

乳腺浸润性导管癌中 cyclinD₁、p57^{KIP2} 的表达及意义

周正平,王进京,郑洪*,苏俊,肖庆邦

Expression and Their Clinical Significance of cyclin D₁ and p57^{KIP2} in Invasive Duct Carcinoma of the Breast

ZHOU Zhengping, WANG Jinjing, ZHENG Hong*, SU Jun, XIAO Qingbang

Department of Pathology, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563003, China (* Corresponding Author)

Abstract: **Objective** To study the expression cyclinD₁ and p57^{KIP2} in invasive duct carcinoma (IDC) and their clinical significances. **Methods** In 64 IDC, 15 ductal carcinoma in situ (DCIS), and 15 adjacent normal breast tissues, the expression of cyclinD₁ and p57^{KIP2} was detected respectively by immunohistochemical SP methods. **Results** The expression of cyclinD₁ and p57^{KIP2} between IDC and breast different tissues, and axilliaris lymph node metastasis, and expression of cyclinD₁ and histological grade of IDC had significant difference ($P = 0.05, P < 0.01$). There was negative relationship between expression of cyclinD₁ and p57^{KIP2} ($P < 0.01$). **Conclusion** cyclinD₁ and p57^{KIP2} may play an important role in the mammary tissue carcinogenesis and progression of breast carcinoma. The abnormal expression of cyclinD₁ was early event of breast carcinoma. The combined detection of cyclinD₁ and p57^{KIP2} has positive effects on predicting the lymph node metastasis in breast carcinoma.

Key words: Breast carcinoma; IDC; cyclinD₁; p57^{KIP2}

摘要: **目的** 研究 cyclinD₁、p57^{KIP2} 在乳腺浸润性导管癌 (IDC) 中的表达及意义。 **方法** 采用免疫组织化学 SP 法检测 64 例 IDC、15 例乳腺导管内癌 (DCIS) 和 15 例癌旁正常乳腺组织中 cyclinD₁、p57^{KIP2} 的表达。 **结果** cyclinD₁、p57^{KIP2} 阳性表达率在 IDC 与在乳腺不同组织之间、腋窝淋巴结有无转移之间差异均有显著性 ($P = 0.05, P < 0.01$) ; cyclinD₁ 阳性表达率与 IDC 组织学分级有关 ($P < 0.01$) ; cyclinD₁ 与 p57^{KIP2} 之间阳性表达率呈负相关 ($P < 0.01$) 。 **结论** cyclinD₁ 与 p57^{KIP2} 共同参与了乳腺癌的发生发展过程。 cyclinD₁ 异常表达是乳腺癌发生的早期事件。联合检测 cyclinD₁ 及 p57^{KIP2} 对预测乳腺癌淋巴结转移有重要意义。

关键词: 乳腺癌; 浸润性导管癌; cyclinD₁; p57^{KIP2}

中图分类号: R737.9 文献标识码: A 文章编号: 1000-8578(2005)08-0476-03

0 引言

哺乳动物细胞周期中存在 3 个检控点 (check-point) ($G_0 \sim G_1$ 、 $G_1 \sim S$ 、 $G_2 \sim M$) , 其中 $G_1 \sim S$ 最为重要。 G_1 期细胞周期素 (cyclins) 包括 cyclin D、cyclin E、cyclin C, 与相应的 CD Ks 结合发挥作用, 推动细胞从 G_1 期进入 S 期。 p21^{CIP1/WAF1}、p27^{Kip1} 和 p57^{KIP2} 属于细胞周期素依赖性激酶抑制因子 (CKIs) 的 Kip/Cip 家族, 与 cyclin-CD K 形成三聚体, 抑制 cyclin-CD K 复合物的磷酸化激酶活性, 负向调节细胞周期, 从而阻止细胞异常增殖。一旦细胞周期调控失常, 就会导致肿瘤的发生^[1]。

目前, 关于 cyclinD₁、cyclin E、p21^{CIP1/WAF1}、

p27^{Kip1} 在乳腺癌中表达的研究报道不少, 但作为一种候选的肿瘤抑制基因, 从蛋白质水平上研究 p57^{KIP2} 在乳腺癌组织中表达的报道很少。本实验应用免疫组织化学 SP 法, 通过对 cyclinD₁、p57^{KIP2} 在乳腺不同病变及在乳腺浸润性导管癌 (IDC) 组织中表达情况的检测, 探讨乳腺癌发生发展的机制。

1 材料与方法

1.1 材料 选取我科 1997 年 1 月 ~ 2002 年 1 月存档石蜡包埋标本, 重新光镜病理确诊 (按照 2003 年 WHO 乳腺癌组织学分类及分级标准^[2]) 为 IDC 64 例、导管内癌 (DCIS) 15 例, 病人术前均未做放疗和化疗。在 IDC 中, 组织学分级: 级 13 例, 级 30 例, 级 21 例; 腋窝淋巴结转移阴性组 27 例, 转移 1 ~ 3 枚组 24 例, 4 枚组 13 例; 病人发病中位

收稿日期: 2004-09-15; 修回日期: 2004-12-17

作者单位: 563003 贵州遵义医学院附属医院病理科 (* 通讯作者)

年龄 43 岁 (20 ~ 66 岁); 肿块大小: < 2cm 组 4 例, 2 ~ 5cm 组 45 例, > 5cm 组 15 例。随机选取 15 例癌旁正常乳腺组织 (距肿瘤边缘 5cm 以外) 作对照组。

1.2 方法 鼠抗人 cyclinD₁ 单克隆抗体、兔抗人 p57^{Kip2} 多克隆抗体、SP 试剂盒均购自福建迈新生物技术有限公司。免疫组化 SP 法严格按照说明书操作步骤进行, 组织抗原均采用高压修复处理。

1.3 结果判定 用迈新公司提供的阳性切片作阳性对照, 以 PBS 代替一抗作空白对照。cyclinD₁、p57^{Kip2} 阳性信号均呈棕黄色或棕褐色, 均主要定位于细胞核。每张切片随机选取有肿瘤组织的不同高倍视野 (×400), 计数 2000 个肿瘤细胞, 根据阳性细胞数占所计数肿瘤细胞的百分率分为: (1) 阴性 (-): 阳性细胞数 < 5%; (2) 弱阳性 (+): 阳性细胞数为 5% ~ 24%; (3) 阳性 (++) : 阳性细胞数为 25% ~ 49%; (4) 强阳性 (+++): 阳性细胞数 50%。

1.4 统计学处理 所得数据采用 SPSS 10.0 统计软件, 应用 ² 检验、Fisher 确切概率法及秩相关分析进行统计学处理。

2 结果

2.1 cyclinD₁、p57^{Kip2} 在乳腺 IDC、DCIS 及癌旁正常组织中的表达 (见表 1)

表 1 cyclinD₁、p57^{Kip2} 在乳腺 IDC、DCIS 及癌旁正常组织中的表达

组织学类型	n	cyclinD ₁					p57 ^{Kip2}				
		-	+	++	+++	%	-	+	++	+++	%
IDC	64	21	19	15	9	67.19	42	7	9	6	34.38
DCIS	15	10	2	2	1	33.33	5	3	3	4	66.67
癌旁正常组织	15	15	0	0	0	0.00	2	4	4	5	86.67

注: P 0.05, P < 0.01

如表 1 结果显示, cyclinD₁、p57^{Kip2} 在 IDC 组织中与在 DCIS、癌旁正常组织中阳性表达率之间, cyclinD₁ 在 DCIS 中与在癌旁正常组织中阳性表达率之间差异均有显著性 (P 0.05, P < 0.01); p57^{Kip2} 在 DCIS 中与在癌旁正常组织中阳性表达率之间差异无显著性 (P > 0.05)。

2.2 cyclinD₁、p57^{Kip2} 在 IDC 组织中阳性表达与临床病理特征的关系 (见表 2)

cyclinD₁ 在组织学 级与 级之间、cyclinD₁ 及 p57^{Kip2} 在腋窝淋巴结转移阴性组与淋巴结转移阳性各组之间阳性表达率差异均有显著性 (P < 0.01); cyclinD₁、p57^{Kip2} 阳性表达率均与淋巴结转移数目、肿块大小、患者年龄无关 (P > 0.05)。

2.3 cyclinD₁、p57^{Kip2} 在 IDC 组织中表达的相互关系

在 64 例 IDC 组织中, cyclinD₁ 与 p57^{Kip2} 均阳性表达者 10 例。根据秩相关分析, cyclinD₁ 与 p57^{Kip2} 之间阳性表达率呈负相关 (r_s = - 0.992, P < 0.01)。

表 2 cyclinD₁、p57^{Kip2} 在 IDC 组织中表达与临床病理特征的关系

临床病理特征	n	cyclinD ₁			p57 ^{Kip2}		
		-	+	%	-	+	%
组织学分级							
级	13	5	8	61.54	7	6	46.15
级	30	14	16	53.33	20	10	33.33
级	21	2	19	90.48	15	6	28.57
淋巴结转移 (枚)							
0	27	17	10	37.04	11	16	59.26
1 ~ 3	24	3	21	87.50	20	4	16.67
4	13	1	12	92.31	11	2	15.38
年龄 (岁)							
< 40	19	4	15	78.95	11	8	42.11
40 ~ 50	30	12	18	60.00	19	11	36.67
> 50	15	5	10	66.67	12	3	20.00
肿块大小 (cm)							
< 2	4	2	2	50.00	2	2	50.00
2 ~ 5	45	16	29	64.44	30	15	33.33
> 5	15	3	12	80.00	10	5	33.33

注: P < 0.01

3 讨论

cyclinD₁ 定位于人染色体 11q13, 含有 5 个外显子, 编码由 295 个氨基酸构成、分子量为 34 KD 的蛋白质^[3]。动物实验结果表明, cyclinD₁ 过表达可导致转基因老鼠发生乳腺癌, 说明 cyclinD₁ 基因是导致乳腺上皮细胞恶性变的癌基因^[4]。本研究显示, cyclinD₁ 阳性表达率在乳腺癌旁正常组织、DCIS 及 IDC 组织中逐渐增高 (P 0.05, P < 0.01); 在 DCIS 中与在癌旁正常组织之间、IDC 组织学 级与 级之间阳性表达率差异均有显著性 (P 0.05, P < 0.01); 在腋窝淋巴结转移阳性各组明显高于阴性组 (P < 0.01), 但与受累淋巴结数目无关 (P > 0.05); 与 IDC 肿块大小、患者年龄无关 (P > 0.05)。提示 cyclinD₁ 异常表达是乳腺癌发生的早期事件, 可能促使乳腺上皮细胞过度增生, 最后发生恶性转化, 甚至发生局部浸润和淋巴结转移。因此, cyclinD₁ 可以作为评估乳腺组织发生恶性转变及淋巴结转移的生物学指标。

p57^{Kip2} 由 Masuoka 等^[5] 于 1995 年用双杂交系统克隆出来, 定位于人染色体 11p15.5, 编码由 316 个氨基酸构成、分子量为 57 KD 的蛋白质, 属于 CK-Is 家庭成员, 负向调控 G₁ 期和 S 期细胞周期进程。p57^{Kip2} mRNA 在许多正常成人组织中可被检测到,

在有丝分裂后细胞中其表达水平最高。在许多人类恶性肿瘤存在着染色体 11p15.5 等位基因高频的杂合性丢失 (LOH)^[6,7], 因此, p57^{Kip2} 被认为是一种候选的肿瘤抑制基因。Lee 等^[8]认为, p57^{Kip2} 基因在肿瘤发生、发展中起着重要作用, 其抑癌作用可能是其表达产物 p57^{Kip2} 蛋白与 cyclin-CDK 复合物结合, 阻止细胞增殖, 从而使细胞周期停滞在 G₁ 期。本研究结果显示, p57^{Kip2} 阳性表达率在乳腺癌旁正常组织、DCIS 及 IDC 组织中逐渐降低 ($P < 0.01$); 在腋窝淋巴结转移阳性各组表达率明显低于阴性组 ($P < 0.01$), 但与受累淋巴结数目无关 ($P > 0.05$); 与 IDC 组织学分级、肿块大小、患者年龄无关 ($P > 0.05$)。提示 p57^{Kip2} 过表达可能阻抑乳腺组织细胞异常增殖; p57^{Kip2} 低表达则可能解除其抑制细胞生长的作用, 导致细胞异常增殖, 以至发生恶性转化, 并获得局部浸润和淋巴结转移的能力。因此, p57^{Kip2} 蛋白可以作为判断乳腺组织恶变及发生淋巴结转移的标志物。

本研究中, cyclinD₁ 与 p57^{Kip2} 之间在 IDC 组织中阳性表达率呈负相关 ($P < 0.01$), 提示 cyclinD₁ 高表达、p57^{Kip2} 低表达的患者乳腺癌组织分化差、发生腋窝淋巴结转移的可能性较大。可能由于 p57^{Kip2} 基因缺失而下调或撤除 p57^{Kip2} 蛋白的表达; cyclinD₁ 基因突变导致 cyclinD₁ 的表达增加, 削弱或解除 p57^{Kip2} 阻抑 cyclinD₁ 的作用, 导致细胞周期限制点 G₁ ~ S 的增殖调控发生异常。因此, 同时检测 cy-

clinD₁、p57^{Kip2} 有利于更好地评估乳腺癌的生物学行为, 为临床提供有关预后的信息。

(本文图略)

参考文献:

- [1] Charles J, Sherr. The Pezcoller Lecture: Cancer Cell Cycles Revisited[J]. Cancer Research, 2000, 60:3689-3695.
- [2] Fattaneh A, Tavassoli, Peter Devilee. WHO classification of tumours. Pathology & genetics, tumours of the breast and female genital organs[M]. Lyon: IARC Press, 2003. 10-19.
- [3] Toru Motokura, Theodora Bloom, Hyung Goo Kim, et al. A novel cyclin encoded by a bcl1-linked candidate oncogene[J]. Nature, 1991, 350:512-515.
- [4] Robert L, Sutherland, Elizabeth A, et al. Cyclin D1 and mammary carcinoma: new insights from transgenic mouse models[J]. Breast Cancer Res, 2002, 4(1):14-17.
- [5] Shuhei M, Michael C, Edwards, et al. p57 KIP2, a structurally distinct member of the p21^{CIP1} Cdk inhibitor family, is a candidate tumor suppressor gene[J]. Genes Dev, 1995, 9:650-662.
- [6] Pumin Zhang, Nanette J, Liegeois, et al. Altered cell differentiation and proliferation in mice lacking p57^{KIP2} indicates a role in Beckwith-Wiedemann syndrome[J]. Nature, 1997, 387(6629):151-158.
- [7] Tarlochan Nijjar, Don Wigington, James C, et al. p57^{KIP2} Expression and Loss of heterozygosity during Immortal Conversion of Cultured Human Mammary Epithelial Cells[J]. Cancer Research, 1999, 59(10):5112-5118.
- [8] Mong-Hong Lee, Inga Reynisdottir, Joan Massague. Cloning of p57^{KIP2}, a cyclin-dependent kinase inhibitor with unique domain structure and tissue distribution[J]. Genes & Development, 1995, 9(6):639-649.

[编辑:安凤]