

Chk1/2 和 Plk1 蛋白在子宫内膜癌中的表达

马全富, 黄晓园, 高庆蕾, 庄亮, 曹阳, 卢运萍, 周剑锋, 马丁

Expressions of Chk1/2 and Plk1 Protein in Endometrial Carcinoma

MA Quān-fu, HUANG Xiāo-yuán, GAO Qīng-lèi, ZHUANG Liáng, CAO Yáng, LU Yūn-píng, ZHOU Jiān-fēng, MA Dīng

Molecular Cancer Center, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China

Corresponding Author: MA Ding, E-mail: dma@tjh.tjmu.edu.cn

Abstract: Objective Chk1/2 (checkpoint kinase 1/2) and Plk1 (polo-like kinase 1) play the major role in cell cycle checkpoint block when DNA lesion are emerged, this study was to investigate the expression of these kinases in endometrial carcinoma and healthy endometria, and to explore their relationships with clinical pathology parameters of endometrial carcinoma and the correlations among three kinases. **Methods**

Immunohistochemistry was applied to detect the expressions of Chk1, Chk2 and Plk1 in 44 cases of endometrial carcinoma and 21 cases of healthy endometria. **Results** The positive percentages of Chk1, Chk2 and Plk1 were 47.7%, 75.0% and 31.8% respectively in endometrial carcinoma, and were 61.9%, 61.9% and 4.8% respectively in healthy endometria; The expression of plk1 proteins in endometrial carcinoma was higher than that in healthy endometria, and the difference of plk1 was significant ($P < 0.01$), while the expression differences of Chk1 and chk2 were no significant ($P > 0.05$). The expressions of Chk1, Chk2 and Plk1 were not associated with the age, pathology and clinical stage of endometrial carcinoma patients ($P > 0.05$), while Chk1 expressions associated with differentiation of endometrial carcinoma ($P < 0.05$). In 44 endometrial carcinoma cases, Chk2 was positively correlated with plk1 ($r = 0.482$, $P = 0.001$). **Conclusion** Plk1 might be ideal targets for endometrial carcinoma therapy, while the expressions and significances of CHK1/2 in endometrial carcinoma need further research.

Key words: Chk1; Chk2; Plk1; Endometrial carcinoma

摘要:目的 Chk1/2 (checkpoint kinase 1,2) 和 Plk1 (polo-like kinase 1) 是各细胞周期检测点启动 DNA 损伤修复的主要激酶,本研究检测 3 种激酶在子宫内膜癌及正常子宫内膜组织中的表达,探讨 3 种蛋白在两者之间的表达差异、与子宫内膜癌临床病理特征的关系及 3 种蛋白表达的相关性。**方法** 应用免疫组化 SP 法检测 44 例子宫内膜癌组织和 21 例正常子宫内膜组织中 Chk1、Chk2 和 Plk1 蛋白的表达情况。**结果** Chk1、Chk2 和 Plk1 蛋白在子宫内膜癌患者中的阳性率分别为 47.7%、75.0% 和 31.8%,在正常子宫内膜中的阳性率分别为 61.9%、61.9% 和 4.8%;Plk1 蛋白在子宫内膜癌组织中的表达显著高于正常子宫内膜组织 ($P < 0.01$),而 Chk1、Chk2 的表达差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。Chk1、Chk2 和 Plk1 蛋白的表达在不同年龄、病理类型和临床分期的子宫内膜癌患者中差异无统计学意义 ($P > 0.05$);但 Chk1 的表达在不同分化程度的子宫内膜癌患者中差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。Spearman 等级相关分析,在 44 例子宫内膜癌患者中,Chk2 与 Plk1 间的表达呈正相关 ($r = 0.482$, $P = 0.001$)。**结论** Plk1 可能成为子宫内膜癌比较理想的治疗靶点,而 CHK1/2 在子宫内膜癌中表达及意义还有待进一步研究。

关键词: Chk1; Chk2; Plk1; 子宫内膜癌

中图分类号: R737.33 文献标识码: A 文章编号: 1000-8578(2008)06-0424-03

0 引言

子宫内膜癌(endometrial carcinoma, EC) 是女性生殖系统中常见的恶性肿瘤,根据美国癌症协会的资料,美国 2005 年新发病例为 40 880 例,同时将有 7 310 例患者将死于本病^[1]。但至今对于子宫内膜癌的病因和发病机制还不清楚。细胞周期检测点激酶 1、2 (checkpoint kinase 1、2, Chk1、Chk2) 是细

收稿日期: 2007-06-05; 修回日期: 2007-09-28
 基金项目: 国家重大基础研究 973 计划资助项目 (2002CB513307)
 作者单位: 430030 武汉, 华中科技大学同济医学院附属同济医院肿瘤生物医学中心
 通讯作者: 马丁, E-mail: dma@tjh.tjmu.edu.cn
 作者简介: 马全富 (1978-), 男, 博士, 主要从事肿瘤血管和淋巴管转移方面的研究

胞周期检测点(G₁/S、S和G₂/M)发挥作用的主要激酶,对肿瘤放疗、化疗导致的DNA损伤进行修复^[2];而polo样激酶1(polo-like kinase 1,Plk1)是一种高度保守的丝氨酸/苏氨酸激酶,对细胞周期的正常进行、中心体成熟及肿瘤发生等方面都有着重要的影响。但这3个检测点激酶在肿瘤组织中的表达研究较少,子宫内膜癌中更是未见研究。本实验将运用免疫组化方法检测Chk1、Chk2和Plk1蛋白在子宫内膜癌和正常子宫内膜中的表达,研究3种细胞周期检测蛋白在两者中的表达差异,探讨其与子宫内膜癌临床病理特征的关系,为临床治疗提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

随机选取我院2000年4月~2002年6月确诊的子宫内膜癌患者44例。其中,浆液性囊腺癌22例,黏液性囊腺癌15例,内膜样癌2例,无性细胞癌2例,其他3例。组织学分级:高分化26例,中分化11例,低分化7例。参照国际妇产科联盟(FIGO)标准临床分期:Ⅰ期10例,Ⅱ期14例,Ⅲ期11例,Ⅳ期9例。年龄24~80岁,中位年龄48岁。同时随机选取我院2002年手术切除的正常子宫内膜组织21例,年龄20~69岁,中位年龄42岁。上述患者病理检查前均未接受放化疗。

1.2 免疫组化检测蛋白表达

小鼠抗人Chk1单抗(稀释度1:200)、小鼠抗人Chk2单抗(稀释度1:100)及小鼠抗人Plk1单抗(稀释度1:100)均为美国Santa Cruz公司产品;SP试剂盒、显色剂DAB购自北京中山公司。免疫组化染色按SP试剂盒说明书进行,PBS代替一抗作阴性对照,已知阳性片作阳性对照。Chk1、Chk2和Plk1均主要表达于胞核,部分表达于胞浆。根据着色程度分别记0分、1分、2分、3分。阳性细胞<10%记0分,10%~24%记1分,25%~49%记2分,50%~74%记3分,75%记4分。综合判定取着色强度和阳性细胞百分数分值之积:0分记为(-),1、2分记为(+),3、4分记为(++),6、8分记为(+++),9、12分记为(++++);(-)和(+)定义为阴性即低表达,(++)~(++++)定义为阳性即高表达。

1.3 统计学方法

采用SPSS11.5软件进行²检验及Spearman等级相关分析,定义P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各蛋白在子宫内膜癌及正常子宫内膜组织中的表达

44例子官内膜癌患者中,Chk1阳性率为47.7%,Chk2阳性率为75.0%,Plk1阳性率为31.8%。21例正常子宫内膜组织中Chk1、Chk2和Plk1的阳性率分别为61.9%、61.9%和4.8%。Chk2和Plk1在子宫内膜癌组织中的阳性率均高于正常子宫内膜组织,其中Plk1的表达差异有统计学意义(P<0.01),但Chk2的表达差异无统计学意义(P>0.05),见表1、图1。

2.2 三种蛋白的表达与子宫内膜癌患者临床病理特征的关系

统计分析显示,Chk1、Chk2和Plk1的表达与子宫内膜癌患者年龄、组织病理学类型和临床分期无关(P>0.05)。但Chk1的表达在不同分化程度子宫内膜癌患者中的差异有统计学意义(P<0.01),见表2。

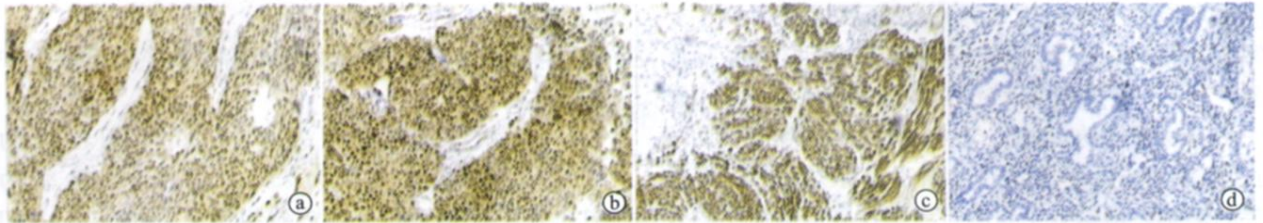
表1 三种蛋白在子宫内膜癌和正常子宫内膜组织中的表达

检测指标	正常子宫内膜	子宫内膜癌	²	P	
例数	21	44			
Chk1	-	3(14.3%)	18(40.9%)	1.145	0.285
	+	5(23.8%)	5(11.4%)		
	++	5(23.8%)	10(22.7%)		
	+++	7(33.8%)	9(20.5%)		
	++++	1(4.8%)	2(4.5%)		
Chk2	-	3(14.3%)	8(18.2%)	1.178	0.278
	+	5(23.8%)	3(6.8%)		
	++	5(23.8%)	10(22.7%)		
	+++	8(38.1%)	17(38.6%)		
	++++	0	6(13.6%)		
Plk1	-	13(61.9%)	19(43.2%)	7.143	0.008**
	+	7(33.3%)	11(25.0%)		
	++	1(4.8%)	7(15.9%)		
	+++	0	6(13.6%)		
	++++	0	1(2.3%)		

** : P<0.01

2.3 三种蛋白在子宫内膜癌组织中表达的相关性

将44例子官内膜癌患者的Chk1、Chk2和Plk1蛋白的表达水平做Spearman等级相关分析发现:Chk2与Plk1间有正相关关系,r=0.482,P=0.001;Chk1与Chk2及Chk1与Plk1间无相关关系(统计学参数分别为r=0.146,P=0.344和r=0.262,P=0.096)。说明Chk2与Plk1蛋白在表达上存在着密切的联系。



a: Chk1 蛋白阳性表达于子宫内膜癌细胞的细胞核与细胞浆; b: Chk2 蛋白阳性表达于子宫内膜癌细胞的细胞核与细胞浆;
c: Plk1 蛋白在子宫内膜癌细胞组织的阳性表达, 主要表达于细胞核, 部分表达于细胞浆; d: Plk1 蛋白在正常子宫内膜细胞组织的阴性表达

图 1 3 种蛋白在子宫内膜癌及正常子宫内膜组织中的表达(SP ×400)

表 2 三种细胞周期检测点激酶蛋白的表达与子宫内膜癌患者临床病理特征的关系

临床病理特征	例数	Chk1			Chk2			Plk1		
		阳性	阴性	P	阳性	阴性	P	阳性	阴性	P
年龄										
48 岁	22	9	13	0.365	15	7	0.296	8	14	0.517
>48 岁	22	12	10		18	4		6	16	
病理类型										
囊腺癌	37	17	20	0.586	28	9	0.814	11	26	0.503
其他	7	4	3		5	2		3	4	
临床分期										
~ 期	24	10	14	0.378	17	7	0.484	9	15	0.375
~ 期	20	11	9		16	4		5	15	
分化程度										
高分化	26	6	20	0.000**	19	7	0.722	6	20	0.135
中低分化	18	15	3		14	4		8	10	

** : $P < 0.01$

3 讨论

先前有研究表明子宫内膜癌是与 Chk1/2 缺陷相关的肿瘤, 本研究发现子宫内膜癌组织与正常子宫内膜组织中 Chk1 和 Chk2 蛋白表达均无明显差异。但同时将 3 个激酶蛋白的表达与子宫内膜癌患者各临床病理特征进行统计分析后得出, 只有 Chk1 的表达在不同分化程度子宫内膜癌患者中的差异有统计学意义, 分化越低, 表达越高, 提示 Chk1 在低分化子宫内膜癌的发生发展中发挥了某些作用。这一结果由于病例较少, 还需进一步研究证实。

Plk1 是一种高度保守的丝氨酸/苏氨酸激酶, 参与细胞周期中的中心体的成熟、纺锤体的形成以及染色体的分离等过程^[3], 当 DNA 受损时, Plk1 在 M 期检测点发挥作用, 从而使细胞阻滞于 M 期。在肿瘤放疗或化疗后, 肿瘤细胞 DNA 受损后将阻滞于上述各个周期检测点, 客观上为细胞的生存提供了条件, 这也是临床上肿瘤放疗抵抗和化疗耐药产生的重要机制^[4]。通过免疫组化检测发现, Plk1

在子宫内膜癌组织中的表达明显高于正常子宫内膜组织中的表达, 具有统计学意义, 与先前报道相符^[5,6], 说明此蛋白具有相对意义上的肿瘤选择性表达, 具有更好的靶向特异性, 且 Plk1 在良性病变中无明显表达, 说明 Plk1 有可能成为较理想的子宫内膜癌治疗靶点。

将 44 例子宫内膜癌患者的 Chk1、Chk2 和 Plk1 蛋白的表达水平做 Spearman 等级相关分析发现: Chk2 与 Plk1 间有正相关关系。这与两者发挥相似作用的事实相符。但两者在表达水平和与子宫内膜癌患者各临床病理特征的关系上却有不同, 说明两者还存在差异。

综上所述, Plk1 在子宫内膜癌组织中的表达高于正常子宫内膜组织, 提示 Plk1 可能可以成为理想的子宫内膜癌靶向治疗靶点。另外, 由于 Plk1 在功能上与 Chk2 存在着互补, 前者在 M 期起作用, 而后者在 G₁/S、S、G₂/M 期起作用, 两者的联合抑制可能是更有前景的子宫内膜癌治疗策略。Chk1/2 在子宫内膜癌中的表达及意义有待进一步研究。

参考文献:

- [1] American Cancer Society. Cancer facts and figures 2005 [M]. Atlanta: Ga. American Cancer Society, 2005. 122-124.
- [2] Bartek J, Lukas J. Chk1 and Chk2 kinases in checkpoint control and cancer [J]. Cancer Cell, 2003, 3(5): 421-429.
- [3] Smits VA, Klompaker R, Arnaud L, et al. Polo-like kinase-1 is a target of the DNA damage checkpoint [J]. Nat Cell Biol. 2000, 2(9): 672-676.
- [4] Zhou BB, Bartek J. Targeting the checkpoint kinases: hypersensitization versus chemoprotection [J]. Nat Rev Cancer, 2004, 4(3): 216-225.
- [5] Takai N, Hamanaka R, Yoshimatsu J, et al. Polo-like kinases (Plks) and cancer [J]. Oncogene, 2005, 24(2): 287-291.
- [6] Weichert W, Denkert C, Schmidt M, et al. Polo-like kinase isoform expression is a prognostic factor in ovarian carcinoma [J]. Br J Cancer. 2004, 90(4): 815-821.

[编辑校对: 周永红]