个重要指标^{〔2,6,7〕}。在食管癌中，nm23表达的临床意义研究较少，有人认为nm23基因的过表达与食管鳞癌的浸润及淋巴结的转移有关，是预后不良的指标^{〔8〕}。本研究的结果支持大多数学者的观点，即p53过表达与肿瘤淋巴结转移和TNM分期有关。nm23低表达与肿瘤浸润深度、淋巴结转移、TNM分期有关。

本研究进一步显示，在肿瘤浸润深度相同的情况下，p53过表达和nm23低表达患者分别比p53阴性表达和nm23正常表达者淋巴结转移率明显增高。因而不论是单因素还是多因素分析都显示，p53和nm23表达是影响淋巴结转移的主要因素。结果提示：在食管癌的早期即有p53过表达和nm23低表达，其异常表达的肿瘤细胞可能获得很高的扩散和转移的能力。研究还发现，p53过表达的肿瘤常伴有nm23低表达，两者之间呈显著相关性。与p53过表达相比较，nm23低表达对食管鳞癌的转移具有更强烈的影响，这种关系在p53和nm23不同的联合表达形式中表现的更为突出。结果证实p53和nm23的异常表达在促进肿瘤发展和淋巴结转移中具有联合作用。与其它肿瘤病理形态学参数相比较，p53和nm23的异常表达或许更能从本质上反映出不同患者个体之间存在的不同的肿瘤生物学特征，有可能成为识别食管鳞癌转移高危险性患者和预测预后的有用指标。

作者简介：王永康，男，43岁，主治医师。研究方向：肿瘤浸润与转移机制

陈景寒, 男, 55岁, 主任医师, 硕士生导师。研究方向: 胸部肿瘤

作者单位: 王永康(山东省立医院病理科, 济南 250021)

陈景寒(山东省立医院病理科胸外科, 济南 250021)

孟龙(山东医科大学统计学教研室, 济南 250012)

杜德利(山东省立医院病理科, 济南 250021)

刘静(山东医科大学统计学教研室, 济南 250012)

参考文献

- 1, Statzynska T, Markiewski M, Domagala W et al. The clinical significance of p53 accumulation in gastric carcinoma. *Cancer*, 1996;77(10):2005 ~ 2012
- 2, Ura H, Denno R, Hirata K. The significance of nm23 protein expression in human gastric carcinoma. *Surg Today*, 1996;26(12):957 ~ 965
- 3, Sarbia M, Porschen R, Borchard F et al. p53 protein expression and prognosis in squamous cell carcinoma of the esophagus. *Cancer*, 1994;74:2218 ~ 2223
- 4, Wang DY, Xiang YY, Tanaka M et al. High prevalence of p53 protein overexpression in patients with esophageal cancer in Linxian, China and its relationship to progression and prognosis. *Cancer*, 1994;74:3089 ~ 3096
- 5, Casson AG, Kerkvliet N, O • Malley F. Prognosis value of p53 protein in esophageal adenocarcinoma. *J Surg Oncol*, 1995;60(1):5 ~ 11
- 6, Caligo MA, Cipollini G, Berti A et al. nm23 gene expression in human breast carcinoma: loss of correlation with cell proliferation in the advanced phase of tumor progression. *Int J Cancer*, 1997;74(1):102 ~ 111
- 7, Tannapfel A, Kockerling F, Katalinic A et al. Expression of nm23-H1 predicts lymph node involvement in colorectal carcinoma. *Dis Colon Rectum*, 1995;38(6):651 ~ 654
- 8, 王川, 张祥福, 杨发端等. nm23基因在食管癌中表达的免疫组化研究. *肿瘤*, 1998; 18(1): 21 ~ 23

(图片见插页第62页)

收稿日期: 1999-02-01

修回日期: 1999-06-30