

p57^{kip2}、Cyclin E 在脑胶质瘤中的表达及临床意义

吴 斌,袁先厚,江普查,文志华

Expression of p57^{kip2} and Cyclin E Protein in Human Glioma and its Clinical Significances

WU Bin, YUAN Xian-hou, JIANG Pu-cha, WEN Zhi-hua

Department of Neurosurgery, Zhongnan Hospital, Wuhan University, Wuhan 430071, China

Abstract: Objective To explore the expression of p57^{kip2}、Cyclin E in human gliomas and its clinical significances. **Methods** The expression of p57^{kip2} and Cyclin E proteins in human glioma tissues in 46 patients was detected by SP immunohistochemical technique. **Results** The p57^{kip2} protein positive-expression rate in human glioma was 34.8%, which was lower than that in normal brain tissue ($P < 0.05$). The p57^{kip2} protein positive-expression correlated significantly with clinicopathologic grade ($P < 0.05$) and the two-year survival time ($P > 0.01$). The Cyclin E positive-expression rate in human glioma was 58.6%. The Cyclin E positive-expression also correlated significantly with clinicopathologic grade ($P < 0.05$) and the two-year survival time ($P < 0.05$). There were significant correlation with the expression of p57^{kip2} protein and Cyclin E protein ($r_s = -0.359, P < 0.05$). **Conclusion** The expression of p57^{kip2} protein and Cyclin E protein plays an important role in the development of glioma. They also correlated significantly with the differentiation degree of human gliomas and Prognosis.

Key words p57^{kip2} protein; Cyclin E protein; Glioma; Immunohistochemical technique

摘 要:目的 探讨 p57^{kip2} 蛋白、Cyclin E 蛋白在人脑胶质瘤表达情况及其临床意义。方法 采用免疫组织化学 SP 法检测 p57^{kip2}、Cyclin E 在 46 例胶质瘤和 10 例正常脑组织中的表达。结果 在 46 例胶质瘤中, p57^{kip2} 蛋白阳性率为 34.8% (16/46), 显著低于正常脑组织 (70%) ($P < 0.05$)。低度恶性(Ⅰ~Ⅱ级)、高度恶性(Ⅲ~Ⅳ级)及两年生存时间组别间差异有显著性($P < 0.01$)。Cyclin E 蛋白阳性率为 58.6% (27/46), 显著高于正常脑组织 (20%) ($P < 0.05$)。脑胶质瘤不同恶性程度及两年生存时间组别间差异有显著性($P < 0.05$)。p57^{kip2} 蛋白的表达与 Cyclin E 蛋白的表达密切相关($r_s = -0.359$)。结论 p57^{kip2} 蛋白和 Cyclin E 蛋白在脑胶质瘤的发生、发展中起重要作用。且与肿瘤的分化程度、患者预后密切相关。

关键词: p57^{kip2} 蛋白; Cyclin E 蛋白; 脑胶质瘤; 免疫组织化学技术

中图分类号: R739.41 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-8578(2005)05-0260-03

0 引言

近年的研究表明,细胞周期调控异常与细胞癌变密切相关,有人认为肿瘤可能是细胞周期疾病(Cell Cycle diseased),使细胞周期调控异常与肿瘤的关系成为肿瘤学研究的热点问题^[1]。新近发现的 p57^{kip2} 与 Cyclin E 均为细胞周期 G₁/S 期重要调控因子,与多种肿瘤的发生、发展有关^[2,3]。但有关 p57^{kip2}、Cyclin E 蛋白表达与脑胶质瘤的关系尚不清楚,本文探讨 p57^{kip2}、Cyclin E 在脑胶质瘤中的表达和意义。

1 材料和方法

1.1 材料

46 例脑胶质瘤标本为武汉大学中南医院 1999

~2002 年手术存档石蜡标本,术后均经病理诊断证实为脑胶质瘤。病例中男 28 例,女 18 例,年龄 16~74 岁,平均 36.8 岁。生存时间 < 2 年 29 例, > 2 年 17 例。根据 2000 年修改的 WHO 神经系统肿瘤分类标准,对所有肿瘤进行组织学分类和分级。其中,Ⅰ~Ⅱ级 26 例,Ⅲ~Ⅳ级 20 例。另 10 例正常对照脑组织,亦取自我院因颅脑损伤行内减压术的患者。所有患者均未经过放疗。

1.2 免疫组化染色

鼠抗人 p57^{kip2} 多克隆抗体(Neomarkers 公司, 1:300)、鼠抗人 Cyclin E 单克隆抗体、广谱 SP 试剂盒均购自福州迈新公司。免疫组化采用链酶素抗生物素-过氧化物酶连接法(SP 法)。每次试验以 PBS 代替一抗作为空白对照,由试剂公司提供阳性对照片。实验操作按试剂盒说明书进行。

1.3 观察测定方法

收稿日期:2004-06-01;修回日期:2004-09-06
作者单位:430071 武汉大学中南医院神经外科

p57^{kip2} 蛋白以胞核和/或胞质染色为棕褐色颗粒者为阳性反应细胞。Cyclin E 蛋白以胞核染色为棕褐色颗粒者为阳性反应细胞。400 倍显微镜下每张载玻片计数 500 个细胞,依据染色阳性细胞数,计算阳性细胞所占百分比: < 10 % (-), 10 % ~ 25 % 为 (+), 26 % ~ 50 % 为 (++) , > 50 % 为 (+++)。

1.4 统计学方法

应用 SPSS 11.5 统计软件进行分析。用卡方检

验、校正卡方检验, Spersman 等级相关分析, $P < 0.05$ 有显著差异。

2 结果

2.1 p57^{kip2}、Cyclin E 蛋白在脑胶质瘤中的表达,见表 1。

2.2 p57^{kip2} 与 Cyclin E 表达之间的关系

脑胶质瘤中 p57^{kip2} 与 Cyclin E 的表达密切相关 ($P = 0.014 < 0.05$, $r_s = -0.359$), 见表 2。

表 1 脑胶质瘤中 p57^{kip2}、Cyclin E 蛋白表达

临床病理学参数	p57 ^{kip2} 蛋白表达		χ ²	P	Cyclin E 蛋白表达		χ ²	P
	(-)	(+)			(-)	(+)		
正常脑组织	3	7	4.209	< 0.05	8	2	5.686	< 0.05
恶性程度								
低度恶性(I~II)	13	13	4.659	< 0.05	15	11	6.624	< 0.05
高度恶性(III~IV)	17	3			4	16		
生存时间								
> 2 年	7	10	6.870	< 0.01	11	6	6.091	< 0.05
2 年	23	6			8	21		

表 2 p57^{kip2} 和 Cyclin E 在脑胶质瘤表达的相关关系

Cyclin E 表达	p57 ^{kip2} 表达				合 计
	-	+	++	+++	
-	9	8	1	1	19
+	3	1	2	0	6
++	6	0	1	1	8
+++	12	1	0	0	13
合 计	30	10	4	2	46

Spersman 等级相关分析 $P = 0.014 < 0.05$, $r_s = -0.359$

3 讨论

3.1 p57^{kip2} 蛋白在脑胶质瘤中表达的意义

p57 基因作为细胞周期调控因子 CKIs 家族的新成员(CKIs 家族还包括 p21、p27 基因),是细胞周期负性调控因子,其抑癌作用可能是其产物 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^[4]。p57^{kip2} 负性调节细胞增生的生物学功能,提示它可能具有肿瘤抑制作用,而成为一个候选的肿瘤抑制基因^[5]。

本研究结果显示,脑胶质瘤中 p57^{kip2} 表达阳性率显著低于正常脑组织,且在低恶性与高恶性组别中有显著性意义,提示 p57^{kip2} 蛋白的表达缺失与脑胶质瘤分化程度有关。Tsugu A^[6] 等人的研究表明,在星形细胞瘤中存在 p57^{kip2} 表达的缺失,且未发现 p57 基因的突变。我们的实验结果也证实大多数脑胶质瘤标本中存在 p57^{kip2} 的表达缺失。提示 p57^{kip2} 在人脑胶质瘤发生、发展过程中起重要作用,并且其作用主要决定于 p57^{kip2} 蛋白表达水平的改变。p57^{kip2} 的表达水平受多种因素的调控,如泛素

化降解、抗增殖信号因子、细胞因子以及接触抑制等^[7]。至于具体哪种因素参与脑胶质瘤肿瘤的发生并起决定性作用,还有待于进一步研究。p57^{kip2} 蛋白阳性表达组与 p57^{kip2} 蛋白阴性表达组患者两年生存率差异有显著性 ($P < 0.05$),提示 p57^{kip2} 蛋白的表达与脑胶质瘤的预后有关,可能成为预测预后的指标之一。

3.2 Cyclin E 蛋白在脑胶质瘤表达中表达的意义

Cyclin E 与 CDK2 形成一活性复合物,Cyclin E/CDK2 参与 G₁ 期和 S 期的 pRb 磷酸化作用,能加速 S 期,对 DNA 复制的启动十分重要。本研究结果显示,脑胶质瘤中 Cyclin E 表达阳性率为 58.6 %,显著高于正常脑组织 (20 %) ($P < 0.05$)。脑胶质瘤中高度恶性组 Cyclin E 蛋白阳性表达率高于低度恶性组,二者差异有显著性 ($P < 0.05$),在生存时间

2 年组与 > 2 年组之间 Cyclin E 蛋白的表达也有显著性差异 ($P < 0.05$) 与 Chakravarti 等^[8] 的研究结果一致。提示 Cyclin E 蛋白的表达与脑胶质瘤恶性进展及预后有关,可能成为预测预后的指标之一。

3.3 p57^{kip2} 蛋白与 Cyclin E 蛋白在脑胶质瘤中表达的关系

细胞增生周期中,Cyclin E 是一正性调节信号,可活化 CDK2,但其激活与否还受到几种复杂机制的调控,其中之一就是细胞周期素依赖激酶抑制因子(CKIs)的负性调节机制^[9]。本实验研究了 p57^{kip2} 蛋白与 Cyclin E 蛋白表达的相关性,发现二者呈负相关 ($P < 0.05$, $r_s = -0.359$),提示 p57^{kip2} 蛋白的表

达缺失可能是导致 Cyclin E 蛋白的过表达的机制之一,二者协同促进 G₁/S 期的进展,导致脑胶质瘤的发生,且和肿瘤的恶性进展有关。

总之, p57^{kip2} 蛋白的表达下调与 Cyclin E 的高度表达,提示二者在 G₁/S 期可能通过一定机制协同促进肿瘤细胞的进展。深入研究 p57^{kip2} 蛋白与 Cyclin E 蛋白在脑胶质瘤的发生、发展中的作用机制,将为脑胶质瘤的治疗提供新的思路。

参考文献:

[1] Sherr CJ. Cancer cell cycles [J]. Science, 1996, 274 (5293): 1672-1677.

[2] Ito Y, Yoshida H, Hakano K, et al. Expression of p57/ Kip2 protein in normal and neoplastic thyroid tissues [J]. Int J of Mol Med, 2002, 9 (4): 373-376.

[3] Ito Y, Takeda T, Sasaki Y, et al. Expression of p57/ Kip2 protein in extrahepatic bile duct carcinoma and intrahepatic cholangiocellular carcinoma [J]. Liver, 2002, 22 (2): 145-149.

[4] Lee MH, Reynisdottir I, Massague J. Cloning of p57^{kip2}, a cyc-

lin dependent kinase inhibitor with unique domain structure and tissue distribution [J]. Genes Dev, 1995, 9 (3): 639-649.

[5] Matsuo S, Edwards MS, Bai C, et al. p57^{kip2} structurally distinct member of the p21^{cip1} CDK inhibitor family, is a candidate tumor suppressor gene [J]. Genes Dev, 1995, 9 (6): 650-662.

[6] Tsugu A, Sakai K, Dirks PB, et al. Expression of p57 (KIP2) potentially blocks the growth of human astrocytomas and induces cell senescence [J]. Am J of Path, 2000, 157 (3): 919-932.

[7] Kamura T, Hara T, Kotoshiba S, et al. Degradation of p57^{kip2} mediated by SCF^{skp2}-dependent ubiquitylation [J]. PNAS, 2003, 100 (18): 10231-10236.

[8] Chakravarti A, Delaney MA, Noll E, et al. Prognostic and pathological significance of quantitative protein expression profiling in human gliomas [J]. Clin Cancer Res, 2001, 8 (7): 2387-2395.

[9] Jean MG, Marc P, Sushil T, et al. CyclinE2, a novel G1 cyclin that binds cdk2 and is aberrantly expressed in human cancer [J]. Mol Cell Biol, 1999, 19 (8): 616-622.

[编辑: 贺文; 校对: 刘红武]

· 短篇 · 个案 ·

横纹肌肉瘤乳腺转移 1 例

章必成, 高建飞, 杜光祖, 李欣

关键词: 横纹肌肉瘤; 乳腺; 转移

中图分类号: R738.7 文献标识码: D

文章编号: 1000-8578(2005)05-0262-01

0 引言

横纹肌肉瘤是起源于横纹肌的恶性肿瘤, 发病率较高, 但出现乳腺转移者较少见。我科 2003 年收治 1 例, 现报道如下。

1 临床资料

患者女, 36 岁。于 2002 年 6 月渐感左上腹部胀痛, 9 月左背部出现一约鸡蛋大小的包块; 10 月在外院行 CT 及 MRI 考虑腹膜后恶性肿瘤、左胸膜及侧胸壁肿瘤性病变, 并行开腹探查术, 见肿块位于腹主动脉左侧, 靠近肾门, 与周围组织有黏连, 无法手术切除, 仅取小块活检, 病理示非何杰金氏淋巴瘤可能性大。之后行化疗 5 周期, 腹膜后包块行放疗及左背部包块放疗各 1 周期 (具体不详), 腹膜后及左背部包块完全消失。2003 年 7 月又出现左上腹部及左背部

胀痛, CT 示腹膜后包块复发, 入住我科。我院会诊外院病理切片见瘤细胞小, 核深染, 核分裂易见, 浆少, 部分红染, 呈巢状, 似腺泡状排列; Vimentin (+), Desmin (+ +), B cell (-), EMA (-), CK (-), Syn (-), NSE (-), Actin (-); RF: 瘤细胞间见网状纤维包绕; 诊断为腹膜后横纹肌肉瘤胸壁转移。2003 年 7 月 28 日行 IVP 方案化疗 1 周期 (IFO 2g d1 ~ 3, VDS 4mg d1, 8, DDP 60mg d1、2), 同时行腹膜后包块高能聚焦超声刀治疗。之后患者未按要求继续治疗。3 个月后, 患者再次出现前述症状, 并于左背部原病灶旁、右乳腺各发现一包块, 同时出现咳嗽、痰中带血。再次入住我科。体征: 右乳腺内侧可扪及一大小约 3 × 3cm 的包块, 质硬, 活动度可, 无触痛; 左下肺听诊呼吸音消失; 左侧腋后线第 7

~ 8 肋间局部皮肤隆起; 心率 88 次/分, 律齐; 左上腹部轻压痛, 未扪及包块。入院后行 CT 示左肺舌叶外侧段结节影及腹膜后软组织影较前明显增大、左侧胸腔积液、心包少量积液。2003 年 11 月 3 日行胸水细胞学检查见成堆的肉瘤细胞, 提示横纹肌肉瘤侵犯胸膜。2003 年 11 月 4 日行右侧乳腺包块切除术, 病理诊断为转移性横纹肌肉瘤。

2 讨论

横纹肌肉瘤按其组织结构大致分为 3 型: 胚胎型、腺泡型和多形型^[1]。胚胎型最常见, 常发生在头颈部、泌尿生殖道及腹膜后, 偶见于四肢, 几乎均见于小儿, 约半数发生于 2 岁以下; 腺泡型多发生于青壮年的四肢及头颈部; 多形型多发生于成年人肢体肌肉丰富处, 而罕见于小儿。各型均生长迅速, 分化差, 易有局部浸润和早期发生血流、淋巴道转移。腹膜后横纹肌肉瘤多为胚胎型, 次为腺泡型, 完全切除常不可能, 诊断时多已有转移, 故预后最差, 治疗以综合治疗为主。本例为腹膜后腺泡型, 在明确诊断时即已出现胸壁转移, 而后又发生乳腺转移, 实属罕见。

参考文献:

[1] 董志伟, 谷铎之. 临床肿瘤学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002. 1462-1463.

[编辑校对: 刘红武]

收稿日期: 2004-04-05; 修回日期: 2004-09-17

作者单位: 430070 广州军区武汉总医院肿瘤科

