

乳腺癌中 cyclinD2、CD K4 的表达及其临床意义

金东岭, 时志民, 田 珂

Clinical Significance and Expression of cyclin D2, CD K4 in Human Breast Carcinoma

JIN Dong-ling, SHI Zhi-min, TIAN Ke

Department of Pathology, College of Medicine, Hebei University of Engineering, Handan 056029, China

Abstract :Objective To investigate the expression level of cyclinD2 and CD K4 protein in breast carcinoma, and their relationship to p27^{kip1} protein and clinicopathological factors as well as the prognostic factors in breast carcinoma. **Methods** The SP immunohistochemical technique was used to detect the expressions of cyclinD2, CD K4 and p27^{kip1} in 96 cases of breast carcinoma and 18 cases of adjacent non-tumor normal breast tissue. The relationship between cyclinD2, CD K4 to p27^{kip1} protein expression and clinicopathological factors were analyzed. **Results** The positive expressions of cyclinD2, CD K4 and p27^{kip1} protein in 96 cases of breast carcinoma were 41.7%, 54.2% and 38.5% respectively. There was a significant difference between carcinoma and normal breast tissue ($P < 0.001$). The expression level of both cyclinD2, and CD K4 protein in breast carcinoma was significantly associated with histological classification, mitotic index, and local recurrence ($P < 0.05$), and little associated with age, tumor size and histological type ($P > 0.05$). The expression level of CD K4 in breast carcinoma was related to Lymph node metastases and ER status ($P < 0.01$). The loss of p27^{kip1} protein expression in breast carcinoma was significantly associated with tumor size, histological classification, mitotic index, Lymph node metastases and local recurrence ($P < 0.05$). There was a negative correlation between p27^{kip1} and cyclinD2 as well as CD K4 expression in breast carcinoma ($P < 0.01$). **Conclusion** The expression of cyclinD2 and CD K4 protein may play a important role in the carcinogenesis and progression of breast carcinoma. The loss p27^{kip1} expression and over-expressed CD K4 was associated with the invasion, metastases and local recurrence, and may be as the indications of biological behavior and prognosis of breast carcinoma.

Key words: Breast neoplasms; cyclinD2; CD K4; p27^{kip1}; Immunohistochemistry; Prognosis

摘 要:目的 研究乳腺癌组织中细胞周期蛋白 D2 (cyclinD2)、细胞周期蛋白依赖性激酶 4 (cyclin-dependent kinase 4, CD K4) 的表达, 探讨它们与 p27^{kip1} 蛋白表达、与临床病理指标的关系及其预后意义。方法 应用免疫组化 SP 法, 检测 96 例乳腺癌、18 例癌旁正常乳腺组织石蜡切片中 cyclinD2、CD K4 的表达, 比较它们与 p27^{kip1} 蛋白表达、与临床病理学指标之间的关系。结果 96 例乳腺癌组织中 cyclinD2、CD K4 和 p27^{kip1} 的表达率分别为 41.7%、54.2% 和 38.5%, 与正常乳腺组织相比有显著性差异 ($P < 0.001$)。cyclinD2、CD K4 的表达与乳腺癌的组织学分级、核分裂数有关 ($P < 0.001$), 和局部复发有关 ($P < 0.05$), 而与患者年龄、肿瘤大小、组织类型无关 ($P > 0.05$), CD K4 的表达与乳腺癌的淋巴结转移、雌激素受体状态也有密切关系 ($P < 0.01$)。p27^{kip1} 的表达缺失, 与肿瘤大小、组织学分级、核分裂数、有无淋巴结转移以及局部复发均有关 ($P < 0.05$), 而且 p27^{kip1} 的表达与 cyclinD2、CD K4 的表达呈显著负相关 ($P < 0.01$)。结论 cyclinD2 和 CD K4 的表达与乳腺癌的发生、发展有关, 而 p27^{kip1} 的表达缺失和 CD K4 的异常表达与乳腺癌的侵袭、转移及复发有关, 可作为判断乳腺癌生物学行为和预后的重要指标。

关键词: 乳腺肿瘤; 细胞周期蛋白 D2; 细胞周期蛋白依赖性激酶; p27^{kip1} 基因蛋白; 免疫组织化学; 预后

中图分类号: R737.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-8578(2005)08-0481-03

0 引言

最近研究表明, 肿瘤是一类细胞周期疾病, 细胞周期的调控异常导致细胞的失控性增殖, 是肿瘤发

生和发展的重要特征^[1]。细胞周期依赖性激酶 (cyclin-dependent Kinase, CD Ks) 是细胞周期最核心的调控因子, 其与细胞周期蛋白 (cyclins) 的结合导致 CD Ks 活化, 从而促进细胞从 G₀/G₁ 期向 S 期的转化^[2]。p27^{kip1} 为细胞周期抑制蛋白, 可竞争性结合 CD Ks 使之失活, 从而阻止 G₁/S 期转化^[3,4]。本研

收稿日期: 2004-10-35; 修回日期: 2005-04-01

作者单位: 056029 河北邯郸, 河北工程学院医学院病理教研室

究应用免疫组织化学方法,对细胞周期的正相调节因子 CD K4, cyclinD2 和负相调节因子 p27^{kip1} 在乳腺癌中的表达进行检测,探讨其与临床病理指标的关系及意义。

1 资料与方法

1.1 资料 选取 1996 年 1 月~2000 年 12 月河北工程学院医学院病理教研室病理检查的乳腺癌标本:取其中病史资料完整,有 ER 检测结果的病例 96 例,患者年龄 28~76 岁,中位年龄 51 岁。全部病例均为女性,术前均未进行化疗和放疗。标本常规取材,10%甲醛固定,石蜡切片(4 μ m),常规 HE 染色,根据 WHO 乳腺肿瘤组织学分类(2003)标准进行病理分类:导管原位癌 10 例,小叶原位癌 8 例,浸润性导管癌 63 例,浸润性小叶癌 12 例,黏液癌 3 例。全部 96 例中有 44 例伴腋窝淋巴结转移,11 例伴锁骨上淋巴结转移。另外采取癌旁正常乳腺组织 18 例作为对照组。Bloom-Richardson's 组织学分级;参照 Elston 和 Ellis 改良方法^[5],对本组 96 例乳腺癌病例进行分级;其中 级 47 例, 级 30 例, 级 19 例。

1.2 方法 鼠抗人 cyclinD2,鼠抗人 p27^{kip1} 单克隆抗体及即用型 SP 试剂盒均购自福州迈新公司。兔抗人 CD K4 购自武汉博士德公司。免疫组化染色 SP 法。微波抗原修复。免疫组化染色过程按试剂盒说明操作,苏木素衬染。

1.3 结果判定 用已知阳性的肺癌组织为阳性对照,PBS 代替一抗为阴性对照。三种染色均以细胞内出现棕黄色颗粒为阳性,计数 1 000 个肿瘤细胞,按阳性细胞所占百分比并参考着色强度确定分级如下:无明显阳性细胞或阳性细胞数 < 10% 为(-),阳性细胞数 10% 为(+).

1.4 统计学分析 由河北工程学院医学院卫生统计教研室进行数据处理,采用 χ^2 检验和确切概率法。

2 结果

2.1 三种蛋白在正常乳腺及乳腺癌中的表达 cyclinD2 和 CD K4 在正常乳腺组织不表达,在乳腺癌中表达率分别为 41.7% (40/96) 和 54.2% (52/96) ($P = 0.0007$, $P = 0.0000$);p27^{kip1} 在正常乳腺组织和乳腺癌中阳性表达率分别为 100% 和 38.5% (37/96) ($P = 0.000$)。

2.2 三种蛋白在不同类型乳腺癌中的表达情况 cyclinD2、CD K4、p27^{kip1} 在导管原位癌、小叶原位癌、浸润性导管癌、浸润性小叶癌和黏液癌等不同组织

学类型中的表达无显著性差异 ($P = 0.385$, $P = 0.462$, $P = 0.752$)。

2.3 三种细胞周期调节因子的表达与乳腺癌的临床病理指标的关系 见表 1。

2.4 乳腺癌中 cyclinD2、CD Ks 表达与 p27^{kip1} 的表达之间的关系 cyclinD2、CD K4 的表达与 p27^{kip1} 的表达之间有显著性差异 ($P < 0.01$),对其进行相关性分析,cyclinD2、CD K4 的表达与 p27^{kip1} 的表达均呈显著负相关 ($P < 0.01$),即 cyclinD2 与 p27^{kip1}, CD K4 与 p27^{kip1} 均为反向表达。

3 讨论

细胞周期调控机制的核心是 CD Ks 的时相性激活,主要的调控点在 G₁ 期^[6]。调节 G₁ 期的细胞周期蛋白 cyclinD 家族至少包括三种不同的蛋白质 D₁、D₂ 和 D₃,它们可分别与 CD K4 结合导致 CD K4 活化,进而促进 G₁/S 期的转化^[7]。cyclinD1 和 CyclinE 对肿瘤的影响已有很多研究,而 cyclinD2 在乳腺癌中的研究未见报道。作者在前期对胃癌和肺癌研究的基础上^[3,4],对乳腺癌进行了检测,结果发现:cyclinD2 和 CD K4 在乳腺癌组织中的表达显著高于正常乳腺组织,其表达和患者的年龄,肿瘤大小及病理组织类型无关,而与乳腺癌的分化程度即组织学分级和核分裂数有密切关系,与肿瘤的复发也有一定关系。说明 cyclin D2 的过度表达可导致 CD K4 的激活,从而导致细胞的过度增殖,促使乳腺癌的发生。而且在肿瘤的发展过程中持续发挥作用。这和有关 cyclinD1 的研究基本一致^[8],但本文结果显示 cyclinD2 的高表达与乳腺癌组织中的雌激素受体状态无关,与有关 cyclinD1 的报道不一致,其原因有待进一步探讨。本文对 CD K4 的检测还显示,CD K4 的表达与乳腺癌有无淋巴结转移及雌激素受体状态有关。说明 CD K4 表达不仅与乳腺癌发生有关,而且在乳腺癌的演进中也发挥重要作用,影响患者的预后。

p27^{kip1} 蛋白是细胞周期 G₁ 期的负相调控因子,它能抑制 cyclinD 和 CD K4 的结合,阻止细胞周期中 G₁/S 期的转换,从而抑制细胞的增殖。本文结果显示,p27^{kip1} 在乳腺癌中的表达显著低于正常乳腺组织,而且其表达缺失和肿瘤大小,组织学分级、核分裂数,有无淋巴结转移以及有无局部复发均有密切关系。p27^{kip1} 表达缺失表明 p27^{kip1} 基因在乳腺癌的演进中逐渐丧失了抑癌作用,从而影响乳腺癌的生物学行为,使癌细胞具有更高的恶性程度和侵袭能力。关于 p27^{kip1} 在肿瘤中表达缺失的具体机制尚不十分清楚,多数人认为可能是由于转录水平

表 1 三种细胞周期调节因子的表达与乳腺癌临床病理指标的关系

临床病理指标	n	cyclinD2				CD K4				p27 ^{kip1}			
		阳性表达	%	²	P	阳性表达	%	²	P	阳性表达	%	²	P
年龄(岁)													
< 50	66	26	39.4	0.449	0.5029	32	48.5	2.746	0.0975	27	40.9	0.499	0.4796
50	30	14	46.7			20	66.7			10	33.3		
肿瘤大小(cm)													
< 3	21	8	38.1	0.141	0.707	8	38.1	2.7966	0.0945	13	61.9	6.1941	0.0128
3	75	32	42.7			44	58.7			24	32.0		
组织学分级													
	47	10	21.3	19.7613	0.000	13	27.7	28.9277	0.0000	28	59.6	17.2842	0.000
	30	15	50.0			21	70.7			6	20.0		
	19	15	78.9			18	94.7			3	15.8		
核分裂数													
< 10/ HPF	65	12	18.5	44.595	0.000	25	38.5	19.998	0.000	34	52.3	16.1041	0.0001
10/ HPF	31	28	90.3			27	87.1			3	9.7		
ER													
阴性	63	24	38.1	0.9618	0.3267	28	44.4	6.9777	0.0083	27	42.9	1.4409	0.2300
阳性	33	16	48.5			24	72.7			10	30.3		
淋巴结转移													
+	44	21	47.7	1.2276	0.2679	36	81.8	25.0176	0.0083	3	6.8	34.5121	0.0000
-	52	19	36.5			16	30.8			34	65.4		
局部复发													
有	27	16	59.3	4.7834	0.0287	21	77.8	8.4354	0.0037	4	14.8	8.9280	0.0028
无	69	24	34.8			31	44.9			33	47.8		

降低或蛋白降解活性增强所致^[2,9]。

本文的统计学分析显示 cyclinD2、CD K4 表达与 p27^{kip1} 表达呈负相关,说明 cyclinD2 表达与 p27^{kip1} 表达缺失很可能是通过共同途径参与乳腺癌的发生、发展,即由于 cyclinD2 的过度表达和/或 p27^{kip1} 表达缺失,引起 CD K4 被激活,促进细胞发生 G₁/S 期转化,从而影响乳腺癌的发生和发展。

参考文献:

[1] 曾益新. 肿瘤学[M]. 第2版. 北京:人民卫生出版社,2003. 151-152.

[2] Tokato Y, Kato Y, Paul J, et al. cyclinD2 overexpression and luck of p27 correlate positively and cyclinE inversely with a poor prognosis in gastric cancer cases[J]. Am J Pathol, 2000, 156(2):585-594.

[3] 金东岭,刘现军,柴锡庆,等. 胃癌中 cyclinD2 和 p27^{kip1} 的表达及意义[J]. 肿瘤防治研究,2004,31(2):76-78.

[4] 刘现军,金东岭,柴锡庆. 细胞周期蛋白 D2 和 p27^{kip1} 在非小细

胞肺癌中的表达及其意义[J]. 中国肿瘤临床与康复,2004,11(1):1-3.

[5] Elston D, Ellis KI. Pathological prognostic factors in breast cancer. . The value of histological grade in breast cancer:experience from a large study with long-term follow-up[J]. Histopathology, 1991, 19(5):403-410.

[6] Gansauge S, Gansauge F, Ramadani M, et al. Overexpression of cyclinD1 in human pancreatic carcinoma is associated with poor prognosis[J]. Cancer Res, 1997, 57(6):1634-1637.

[7] Sherr CJ. The Pezcoller lecture: cancer cell cycle revisited[J]. Cancer Res, 2000, 60(16):3689-3693.

[8] 滕晓东,吴德明,蔡德巍,等. 细胞周期蛋白 D₁、p21^{WAF1} 蛋白和增殖细胞核抗原在乳腺癌的表达及与淋巴结转移和预后的关系[J]. 中华病理学杂志,2004,33(4):368-369.

[9] Tsihlis J, Kapusta LR, Deboer G, et al. Loss of cyclin-dependent kinase inhibitor p27^{kip1} is a novel prognostic factor in localized human prostate adenocarcinoma[J]. Cancer Res, 1998, 58(3):542-548.

[编辑:贺文]