

p57^{KIP2}、cyclin D1 和 cyclin E 在宫颈鳞癌中的表达及意义

周正平,肖庆邦,冉丰丰,王进京,郑洪

Expression of p57^{KIP2}, cyclin D1, and cyclin E and Their Clinical Significances in Squamous Cell Carcinoma of Uterine Cervix

ZHOU Zheng-ping, XIAO Qing-bang, RAN Feng-feng, WANG Ji-jing, ZHENG Hong

Department of Pathology, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi, 563003, China

Abstract :Objective To discuss the effects of p57^{KIP2}, cyclin D1, and cyclin E on the genesis and progression of carcinoma of the uterine cervix. **Methods** The expression of p57^{KIP2}, cyclin D1, and cyclin E proteins in 100 cases of squamous cell carcinoma of the uterine cervix, 60 cases of cervical intraepithelial neoplasia (CIN), and 30 cases of normal cervical squamous epithelium (NE) was detected respectively by immunohistochemical SP methods. **Results** The expression of cyclin D1, and cyclin E between SCC and NE, and between CIN and NE, and the expression of cyclin E between CIN and NE had significant difference ($P < 0.01$). In SCC, all the positive expression of p57^{KIP2}, cyclin D1 and cyclin E were no correlation with lymph node metastasis, and histological grade, and age ($P < 0.01$). There was positive relationship between expression of cyclin D1 and cyclin E ($P < 0.01$). **Conclusion** p57^{KIP2}, cyclin D1, and cyclin E might be useful in the development and progression of carcinoma of the uterine cervix. The over-expression of cyclin D1 and/or cyclin E proteins in SCC suggest that they might be important biological marker for malignant transformation in uterine cervix tissue and, and the abnormal expression of cyclin E were early event of carcinoma of the uterine cervix.

Key words: Carcinoma of the uterine cervix; Immunohistochemistry; p57^{KIP2}; cyclin D1; cyclin E

摘要:目的 探讨 p57^{KIP2}、cyclin D1 及 cyclin E 蛋白在宫颈癌发生、发展中的作用。方法 用免疫组织化学 SP 法检测 100 例宫颈鳞癌、60 例宫颈上皮内瘤变和 30 例正常宫颈鳞状上皮组织中 p57^{KIP2}、cyclin D1 和 cyclin E 蛋白的表达情况。结果 cyclin D1、cyclin E 蛋白在宫颈 SCC 与 NE、CIN 与 NE 组织中阳性表达率之间比较, cyclin E 蛋白在宫颈 SCC 与 CIN 组织中阳性表达率之间比较, 差异均有显著性 ($P < 0.01$); cyclin D1 与 cyclin E 之间的表达呈正相关 ($P < 0.01$); 三者表达均与组织学分级、淋巴结转移、患者年龄无关 ($P > 0.05$)。结论 p57^{KIP2}、cyclin D1 及 cyclin E 蛋白共同参与了宫颈癌的发生发展。cyclin D1 和 cyclin E 蛋白高表达可能是宫颈组织恶变的重要生物学标志, cyclin E 异常表达是宫颈癌发生的早期事件。

关键词: 宫颈癌; 免疫组织化学; p57^{KIP2}; cyclin D1; cyclin E

中图分类号: R737.33 文献标识码: A 文章编号: 1000-8578(2007)07-0511-03

0 引言

宫颈癌是最常见的妇科恶性肿瘤, 其中又以宫颈鳞状细胞癌 (Squamous cell carcinoma, SCC) 最为多见。我国是宫颈癌的高发地区, 尤其在农村, 其发生率及死亡率均居妇女恶性肿瘤的首位, 但其癌变机制至今尚无定论。正确评估宫颈癌生物学行为及

其预后情况, 对临床治疗及改善患者的生存质量具有极其重要的意义。本实验应用免疫组织化学 SP 法, 通过检测 p57^{KIP2}、cyclin D1 和 cyclin E 蛋白在宫颈上皮内瘤变 (Cervical intraepithelial neoplasia, CIN) 及在宫颈 SCC 组织中的表达情况, 探讨它们在宫颈癌发生发展过程中的作用。

1 资料与方法

1.1 标本来源 收集遵义医学院附属医院病理科 1999 年 1 月 ~ 2004 年 1 月的宫颈活检或者手术确诊的宫颈 SCC 标本 100 例 (I 级 27 例、II 级 48 例、III 级 25 例), CIN 60 例 (I 级 20 例、II 级 20 例、III 级 20 例)。病人术前均未行放、化等治疗。检出伴

收稿日期: 2006-07-03; 修回日期: 2006-09-15

基金项目: 贵州省卫生厅优秀医学青年人才基金资助项目 (黔卫发 (2005) 138 号); 遵义医学院资助管理科研基金资助项目 (F-124)

作者单位: 563003 贵州遵义医学院附属医院病理科

作者简介: 周正平 (1965-), 女, 硕士, 副教授, 主要从事肿瘤病理研究

盆腔淋巴结肿大 41 例,其中伴盆腔淋巴结转移 12 例(每例平均检出淋巴结 4.33 枚);患者年龄 20~75 岁,中位年龄 45 岁。随机选取 30 例正常宫颈鳞状上皮(Normal cervical squamous epithelium, NE)(均选自因子宫肌瘤行子宫切除术的宫颈上皮组织)作为试验对照组。

1.2 试剂 兔抗人 p57^{KIP2} 多克隆抗体、鼠抗人 cyclin D1 单克隆抗体(DCS/6)、鼠抗人 cyclin E 单克隆抗体(13A3),与 SP 试剂盒、DAB 酶底物显色试剂盒均购自福州迈新生物技术开发有限公司。3 种抗体的工作浓度分别为 1:75、1:100、1:50。

1.3 方法 将存档的 10% 中性福尔马林固定、石蜡包埋,4 μm 厚连续切片,行 HE 染色和 SP 免疫组化染色。严格按照说明书操作步骤进行,DAB 显色,苏木精复染。用迈新生物技术有限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。组织抗原均采用高压修复处理。

1.4 结果判断 p57^{KIP2}、cyclin D1 及 cyclin E 蛋白阳性信号呈棕黄色或棕褐色,均主要定位于细胞核,见图 1~3。每张切片随机选取有肿瘤组织的不同高倍视野(×400),计数 2 000 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%。

1.5 统计学处理 所得数据采用 SPSS11.0 统计软件,应用 χ^2 检验、Fisher 确切概率法及配对四格表进行统计学处理。

2 结果

2.1 p57^{KIP2}、cyclin D1 及 cyclin E 在宫颈 SCC、CIN、NE 中的表达 cyclin D1、cyclin E 蛋白在宫颈 SCC 与在 NE 中阳性表达率之间比较、在 CIN 与在 NE 中阳性表达率之间比较、以及 cyclin E 蛋白在宫颈 SCC 与在 CIN 中阳性表达率之间比较差异均有统计学意义($P < 0.01$);p57^{KIP2} 蛋白在宫颈 SCC 与在 CIN、NE 中阳性表达率之间比较、以及在 CIN、NE 组织中阳性表达率之间比较、cyclin D1 在宫颈 SCC 与在 CIN 中阳性率比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

2.2 p57^{KIP2}、cyclin D1 及 cyclin E 蛋白在宫颈 SCC 中的表达与临床病理特征的关系 在宫颈 SCC 组织中,随着组织学分级的增加,p57^{KIP2} 蛋白的阳性表达率逐渐降低,cyclin D1 蛋白阳性表达率在组织学高级组高于组织学低级组,cyclin E 蛋白的阳性表达率在组织学高级组高于组织学低级组,但差异均无统计学意义($P > 0.05$);在盆腔淋巴结转移阳性组,p57^{KIP2} 蛋白的阳性表达率低于淋巴结转移阴性组,cyclin D1、cyclin E 蛋白阳性表达率均明显高于淋巴结转移阴性组,但差异均无统计学意义($P > 0.05$);p57^{KIP2}、cyclin D1、cyclin E 蛋白的表达均与患者年龄无关($P > 0.05$),见表 2。

2.3 p57^{KIP2}、cyclin D1 和 cyclin E 蛋白在宫颈鳞癌组织中表达的相互关系 根据配对四格表分析,p57^{KIP2} 与 cyclin D1 之间、p57^{KIP2} 与 cyclin E 之间的阳性表达均无相关性($\chi^2 = 0.958$ 、 $\chi^2 = 0.928$, P

表 1 p57^{KIP2}、cyclin D1、cyclin E 蛋白在宫颈 SCC、CIN、NE 中的表达

组织学类型	n	p57 ^{KIP2}				阳性率(%)	cyclin D1				阳性率(%)	cyclin E				阳性率(%)
		-	+	++	+++		-	+	++	+++		-	+	++	+++	
宫颈 SCC	100	49	29	18	4	51.00	52	32	12	4	48.00	31	27	27	15	69.00
CIN	60	26	22	12	0	56.67	32	17	9	2	46.67	31	13	14	2	48.33
NE	30	11	9	8	2	63.33	25	4	1	0	16.67	24	5	1	0	20.00

SCC、CIN 分别与 NE 比较, SCC 与 CIN 比较, $P < 0.01$

表 2 p57^{KIP2}、cyclin D1、cyclin E 蛋白在宫颈 SCC 中阳性表达与临床病理特征的关系

类别	n	p57 ^{KIP2}			cyclin D1			cyclin E		
		+	阳性率(%)	P	+	阳性率(%)	P	+	阳性率(%)	P
组织学分级										
	27	17	62.96	0.148	15	55.56	0.617	20	74.07	0.397
	48	25	52.08		21	43.75		30	62.50	
	25	9	36.00		12	48.00		19	76.00	
淋巴结转移(枚)										
有	12	4	33.33	0.898	8	66.67	0.283	9	75.00	0.665
无	29	12	41.38		14	48.28		18	62.57	
年龄(岁)										
> 50	37	20	54.05	0.640	15	40.54	0.253	25	67.57	0.812
≤ 50	63	31	49.21		33	52.38		44	69.84	

> 0.05), 而 cyclin D1 与 cyclin E 之间的表达则呈正相关 ($r^2 = 10.823, P < 0.01$), 见表 3。

表 3 p57^{KIP2}、cyclin D1、cyclin E 蛋白在宫颈鳞癌中表达的相关性

	cyclin D1			cyclin E		
	-	+	P	-	+	P
p57 ^{KIP2} (-)	22	25	0.328	14	40	0.335
p57 ^{KIP2} (+)	30	23		16	30	
cyclin E (-)	21	9	0.001			
cyclin E (+)	24	46				

3 讨论

在哺乳动物细胞中,细胞的正常增殖受到严格的调控。一旦细胞周期调控失常,就会导致肿瘤的恶性增生^[1]。

p57^{KIP2}是 1995 年由 Shuhei 等^[2]用双杂交系统克隆出来,定位于人染色体 11p 15.5,编码 316 个氨基酸残基的多肽,分子量为 57 KD 的蛋白质,属于 CKIs,负向调控 G₁ 期和 S 期细胞周期进程,是一种肿瘤抑制基因。在许多人类恶性肿瘤存在着染色体 11p 15.5 等位基因高频的杂合性丢失 (LOH)^[3,4]。Yasuhiro 等^[5]研究 90 例肝细胞肝癌和 66 例肝良性病变,周正平等^[6]研究 64 例乳腺浸润性导管癌,均发现 p57^{KIP2} 蛋白在恶性肿瘤组织中的表达明显低于良性病变,尤其在病程进展期、低分化组织、伴淋巴结转移、高的增殖指数以及 cyclin D1、cyclin E 蛋白过表达的癌组织中低表达。本研究结果显示,在宫颈 CIN 及 NE 中,p57^{KIP2} 蛋白的阳性表达率均高于在 SCC 中的阳性表达率;SCC 组织分化差的病例中阳性表达率低于分化好者;盆腔淋巴结转移阳性组阳性表达率低于阴性组;高龄组患者阳性表达率高于年龄较小组,但差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。提示 p57^{KIP2} 蛋白在宫颈癌的发生发展过程中发挥着一定的作用。p57^{KIP2} 蛋白过表达对宫颈上皮细胞的异常增殖可能有一定阻抑作用,其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,甚至发生恶性转化。

cyclin D1 定位于人染色体 11q13,编码由 295 个氨基酸构成、分子量为 34 KD 的蛋白质^[7]。cyclin E 是 1991 年由 Andrew 等^[8]发现的,定位于人染色体 19q12~19q13,编码分子量为 50 KD 的蛋白质。一些研究显示,cyclin D1 基因蛋白的过表达与恶性肿瘤的预后不良有关^[9],cyclin E 基因蛋白过表达与胰腺癌的发生、淋巴结转移有关^[10]。本研究显示,在 NE 中,cyclin D1 与 cyclin E 蛋白均呈低表达,在 CIN 中的阳性表达率逐渐增高,在 SCC 中明

显增高 ($P < 0.01$),cyclin D1 与 cyclin E 蛋白的阳性表达之间呈正相关 ($P < 0.01$)。在 SCC 中,cyclin D1 蛋白阳性表达率在组织学 Ⅱ级组高于组织学 Ⅰ级组,cyclin E 蛋白的阳性表达率在组织学 Ⅱ级组高于组织学 Ⅰ级组,但差异均无统计学意义 ($P > 0.05$);cyclin D1、cyclin E 蛋白的阳性表达率均与盆腔淋巴结有无转移、患者年龄无关 ($P > 0.05$)。提示 cyclin E 蛋白的异常表达是宫颈癌发生的早期事件,cyclin D1 与 cyclin E 蛋白的异常表达可能协同促使宫颈上皮细胞过度增生,最后发生恶性转化。因此,cyclin D1 与 cyclin E 蛋白可以作为评估宫颈上皮组织发生恶性转变的生物学指标。

本研究结果提示,p57^{KIP2} 蛋白低表达、cyclin D1 和(或)cyclin E 蛋白高表达,可能导致宫颈上皮细胞增殖周期调控失常,从而使细胞发生无限制增殖及异常分裂,最后导致宫颈上皮细胞恶性转化,甚至发生淋巴结转移。

(本文图见封 3)

参考文献:

- [1] Charles J, Sherr. The Pezcoller Lecture: Cancer Cell Cycles Revisited[J]. Cancer Research,2000,60(14):3689-3695.
- [2] Shuhei Matsuoka,Michael C Edwards,Chunyan Bai,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(6):650-662.
- [3] Pumin Zhang,Nanette J Liegeois,Calvin Wong,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.
- [4] Tarlochan Nijjar,Don Wigington,James C Garbe Garbe,et al. p57^{KIP2} Expression and Loss of Heterozygosity during Immortal Conversion of Cultured Human Mammary Epithelial Cells[J]. Cancer Research,1999,59(20):5112-5118.
- [5] Yasuhiro Ito, Tsutomu Takeda,Masato Sakon,et al. Expression of p57^{KIP2} protein in hepatocellular carcinoma[J]. Oncology,2001,61(3):221-225.
- [6] 周正平,王进京,肖庆邦,等. 乳腺浸润性导管癌中 cyclin D1、p57^{KIP2} 的表达及意义[J]. 肿瘤防治研究,2005,32(8):476-478.
- [7] Toru Motokura, Theodora Bloom, Hyung Goo Kim,et al. A novel cyclin encoded by a bcl1-linked candidate oncogene[J]. Nature,1991,350(6318):512-515.
- [8] Andrew Koff,Fred Cross,Alfred Fish,et al. Human cyclin E,a new cyclin that interacts with two members of the CDC2 gene family[J]. Cell,1991,66(6):1217-1228.
- [9] Robert L Sutherland,Elizabeth A Musgrove. cyclin D1 and mammary carcinoma:new insights from transgenic mouse models[J]. Breast Cancer Res,2002,4(1):14-17.
- [10] Hui Yue, Hui-Yong Jiang. Expression of cell cycle regulator p57kip2, cyclinE protein and proliferating cell nuclear antigen in human pancreatic cancer: An immunohistochemical study [J]. World J Gastroenterol,2005,11(32):5057-5060.

[编辑:贺文;校对:杨卉]

p57^{KIP2}、cyclin D1 和 cyclin E 在宫颈鳞癌中的表达及意义

(正文见 511 页)

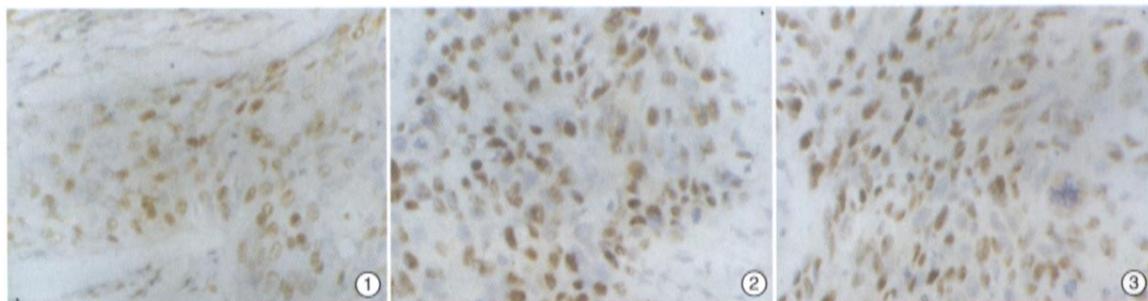


图1 在宫颈 SCC 中 p57^{KIP2} 蛋白阳性表达于细胞核 图2 在宫颈 SCC 中 cyclin D1 蛋白阳性表达于细胞核
图3 在宫颈 SCC 中 cyclin E 蛋白阳性表达于细胞核 (均为 SP, 苏木素复染 × 400)

心脏原发性血管肉瘤的临床诊治

(正文见 532 页)

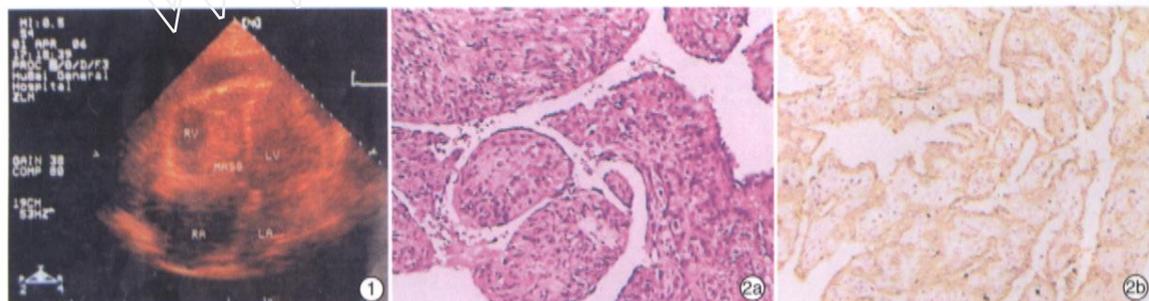


图1 右心房内可见一 8.3cmX3.5cm 强回声光团, 附着于右心房侧壁, 活动度大, 随心动周期自右心房经三尖瓣至右室
图2 光镜下可见由分化不同的肿瘤细胞组成, 分化好的区域, 内皮细胞围成相互吻合不规则的血管腔。分化差的区域, 瘤细胞呈实性排列, 部分可见裂隙。瘤细胞异型性明显, 核大深染, 可见核分裂, 胞浆红染。免疫组化: CD31(+)/CD34(+)/Vimentin(+)/FVIII-RA(+)
(a. HE × 100; b. CD31 × 100)

下颌骨原发性平滑肌肉瘤 1 例

(正文见 544 页)

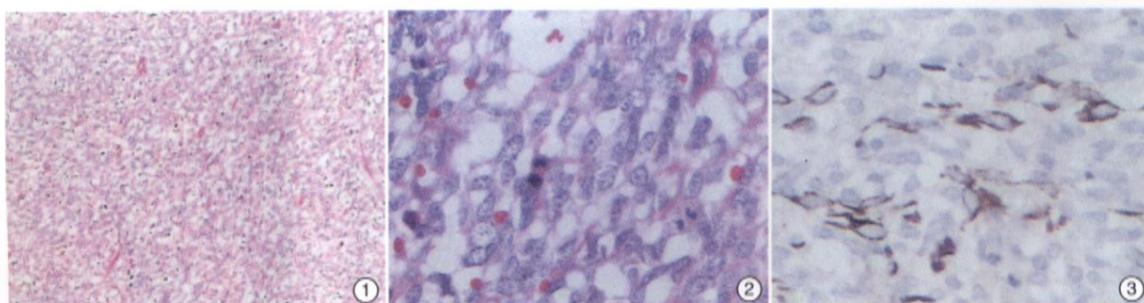


图1 示瘤细胞梭形、异型性明显密集排列 (HE × 100)
图2 示瘤细胞核染色质粗, 分布不均匀核分裂多见 (HE × 400)
图3 示瘤细胞为平滑肌来源 a-SMA 阳性 (SP × 400)