

[文章编号 1000-1182(2005)03-0191-03]

细胞周期素 D1 在涎腺腺样囊性癌中的表达及意义

何 巍¹, 何 伟², 曹选平³, 李龙江¹

(1. 口腔生物医学工程教育部重点实验室, 四川大学, 四川 成都 610041;

2. 郑州大学第一附属医院 口腔颌面外科; 3. 郑州大学口腔医院 口腔颌面外科, 河南 郑州 450052)

[摘要] 目的 探讨细胞周期素 D1 (cyclin D1) 在涎腺腺样囊性癌中的表达及其与涎腺腺样囊性癌的相关性。方法 采用免疫组织化学 SP 法检测 cyclin D1 蛋白在 12 例正常涎腺组织 (NSG), 15 例多形性腺瘤 (PA) 及 41 例涎腺腺样囊性癌 (ACC) 中的表达。结果 cyclin D1 在 NSG、PA 及 ACC 中的表达率分别为 0、53.3%、68.3%, NSG 与 PA、ACC 组差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), PA 与 ACC 组表达水平差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。cyclin D1 在晚期病例中的阳性表达率和表达水平均高于早期病例, 其差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论 cyclin D1 的高表达在涎腺腺样囊性癌的发生发展中起重要作用, 检测其表达水平可用以辅助腺样囊性癌诊断及估计预后。

[关键词] 腺样囊性癌; 多形性腺瘤; 细胞周期素 D1; 免疫组织化学

[中图分类号] R 739.87 [文献标识码] A

Expression and Significance of Cyclin D1 in Human Adenoid Cystic Carcinoma HE Wei¹, HE Wei², CAO Xuan-ping³, LI Long-jiang¹. (1. Key Laboratory of Oral Biomedical Engineering Ministry of Education, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Dept. of Oral and Maxillofacial Surgery, The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China; 3. Dept. of Oral and Maxillofacial Surgery, The College of Stomatology, Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China)

[Abstract] **Objective** To observe the expression of cyclin D1 in human adenoid cystic carcinoma and its correlation with clinical characters. **Methods** The expression of cyclin D1 was evaluated with immunohistochemical method in forty-one cases of human adenoid cystic carcinoma, 15 cases of PA and 12 cases of normal salivary gland tissue. **Results** The expression of cyclin D1 in normal tissue was negative, significantly different from PA and ACC ($P < 0.05$). The expression level of PA was significantly lower than ACC ($P < 0.05$). High expression of cyclin D1 was correlated with clinical stage and histological classification ($P < 0.05$), but not with sex, age, tumor site, recurrence, metastasis. **Conclusion** High expression of cyclin D1 promotes the formation and development of ACC.

[Key words] adenoid cystic carcinoma; pleomorphic adenoma; cyclin D1; immunohistochemistry

细胞周期素 D1 (cyclin D1) 做为细胞周期的重要节点 G1-S 期重要调节因子之一, 其异常表达可使细胞发生异常增殖, 最终导致肿瘤发生。目前有关 cyclin D1 在涎腺腺样囊性癌 (adenoid cystic carcinoma, ACC) 中表达及意义的研究国内外尚不多见。本文采用免疫组化法研究 cyclin D1 在正常涎腺组织 (normal salivary gland, NSG)、涎腺混合瘤 (pleomorphic adenoma, PA) 及 ACC 中的表达, 探讨其在 ACC 发生发展中的作用及与 ACC 临床生物学特点的关系。

1 材料和方法

1.1 标本来源

41 例 ACC、15 例 PA 标本均取自郑州大学第一附属医院病理科 1994~2001 年涎腺肿瘤患者的术后病理存档蜡块。12 例 NSG 取自正常人涎腺。15 例 PA 患者中小涎腺 5 例, 颌下腺 5 例, 腮腺 5 例, 男性 7 例, 女性 8 例, 平均年龄 38 岁。41 例 ACC 中小涎腺者 21 例, 颌下腺 12 例, 腮腺 8 例, 男性 25 例, 女性 16 例, 平均年龄 50 岁。所有 ACC 患者术前均未做放疗、化疗及其他针对肿瘤的治疗。ACC 组标本根据 WHO1997 年分类标准分为腺-管型和实性型, 根据 UICC 涎腺肿瘤 TNM 分期标准分为 I、II、III、IV 共 4 期, I、II 为早期, III、IV 为晚期。

1.2 SP 免疫组化方法检测

即用型鼠抗人 cyclin D1 单克隆抗体及 SP 法免疫

[收稿日期 2005-02-21; 修回日期 2005-04-18]

[基金项目] 高等学校博士学科点专项科研基金资助项目 (20040610079)

[作者简介] 何 巍 (1968-), 男, 广东人, 副教授, 博士, 现在郑州大学第一附属医院工作

[通讯作者] 李龙江, Tel: 028-85501440

组化染色试剂盒,购自福建迈新试剂公司。石蜡切片脱蜡,经3% H₂O₂ 封闭内源性过氧化物酶30 min,枸橼酸缓冲液高温修复抗原 15 min后,用正常山羊血清封闭 40 min, 抗 4 过夜,室温下复温 1 h,滴加抗室温孵育 30 min,再加 抗室温孵育 30 min,二甲苯透明标本,中性树胶封片。

将胞核出现棕黄色颗粒的细胞视为 cyclin D1 阳性细胞。每个标本在高倍镜下随机选取 10 个视野,至少记数 1 000 个细胞。阳性细胞表达率 = (阳性细胞数/记数细胞总数) × 100%,阳性细胞表达率小于 5% 的 cyclin D1 表达水平为 (-),阳性细胞表达率 5% ~ 25% 的 cyclin D1 表达水平记为 (+),阳性细胞表达率 25% ~ 30% 的 cyclin D1 表达水平记为 (++) ,阳性细胞表达率 50% 以上的 cyclin D1 表达水平记为 (+++)。

1.3 统计学处理

以 SPSS10.0 统计软件包进行统计分析。

2 结果

2.1 cyclin D1 在各组中的表达

cyclin D1 在正常涎腺中基本无表达(图 1)。cyclin D1 在 PA 中呈弱表达(图 2)。cyclin D1 在 ACC 中呈强表达(图 3)。cyclin D1 在各组中的表达见表 1。从表 1 可见 NSG、PA 及 ACC 中的阳性细胞表达率呈明显增加趋势,分别为 0、53.3%、68.3%,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。PA 与 ACC 的 cyclin D1 表达水平差异也有统计学意义 ($P < 0.05$)。

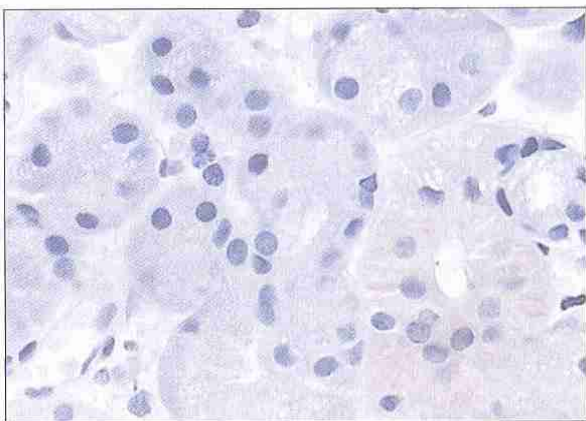


图 1 cyclin D1 在正常涎腺中基本无表达 SP ×400

Fig 1 No expression of cyclin D1 in cytoplasm of normal salivary gland SP ×400

2.2 cyclin D1 表达与 ACC 病理分型的关系

ACC 病理分型及 cyclin D1 表达情况见表 2。由表 2 可见 cyclin D1 在 ACC 腺 - 管型和实性型的 cyclin D1 表达水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$),两型的阳性细胞表达率差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

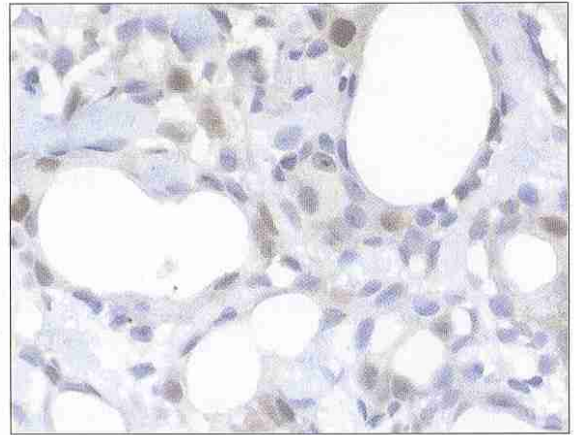


图 2 cyclin D1 在 PA 中弱表达 SP ×400

Fig 2 Weak expression of cyclin D1 in nucleus of pleomorphic adenoma SP ×400

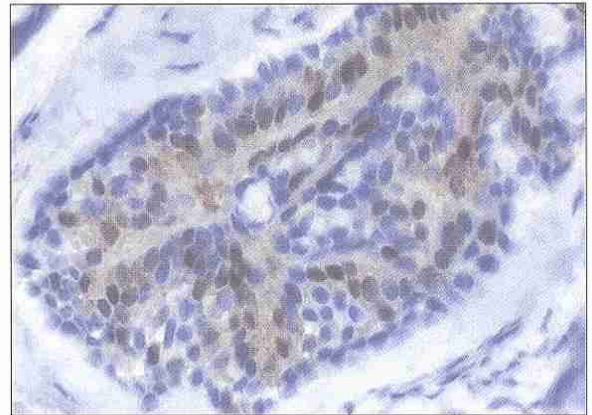


图 3 cyclin D1 在 ACC 中强表达 SP ×400

Fig 3 Stronge expression of cyclin D1 in nucleus of adenoid cystic carcinoma SP ×400

表 1 cyclin D1 蛋白在正常涎腺组织、多形性腺瘤和腺样囊性癌中的表达

Tab 1 Expression of cyclin D1 in normal salivary gland, pleomorphic adenoma and adenoid cystic carcinoma

组别	例数	cyclin D1 的表达水平				阳性细胞表达率 (%)
		-	+	++	+++	
NSG 组	12	12	0	0	0	0.0
PA 组	15	7	3	3	2	53.3
ACC 组	41	13	6	8	14	68.3

表 2 cyclin D1 在 ACC 腺 - 管型和实性型中的表达

Tab 2 Expression of cyclin D1 in adeno-tube type and enty type of adenoid cystic carcinoma

组别	例数	cyclin D1 的表达水平				阳性细胞表达率 (%)
		-	+	++	+++	
腺 - 管型	30	11	4	6	9	63.3
实性型	11	2	2	2	5	81.8

2.3 cyclin D1 表达与 ACC 临床分期

ACC 临床分期及 cyclin D1 表达水平见表 3。从

表3 可见阳性细胞表达率及 cyclin D1 表达水平在 ACC 早、晚期差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

表3 cyclin D1 蛋白在早、晚期腺样囊性癌组织中的表达

Tab 3 Expression of cyclin D1 in two clinical stages of adenoid cystic carcinoma

分期	例数	cyclin D1 的表达水平				阳性细胞表达率(%)
		-	+	++	+++	
早(+)期	24	10	4	5	5	58.3
晚(+)期	17	3	2	3	9	82.4

2.4 cyclin D1 表达与 ACC 临床特点资料

ACC 临床特点及 cyclin D1 的阳性表达水平见表4。从表4可见 cyclin D1 表达水平在性别、年龄、部位、病程、原复发及转移等差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。cyclin D1 的表达水平与 ACC 患者的年龄、性别、肿瘤部位、病程、复发与转移等无关。

表4 cyclin D1 表达与腺样囊性癌临床特点的关系

Tab 4 The correlation between the expression of cyclin D1 and the clinical status of adenoid cystic carcinoma

分组	例数	cyclin D1 的表达水平				阳性细胞表达率(%)
		(-)	(+)	(++)	(+++)	
性别	男	25	9	16		64.0
	女	16	4	12		75.0
年龄(岁)	50	24	9	15		62.5
	>50	17	4	13		76.5
部位	小涎腺	21	7	14		66.7
	颌下腺	12	4	8		66.7
	腮腺	8	2	6		75.0
病程(年)	3	28	9	19		67.9
	>3	13	4	9		69.2
原复发	原发	34	12	22		64.7
	复发	7	1	6		85.7
转移	有	5	1	4		80.0
	无	36	12	24		66.7

3 讨论

cyclin D1 蛋白由定位于人染色体 11q13 上的 CCND1 基因编码,由 295 个氨基酸组成,其分子量为 36 kD。研究表明 cyclin D1 蛋白过度表达可以加速 G1-S 期转化,使损伤的 DNA 得不到修复而导致细胞异常增殖¹。也有学者推测可能是因为 cyclin D1 的过度表达导致多种细胞周期 G1 期相关因子的表达紊乱,最终导致细胞过度增殖和肿瘤的发生²。CCND1 基因已被认为是一种原癌基因,在宫颈癌、鼻咽癌、头颈部鳞癌等多种肿瘤中存在有 cyclin D1 的表达异常³⁻⁶。本研究发现 cyclin D1 在 NSG、PA、ACC 中表达水平依次升高,正常组与其他两组差异具有显著性,提示 cyclin D1 在 PA 中就已经出现表达异常,但是

细胞并未发生恶性失控性增殖,这可能是由于其他细胞周期相关因子发挥的抑制作用限制了 cyclin D1 所起的促增殖作用。当其表达进一步增多时,细胞周期紊乱加剧,导致恶性变。在 ACC 的二个病理亚型间,实性型中的表达率较腺-管型高,提示实性型可能具有更为明显的细胞周期异常和细胞增生能力,这与实性型具有更高的恶性程度和更差的预后相符合⁷,但是这种差异未表现出统计学意义。cyclin D1 在 ACC 的 TNM 分期、期中的表达比、期中的表达明显升高,提示检测其表达可能可以用以辅助判断临床分期。

Singh 等⁸ 学者的研究认为作为抑癌基因的 p27,其核定位是其发挥抑癌作用的前提条件。作者推测 cyclin D1 做为一种核蛋白,其核、浆定位可能具有相类似的意义。伍虹等⁹ 认为闰管细胞 cyclin D1 呈高表达,提示了闰管细胞的增殖活跃性较高。近来有动物实验研究表明 neu-ras 通道活化导致细胞恶性增殖完全依赖于 cyclin D1 的介导,推测针对 cyclin D1 的抗体对于具有活化 neu-ras 通道的人类乳腺癌也许是一种特异性的治疗手段¹⁰。这也提示深入研究 cyclin D1 的致癌机理,有可能成为涎腺肿瘤基因治疗的一个新靶点。

[参考文献]

- Diehl JA. Cycling to cancer with cyclin D1 J. Cancer Biol Ther, 2002, 1(3): 226-231.
- Lai R, Medeiros LJ, Wilson CD, et al. Expression of the cell-cycle-related proteins E2F-1, p53, mdm-2, p21waf-1, and Ki-67 in multiple myeloma: correlation with cyclin-D1 immunoreactivity J. Mod Pathol, 1998, 11(7): 642-647.
- Sartor M, Steingrimsdottir H, Elamin F, et al. Role of p16/MTS1, cyclin D1 and RB in primary oral cancer and oral cancer cell lines J. Br J Cancer, 1999, 80(1-2): 79-86.
- Hwang CF, Cho CL, Huang CC, et al. Loss of cyclin D1 and p16 expression correlates with local recurrence in nasopharyngeal carcinoma following radiotherapy J. Ann Oncol, 2002, 13(8): 1246-1251.
- Nakahara Y, Shintani S, Mihara M, et al. Alterations of Rb, p16 (INK4A) and cyclin D1 in the tumorigenesis of oral squamous cell carcinomas J. Cancer Lett, 2000, 160(1): 3-8.
- Bae DS, Cho SB, Kim Y, et al. Aberrant expression of cyclin D1 is associated with poor prognosis in early stage cervical cancer of the uterus J. Gynecol Oncol, 2001, 81(3): 341-347.
- 黄敏娟, 马大权, 孙开华, 等. 涎腺腺样囊性癌预后因素的探讨 J. 中华口腔医学杂志, 2000, 35(6): 430-433.
- Singh SP, Lipman J, Goldman H, et al. Loss or altered subcellular localization of p27 in Barrett's associated adenocarcinoma J. Cancer Res, 1998, 58(8): 1730-1735.
- 伍虹, 黄洪章, 王建广. Cyclin D1 在多形性腺瘤和多形性腺癌中的表达 J. 口腔颌面外科杂志, 2002, 12(3): 198-201.
- Yu Q, Geng Y, Scinski P. Specific protection against breast cancers by cyclin D1 ablation J. Nature, 2001, 411(6841): 1017-1021.

(本文编辑 王 晴)