

· 研究原著 ·

文章编号 1000-2790(2006)15-1434-04

p57^{kip2} 和 cyclin E 在人宫颈癌中的表达及其与临床病理及预后的关系

郭伟平¹, 王泽华²(¹ 解放军第 152 医院妇产科, 河南 平顶山 467000, ² 华中科技大学同济医学院附属协和医院妇产科, 湖北 武汉 430022)

Expressions of p57^{kip2} and cyclin E in human cervix carcinoma and their correlations with clinicopathology and prognosis

GUO Wei-Ping¹, WANG Ze-Hua²

¹Department of Obstetrics and Gynecology, PLA 152 Hospital, Pingdingshan 467000, China, ²Department of Obstetrics and Gynecology, Affiliated Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, China

【Abstract】 AIM: To investigate the effects of tumor suppressor gene p57^{kip2} and cyclin E in the genesis and progression of human cervix carcinoma and their clinicopathological and prognostic significances. **METHODS:** The expressions of p57^{kip2} and cyclin E in tumor tissues of 48 patients with cervix carcinoma and 13 cases with cervical intraepithelial neoplasia (CIN) and 15 cases with normal cervical epithelium were detected by Poly-HRP immunohistochemical technique. **RESULTS:** The positive expression rate of p57^{kip2} in tumor tissues of cervix carcinoma was 21%, which was lower than those in normal cervical epithelial (93%) and CIN tissues (77%), and there were significant differences ($P < 0.01$). The positive expression rate of cyclin E in tumor tissues of cervix carcinoma was 77%, which was higher than that in normal cervical epithelial tissues (13%); the difference was also significant ($P < 0.01$). In the tumor tissues, there was a significant negative correlation between cyclin E and p57^{kip2} positive-expressions ($r = -0.597, P < 0.01$). p57^{kip2} positive-expression was associated significantly with tumor cell differentiation and lesion size ($P < 0.05, P < 0.05$). Cyclin E positive expression was correlated significantly with tumor cell differentiation and lymph node metastasis ($P < 0.01, P < 0.05$). Kaplan-Meier estimation indicated that the survival might be related to p57^{kip2} and cyclin E positive expressions ($P < 0.01, P < 0.01$). **CONCLUSION:** The decreased expression or loss of p57^{kip2} and/or over-expression of cyclin E may play an important role in the genesis and progression of cervix carcinoma, and be associated

with poor prognosis, which act as a negative feedback mechanism in cell cycle regulation of cervix carcinoma.

【Keywords】 p57^{kip2}; cyclin E; cervical neoplasms; cervical intraepithelial neoplasia; immunohistochemistry

【摘要】目的: 探讨抑癌基因 p57^{kip2} 和细胞周期素 E (cyclin E) 在宫颈癌发生发展中的作用及其与临床病理及预后的意义。方法: 采用免疫组化二步法检测 p57^{kip2} 和 cyclin E 在 48 例宫颈癌、13 例宫颈上皮内瘤变 (CIN) 和 15 例正常宫颈组织中的表达。结果: p57^{kip2} 在宫颈癌中的阳性表达率为 21%, 低于正常组 (93%) 和 CIN 组 (77%), 差异有显著性意义 ($P < 0.01$)。cyclin E 在宫颈癌中的阳性表达率为 77%, 明显高于正常组 (13%), 差异有显著性意义 ($P < 0.01$)。在宫颈癌组织中 p57^{kip2} 和 cyclin E 的表达呈负相关 ($r = -0.597, P < 0.01$)。p57^{kip2} 的表达与病理分化程度及肿瘤直径有关 (P 均 < 0.05)。cyclin E 的表达与病理分化程度及淋巴结转移有关 ($P < 0.01, P < 0.05$)。Kaplan-Meier 单因素分析宫颈癌患者生存时间与 p57^{kip2}、cyclin E 阳性表达有关 ($P < 0.01, P < 0.01$)。结论: p57^{kip2} 的低表达或缺失和/或 cyclin E 的高表达可能在宫颈癌发生发展中起重要作用, 与不良预后有关, 两者在宫颈癌细胞周期调控中可能存在着负反馈调节机制。

【关键词】 有丝分裂抑制因子; 细胞周期蛋白 E; 宫颈肿瘤; 宫颈上皮内瘤样病变; 免疫组织化学

【中图分类号】R737.33

【文献标识码】A

0 引言

细胞周期的正常运行受周期素 (cyclin)、周期素依赖激酶 (cyclin-dependent kinase, CDK) 和周期素依赖激酶抑制剂 (cyclin-dependent kinase inhibitors, CDKI) 在多个层次上的共同调节, 其中任何组分异常都可能导致细胞的无限增殖。p57^{kip2} 是最新发现的 CIP/KIP 家族成员, 被认为是候选的抑癌基因, 与肿瘤的发生发展有密切的联系。cyclin E 是细胞周期正向调控因子, 被认为是癌基因。我们采用免疫组化二步法检测 p57^{kip2} 和 cyclin E 在宫颈癌、宫颈上皮内瘤变和正常宫颈组织中的表达, 旨在探讨宫颈癌的发病机制及与临床病理及预后的关系。

1 对象和方法

1.1 对象

收集 1996-01/1999-01 在解放军第 152

收稿日期 2005-09-22; 接受日期 2005-12-12

作者简介: 郭伟平, 硕士生 (导师王泽华), 主治医师。Tel (0375)

3843091 Email gwpzhzh1@tom.com

医院妇产科手术的存档蜡块共 76 例,其中宫颈癌 48 例(宫颈瘤组),所有患者术前均未行放化疗,术前根据国际妇产科联盟标准进行临床分期, I 期 28(I_{1a} 期 18, I_{1b} 期 10)例; II 期 20(II_a 期 15, II_b 期 5)例; 均行广泛子宫切除 + 盆腔淋巴结清扫术; 其中高分化宫颈癌 9 例,中低度分化 39 例; 鳞癌 42 例,腺癌 6 例; 有淋巴结转移 15 例,未转移 33 例; 肿瘤直径大于 4 cm 者 16 例,小于或等于 4 cm 者 32 例; 随访 44 例,随访率为 92%。宫颈上皮内瘤变(cervical intraepithelial neoplasia, CIN) III 级 13 例(CIN 组)。因良性病变行子宫全切的正常宫颈组织 15 例(正常组)。所有标本均再次切片经病理学专家诊断证实,三组间年龄比较差异无显著性($P > 0.05$)。浓缩型小鼠抗人 p57^{kip2} mAb 和即用型小鼠抗人 cyclin E mAb 及阳性切片均购自福州迈新生物技术公司,即用型二步法检测试剂盒(PV-9000)购自北京中山生物技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 p57^{kip2} 和 cyclin E 表达检测 采用免疫组化二步法^[1],以 TBS 代替一抗做空白对照。将 40 g/L 甲醛固定石蜡包埋的组织制备成 4 μm 厚连续切片脱蜡水化后,将切片放入盛有 10 mmol/L 柠檬酸盐缓冲液(pH = 6.0)的高压锅中高温高压抗原修复,分别滴加 p57^{kip2}(工作浓度 1:150)和 cyclin E 一抗工作液,4℃ 冰箱内孵育过夜。滴加即用型聚合物辅助剂,滴加即用型辣根酶标记羊抗兔/小鼠 IgG 多聚体,室温孵育 30 min。DAB 显色液,苏木素复染,梯度乙醇脱水,二甲苯透明,晾干后中性树脂封片。

1.2.2 结果判定 p57^{kip2} 和 cyclin E 以胞核染色为棕褐色颗粒者为阳性反应细胞。依据染色阳性细胞所占细胞总数的百分数评分(A):小于 5% 为 0 分,5% ~ 25% 为 1 分,26% ~ 50% 为 2 分,大于 50% 为 3 分;按染色强度评分(B):无色为 0 分,弱染色为 1 分,中等染色为 2 分,强染色为 3 分;总分(A + B) ≥ 3 分为阳性表达, < 3 分为阴性表达^[2]。

统计学处理:使用 SPSS 11.0 软件系统,计数资料进行 χ^2 检验或 Fisher's 确切概率法检验,相关比较采用 Spearman 等级相关分析,生存分析采用 Kaplan-Meier 法,Log-rank 检验生存率差异, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 p57^{kip2} 和 cyclin E 在正常宫颈、CIN 及宫颈癌组织中的表达 p57^{kip2} 和 cyclin E 主要定位于正常宫颈上皮细胞和阳性病例细胞核中,少数阳性产物弥散

分布于核膜或核周,其中 p57^{kip2} 在基底层和基底旁层细胞中表达较弱,阳性细胞多出现于浅表层,与文献报道一致^[3]。p57^{kip2} 在宫颈癌中的阳性表达率为 21%,与正常组(93%)及 CIN 组(77%)相比明显下降,差异有显著性意义($\chi^2 = 30.111, P < 0.01$); cyclin E 在宫颈癌中的阳性表达率为 77%,与正常组(13%)相比,差异显著($\chi^2 = 19.695, P < 0.01$)。

2.2 宫颈癌组织中 p57^{kip2} 和 cyclin E 表达的关系

宫颈癌组织中 p57^{kip2} 阴性组 cyclin E 阳性率(89%)明显高于 p57^{kip2} 阳性组 cyclin E 阳性率(30%),差异有显著性意义($P < 0.01$);经 Spearman 等级相关分析, cyclin E 与 p57^{kip2} 呈显著负相关($r = -0.597, P < 0.01$)。

2.3 不同临床病理特征宫颈癌患者 p57^{kip2} 和 cyclin E 的表达

p57^{kip2} 的表达与宫颈癌病理分化程度及肿瘤直径有关($\chi^2 = 5.713, P < 0.05, \chi^2 = 4.563, P < 0.05$); cyclin E 的表达与宫颈癌病理分化程度及淋巴结转移有关($\chi^2 = 9.148, P < 0.01, \chi^2 = 4.737, P < 0.05$, 表 1)。

表 1 p57^{kip2} 和 cyclin E 的表达与宫颈癌临床病理特征的关系 (n)

类别	n	p57 ^{kip2}		P	cyclin E		P
		-	+		-	+	
临床分期							
I	28	21	7	>0.05	9	19	>0.05
II	20	17	3		2	18	
组织学类型							
鳞癌	42	32	10	>0.05	11	31	>0.05
腺癌	6	6	0		0	6	
病理分化程度							
高分化	9	4	5	<0.05	6	3	<0.01
中-低分化	39	34	5		5	34	
肿瘤直径							
≤4 cm	32	22	10	<0.05	10	22	>0.05
>4 cm	16	16	0		1	15	
淋巴结转移							
未转移	33	24	9	>0.05	11	22	<0.05
转移	15	14	1		0	15	

2.4 p57^{kip2} 和 cyclin E 的表达与宫颈癌预后的关系

宫颈癌 48 例患者中 34 例死亡,最长生存期为 96 mo,最短生存期为 13 mo,平均为 60 mo,生存期为确诊日期至死亡或终检日期。p57^{kip2} 阳性表达患者的中位生存期明显高于阴性表达者,差异有显著性意义

($\chi^2 = 12.9$ $P < 0.01$) ,cyclin E 阳性表达患者的中位生存期明显低于阴性表达者,二者相比,差异显著($\chi^2 = 14.72$ $P < 0.01$ 图 1 2)。

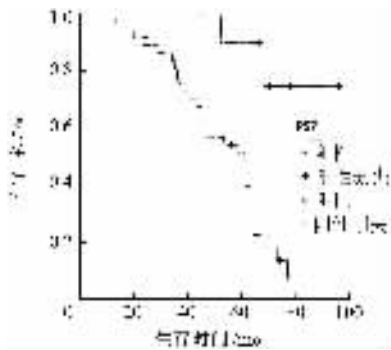


图 1 p57^{kip2}的表达与患者生存期的关系

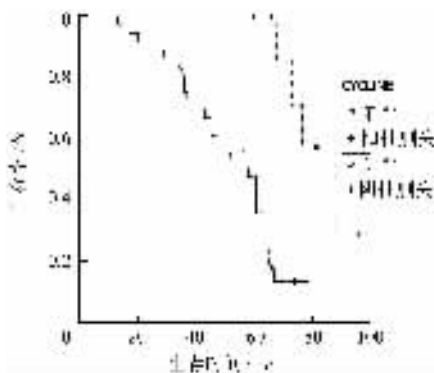


图 2 cyclin E 的表达与患者生存期的关系

3 讨论

肿瘤的发生是一个复杂的生物学过程,受到多种因素的影响。越来越多的学者提出细胞生长周期的失调在肿瘤的发生中起重要作用。有许多证据表明周期素、CDKI 的异常表达在多种人类肿瘤的发病机制中是最重要的事件之一^[4]。CDKI-cyclin/cdk-Rb 旁路在细胞增殖周期中是关键的调控之一,这个旁路的破坏能促进细胞增殖、基因突变和肿瘤的发生^[2]。CDKI 作为细胞增殖的抑制剂和肿瘤的抑制基因,其功能破坏将导致肿瘤生长和不良的临床预后,在多种人类肿瘤中这种可能性已得到证实^[5]。人 p57^{kip2} 基因定位于染色体 11p15.5 上的 D11s648 和 D11s679 之间的约 2.2kb 区域内,是一个母系表达父系印记的 CDKI,属于 CIP/KIP 家族,被认为是候选的抑癌基因。p57^{kip2} 蛋白是 p57^{kip2} 基因的表达产物,结合和抑制周期素-CDK 复合物,对细胞周期起负性调控作用, p57^{kip2} 蛋白主要抑制 cyclin E-CDK2, cyclin A-CDK2 和 cyclin D-CDK2 等 G1 期和 S 期激酶复合物,是周期素-CDK 的强抑制剂,引起细胞停滞在 G1 期。已有研究表明 p57^{kip2} 在肝癌、头颈部肿瘤、甲状腺癌等人

类肿瘤中均异常表达^[6-8],但在妇科肿瘤中的研究较少^[9-10]。Samuelsson 等^[11]提出 p57^{kip2} 较 p21, p27 更有效地参与宫颈癌传代细胞的凋亡。我们的结果显示,宫颈癌组织中 p57^{kip2} 表达阳性率显著低于正常宫颈组织及宫颈上皮内瘤变组织($P < 0.01$),宫颈癌组织中 p57^{kip2} 表达强度随着恶性程度的增高及肿瘤体积增大而降低, p57^{kip2} 阴性表达的中位生存期明显低于阳性表达的中位生存期,且差异有显著性($P < 0.01$)提示 p57^{kip2} 表达下降或缺失,可能是宫颈癌发生机制之一,而且提示不良的临床预后。

cyclin E 是新近发现的 G1 期周期素, cyclin E 基因定位于人类染色体 11q12, 细胞进入 S 期需要 cyclin E 及其催化配体参与,是细胞周期转换中的重要调控因子,在多种人类肿瘤中 cyclin E 扩增和过表达提示在肿瘤生物学上起重要作用。Schraml 等^[12]提出宫颈鳞状细胞癌中有 cyclin E 基因扩增。我们的结果显示从正常组至 CIN 组至宫颈癌组, cyclin E 蛋白的表达逐级增高, cyclin E 的表达与宫颈癌病理分化程度及淋巴结转移有关($P < 0.01$, $P < 0.05$), cyclin E 阳性表达患者的中位生存期明显低于阴性表达者,差异均有显著性($P < 0.01$),提示 cyclin E 阳性表达与宫颈癌的生存期呈负相关,可做为预后不良的指标。本研究还发现,宫颈癌组织中 p57^{kip2} 与 cyclin E 蛋白的表达呈显著负相关($P < 0.01$),提示两者在宫颈癌细胞周期调控中存在负反馈调节机制。

我们的结果显示, p57^{kip2} 表达下降和/或 cyclin E 高表达可能参与宫颈癌的发生发展,与不良预后有关,两者在细胞周期调控中可能存在着负反馈机制,有待进一步研究。

【参考文献】

- [1] 丁伟, 何晓军. 合理应用免疫组织化学二步法检测系统[J]. 中华病理学杂志, 2003, 32(6): 569-570.
- [2] Cheung TH, Lo KW, Yu MM, et al. Aberrant expression of p21^{WAF1/CIP1} and p27^{KIP1} in cervical carcinoma[J]. Cancer Lett, 2001, 172(1): 93-98.
- [3] Reid LH, Crider-miller SJ, West A, et al. Genome organization of the human p57^{kip2} gene and its analysis in the G401 Wilms' tumor assay[J]. Cancer Res, 1996, 56(6): 1214-1218.
- [4] Tae Kim Y, Kyoung Choi E, Hoon Cho N, et al. Expression of cyclin E and p27^{KIP1} in cervical carcinoma[J]. Cancer Lett, 2000, 153(1-2): 41-50.
- [5] Tsihlias J, Kapusta L, Slingerland J. The prognostic significance of altered cyclin-dependent kinase inhibitors in human cancer[J]. Annu Rev Med, 1999, 50: 401-423.
- [6] Nakai S, Masaki T, Shirator Y, et al. Expression of p57^{kip2} in hepatocellular carcinoma: Relationship between tumor differentiation

- and patient survival[J]. *Int J Oncol* ,2002 ,20(4) 769 - 775.
- [7] Lai S , Goepfert H , Gillenwater AM. et al. Loss of imprinting and genetic alterations of the cyclin-dependent kinase inhibitor p57^{kip2} gene in head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Clin Cancer Res* 2000 6(8) 3172 - 3176.
- [8] Ito Y , Yoshida H , Nakano K , et al. Expression of p57/kip2 protein in normal and neoplastic thyroid tissues[J]. *Int J Mol Med* ,2002 , 9(4) 373 - 376.
- [9] Fukunaga M. Immunohistochemical characterization of p57(kip2) expression in early hydatidiform moles[J]. *Hum Pathol* ,2002 , 33 (12) 1188 - 1192.
- [10] Fisher RA , Hodges MD , Rees HC , et al. The maternally transcribed

- gene p57(kip2) (CDKN1C) is abnormally expressed in both androgenetic and biparental complete hydatidiform moles[J]. *Hum Mol Genet* 2002 11(26) 3267 - 3272.
- [11] Samuelsson MK , Pazirandeh A , Okret S. A pro-apoptotic effect of the CDK inhibitor p57^(kip2) on staurosporine-induced apoptosis in Hela cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun* ,2002 ,296(3) : 702 - 709.
- [12] Schraml P , Bucher C , Bissig H , et al. Cyclin E overexpression and amplification in human tumours[J]. *J Pathol* ,2003 200(3) 375 - 382.

编辑 井晓梅

· 经验交流 · 文章编号 1000-2790(2006)15-1437-01

鼻内镜下治疗顽固性鼻出血 162 例的临床护理

李爱玉 张坪兰 江小兰

(井冈山学院护理学院 江西 吉安 343000)

【关键词】鼻内镜;鼻出血;顽固性

【中图分类号】R765.23 【文献标识码】B

1 临床资料 2002-01/2005-12 井冈山学院附属医院耳鼻咽喉科收治顽固性鼻出血患者 162(男 103 女 59)例,年龄 13 ~ 85(平均 56.2)岁。全部患者均以反复鼻出血就诊,病史 0.5 ~ 11(平均 3.3) d;出血量 30 ~ 800 mL;并发高血压 78 例(48.1%)。162 例顽固性鼻出血患者中,分别行后鼻孔填塞(PNP)、鼻内镜下双极电凝止血术(E-Cau)、鼻内镜引导下前鼻孔填塞(E-ANP)等治疗,反复出血者采用上述治疗方法的不同组合进行综合治疗。其中 E-Cau 122 例,E-Cau 加 E-AP 31 例,E-Cau 加 PNP 9 例。162 例全部治愈。输血 3 例,输血量 400 ~ 1200 mL。行 E-Cau 一次性成功止血 130 例,治疗过程中反复出血 32 例,均经综合治疗护理治愈,无明显并发症。

2 护理措施

2.1 加强心理护理 稳定患者情绪 因反复出血多次,患者易出现恐惧、焦虑、悲观等心理反应^[1],不利于止血。填塞后,应用通俗易懂的语言向患者解释病情,解除其后顾之忧;其次,告之患者因鼻腔有填塞物要承受一定的不适,这种不适是暂时的。

2.2 严密观察生命体征 ①血压:若收缩压低于 80 mmHg (1 mmHg = 0.133 kPa)时,说明出血量已达到容量的

1/4^[2] 此时应迅速建立液路,输血补液及时纠正休克。填塞后若患者出现疼痛、发热、烦躁、失眠,血压也可能轻度升高。应随时监测血压,必要时做血气分析。②体温观察 填塞后的患者可有轻度反应性发热。如热度较高,或持续时间较长,则有继发感染的可能。应定期测量体温,为医师合理用药提供参考。

2.3 给予舒适卧位 协助患者取半卧位,禁止下床活动,以减轻出血。年老体弱患者加床挡,防止患者坠床。根据患者的需要调整床头的高度,保持床铺的清洁、平整。

2.4 均衡的营养和足量的水摄入 应给予高蛋白、高维生素、高纤维、富含营养的半流质或流质饮食。食物温度不能太高,防止刺激伤口,引起出血。

2.5 促进肠蠕动,预防便秘 每日给患者顺时针、环形按摩^[3]腹部,每日 2 次。病情稳定后可下床适量活动,促进肠蠕动。饮食中增加纤维素的含量,如绿叶蔬菜、粗粮等,无糖尿病的患者还可以饮用蜂蜜水。

2.6 并发症护理 患者取半卧位,配合局部冷敷。保持病室安静,限制活动,可有效地减轻疼痛,也可减少再出血的机会,必要时给予镇痛剂。嘱患者尽量避免打喷嚏、咳嗽,防止纱条脱出。难忍时用舌尖顶上腭,必要时可根据医嘱应用镇咳药。纱条如部分脱出可给予剪除,严禁将脱出的纱条再塞回鼻腔内。帮助患者准备一些吸水性强纸巾将眼角的泪水轻轻拭去,结膜囊内滴用抗生素眼药水,随着鼻腔内的填充物的减少,症状也随之减轻,抽出填塞物后溢泪随之消失。

通过增加室内空气湿度,为患者做口腔护理、少量多次饮水、口内含漱温开水或以无菌棉签浸水湿润口唇黏膜等方法,保持呼吸道湿润。必要时行蒸气吸入。

【参考文献】

- [1] 梅传君. 鼻出血病人的心理护理体会[J]. *现代医药卫生* 2003 , 6 789.
- [2] 黄选兆. *实用耳鼻咽喉科学* [M]. 北京:人民卫生出版社,1998 : 183.
- [3] 蔡学莲. 腹部按摩解除化疗患者便秘的临床观察[J]. *护士进修杂志* 2002 4 32.

收稿日期 2006-05-16; 接受日期 2006-06-27

作者简介 李爱玉,主管护师,讲师,副院长。Tel (0796) 8852882

Email liaiyu666@yahoo.com.cn

编辑 袁天峰