

DOI:10. 3971/j. issn. 1000-8578. 2010. 03. 024

p57^{kip2} 与 cyclin D1 在上皮性卵巢癌中的表达及临床意义

肖 静, 刘少扬, 江大琼

Expressions of p57^{kip2} and cyclin D1 Proteins in Epithelial Ovarian Carcinoma and Their Clinical Significance

XIAO Jing, LIU Shao-yang, JIANG Da-qiong

Department of Gynecologic Oncology, Zhongnan Hospital Wuhan University, Wuhan 430071, China

Abstract: Objective To investigate the relationship of p57^{kip2} and cyclin D1 expressions with clinicopathological features of epithelial ovarian tumor. **Methods** SP immunohistochemical technique was applied to detect the expressions of p57^{kip2} and cyclin D1 proteins in tissues of 41 patients with malignant epithelial ovarian cancer, 12 with borderline tumor, 24 with benign tumor and 12 normal ovaries. **Results** The positive-expression of p57^{kip2} and cyclin D1 was 91. 7%(11/12), 79. 2%(19/24), 58. 3%(7/12), 46. 3%(19/41) and 8. 3%(1/12), 29. 2%(7/24), 50%(6/12), 75. 6%(31/41), respectively in normal, benign, borderline, and malignant tissues. There were significant differences between p57^{kip2} and cyclin D1 proteins in normal group compared with the malignant, and the benign compared with the malignant. In malignant ovarian tumors, overexpression of cyclin D1 and low-expression of p57^{kip2} are significantly associated with high tumor grade, advanced clinical stage, and lymph node metastasis. Expression of cyclin D1 was negatively correlated with expression of p57^{kip2}. **Conclusion** p57^{kip2} and cyclin D1 played important roles in occurrence and development of epithelial ovarian cancer. Overexpression of cyclin D1 and low-expression of p57^{kip2} provide important implications of malignancy and prognosis for epithelial ovarian carcinoma.

Key words: p57^{kip2}; Cyclin D1; Ovarian carcinoma

摘 要:目的 研究 p57^{kip2} 与细胞周期素 D1 在上皮性卵巢癌中的表达与临床病理特征的关系,探讨其在上皮性卵巢癌发生发展过程中的作用。 **方法** 采用免疫组织化学 SP 法检测 p57^{kip2} 与 cyclin D1 在 41 例上皮性卵巢癌、12 例交界性肿瘤、24 例良性肿瘤与 12 例正常卵巢组织中的表达。 **结果** p57^{kip2} 和 cyclin D1 在正常卵巢、良性、交界性、恶性肿瘤组织中的阳性率分别为 91. 7%(11/12)、79. 2%(19/24)、58. 3%(7/12)、46. 3%(19/41) 和 8. 3%(1/12)、29. 2%(7/24)、50%(6/12)、75. 6%(31/41), 其中正常组与恶性组之间, 良性与恶性组之间差异有统计学意义 ($P<0. 05$)。在卵巢癌中 p57^{kip2} 和 cyclin D1 的表达与肿瘤分化程度, 临床分期和有无淋巴结转移有关, 且两者的表达呈负相关 ($r=-0. 311, P<0. 05$)。 **结论** p57^{kip2} 和 cyclin D1 可能共同参与了上皮性卵巢肿瘤的发生与发展, p57^{kip2} 的低表达甚至缺失和 cyclin D1 高表达对预测卵巢肿瘤的恶性程度及预后有指导意义。

关键词: p57^{kip2}; cyclin D1; 卵巢肿瘤

中图分类号: R737. 31 文献标识码: A 文章编号: 1000-8578(2010)03-0330-04

0 引言

卵巢癌是女性生殖系统常见恶性肿瘤,其死亡率居女性生殖系统肿瘤首位。研究^[1-3]发现肿瘤的发生发展与细胞周期紊乱,细胞增殖失控密切相关。p57^{kip2} 是近年来发现的一个调控细胞周期并抑制细胞分裂的重要基因,参与细胞周期负性调控,可能是

一个新型的肿瘤抑制基因,能抑制细胞从 G₁ 期向 S 期转化。cyclin D1 是一类在细胞周期中含量呈周期性变化的细胞周期调节蛋白,能促进 G₁~S 期的转变而使细胞持续增殖,本研究运用免疫组织化学 SP 法检测上皮性卵巢肿瘤中 p57^{kip2} 和 cyclin D1 的表达,探讨它们在卵巢肿瘤发生发展中的作用以及与临床病理特征的关系。

1 资料与方法

1. 1 标本来源

收稿日期: 2008-10-29; 修回日期: 2009-07-14
作者单位: 430071 武汉大学中南医院妇科
作者简介: 肖静(1983-), 女, 硕士在读, 主要从事妇科肿瘤的临床研究

收集武汉大学中南医院妇瘤科 2002 年 10 月～2006 年 10 月期间手术切除并经病理确诊为卵巢恶性肿瘤的石蜡标本 41 例,交界性肿瘤 12 例,良性肿瘤 24 例,同期因其他良性病变而手术切除的正常卵巢组织 12 例。恶性肿瘤患者年龄 23～68 岁,中位年龄 48 岁;其中中～高分化 24 例,低分化及未分化 17 例;按 FIGO 分期:Ⅰ～Ⅱ期 14 例,Ⅲ～Ⅳ期 27 例;无淋巴结转移 17 例,有淋巴结转移 24 例。

1.2 试剂和方法

p57^{kip2} 兔抗人多克隆抗体(即用型),cyclin D1 兔抗人单克隆抗体(即用型)及 SP 超敏试剂盒(即用型)均购自福州迈新生物技术有限公司。组织蜡块 4 μm 连续切片,脱蜡和水化后置于 PBS 缓冲液(pH 7.4)中,高温高压 90 s 进行抗原修复,余步骤均按 SP 试剂盒中说明书完成。用已知阳性切片作阳性对照,PBS 代替一抗作阴性对照。

1.3 结果判定

高倍镜(×400 倍)下每张切片随机选取 10 个不同视野,每个视野计数 100 个细胞,p57^{kip2} 和 cyclin D1 蛋白阳性信号为细胞核或胞质出现棕黄色颗粒,染色强度高于背景非特异性染色为准。按阳性细胞数占所计数细胞总数的百分率分为:阴性(-):阳性细胞数<5%;阳性(+):阳性细胞数为≥5%～50%;强阳性(++):阳性细胞数≥50%^[4-5]。

1.4 统计学方法

应用 SPSS 13.0 统计软件处理,采用 χ^2 检验, Fisher 精确概率法及 Spearman 相关分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 p57^{kip2} 和 cyclin D1 在正常卵巢及各组卵巢肿瘤中的表达

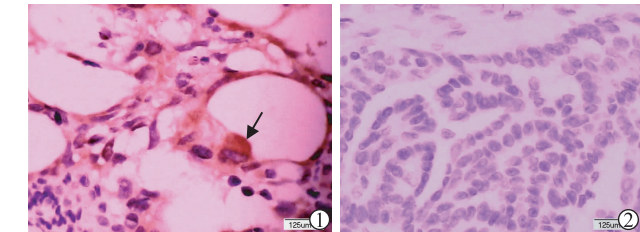


图 1 p57^{kip2} 在卵巢子宫内膜样腺癌中的阳性表达(SP × 400)

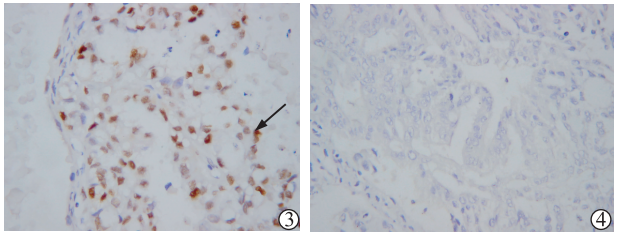


图 2 p57^{kip2} 在卵巢浆液性乳头状腺癌中阴性表达(SP × 400)

Figure 1 Positive expression of p57^{kip2} in ovarian endometrioid carcinoma(SP × 400) Figure 2 Negative expression of p57^{kip2} in ovarian serous papillary adenocarcinoma(SP × 400) Figure 3 Positive expression of cyclin D1 in malignant ovarian mixed epithelial carcinoma(SP × 400) Figure 4 Negative expression of cyclin D1 in ovarian serous papillary adenocarcinoma(SP × 400)

两者的表达见表 1。p57^{kip2} 的表达,见图 1～2:阳性表达呈棕黄色颗粒,主要着色于细胞核,仅两例着色于细胞质,该两例均为卵巢子宫内膜样腺癌。cyclin D1 的表达,见图 3～4:阳性表达呈棕黄色颗粒,均着色于细胞核。

表 1 p57^{kip2} 和 cyclin D1 在正常卵巢及各组卵巢肿瘤组织中的表达

Table 1 Expression of p57^{kip2} and cyclin D1 in normal ovaries and each kind of ovarian tumor

Tissues	n	p57 ^{kip2}				Cyclin D1			
		-	+	Positive rate	P	-	+	Positive rate	P
Normal	12	1	11	91.7%	0.005*	11	1	8.3%	0.000*
Benign	24	5	19	79.2%	0.010#	17	7	29.2%	0.000#
Borderline	12	5	7	58.3%		6	6	50.0%	
Malignant	41	22	19	46.3%		10	31	75.6%	

Note: * : Comparison between normal group and the benign; # : Comparison between the benign and the malignant

2.2 p57^{kip2} 和 cyclin D1 在上皮性卵巢癌中的表达及与临床病理特征的关系

两者的表达与临床病理特征的关系见表 2。
2.3 上皮性卵巢癌中 p57^{kip2} 和 cyclin D1 蛋白表达的相关性

两者的表达呈负相关,见表 3。

3 讨论

细胞周期调控失常与肿瘤的发生发展密切相关,研究发现在绝大多数的肿瘤细胞中都存在着若干细胞周期调控基因的改变。细胞周期调控因子共同作用于两个主要调控点:G₁/S 转折点和 G₂/M 转折点,其中 G₁期是细胞周期的关键,哺乳动物细胞分裂及分化的主要调节事件都在此期发生^[6]。

表 2 p57^{kip2} 和 cyclin D1 在上皮性卵巢癌中的表达及与临床病理特征的关系

Table 2 Expression of p57^{kip2} and cyclin D1 in epithelial ovarian carcinoma and their correlations with clinicopathological features

	<i>n</i>	p57 ^{kip2}				Cyclin D1			
		—	+	Positive rate	<i>P</i>	—	+	Positive rate	<i>P</i>
Differentiation									
Moderately-well	24	9	15	62.5%	0.014	9	15	62.5%	0.028
Poorly-undifferentiated	17	13	4	23.5%		1	16	94.1%	
FIGO stage									
I ~ II	14	4	10	71.4%	0.020	7	7	50.0%	0.017
III ~ IV	27	18	9	33.3%		3	24	88.9%	
Lymph-node metastasis									
No	17	5	12	70.6%	0.009	8	9	52.9%	0.008
Yes	24	17	7	29.2%		2	22	91.7%	
Age									
≥48 years	25	15	10	40.0%	0.309	5	20	80.0%	0.472
<48 years	16	7	9	56.3%		5	11	68.8%	

表 3 上皮性卵巢癌中 p57^{kip2} 和 cyclin D1 表达的关系

Table 3 Expression of p57^{kip2} and cyclin D1 in epithelial ovarian carcinoma and their correlation

Cyclin D1	p57 ^{kip2}			
	—	+	++	
—	3	2	5	<i>r</i> = -0.311 <i>P</i> = 0.048
+	13	4	4	
++	6	4	0	

p57^{kip2} 是 1995 年由 Matsuoka 等^[7]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 57kD 的蛋白质,属于细胞周期蛋白依赖性激酶抑制因子(CDKIs)两大家族之一 CIP/KIP 家族中的成员,是一个调控细胞周期并抑制细胞分裂的重要基因,被认为是候选的抑癌基因。已有研究证实,在恶性肿瘤中存在 p57^{kip2} 蛋白低表达或缺失,本研究结果显示,p57^{kip2} 在正常卵巢、良性、交界性、恶性肿瘤组织中的阳性率分别为 91.7%(11/12)、79.2%(19/24)、58.3%(7/12)、46.3%(19/41)呈现逐渐降低的趋势,其中正常组与恶性组、良性组与恶性组相比,差异有统计学意义(*P*<0.05)。p57^{kip2} 在卵巢癌中的表达还与组织学分级,临床分期以及淋巴结的转移有关,p57^{kip2} 表达低者分化较差,临床分期较晚,且常已有淋巴结转移,说明 p57^{kip2} 与肿瘤的恶性程度有关,其表达降低或缺失可能是预后不佳的信号。

cyclin D1 是一类在 G₁ 期含量最高,活性最大,能促进 G₁~S 期转变而使细胞持续增殖的细胞周期调节蛋白,因此被认为是一种原癌基因。实验表明,cyclin D1 过度表达可使细胞 G₁ 期缩短,体积变

小,对分裂原的依赖性减弱。其过度表达是多种人类原发性肿瘤的特征^[8]。本研究中 cyclin D1 在正常组、良性、交界性、恶性组中的阳性率分别为 8.3%(1/12)、29.2%(7/24)、50%(6/12)、75.6%(31/41),呈逐渐增加趋势,其中正常组和良性组与恶性组之间差异有统计学意义(*P*<0.05)。cyclin D1 的表达与肿瘤的分化程度,临床分期及淋巴结转移密切相关。cyclin D1 作为一个原癌基因,在肿瘤发生发展,浸润转移中起重要作用,当某些因素造成 cyclin D1 的基因突变而使其过度表达,促进细胞周期进展,过多的细胞进入增殖周期,造成细胞不受控制的增殖,最终导致癌变。

另外,本研究发现在卵巢癌中 p57^{kip2} 和 cyclin D1 的表达负相关(*r* = -0.311, *P* < 0.05),说明 p57^{kip2} 和 cyclin D1 可能共同参与了上皮性卵巢肿瘤的发生与发展。有学者^[9]认为,只有癌基因产物过多与抑癌基因产物减少或缺失同时发生,细胞才能发生恶性转化。在正常情况下,p57^{kip2} 作为细胞周期负性调控因子与细胞周期蛋白 cyclin D1 相互制约,共同调节细胞周期,处于动态平衡,但当机体受到某种信号的刺激,这种平衡状态被打破,负性调控因子 p57^{kip2} 表达降低,与此同时,cyclin D1 表达增加,促进细胞周期的进展,细胞的抗增殖功能丢失,导致异常细胞不受控制的增殖、累积、最终导致癌变。

综上所述,p57^{kip2} 和 cyclin D1 在卵巢癌的发生发展,侵袭转移中发挥了重要作用,检测它们在卵巢肿瘤中的表达,可为预测该肿瘤的恶性程度,生物学行为及患者预后提供参考,并为肿瘤的基因治疗提供有益线索。

DOI:10. 3971/j. issn. 1000-8578. 2010. 03. 025

卵巢上皮性肿瘤组织中 MUC4、MUC16 蛋白的表达及临床意义

徐信兰^{1*}, 张玲玲¹, 孔祥²

Clinical Significance and Expression of MUC4 and MUC16 in Ovarian Tumor

XU Xin-lan^{1*}, ZHANG Ling-ling¹, KONG Xiang²

1. Department of Gynaecology and Obstetrics, The Second Clinical Hospital, Yangzhou University, 225001, China; 2. Department of Gynaecology and Obstetrics, Medical College, Yangzhou University (* Present: Department of Gynaecology and Obstetrics, The Taizhou People Hospital, 225700 Taizhou, China)

Abstract: Objective To investigate the expression and clinical significance of MUC4 and MUC16 proteins in epithelial ovarian carcinoma. **Methods** Primary ovarian epithelial cancer, borderline epithelial tumor, benign epithelial tumor and normal ovarian tissue were detected and analyzed for their MUC4 and MUC16 protein expression level with immunohistochemical method. The paraffin-embedded tissue sections were incubated with anti- MUC4 antibody and anti- MUC16 antibody. **Results** The positive rate of MUC4 protein and MUC16 protein expression in normal ovarian tissue, ovarian benign epithelial tumors, borderline epithelial tumors and malignant epithelial tumors was 0, 10%, 36% and 80% and 0, 20%, 54% and 61% respectively. The statistical evaluation showed that the expression of MUC4 protein had a close relation with histological differentiation and lymph node metastasis in epithelial ovarian carcinoma ($P < 0. 05$). **Conclusion** MUC4 protein was high expression in ovarian carcinoma, which meant that MUC4 is correlated with the growth and development of ovarian tumor.

Key words: MUC4; MUC16; Epithelial ovarian carcinoma; Immunohistochemistry

摘要:目的 探讨黏蛋白抗原 4(MUC4)及黏蛋白抗原 16(MUC16)检测在卵巢癌组织中的表达及临床意义。**方法** 通过免疫组织化学方法检测正常卵巢组织、卵巢良性上皮性肿瘤、卵巢交界性上皮性肿瘤和卵巢癌中 MUC4、MUC16 的表达。**结果** 在正常卵巢组织、卵巢良性上皮性肿瘤、卵巢交界性上皮性肿瘤和卵巢癌中 MUC4 的阳性表达率分别为 0、10%、36%、80%; MUC16 的阳性表达率分别为 0、20%、54%、61%; 在卵巢癌中, MUC4 表达阳性与分化程度、淋巴结转移明显相关($P < 0. 05$)。**结论** MUC4 蛋白在卵巢癌组织中高表达,提示 MUC4 与卵巢癌的发生发展有关。

关键词: MUC4; MUC16; 上皮性卵巢癌;

参考文献:

[1] Sui L, Dong Y, Ohno M, et al. Expression of p57^{kip2} and its clinical relevance in epithelial ovarian tumors[J]. Anticancer Res, 2002, 22(6A): 3191-3196.

[2] Liang B, Wang S, Yang XD, et al. Expressions of cyclin E, cyclin dependent kinase 2 and p57^{KIP2} in human gastric cancer [J]. Chin Med J, 2003, 116(1): 20-23.

[3] Ke J, Guo H, Ruan ZP, et al. Expression of P57^{kip2} and its relationship with clinicopathology, PCNA and p53 in primary hepatocellular carcinoma[J]. World J Gastroenterol, 2005, 11(8): 1237-1240.

[4] 周正平, 王进京, 肖庆邦, 等. p57^{kip2}, cyclin E 在乳腺浸润癌中的表达及意义[J]. 肿瘤, 2005, 25(4): 362-365.

[5] Comstock CE, Revelo MP, Buncher CR, et al. Impact of differential cyclin D1 expression and localization in prostate cancer[J]. Br J Cancer, 2007, 96(6): 970-979.

[6] Farley J, Smith LM, Darcy KM, et al. Cyclin E expression is a significant predictor of survival in advanced, suboptimally debulked ovarian epithelial cancer: a gynecologic oncology group study [J]. Cancer Res, 2003, 63(6): 1235-1241.

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

[8] Liao DJ, Thakur A, Wu J, et al. Perspectives on c-myc, cyclin D1 and their interaction in cancer formation, progression, and response to chemotherapy. [J] Crit Rev Oncog, 2007, 13(2): 93-158.

[9] Weinberg R A. The cat and mouse games that genes, viruses and cells play [J]. Cell, 1997, 88(5): 573.

[编辑: 刘红武; 校对: 周永红]