

# BCL-2 及 P53mt 蛋白筛检砷中毒致皮肤癌的价值

胡昌军 张爱华 黄晓欣

**【摘要】** 目的 探讨 BCL-2 及 P53mt 蛋白筛检砷中毒致皮肤癌的价值。方法 BCL-2 及 P53mt 蛋白的检测用免疫组化染色法;两指标阳性率的分析用  $\chi^2$  检验;分析评价筛检价值的有关指标。结果 无论是 P53mt 还是 BCL-2, 癌变组的阳性率均高于非癌变组, 差异均有统计学意义( P53mt,  $P < 0.01$ ; BCL-2,  $P < 0.05$ )。其 OR 值分别为 14.22( 2.93~68.97 )和 8.76( 1.07~71.51 )。P53mt 的约登指数为 0.529, 明显高于 BCL-2 的 0.284。串联试验可提高筛检价值, 并联试验则降低了筛检价值。结论 P53mt 与 BCL-2 均可用于筛检砷中毒所致皮肤癌, 将两指标串联可提高筛检价值。

**【关键词】** 蛋白质 P53; 蛋白质 BCL-2; 砷; 中毒; 皮肤肿瘤

**Value of BCL-2 and P53mt proteins in screening skin carcinoma caused by arseniasis** HU Changjun\*, ZHANG Aihua, HUANG Xiaoxin. \*Department of Public Health, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, China

**【Abstract】 Objective** To discuss the value of P53mt and BCL-2 proteins in screening skin carcinoma due to arseniasis. **Methods** P53mt and BCL-2 proteins were detected by immunohistochemical staining.  $\chi^2$  test was used to analyze the difference of positive rate between two groups. Screening value of the two biomarkers was also evaluated through the analysis of relative indexes. **Results** Positive percentages of P53mt and BCL-2 in carcinoma group were 88.89% and 94.44% respectively, both were higher than those of 36.0% and 66.0% in non-carcinoma group (for P53mt,  $P < 0.01$ ; for BCL-2,  $P < 0.05$ ). ORs of P53mt and BCL-2 were 14.22( 2.93-68.97 ) and 8.76( 1.07-71.51 ), respectively. Youden's Index and specificity of P53mt were 0.529 and 64.0%, which were much higher than those of BCL-2. Serial tests improved the value of screening with Youden's Index 0.569, but parallel test lowered it to 0.244. **Conclusions** P53mt and BCL-2 were practical biomarkers to screen skin carcinoma due to arseniasis, and the former was better than the latter. The value of screening can be improved by a series of tests.

**【Key words】** Protein P53; Protein BCL-2; Arsenic; Poisoning; Skin neoplasms

砷中毒的病理学改变以皮肤为主, 临床上只能观察到色素异常、角化及溃疡等体征, 难以鉴别出一般病变与恶性病变。病理切片活体组织检查虽可作出较准确的诊断结论, 但由于它是观察细胞和组织的形态结构变化来确定病变性质, 作出病理诊断。这需要丰富的阅片经验和扎实的病理学理论知识, 一般医务人员难以作出正确的诊断。而前期的研究发现<sup>[1-3]</sup>在砷中毒所致的病变皮肤中,  $\beta$ -淋巴细胞/白血病-2( BCL-2 )及突变型 P53( P53mt )蛋白有不

同程度的表达, 癌变组织的阳性率及阳性细胞密度均明显高于非癌变组。但从前面的研究仅可得出 BCL-2 和 P53mt 蛋白是砷中毒皮肤癌变的灵敏生物标记物的结论, 其筛检癌变的价值, 尤其是联合试验的筛检价值仍有探讨的必要。

## 资料与方法

1. 资料来源: 贵州省燃煤型砷中毒重病区——兴仁县交乐乡的 68 例砷中毒患者为研究对象。取患者病变部位皮肤, 按常规方法制成 4  $\mu$ m 厚的连续切片, 显微镜下观察病理切片( HE 染色 )中细胞和组织的形态结构变化, 根据切片活体组织形态结构及细胞的异型性结果, 将其分为癌变组( Bowen 病 14 例, 鳞癌 3 例, 基癌 1 例 )和非癌变组( 50 例, 主要

基金项目 国家自然科学基金资助项目( 39660070 )

作者单位 550004 贵阳医学院预防医学系( 胡昌军, 现在广东省湛江市卫生防疫站 524037 )、张爱华, 解放军第四十四医院院长办公室( 黄晓欣 )

是色素沉着及皮肤角化)。BCL-2 及 P53mt 蛋白的检测用免疫组化染色法,主要步骤为:切片常规二甲苯脱蜡,梯度酒精水化,PBS 洗 5 min;抗原修复(BCL-2 需 10 min,P53mt 需 15 min);3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10 min;BCL-2 抗体(1:250)60 min,P53 抗体(即用型)30 min;二抗(1:150)45 min,PBS 洗 5 min;DAB 显色 5~10 min;苏木精复染,脱水、透明、封固。用 PBS 代替一抗作为阴性对照。其判断标准为:胞浆出现棕黄色着色为 BCL-2 阳性细胞,阳性细胞率 > 10% 为样本 BCL-2 阳性;细胞核出现棕黄色着色为 P53mt 阳性细胞,阳性细胞率 > 1% 为样本 P53mt 阳性<sup>[2,3]</sup>。

2. 分析方法:计算各种检测指标的比值比(OR)及评价筛检效果的指标。病变皮肤 BCL-2 及 P53mt 蛋白表达阳性率的比较用  $\chi^2$  检验。

### 结 果

1. BCL-2 及 P53mt 蛋白表达分析:癌变组的阳性率均高于非癌变组,除并联检测的结果外,两组间 BCL-2、P53mt 及其串联 3 种检测的阳性率差别均有统计学意义。P53mt 检测的 OR 值高于 BCL-2,串联检测的高于并联(表 1)。

2. 筛检效果分析:在评价筛检效果的多项指标中,除灵敏度、阴性预测值和阴性似然比外,P53mt 均好于 BCL-2,尤其是 P53mt 的约登指数及特异度均明显高于 BCL-2。串联试验后,除灵敏度、阴性似然比和阴性预测值外,其余各项评价指标均优于单一指标的筛检,而并联试验则不如单一指标的筛检

效果好(表 2)。

### 讨 论

砷中毒是以皮肤改变为主,累及机体诸多器官和组织的全身性疾病。皮肤癌是其主要死因之一。由于很多生物标记物的改变早于临床症状及体征,因而检测患者病变组织的分子生物学指标如癌基因的突变和过度表达,并将之用于恶性病变的鉴别和筛检很有研究价值。免疫组化技术是借助过氧化物酶等标记的抗体与组织切片中的相关抗原相结合,由于过氧化物酶可经过一定的显色处理,抗原抗体反应的阳性结果就会呈现醒目的染色而易于判断<sup>[4]</sup>,加之操作简单,样本可批量检测,近年来已广泛应用于各种恶性病变的筛检和预后判断,甚至于病变机理的探索。而基因治疗方面的一系列重大突破更加深了病变组织基因表达研究的价值。

研究中,P53mt 和 BCL-2 在癌变组与非癌变组中均有表达,但癌变组的阳性率明显高于非癌变组,差异均有统计学意义。P53mt 和 BCL-2 的 OR 值分别为 14.22(2.93~68.97) 和 8.76(1.07~71.51),表明两指标是反映砷中毒皮肤癌变的灵敏标记物。P53mt 的约登指数为 0.529,而 BCL-2 仅为 0.284,说明前者的筛检价值优于后者。串联试验提高了筛检价值,而并联试验则降低了筛检价值。虽然前面的研究发现增殖细胞核抗原在癌变组亦呈过度表达,但由于非癌变组的表达也很明显,两组间阳性率的差别无统计学意义<sup>[5]</sup>,用之筛检癌变皮肤无多大价值。

表1 砷中毒患者病变皮肤 BCL-2 及 P53mt 检测结果比较

检测指标	癌变组(%)	非癌变组(%)	$\chi^2$ 值	P 值	OR 值及 95% CI
P53mt	16(88.89)*	18(36.00)	14.81	<0.01	14.22(2.93~68.97)
	2(11.11)	32(64.00)			
BCL-2	17(94.44)	33(66.00)	4.14	<0.05	8.76(1.07~71.51)
	1(5.56)	17(34.00)			
串联	16(88.89)	16(32.00)	17.19	<0.01	17.00(3.48~83.00)
	2(11.11)	34(68.00)			
并联	17(94.44)	35(70.00)	3.14	>0.05	7.29(0.89~59.83)
	1(5.56)	15(30.00)			

+ 表示检测结果阳性,- 则为阴性;\* 括号外数字为例数,括号内数字为构成比(%);串联指两指标均阳性才判为阳性,并联指两指标均阴性才判为阴性,部分资料见文献[2,3]

表2 BCL-2 及 P53mt 筛检砷中毒致皮肤癌的评价指标分析

筛检指标	灵敏度	特异度	阳性预测值	阴性预测值	粗一致性	调整一致性	约登指数	阳性似然比	阴性似然比
P53mt	88.89	64.00	47.06	94.12	0.706	0.735	0.529	2.47	5.76
BCL-2	94.44	34.00	34.00	94.44	0.500	0.642	0.284	1.43	6.12
串联试验	88.89	68.00	50.00	94.44	0.735	0.753	0.569	2.78	6.12
并联试验	94.44	30.00	32.69	93.75	0.471	0.627	0.244	1.35	5.40

结果表明:P53mt 和 BCL-2 均可用于砷中毒致皮肤癌的筛检,但前者优于后者。若将二者串联起来筛检,效果更好。

### 参 考 文 献

1 Chai CY, Yu HS, Yen HT, et al. The inhibitory effect of UVB irradiation on the expression of P53 and Ki-67 proteins in arsenic-induced Bowen's disease. *J Cutan Pathol*, 1997, 24:8-13.

- 2 胡昌军,张爱华,黄晓欣,等.燃煤型砷中毒患者皮肤 P53mt 蛋白的表达. *中华预防医学杂志* 2001, 35:23-25.
- 3 胡昌军,张爱华,黄晓欣,等. BCL-2 蛋白在燃煤型砷中毒患者皮肤的表达. *中国公共卫生* 2001, 17:777-778.
- 4 武忠弼,主编. *病理学*. 第 3 版. 北京:人民卫生出版社, 1994. 168.
- 5 胡昌军,张爱华,黄晓欣,等. 砷中毒患者皮肤增殖细胞核抗原的表达. *中国地方病学杂志* 2000, 17:241-242.

(收稿日期:2001-08-23)

(本文编辑:张林东)

## · 讣 告 ·

### 刘秉阳教授逝世

中国共产党的优秀党员,我国著名的医学微生物学家和医学教育家刘秉阳教授,因病医治无效,于 2002 年 2 月 21 日在北京逝世,享年 91 岁。

刘秉阳教授 1911 年 12 月出生于湖南湘潭,1935 年毕业于湖南湘雅医学院并获得美国耶鲁大学医学博士学位;1935~1939 年在北京协和医学院细菌免疫学系师资进修班任研究员;1939 年赴美国哈佛大学医学院学习和工作,1942 年被该学院聘为微生物学教授。太平洋战争爆发后他毅然放弃了在美国的优厚待遇和良好的工作条件,冒着生命危险漂洋过海、跋山涉水、千辛万苦返回祖国,开始了报效祖国的近 60 年的医学科研、教学生涯。1943 年他在湘雅医学院任微生物学教授及细菌科主任;1955 年调至原中央流行病学研究所(流研所)工作。先后组建了布鲁氏菌病室、传染免疫遗传变异室、微生物室等并任室主任。他曾担任第一届中国菌种保藏委员会委员,原中国预防医学科学院和流研所学术、学位委员会委员及中国微生物学会、中国免疫学会、中华医学会、中华预防医学会、人畜共患病专业委员会、微生物生态学会、北京市科协微生物学会等学术组织的理事、副秘书长、主任、副理事长等职。并曾出任《中华流行病学杂志》、《微生物学报》、《中国人畜共患病杂志》、《微生物生态学杂志》等杂志的编委。刘秉阳教授是首批政府特殊津贴获得者。

刘秉阳教授一生治学严谨,成绩卓著。他主张科研与医学实践相结合,20 世纪 30 年代,他在白喉杆菌培养基的研制与肠道菌培养方面做了大量工作,他在我国首次分离出斑疹伤寒立克次体,并在鼠胚组织块中培养成功。刘教授留美期间,发表的“亚洲霍乱病原诊断和防治”文章和在美国微生物学会第 4 届年会上所作的关于“斑疹伤寒立克次体的组织培养疫苗的制备”的报告,均受到同行的较高评价。朝鲜战争期间,他从美国飞机投掷的一种似蜘蛛的虫体体表及内部分离到有毒力的炭疽杆菌,为揭露美军进行细菌战提供了实际依据。他学识渊博,50 年代从事炭疽病、布鲁氏菌病的综合性研究,60 年代创建了微生物基础理论研究室,开展免疫学及遗传变异的广泛研究,取得了开创性进展;70~90 年代他与科技人员成功研制了卡他球菌脂多糖和微生态制剂,其中“培菲康”已进入国家基本药品目录,并获得上海市科学技术进步一等奖,实现了实验室科研成果进入药品生产造福于人民健康的愿望。1981 年他访问了世界卫生组织、希腊、地中海人畜共患病控制中心,为 WHO 在我国建立人畜共患病研究中心起到了促进作用。在多年的科研和教学活动中除发表了近 50 篇学术论文外,他还主编了《医学细菌学》、《医学细菌学过去、现在、未来》、《医学微生物学》、《微生物实验方法》、《实用流行病学》、《布鲁氏菌病学》、《布鲁氏菌病实验室操作方法汇编》等多部医学著作。

刘教授教书育人,辛勤耕耘,先后培养了几十名硕士、博士研究生。他的学生遍布国内外,桃李满天下。并已成为医学院校、科研单位及卫生防疫部门中的业务骨干、学科带头人、专家、学者;有的还走上了重要领导岗位。

刘秉阳教授是湖南省第一届人大代表,是原中国预防医学科学院民盟负责人。他有坚定的共产主义信念,于 1985 年以 74 岁高龄加入中国共产党并曾被评为卫生部直属机关优秀共产党员。退休后他仍坚持指导科研工作,把一生的学识奉献社会。1995 年在他的指导下,揭开了杨晓霞怪异病的病因。“杨晓霞的坏疽病因学”被评为中国医药 10 大新闻之一。在他的指导下,1997 年流研所微生物室获得关于大肠埃希菌 O157:H7 研究的国家科技进步二等奖、卫生部一等奖。刘教授也因此获得 1999 年卫生部“老有所为奉献奖”。

刘秉阳教授,一生为国家、为人民、为医学事业做出了突出的贡献,我们永远怀念他。