

p27^{kip1} 和 cyclin D1 在肾癌中的表达及临床意义

刘学锋, 吴斌

(中国医科大学附属盛京医院泌尿外科, 辽宁 沈阳 110004)

[摘要] 目的: 研究肾癌组织中 p27^{kip1} 和 cyclin D1 蛋白的表达, 探讨其与肾癌生物学特征的内在联系。方法: 应用免疫组化 S-P 法, 对 53 例肾癌及 6 例正常肾组织中 p27^{kip1} 和 cyclin D1 蛋白进行检测。结果: 在正常肾组织中 p27^{kip1} 均呈阳性表达, p27^{kip1} 阳性表达率在肾癌不同临床分期, 不同病理分级中差异显著 (G1~G2: 70.00%, G3~G4: 27.27%, $P < 0.05$; T1~T2: 70.83%, T3~T4: 20.69%, $P < 0.05$)。cyclin D1 在正常肾组织呈阴性表达, cyclin D1 阳性表达率在肾癌不同临床分期, 不同病理分级中差异显著 (G1~G2: 51.35%, G3~G4: 27.27%, $P < 0.05$; T1~T2: 58.33%, T3~T4: 20.69%, $P < 0.05$)。结论: p27^{kip1} 和 cyclin D1 蛋白在肾癌中的表达与肿瘤生物学行为密切相关, p27^{kip1} 和 cyclin D1 在肾癌的发生、发展中起重要作用。

[关键词] 肾癌; p27^{kip1}; 细胞周期蛋白 D₁

[中图分类号] R737.14 [文献标识码] A [文章编号] 0258-4646(2007)02-0173-02

Expression of p27^{kip1} and cyclin D1 in renal cell carcinoma and their clinical significance

LIU Xue-feng, WU Bin

(Department of Urology, Shengjing Hospital, China Medical University, Shenyang 110004, China)

[Abstract] **Objective:** To evaluate the expressions of p27^{kip1} and cyclin D1 in renal cell carcinoma (RCC), and to explore the association between the biological characteristics of RCC and the expressions of p27^{kip1} and cyclin D1. **Methods:** The expressions of p27^{kip1} and cyclin D1 were detected by immunohistochemical S-P method in 53 cases of RCC and 6 normal renal tissues. **Results:** In normal renal tissues, p27^{kip1} was positively expressed and cyclin D1 was negatively expressed. There were significant differences in the positive expression rates of both p27^{kip1} and cyclin D1 in renal cell carcinomas of different pathological grades and clinical stages (p27^{kip1}: G1 to G2 70.00%, G3 to G4 27.27%, T1 to T2 70.83%, T3 to T4 20.69%; cyclin D1: G1 to G2 51.35%, G3 to G4 27.27%, T1 to T2 58.33%, T3 to T4 20.69%; all $P < 0.05$). **Conclusion:** The expressions of p27^{kip1} and cyclin D1 are closely correlated with biological behavior of RCC. p27^{kip1} and cyclin D1 may play important roles in the occurrence and development of RCC.

[Key words] renal cell carcinoma; p27^{kip1}; cyclin D1

p27^{kip1} 是新近发现的肿瘤抑制基因, 能够抑制细胞周期依赖性激酶 (cyclin-dependent kinase, CDK) 从而抑制细胞从 G1 期到 S 期的转化, 其在细胞周期调控中所起的作用已引起广泛关注。本文研究 p27^{kip1} 和 cyclin D1 在肾癌 (renal cell carcinoma, RCC) 中的表达, 探讨其与肾癌生物学特征的内在联系。

1 材料与方法

1.1 研究对象 正常肾组织 6 例, 来自肾外伤肾切除手术患者。肾癌标本 53 例, 来自 2000 年 1 月至 2004 年 9 月我院住院手术患者, 术后病理均为肾透明细胞癌。病理分级按 Fuhrman 标准: G1~G2 20 例, G3~G4 33 例。临床分期按 UICC 标准: T1~T2 期 24 例, T3~T4 期 29 例。

1.2 主要试剂 一抗为鼠抗人 p27^{kip1} 抗体, 鼠抗人 cyclin D1 抗体 (北京中山生物技术有限公司)。

1.3 方法 每例标本连续石蜡切片 3 张, 片厚 5 μ m, 分别行 HE 染色及免疫组化染色, 并设空白对照, 以 PBS 缓冲液代替一抗做阴性对照。免疫组化染色操作步骤: 石蜡切片二甲苯脱蜡, 无水酒精脱水, PBS 冲洗 5 min; 3% 过氧化氢作用后 PBS 冲洗, 每张切片上加一滴 10% 山羊血清置入湿盒内 20 min; 甩弃血清加入一抗过夜, PBS 冲洗 5 min 重复 3 次; 生物素标记二抗室温 45 min; PBS 冲洗 5 min 重复 3 次; 辣根酶标记链霉卵白素工作液 40 min; PBS 冲洗 5 min 重复 3 次; DAB 显色 1~3 min 自来水充分冲洗; 苏木素复染 1 min; 1% 的酸酒浸润 1 次, 自来水冲洗 30 min; 75% 乙醇脱水 5 min, 95% 乙醇脱水 5 min, 无水乙醇 1 脱水 5 min; 无水乙醇 2 脱水 10 min; 二甲苯透明; 中性树胶封片。

1.4 结果判定 以细胞核或胞浆染成棕褐色为阳性细胞。每张染色切片先用低倍镜 (10 \times 10) 选择 10 个有代表性的视野, 再换用高倍镜 (10 \times 40) 计数每一视野中阳性细胞数占所有细胞数的比例 ($\leq 25\%$ 为阴性, $> 25\%$ 为阳性)。

[作者简介] 刘学锋 (1973 -), 男, 主治医师, 博士。

E-mail: lxf78k@sina.com.cn

1.5 统计学处理:采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异显著。

2 结果

免疫组化染色结果显示 p27^{kip1} 在 6 例正常肾组织均呈阳性表达, cyclin D1 在 6 例正常肾组织呈阴性表达。cyclin D1 和 p27^{kip1} 主要表达于肿瘤细胞的胞浆, 另可见部分肿瘤细胞的胞核中呈阳性表达。随肾透明细胞癌病理级别、临床分期的增高, p27^{kip1} 的阳性表达率降低, 低分化组的阳性表达率明显低于高分化组 ($\chi^2=9.26, P < 0.05$), 浸润性 RCC 中阳性表达率显著低于浅表性 RCC ($\chi^2=4.07, P < 0.05$); cyclin D1 的阳性表达率降低, 低分化组的阳性表达率明显低于高分化组 ($\chi^2=13.44, P < 0.05$), 浸润性 RCC 中阳性表达率显著低于浅表性 RCC ($\chi^2=7.92, P < 0.05$), 见表 1。

表 1 p27^{kip1}、cyclinD1 在肾癌中的表达

Tab.1 Expressions of p27^{kip1} and cyclinD1 in renal cell carcinoma

分组	n	p27 ^{kip1}		cyclinD1	
		(+)	(-)	(+)	(-)
正常肾组织	6	6	0	0	6
肾癌	53	23	30	20	33
病理分级					
G1~G2	20	14	6	11	9
G3~G4	33	9	24	9	24
临床分期					
T1~T2	24	17	7	14	10
T3~T4	29	6	23	6	23

3 讨论

POLYA^[1]等在 1994 年研究细胞间接触抑制和 TGF- β 诱导细胞生长停滞于 G1 期的机制时, 从静息的细胞提取物中发现了一个 27 kDa 的热稳定蛋白质, 称为 p27^{kip1}, 对细胞周期具有负调控作用。正常情况下 p27^{kip1} 在 G0~G1 期时表达增高, 当细胞进入 S 期时则表达下降。p27^{kip1} 在纤维母细胞中表达增高时, 可使细胞停滞于 G1 期。反义 p27^{kip1} 在抑制 p27^{kip1} 在中国仓鼠肺纤维母细胞中表达的同时可提高 cyclin D1、cyclin A 和二氢叶酸还原酶的转录, 启动 DNA 的合成。p27^{kip1} 基因转染细胞的过量表达可使细胞 DNA 合成强烈受抑, 阻止其从 G1 期进入 S 期^[2]。

NITTI^[3]报告, 进展期胃癌细胞 p27^{kip1} 蛋白的低表达与胃癌的恶性程度、浸润深度、淋巴结转移、临床分级等相关, p27^{kip1} 蛋白高表达组肿瘤较小、浸润较浅、恶性程度较低、淋巴结转移较少, p27^{kip1} 蛋白低表达组则相反。本研究发现, 随肾透明细胞癌病理级别、临床分期的增高, p27^{kip1} 的阳性表达率降低。

cyclin D1 是由人类染色体 11Q13 的 *ccdn1* 基因编码参加控制细胞由 G1 期至 S 期。抑制其功能可阻止细胞进入 S 期, 而该基因的过度表达可以缩短 G1 期, 从而导致细胞增殖失控、肿瘤发生^[4]。多数学者认为 cyclin D1 在恶性肿瘤组织中的过量表达为首发事件, 然后有癌基因的变化。UMEKITA^[5]等报道低级别的乳腺癌较高级者更易表达 cyclin D1。本研究发现肾癌中 p27^{kip1} 与 cyclin D1 的表达增高, 但随病理学分级增高二者表达又同时下降。我们认为在肿瘤发生过程中, cyclin D1 和 p27^{kip1} 的异常之间有协同作用, 两者都是细胞增殖周期 G1 期的关键蛋白, 这两种异常可使肿瘤细胞获得更大的生长优势, p27^{kip1} 表达缺失可能失去了对 cyclin D1 蛋白的抑制, 使其在癌组织中的表达增加, 从而促进细胞的增殖分裂。肾癌发生的早期 p27^{kip1} 表达增高是由于癌基因 cyclin D1 的过度表达引起, 但随着肿瘤恶性程度的增高, 肿瘤需要一些机制来下调抑制因子 p27^{kip1} 的表达。一旦 p27^{kip1} 的表达水平下调, cyclin D1 的过度表达已没有必要。

参考文献:

- [1] POLYA K, KATO J, SOLOMAN MJ, et al. p27^{kip1}, a cyclin-Cdk inhibitor, links transforming growth factor- β and contact inhibition to cell cycle arrest [J]. *Genes Dev*, 1994, 8(1):9-22.
- [2] CHEM J, WILLINGHAM T, SHUFORD M, et al. Tumor suppression and inhibition of aneuploid cell accumulation in human brain tumor cells by ectopic overexpression of the cyclin-dependent kinase inhibitor p27^{kip1} [J]. *J Clin Invest*, 1996, 97(4):1983-1988.
- [3] NITTI D, BELLUCO C, MAMMANO E, et al. Low level of P27 (Kip1) protein expression in gastric adenocarcinoma is associated with disease progression and poor outcome [J]. *J Surg Oncol*, 2002, 81(4):175-176.
- [4] SANDHU C, SLINGERLAND J. Deregulation of cell cycle in cancer [J]. *Cancer detect Prev*, 2000, 24 (2): 107-108.
- [5] UMEKITA Y, OHI Y, SAGARA Y, et al. Over expression of cyclinD1 predicts for poor prognosis in estrogen receptor-negative breast cancer patients [J]. *Int J Cancer*, 2002, 98(3):415-418.

[收稿日期] 2006-04-03