

述原因, 根据我们的经验, 如支架不改形, 术后产生的胸骨后疼痛、咽部不适、移位等并发症是无法解决的难题。

本文25例上段食管气管瘘患者, 术后经平均近10 mo的观察, 证明改形后的支架治疗上段食管气管瘘的疗效是确切的, 本组所有患者在完成手术后即让患者饮热水, 立即见呛咳消失, 17例发热, 13例咳黄色痰的患者经同时应用抗生素后均在7-10 d症状消失, 11例手术后的食管癌性食管气管瘘患者中有2例带有胸部引流管, 支架置放后第3 d因引流管内无分泌物而拔管, 因此, 可证明该疗法的可行性和安全性。但通过我们的观察有三点还是应引起重视。(1)因癌性瘘口即使放置了支架, 但可能随着时间的延长瘘口还会扩大, 因瘘口越大, 支架膜因依托关系所承受的压力就越大, 故手术后仍应注意不能进粗硬带骨性食物, 以防支架膜破裂, 本组就有1例因进食不慎发生了支架膜破裂;(2)支架膜应选择高分子, 透氧不渗液的生物膜, 要求生物相容性好, 具有超弹性和抗腐蚀性, 以维持其长期疗效;(3)无论何段食管恶性狭窄及食管气管瘘, 置放支架治疗均为一种姑息方法, 要维持较长时间的疗效, 必须配合放疗。上段因位置特殊, 不可能象中、下段, 一旦复

发, 还可重新放置, 因此强调上段术后放疗等综合治疗更为重要<sup>[7-10]</sup>。

#### 4 参考文献

- 1 Venu RP, Pastika BJ, Kini M, Chua D, Christian R, Schlais J, Brown RD. Self-expandable metal stents for malignant gastric outlet obstruction: a modified technique. *Endoscopy* 1998;30:553-558
- 2 Bethge N, Vakil N. A prospective trial of a new self-expanding plastic stent for malignant esophageal obstruction. *Gastroenterology* 2001;96:1350-1354
- 3 Conio M, Blanch S, Munizzi F, Giacosa A. Metal stents in the cervical esophagus. *Gastrointestinal Endosc* 2002;55:964-965
- 4 Siersema PD, Schrauwen SL, van Blankenstein M, Steyerberg EW, van der Gaast A, Tilanus HW, Dees J. Self-expanding metal stents for complicated and recurrent esophagogastric cancer. *Gastrointest Endosc* 2001;54:579-586
- 5 McManus K, Khan I, McGuigan J. Self-expanding oesophageal stents: strategie for re-intervention. *Endoscopy* 2001;33:601-604
- 6 Lambret R. Treatment of esophagogastric tumors. *Endoscopy* 2000;32:322-330
- 7 傅剑华, 戎铁华, 黄植藩, 杨名添, 吴一龙. 三种类型腔内管置管术姑息治疗晚期食管癌的对照研究. *华人消化杂志* 1998;6:984-986
- 8 智发朝, 朱建新, 梁农亮, 张兰军, 周丹, 潘德寿, 万田莫, 周殿元. 食管支架置入术治疗食管贲门癌性狭窄及瘘63例. *世界华人消化杂志* 2000;8:947
- 9 李国昌, 袁魁. 小口径镍钛合金支架治疗食管上段癌术后狭窄2例. *世界华人消化杂志* 2000;8(特刊8):95
- 10 王苑东, 余国行, 高发芝. 进展晚期食管贲门癌的内镜治疗. *世界华人消化杂志* 1999;7:777-779

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2004年版权归世界胃肠病学杂志社

• 研究快报 •

## p53 和 p16 在食管癌中的表达

李小飞, 刘 锟, 程庆书, 王小平, 汪 健, 卢 强, 刘 勇

李小飞, 刘锟, 程庆书, 王小平, 汪健, 卢强, 刘勇, 中国人民解放军第四军医大学唐都医院胸外科 陕西省西安市 710038  
项目负责人: 李小飞, 710038, 陕西省西安市, 中国人民解放军第四军医大学唐都医院胸外科.  
电话: 029-83377437 传真: 029-83377436  
收稿日期: 2003-12-10 接受日期: 2004-02-01

### 摘要

目的: 研究 p53 和 p16 两种抑制基因蛋白在各级食管黏膜病变中的表达, 探讨食管癌发生发展过程中分子生物学基础的变化。

方法: 应用 ABC 免疫组方法对 134 例食管各级病变组织进行 p53 和 p16 蛋白表达研究。

结果: p53 蛋白表达随着病变的加重其表达也在不断升高。相反, p16 蛋白表达随病变的加重而呈下降趋势, 此外, 二者在 60 例食管癌组织中的表达显著相关( $P < 0.005$ ), 即 p53 表达阳性组的 p16 表达阳性率显著低于 p53 表达阴性

组的 p16 阳性率。

结论: 抑癌基因 p16 的异常表达是食管癌变过程中的早期事件, p53 基因的突变可能对 p16 蛋白的表达起负调节作用。

李小飞, 刘锟, 程庆书, 王小平, 汪健, 卢强, 刘勇. p53 和 p16 在食管癌中的表达. *世界华人消化杂志* 2004;12(6):1476-1478

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/1476.asp>

### 0 引言

在食管癌变过程中, 多种癌基因的激活和抑癌基因的失活发挥着极其重要的作用<sup>[1-2]</sup>。本文应用 ABC 免疫组化技术, 检测了抑癌基因 p53 及 p16 在 134 例食管组织中的表达情况。

### 1 材料和方法

1.1 材料 随机选用我科 1994 年以来食管活检组织 134

例(表1). 食管癌60例中均有不同程度胸骨后不适, 进食困难、消瘦、贫血等. 食管癌上段3例(5.0%), 上中段5例(8.3%), 中段28例(46.7%), 下段24例(40.0%). p53单克隆抗体DO-7, p16兔多克隆抗体及ABC试剂盒均购于Dako公司. p53单抗稀度为1:100, p16抗体则为1:50, 切片封闭前用柠檬酸缓冲液进行抗原修复.

1.2 方法 ABC免疫组化法: 石蜡切片常规脱蜡至水, 3 g/L过氧化氢-甲醇封闭30 min, 漂洗后柠檬酸中加热抗原修复5 min, 而后依次加入一抗(p53, p16) 4℃过夜, 二抗37℃ 60 min, ABC复合物37℃ 60 min, DAB显色, 苏木素复染, 脱水封片.

统计学处理 经ABC免疫组化染色后, 阳性细胞呈棕黄色或棕褐色, 将所得数据进行 $\chi^2$ 检验.

表1 全部病例的基本临床/病理资料

病理学分组	<i>n</i>	平均年龄(岁)	男女比例(男:女)
食管鳞癌			
早期	4 (3.0%)	49.7	3:1
中期	51 (38.1%)	58.5	39:12
晚期	5 (3.7%)	63.8	4:1
不典型增生	30 (22.4%)	47.8	19:11
慢性炎症	18 (13.4%)	41.3	10:8
正常食管黏膜	26 (19.4%)	35.4	14:13

## 2 结果

2.1 p53和p16在各组中表达 经ABC免疫组化染色后, p53阳性表达仅见于细胞核内, 在慢性炎症上皮细胞中偶见散在的弱阳性细胞. 随着病变的加重, p53蛋白表达也逐渐增高且不典型增生组、鳞癌组与正常组比较有显著差别( $P < 0.005$ ). p16阳性表达主要位于细胞质中, 在正常食管黏膜p16表达可高达85%. 随着病变进展, 其表达渐降低且以不典型增生幅度明显增大, 其中不典型增生组、鳞癌组与正常黏膜组p16表达有显著差别( $P < 0.05$ , 表2).

表2 p53和p16在各组中表达

分组	<i>n</i>	p53 (%)	p16 (%)
正常黏膜	26	0 (0%)	22 (85%)
慢性炎症	18	1 (6%)	14 (78%)
不典型增生	30	30 (37%)	17 (57%)
食管鳞癌	60	38 (63%)	28 (47%)

2.2 p53和p16蛋白在癌组织中表达的相互关系 60例食管鳞癌中p53表达阳性40例, p16表达阳性10例. p53表达阴性的20例中p16阳性占18例. 经 $\chi^2$ 检验p53表达阳性组p16表达阳性率显著低于p53表达阴性组的p16的阳性率( $P < 0.05$ , 表3).

表3 p53和p16蛋白在癌组织中表达的相互关系

<i>n</i>	分组	p16	
		阳性	阴性
p53	阳性	10	30
	阴性	18	2

## 3 讨论

3.1 p53表达与食管癌变关系 肿瘤的发生是一个复杂的生物学过程, 有许多癌基因和抑癌基因参与了这个过程<sup>[3-4]</sup>. p53基因是存在于人体内的一种抑癌基因, 他所编码的p53蛋白(野生型)作为细胞生长的监控器, 监控着体内基因组的稳定性, 若体内DNA发生损伤, 他能识别损伤的DNA, 让细胞停留于G<sub>1</sub>期, 通过足够的修理或凋亡, 从而消除可能致癌的异常细胞. 但是, 当p53基因突变以后, 其就失去了对细胞的监视作用, 突变的p53基因便在细胞恶变中起着癌基因的作用<sup>[5-6]</sup>. 由于正常人体中野生型p53蛋白半衰期短, 代谢不稳定且其含量低, 而p53蛋白免疫组化阳性的病例绝大多暗示p53基因突变的存在. 在本实验60例鳞癌中, p53阳性表达率为63%, 他与正常组和炎症组比较有显著差别( $P < 0.05$ ). 这表明p53蛋白阳性表达37%, 不难看出随着病变的进展, 当食管黏膜从慢性炎症发展到不典型增生时, p53蛋白阳性表达也有一个质的飞跃. 这一结果与Doak et al<sup>[7]</sup>在食管癌及相应癌前病变组织中p53基因的研究一致. 这提示p53基因的突变是食管癌发生的早期事件. 因而p53基因可作为食管癌早期诊断的分子指标.

3.2 p16表达与食管癌变的关系 p16抑癌基因, 又称多重肿瘤抑制基因(multiple tumor suppressor 1, MTS1), 位于人9号染色体的P21区域, 全长8.5 kb, 由2个内含子和3个外显子组成, 其外显子编码一种细胞周期素依赖酶(CDK)抑制蛋白, 分子量为160 000, 故称p16蛋白. 现认为细胞周期的正常演进依赖于周围蛋白和抑制蛋白的调节而完成<sup>[8-10]</sup>. 过度的周期蛋白激活或抑制蛋白失活, 都会导致CDK的过度作用, 从而引起细胞的非正常增生. 目前研究表明, p16蛋白作为抑制蛋白, 能与细胞周期蛋白激酶4(CDK4)结合, 抑制CDK4细胞周期蛋白D复合物的催化活性. 从而阻止调节细胞从G<sub>1</sub>期进入S期, 于是抑制细胞增生和恶性转化. 因而, 当p16基因失活时必将导致p16蛋白表达缺如, 从而抑制肿瘤细胞增生能力降低<sup>[5]</sup>. 文献[11-13]报道p16基因在多种恶性肿瘤中发生突变且表达水平下降. 在本文实验中, p16蛋白水平在正常黏膜中呈高表达(85%), 随着病变发展其表达呈下降趋势, 这种趋势以不典型增生为最明显的开始(57%), 这提示p16蛋白表达可能出现在食管鳞癌发生的早期阶段.

3.3 p53和p16蛋白与食管癌变的关系 食管癌变是一个多阶段进行性发展的过程, 在这个过程中, 多种癌基因和抑癌基因之间的协同作用是不可少的<sup>[14-16]</sup>. 在本文

60例食管鳞癌中, 40例p53蛋白阳性病例中, p16亦为阳性者10例. 20例p53蛋白阴性病例中, p16阳性者18例, p53表达阳性组p16表达明显低于p53阴性组. 这说明p53蛋白过度表达和p16蛋白表达缺失是食管癌常见和较早出现的事件. 而且, 他们的阳性表达有相反趋势<sup>[17-19]</sup>. 因而, p53可能对p16表达起着负调节作用. p53基因的突变将促使p16基因杂合子丢失而导致细胞增生的调控机制紊乱, 使细胞进入恶变的状态<sup>[20-21]</sup>.

总之, p53基因的激活和p16的失活均可见于从正常食管上皮 - 慢性炎症 - 不典型增生 - 鳞癌这一系列的组织学变化过程中, 且p53基因的突变促使p16基因杂合子丢失, 可能是食管鳞癌发生过程中先于组织形态学改变的一个早期分子生物学事件<sup>[22]</sup>.

#### 4 参考文献

- 1 Matsumoto T, Fujii H, Arakawa A, Yamasaki S, Sonoue H, Hattori K, Kajiyama Y, Hirose S, Tsurumaru M. Loss of heterozygosity analysis shows monoclonal evolution with frequent genetic progression and divergence in esophageal carcinosarcoma. *Hum Pathol* 2004;35:322-327
- 2 Takeuchi H, Ozawa S, Shih CH, Ando N, Kitagawa Y, Ueda M, Kitajima M. Loss of p16INK4a expression is associated with vascular endothelial growth factor expression in squamous cell carcinoma of the esophagus. *Int J Cancer* 2004;109:483-490
- 3 Shen ZY, Xu LY, Li EM, Cai WJ, Shen J, Chen MH, Cen S, Tsao SW, Zeng Y. The multistage process of carcinogenesis in human esophageal epithelial cells induced by human papillomavirus. *Oncol Rep* 2004;11:647-654
- 4 Hu N, Wang C, Su H, Li WJ, Emmert-Buck MR, Li G, Roth MJ, Tang ZZ, Lu N, Giffen C, Albert PS, Taylor PR, Goldstein AM. High frequency of CDKN2A alterations in esophageal squamous cell carcinoma from a high-risk Chinese population. *Genes Chromosomes Cancer* 2004;39:205-216
- 5 Hamada M, Naomoto Y, Shirakawa Y, Yamatsuji T, Noma K, Motoki T, Nobuhisa T, Okawa T, Haisa M, Gunduz M, Matsuoka J, Tanaka N. p53 expression and p21 expression are mutually exclusive in esophageal squamous cell carcinoma. *Oncol Rep* 2004;11:57-63
- 6 Hattori K, Kajiyama Y, Tsurumaru M. Mutation of the p53 gene predicts lymph node metastases in Japanese patients with esophageal carcinoma: DNA and immunohistochemical analyses. *Dis Esophagus* 2003;16:301-306
- 7 Doak SH, Jenkins GJ, Parry EM, Griffiths AP, Shah V, Baxter JN, Parry JM. Characterisation of p53 status at the gene, chromosomal and protein levels in oesophageal adenocarcinoma. *Br J Cancer* 2003;89:1729-1735
- 8 Zhang JH, Li Y, Wang R, Wen DG, Wu ML, He M. p53 gene polymorphism with susceptibility to esophageal cancer and lung cancer in Chinese population. *Zhonghua Zhongliu Zazhi* 2003;25:365-367
- 9 Xing D, Tan W, Lin D. Genetic polymorphisms and susceptibility to esophageal cancer among Chinese population. *Oncol Rep* 2003;10:1615-1623
- 10 Ueno H, Hirai T, Nishimoto N, Hihara J, Inoue H, Yoshida K, Yamashita Y, Toge T, Tsubota N. Prediction of lymph node metastasis by p53, p21(Waf1), and PCNA expression in esophageal cancer patients. *J Exp Clin Cancer Res* 2003;22:239-245
- 11 Xing Y, Ning Y, Ru LQ, Wang LD. Expressions of PCNA, p53, p21(WAF-1) and cell proliferation in fetal esophageal epithelia: comparative study with adult esophageal lesions from subjects at high-incidence area for esophageal cancer in Henan, North China. *World J Gastroenterol* 2003;9:1601-1603
- 12 Rosa AR, Schirmer CC, Gurski RR, Meurer L, Edelweiss MI, Krueel CD. Prognostic value of p53 protein expression and vascular endothelial growth factor expression in resected squamous cell carcinoma of the esophagus. *Dis Esophagus* 2003;16:112-118
- 13 Wang LD, Liu B, Zheng S. Analysis of p53 mutational spectra of esophageal squamous cell carcinomas from Linzhou, comparison with esophageal and other cancers from other areas. *Zhonghua Liuxingbingxue Zazhi* 2003;24:202-205
- 14 Zhang L, Lu W, Miao X, Xing D, Tan W, Lin D. Inactivation of DNA repair gene O6-methylguanine-DNA methyltransferase by promoter hypermethylation and its relation to p53 mutations in esophageal squamous cell carcinoma. *Carcinogenesis* 2003;24:1039-1044
- 15 Casson AG, Evans SC, Gillis A, Porter GA, Veugelers P, Darnton SJ, Guernsey DL, Hainaut P. Clinical implications of p53 tumor suppressor gene mutation and protein expression in esophageal adenocarcinomas: results of a ten-year prospective study. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003;125:1121-1131
- 16 Sur M, Sur RK, Cooper K, Bizos D. Preliminary report on the effect of brachytherapy on expression of p53, bc1-2 and apoptosis in squamous cell carcinoma of the oesophagus. *S Afr J Surg* 2003;41:14-20
- 17 Nishikawa T, Salim EI, Morimura K, Kaneko M, Ogawa M, Kinoshita A, Osugi H, Kinoshita H, Fukushima S. High susceptibility of p53 knockout mice to esophageal and urinary bladder carcinogenesis induced by N, N-dibutyl nitrosamine. *Cancer Lett* 2003;194:45-54
- 18 Casson AG, Zheng Z, Chiasson D, MacDonald K, Riddell DC, Guernsey JR, Guernsey DL, McLaughlin J. Associations between genetic polymorphisms of Phase I and II metabolizing enzymes, p53 and susceptibility to esophageal adenocarcinoma. *Cancer Detect Prev* 2003;27:139-146
- 19 Chen H, Wang LD, Guo M, Gao SG, Guo HQ, Fan ZM, Li JL. Alterations of p53 and PCNA in cancer and adjacent tissues from concurrent carcinomas of the esophagus and gastric cardia in the same patient in Linzhou, a high incidence area for esophageal cancer in northern China. *World J Gastroenterol* 2003;9:16-21
- 20 Nakamura T, Ide H, Eguchi R, Hayashi K, Takasaki K. Concomitant analysis of p16/INK4, cyclin D1, and retinoblastoma protein expression in esophageal squamous cell carcinoma. *Hepatogastroenterology* 2003;50:1321-1326
- 21 Wu CM, Huang TH, Xie QD, Wu DS, Xu XH. Expression properties of recombinant pEgr-P16 plasmid in esophageal squamous cell carcinoma induced by ionizing irradiation. *World J Gastroenterol* 2003;9:2650-2653
- 22 Matsumoto M, Furihata M, Kurabayashi A, Araki K, Sasaguri S, Ohtsuki Y. Association between inducible nitric oxide synthase expression and p53 status in human esophageal squamous cell carcinoma. *Oncology* 2003;64:90-96