

# 颌骨软骨肉瘤 cyclinD1 和 cdk4 的表达及意义

司晓辉<sup>1</sup>, 杨连君<sup>2</sup>, 刘 正<sup>2</sup>

**摘要:** 目的 分析细胞周期素 D1 (cyclinD1) 和细胞周期素依赖激酶 (cdk4) 在颌骨软骨肉瘤的表达及意义。方法 免疫组化 ABC 法检测 cyclinD1 和 cdk4 在 20 例颌骨软骨肉瘤、8 例骨软骨瘤和 4 例软骨瘤的表达。结果 软骨肉瘤 cyclinD1 和 cdk4 阳性表达率分别为 70% (14/20) 和 65% (13/20), 二者的阳性表达存在正相关 ( $r_s = 0.526$ ,  $P < 0.05$ ); 而它们在骨软骨瘤的阳性表达率均为 12.5% (1/8), 在软骨瘤无表达, 与软骨肉瘤相比有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。结论 CyclinD1 和 cdk4 在颌骨软骨肉瘤过表达且与其发生和发展有关。

**关键词:** 细胞周期素 D; 细胞周期素依赖激酶; 软骨肉瘤; 免疫组化

中图分类号: R739.81 文献标识码: A 文章编号: 1000-8578 (2002) 03-0200-03

## Expression of cyclinD1 and cdk4 in chondrosarcoma of the jaws

SIXiao-hui, YANG Lian-jun, LIU Zhen-g

Research Institute of Stomatology, The Ninth People's Hospital,  
Shanghai Second Medical University, Shanghai 200011, China

**Abstract:** **Objective** To analyze the expression and relationship of cyclinD1 and cyclin-dependent kinase4 (cdk4) in chondrosarcoma of the jaws. **Methods** CyclinD1 and cdk4 expression was detected by immunohistochemistry in 20 chondrosarcoma, 8 osteochondroma and 4 chondroma of the jaws. **Results** The results showed that the positive rates of cyclinD1 and cdk4 in chondrosarcoma were 70% (14/20) and 65% (13/20), respectively. There was a significant positive correlation between cyclinD1 and cdk4 protein positive expression ( $r_s = 0.526$ ,  $P < 0.05$ ). Both cyclinD1 and cdk4 were present in 1/8 (12.5%) osteochondroma of the jaws. There was neither cyclinD1 nor cdk4 expression in chondroma of the jaws. The positive rates were remarkably significant between chondrosarcoma and osteochondroma as well as chondrosarcoma and chondroma ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** The results indicate that cyclinD1 and cdk4 are overexpressed in chondrosarcoma of the jaws and closely correlated with its development.

**Keywords:** CyclinD1; Cdk4; Chondrosarcoma; Immunohistochemistry

正常哺乳动物细胞周期是通过细胞周期素 (cyclin)-细胞周期素依赖蛋白激酶 (cdk)-细胞周期素依赖抑制蛋白 (CKI) 网络调控的。cdk 分别受 cyclin 正调控和 CKI 负调控, 其中 G1 期调节蛋白 cyclinD1 和 cdk4 与癌变关系最为密切, 目前已在人类多种肿瘤中发现其基因扩增、蛋白质过表达及染色体倒位易位<sup>[1-3]</sup>。本实验用免疫组化方法观察 cyclinD1 和 cdk4 在颌骨软骨肉瘤、骨软骨瘤和软骨瘤的表达, 探讨其在软骨肉瘤发生发展过程中的作用和意义。

## 1 材料和方法

### 1.1 标本来源和主要材料

20 例颌骨软骨肉瘤、8 例骨软骨瘤和 4 例软骨瘤标本取自第四军医大学口腔医学院 1991 ~ 1998 年的手术标本; 鼠抗人 cyclinD1 单克隆抗体 (mAb) 和山羊抗人 cdk4 多克隆抗体 (pAb) 购自美国 SantaCruz 公司; 免疫组化 ABC 试剂盒为美国 Vector 公司产品。

### 1.2 免疫组化染色

切片脱蜡至水, PBS (pH7.4) 洗涤; 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/PBS 中孵育 10min; 浸入 0.01mol/L 枸橼酸钠缓冲液 (pH6.0) 中经微波处理 10min; 正常马血清 (cyclinD1) 或兔血清 (cdk4) 37 孵育 20min; 滴加 cyclinD1mAb 或 cdk4 pAb, 4 过夜; 滴加生

收稿日期: 2001-01-10; 修回日期: 2001-04-13

作者单位: 1. 200011 上海第二医科大学附属第九人民医院口腔医学研究所; 2. 西安第四军医大学病理学教研室

物素化马抗鼠 IgG (cyclinD1) 或生物素化兔抗山羊 IgG (cdk4) 37 温育 30min; 滴加 ABC 复合物 37 温育 30min。除和之间外,上述各步之间均经 PBS 充分振洗; 经 DAB 显色后用苏木精稍稍衬染,脱水、透明、封片。染色同时用 PBS 代替 cyclin D1mAb 或 cdk4 pAb 作为阴性对照。

1.3 结果判定

采用网格测试法,每例选择 9 个不重复,不重叠的 40x 视野,按照 cyclinD1 或 cdk4 阳性细胞数占视野中总细胞的百分比分为 3 级:无阳性着色或阳性细胞数 <5% 为阴性 (-);阳性细胞数在 5% ~ 50% 之间为阳性 (+);阳性细胞数 >50% 为强阳性(++)。

1.4 统计学分析

软骨肉瘤和骨软骨瘤、软骨瘤之间,软骨肉瘤各病理分级之间 cyclinD1 和 cdk4 的表达采用 <sup>2</sup>检验,

cyclinD1 和 cdk4 在软骨肉瘤表达的关系采用 Spearman 等级相关分析。

2 结果

2.1 CyclinD1 和 cdk4 在颌骨软骨肉瘤的表达

CyclinD1 阳性信号主要定位于胞核内,为棕褐色颗粒,呈局灶性或弥漫性分布。Cdk4 阳性信号为位于胞核内的棕褐色颗粒,呈局灶性。20 例软骨肉瘤中,cyclinD1 和 cdk4 的阳性表达率分别为 70% (14/20) 和 65% (13/20),在病理学各分级间未见显著性差异 (P>0.05)。8 例骨软骨瘤中,cyclinD1 和 cdk4 表达率均为 12.5% (1/8)。4 例软骨瘤中无 cyclinD1 和 cdk4 表达。cyclinD1 和 cdk4 在软骨肉瘤的表达与其在骨软骨瘤、软骨瘤的表达有显著性差异 P<0.05, 见表 1。

表 1C cyclinD1 和 cdk4 在颌骨软骨肉瘤、骨软骨瘤和软骨瘤的表达

组别	例数	CyclinD1 表达			阳性率 (%)	Cdk4 表达			阳性率 (%)
		-	+	++		-	+	++	
软骨肉瘤	20	6	5	9	70 <sup>a</sup>	7	7	6	65 <sup>a</sup>
级	8	4	3	1	50	4	4	0	50
级	8	1	2	5 <sup>b</sup>	87.5	3	3	2	62.5 <sup>b</sup>
级	4	0	1	3 <sup>b</sup>	100	0	1	3	100 <sup>b</sup>
骨软骨瘤	8	7	1	0	12.5	7	1	0	12.5
软骨瘤	4	4	0	0	0	4	0	0	0

<sup>a</sup> P<0.05 与骨软骨瘤、软骨瘤比较 <sup>b</sup> P>0.05 与级比较

2.2 CyclinD1 和 cdk4 在软骨肉瘤表达的关系

20 例软骨肉瘤中,cyclinD1 和 cdk4 表达均为阳性者 11 例,其中级 3 例,级 5 例,级 3 例;均为阴性者 5 例,其中级 4 例,级 1 例;cyclinD1 阳性而 cdk4 阴性者 2 例,均为级;cdk4 阳性而 cyclinD1 阴性者 2 例,其中级 1 例,级 1 例。对 cyclinD1 和 cdk4 表达的阳性细胞数 (9 个视野的平均值) 作 Spearman 等级相关分析,求证后的 r<sub>s</sub>=0.526, P<0.05, 认为两种蛋白的阳性表达存在正相关关系。

3 讨论

细胞增殖周期是由不同的 cyclin 和 CDK 在 G1/S 和 G2/M 两个限制点进行自控性调节<sup>[1,2]</sup>。当 G1/S 和 G2/M 两个关键限制点失控,就有可能使本应停止增殖或生理性凋亡的细胞不停地进入细胞周期,从而导致恶性增生。CyclinD 是 G1 期的主要调控蛋白,又分为 D1、D2 和 D3。正常情况下 cyclinD1 在 G1 期是恒定的,或保持极低水平。CyclinD1 过量表达导致 G1 期缩短,同时细胞对血清的需求减少,cyclinD1 已被确定为原癌基因,甲状旁腺癌、乳腺癌、食管癌、胃肠癌、肝细胞癌、骨肉瘤、口腔癌等组织内均有 cyclinD1 的过度表达<sup>[4]</sup>。

在细胞周期 G1/S 限制点,重要的控制因子是 cyclinD、cyclinE、cdk2、4 和 6。它们以 cyclinE/cdk2 和 cyclinD/cdk4 或 6 的复合物形式存在,当复合物中 cdk 相应位点磷酸化以后,该复合物才具有激酶活性,细胞内 pRb (视网膜母细胞瘤基因蛋白) 则被磷酸化,从而使其与核转录因子 E2F 的结合作用丧失,E2F 介导的 RNA 转录得以进行,细胞有可能进入增殖状态。cdk4 在雪旺氏肉瘤、视网膜母细胞肉瘤、骨肉瘤、软骨肉瘤和脂肪肉瘤等有扩增和 mRNA 水平升高,骨肿瘤中 cdk4 是扩增的主要靶区域<sup>[5,6]</sup>。

CyclinD1 基因扩增或过表达是造成一些细胞转化和维持其转化表型所必需的,并且要和其他基因或基因产物的异常相配合。有研究表明,cyclinD1 的过度表达掩盖了 pRb 的抑制作用,导致细胞癌变。当 G1 期的 cyc-cdk 复合物过表达时,pRb 的磷酸化在细胞进入 S 期的过程并不是必需的,即 cyc-cdk 复合物可不依赖于 pRb/E2F 路径而活化复制过程<sup>[7]</sup>。

本实验结果表明,在颌骨软骨肉瘤中 cyclinD1 和 cdk4 均出现高表达且具有正相关,与颌骨骨软骨瘤及软骨瘤 (良性肿瘤) 相比有显著性差异,提示 cyclinD1 和 cdk4 与软骨肉瘤细胞的增殖关系密切,G1

期 cyclinD1 和 cdk4 的去调控与软骨肉瘤的形成和发生有关。本实验中,CyclinD1 与 cdk4 的表达与软骨肉瘤的病理学分级未见明显差异,可能与研究例数较少有关,二者与病理分级的关系还有待于进一步的大样本观察。肿瘤的发生是一个多步骤、多阶段的演进过程。结合本实验的结果,我们认为 cyclinD 和 cdk4 等癌基因的活化和过度表达,对细胞增殖起促进作用,最终导致细胞的恶性转化和无节制增殖。

#### 参考文献:

- [1] MacLachlanTK,San gN,GiordanoA.Cyclins,cyclin dependent kinasesandcdkinhibitors:implicationincellcyclecontrolandcancer[J].CritRevEukGeneExpr,1995,5(2):127-156.
- [2] VousdenK.Oncogenesand growthcontrol[J].BiochimBiophysActa,1998,1423(1):29-33.
- [3] YerlyMottaV,ContassotE,PavlyJJ,TiberghienP,HerveP.Expressionofcyclinsandcdksthroughoutmurinecarcinogenesis[J].CellMolBiol,1999,45(8):1217-1228.
- [4] GoodgerNM,GannonJ,HuntT,MorganPR.Cellcycle regulatory proteins:anoverviewwithrelevance tooralcancer[J].Oral Oncol,1997,33(2):61-73.
- [5] KaneoH,NakayamaT,MurakamiH,etal.AmplificationofCDK4 genesinsarcomas:tumorspecificityandrelationshipwith theRB genemutation[J].AnticancerRes,1998,18(4A):2317-2321.
- [6] MaelandsGM,BernerJM,FlorenesVA,etal.HomologousdeletionfrequencyandexpressionlevelsoftheCDKN2 geneinhuman sarcomasrelationship to amplificationandmRNAlevelsofCDK4 andCCND1[J].BrJCancer,1995,72(2):393-398.
- [7] LengX,Connell-CrowleyL,GoodrichD,etal.S-phaseentrypunctuatedbyexpressionofG1cyclindependentkinasesintheabsenceofretinoblastoma protein phosphorylation[J].CurrBiol,1997,7(9):709-712.

(李奇明校对)

## 胃癌术后顽固性呃逆的护理

余光艳,孙学珍,曾芳

关键词:胃癌;顽固性呃逆;护理

中图分类号:R735.2 文献标识码:B

文章编号:1000-8578(2002)03-0202-01

胃癌是人类最常见的肿瘤,占全部肿瘤首位。我国胃癌死亡率居恶性肿瘤死亡率的首位。胃癌发病男性比女性多,男女之比 2.2 ~ 3.6,好发年龄为 41 ~ 60 岁。全胃切除术及胃大部分切除术后均需要留置胃管。患者手术后频繁呃逆可以造成胃管脱出,剧烈的膈肌痉挛可影响伤口愈合。长期呃逆可妨碍患者进食及睡眠,导致身体虚弱,甚至威胁生命。连续不断的快速呃逆可引起房室传导阻滞,以后可出现阿-斯综合征。为了有效防治呃逆,对入住我科的 184 例胃癌患者术后进行了观察及护理,现将结果报告如下:

### 1 临床资料

1.1 一般资料 我科 1999 年 2 月至 2001 年 3 月收治的胃癌手术患者 184

例,其中全胃切除 72 例(男 54 例,女 18 例),胃大部分切除 112 例(男 82 例,女 30 例);年龄 29 ~ 83 岁。术后均留置胃管,其中发生呃逆 34 例,占 18.5%,男性 29 例,女性 5 例。全胃切除的 72 例中发生呃逆 18 例,发生率 25%。胃大部分切除 112 例中发生呃逆 16 例,发生率 14.3%,呃逆多发生在术后 2 ~ 3 天,未作治疗或疗效不佳者呃逆可持续 72h 以上,经新斯的明、维生素 B<sub>1</sub>、普鲁卡因足三里穴位封闭,可在短时间内缓解,无 1 例复发。

1.2 方法 将发生呃逆的 34 例分为 2 组,一组 14 例,采用阿托品 0.5mg 肌肉注射,观察 72h,记录症状变化情况,另一组 20 例,采用普鲁卡因 2ml、新斯的明 2ml、维生素 B<sub>1</sub> 100mg 在足三里进行穴位注射,双侧各注射半量,使针下有酸、麻、痛、胀等感觉,观察 72h 记录症

状变化情况。

### 2 结果

14 例经阿托品治疗患者 30min 症状缓解 3 例,1h 症状缓解者 4 例,2h 后症状缓解者 2 例,其余 5 例无效,9 例缓解的患者中 6 例 5h 后复发,持续 72h 以上。20 例经穴位治疗的患者 30min 症状全部缓解,12h 后症状完全消失,再观察 72h,无 1 例复发。

### 3 讨论

呃逆是一种复杂的神经呼吸现象,中医理论认为主要是饮食不节或情志郁怒等使胃气上逆所致。现代医学认为呃逆是膈肌痉挛,健康人群如进食过快,过饱或食物过冷、过热、过度辛辣、酗酒或大量喝碳酸饮料均可引起呃逆。气温变化,情感因素等也可引发呃逆。胃癌手术患者有别于健康人群,手术过程中刺激、压迫迷走神经和膈神经以及术后留置胃管直接刺激胃壁以及术后疼痛,焦虑等均可诱发膈肌痉挛。呃逆的西医治疗主要是去除病因,多使用阿托品、安定等解痉和镇静等治疗。但中医穴位治疗呃逆方面确有一定疗效,能行气止痛,降逆调中,温肾纳气,从而肾气得固,脾气得升,胃气得降,气机调达,呃逆得平。操作方法简便,起效快,无副作用,不易复发,值得推广应用。

(熊静校对)

收稿日期:2001-07-31;修回日期:2001-12-04

作者单位:430079 武汉,湖北省肿瘤医院胰泌外科