

· 论著 ·

上皮性卵巢肿瘤 cyclin B1 和 p27 的表达及其意义

孙淑玉¹, 颜 磊², 傅艺冰^{2*}

(1. 山东大学校医院, 济南 250012; 2. 山东大学附属省立医院)

【摘要】 目的:探讨 cyclin B1 和 p27 在上皮性卵巢肿瘤发生、发展及预后中的作用。**方法:**应用免疫组化 S-P 法检测正常卵巢(20 例)、良性上皮性卵巢肿瘤(20 例)及恶性上皮性卵巢肿瘤(20 例)中 cyclin B1 和 p27 的表达,分析其表达水平与肿瘤恶性程度、临床分期及淋巴转移间的关系。**结果:**cyclin B1 在恶性上皮性卵巢肿瘤中的表达水平高于正常卵巢和良性肿瘤,差异有显著性($P < 0.05$);p27 在正常卵巢、良性肿瘤和恶性肿瘤中的阳性表达呈显著性递减趋势($P < 0.05$);cyclin B1 表达与肿瘤的临床分期及淋巴转移显著相关($P < 0.05$)。**结论:**cyclin B1 高表达和 p27 低表达,可能与卵巢肿瘤的发生、发展密切相关。

【关键词】 细胞周期蛋白 B1;基因,p27;卵巢肿瘤

中图分类号:R737.33 文献标识码:A 文章编号:1004-7379(2008)07-0520-03

The expression and predictive value of cyclin B1 and p27 in epithelial ovarian tumors.

Sun Shuyun¹, Yan Lei², Fu Yibing². 1. The Hospital of Shandong University, Jinan 250012; 2. Provincial Hospital, Shandong University

【Abstract】 Objective: To explore the expressions of cyclin B1 and p27 in epithelial ovarian tumors in order to uncover the role in the development and malignancy of ovarian cancer. **Methods:** Immunohistochemistry was used to measure the expression of cyclin B1 and p27 in normal ovaries (20 cases), benign epithelial ovarian tumors (20 cases) and malignant ovarian tumors (20 cases). **Results:** Cyclin B1 was found to be expressed both in normal ovary and epithelial ovarian tumors. But the level of expression in malignant tumors was significantly increased compared with that in normal ovary and benign epithelial ovarian tumors ($P < 0.05$). p27 was also found to be expressed both in normal ovary and epithelial ovarian tumors, but less in normal than in benign, and less in benign than in malignant ($P < 0.05$). The positive expression of cyclin B1 was significant correlated with staging and lymphatic metastasis of tumors ($P < 0.05$). **Conclusion:** The increased expression of cyclin B1 and decreased expression of p27 are associated with the occurrence and development of ovarian tumors.

【Key words】 Cyclin B1; Genes, p27; Ovarian neoplasms

研究表明,肿瘤的发生、发展及恶变均与细胞周期调控因子的异常表达密切相关^[1]。细胞周期调控因子主要有细胞周期蛋白(cyclin)、细胞周期蛋白依赖性激酶(cyclin-dependent kinase, CDK)、细胞周期蛋白依赖性激酶抑制因子(Cyclin-dependent kinase inhibitor, CKI)等。其中 cyclin B1、p27 是典型且重要的细胞周期调控蛋白,它们在很多类型肿瘤中异常表达,是重要的癌蛋白^[1-4]。为了解 cyclin B1、p27 在卵巢上皮性肿瘤发生和发展中的作用,我们用免疫组化染色法观察了二者在卵巢上皮性肿瘤

的表达,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 资料来源 选择山东大学附属省立医院 2007 年 3 月至 2008 年 3 月经手术和病理证实的上皮性卵巢肿瘤 40 例,其中恶性上皮性卵巢肿瘤 20 例,包括浆液性 10 例,粘液性 10 例,良性上皮性卵巢肿瘤 20 例,包括浆液性 10 例,粘液性 10 例。患者年龄 19~55 岁,平均 47 岁。恶性上皮性卵巢肿瘤按 FIGO(2000 年)分期: I~II 期 9 例, III~IV 期 11 例;按手术所见及清扫淋巴结病理检查结果分为有淋巴结转移 9

* 通讯作者 Email: fu_yibing@sdu.edu.cn

例,无淋巴结转移 11 例。取手术时切取的正常卵巢组织 20 例为正常对照。取所有病例及对照组在山东大学附属省立医院病理科经 10% 福尔马林固定的常规蜡块标本进行研究。

1.2 主要试剂及来源 鼠抗人 cyclin B1 单克隆抗体(美国 SIGMA 公司),鼠抗人 p27 单克隆抗体(美国 SIGMA 公司),S-P(streptavidin-peroxidase)试剂盒(北京中杉公司),DAB 显色剂(武汉博士德公司)。

1.3 方法 用 SP 法行免疫组化研究。石蜡包埋标本行 4 μ m 厚切片,经二甲苯脱蜡,梯度酒精脱水后,严格按 SP 法试剂盒操作:固定、冲洗、修复暴露抗原,10% 山羊血清封闭非特异性结合位点,滴加适当稀释浓度的一抗(cyclin B1 和 p27 的工作液浓度均为 1:50),滴加二抗和三抗,DAB 显色,苏木精复染,梯度酒精脱水,二甲苯透明,中性树脂封片。用平均积分光密度值分析各指标表达的阳性染色面积及阳性染色强度,并自动计算积分光度与平均灰度值。阳性着色定位于细胞质及细胞核,棕黄色或棕褐色。每张切片随机选择 5 个视野取平均值。

1.4 统计学处理 用 SPSS12.0 统计学软件根据数据类型进行 *t* 检验、方差分析及 Spearman 等级相关分析。显著性检验水准定 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 cyclin B1、p27 蛋白的表达 p27 定位于胞浆及胞核。正常卵巢、良性上皮性卵巢肿瘤和恶性上皮性卵巢肿瘤组织中 cyclin B1 蛋白的平均灰度值分别为 88.10 \pm 6.55、98.01 \pm 5.10 和 110.43 \pm 6.90,良性上皮性卵巢肿瘤较正常卵巢,恶性上皮性卵巢肿瘤较良性上皮性卵巢肿瘤表达显著增高(P 均 < 0.05)。正常卵巢、良性上皮性卵巢肿瘤和恶性上皮性卵巢肿瘤组织中 p27 蛋白的平均灰度值分别为 111.17 \pm 2.43、97.33 \pm 6.21 和 92.55 \pm 5.38,良性上皮性卵巢肿瘤较正常卵巢,恶性上皮性卵巢肿瘤较良性上皮性卵巢肿瘤表达显著降低(P 均 < 0.05)。

2.2 cyclin B1、p27 蛋白的表达与临床分期和淋巴结转移的关系 I ~ II 期和 III ~ IV 期恶性上皮性卵巢肿瘤 cyclin B1 蛋白的平均灰度值分别为 99.89 \pm 3.10 和 113.40 \pm 6.10, cyclin B1 平均灰度值与卵巢癌临床分期呈正相关($P < 0.05$)。无淋巴结转移和有淋巴结转移者 cyclin B1 蛋白的平均灰度值分别为 105.77 \pm 1.90 和 115.40 \pm 5.78,有淋巴结转移组显著高于无淋巴结转移组($P < 0.05$)。I ~ II 期和 III ~ IV 期恶性上皮性卵巢肿瘤 p27 蛋白的平均灰度值分别为 97.33 \pm 6.89 和 92.67 \pm 5.55, p27 蛋白平均灰度值与卵巢癌临床分期无显著相关性($P > 0.05$)。

无淋巴结转移和有淋巴结转移 p27 蛋白的平均灰度值分别为 94.67 \pm 2.66 和 85.89 \pm 1.08,有淋巴结转移组显著性低于无淋巴结转移组($P < 0.05$)。

2.3 cyclin B1 与 p27 蛋白的表达水平间的关系 对 20 例恶性上皮性卵巢肿瘤进行分析,表明 cyclin B1 与 p27 的表达水平呈负相关($P < 0.05$)。

3 讨论

cyclin B1 蛋白由 cyclin B1 基因编码, cyclin B1 基因长 8.8kb, 含 9 个外显子和 8 个内含子, 蛋白质分子质量为 62ku, 为细胞周期正相调控因子, 通过与 CDK1 (cyclin dependent kinase 1) 结合启动细胞从 G₁/S 期进入 G₂/M 期从而促进有丝分裂和细胞增殖。cyclin B 高表达后可触发并通过 G₂/M 期检测点, 引发核内重要蛋白结构改变进入 M 期, 使细胞处于未成熟低分化状态, 促进恶性细胞发展, 因此, cyclin B 为重要的癌蛋白。研究表明, cyclin B1 在淋巴瘤、胃癌、乳腺癌、舌鳞癌等恶性肿瘤中表达增高^[1,4]。有关 cyclin B 表达与卵巢肿瘤的关系, Scott 等^[5]选取浆液性卵巢肿瘤组织标本, 以 cyclin B1 作为 G₂ 期的标志, 发现随着卵巢肿瘤恶性度的增加 cyclin B1 表达逐渐增加。本研究同时观察正常卵巢、良性和恶性上皮性卵巢肿瘤组织中 cyclin B1 蛋白的表达水平, cyclin B1 在 3 种组织类型中均有阳性表达, 由正常组织到良性肿瘤, 继而由良性肿瘤到恶性肿瘤, 表达明显递增, 恶性上皮性卵巢肿瘤中, 随肿瘤分期期别增加及淋巴结转移的发生, 其表达也明显递增, 这与 Scott 等^[5]的研究结果一致。提示 cyclin B1 可能参与了上皮性卵巢肿瘤的发生及恶性进展, 可能成为判断卵巢癌恶性程度及预后的指标之一。p27 基因是一种抑癌基因, 编码的 p27 蛋白为细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂 (CKI), 通过其 69 位氨基酸上的氨基末端, 与 cyclin/CDK 复合物结合, 使 CDK 不能由抑制状态转变到激活状态, 从而抑制激酶的功能^[6], 属细胞周期负调控因子, 参与调控细胞周期、调节细胞凋亡、增强细胞间的粘附、诱导细胞分化等。本研究结果显示 p27 在正常卵巢、良性肿瘤和恶性肿瘤中也均呈阳性表达, 但由正常组织到良性肿瘤, 继而到恶性肿瘤, 表达明显递减, 且在淋巴结转移组的表达显著低于无淋巴结转移组。提示 p27 表达水平低下或缺失可能参与卵巢癌的发生, 其表达强弱与肿瘤的恶性度相关。

(下转第 524 页)

机体免疫的干扰,而且促进了淋巴细胞对肿瘤细胞的识别,提高了局部的细胞免疫功能,加速了肿瘤细胞的死亡。

介入治疗后第 14 天,肿瘤细胞 Th1 类细胞因子的表达率及表达强度均明显降低。Th1 类细胞因子 IL-2 表达率为 19.05% (4/21),与治疗前相同;IFN- γ 表达率为 38.10% (8/21)。两者与介入治疗前差异无统计学意义 ($P > 0.05$);而与第 7 天的差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。Th2 类细胞因子 IL-4 表达率为 28.57% (6/21),是介入治疗前表达水平的 1/2,与治疗前无统计学差异 ($P > 0.05$);与第 7 天相比,差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。代表 Th1/Th2 分化的 IL-2/IL-4 为 0.67,IFN- γ /IL-4 为 1.33。IL-2/IL-4 较第 7 天时低,但 IFN- γ /IL-4 比第 7 天时高。由于 IFN- γ 能中和 IL-4 的作用,所以,总体上介入治疗后 14 天肿瘤细胞还是以 Th1 类细胞因子表达为主,但总体上看,较介入治疗后 7 天 Th1 类细胞因子表达减弱了。根据本研究结果,介入治疗后第 7 天时肿瘤细胞以 Th1 类细胞因子表达为主,提示介入治疗使肿瘤细胞对机体免疫功能的干扰得到解除,并促进了机体的细胞免疫功能。临床上可观察到局部肿瘤明显缩小。介入治疗后第 14 天时肿瘤细胞也还是以 Th1 类细胞因子表达为主,但较介入治疗后 7 天时表达减弱了,表明残存的肿瘤细胞暂无法对机体产生有效的免疫干扰,尚需增强局部淋

巴细胞的抗肿瘤能力。临床上观察局部肿瘤仍在继续缩小。但可推算随着时间推移,肿瘤细胞 Th1 类细胞因子表达会逐渐减弱,并恢复至介入治疗前的状态。

研究表明,介入治疗能扭转肿瘤细胞 Th1、Th2 两类细胞因子的表达,解除其对机体的免疫干扰,但此作用有一定的时效性,至介入治疗后 14 天此作用与介入治疗后 7 天相比减弱了。

参 考 文 献

- [1] 陈春林,刘萍. 妇产科放射介入治疗学[M]. 北京:人民卫生出版社,2003;70-99
- [2] Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, et al. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins [J]. J Immunol, 1986, 136:2348-2357
- [3] 刘杰,魏海明,田志刚. Th1/Th2 漂移与抗肿瘤免疫[J]. 国外医学(肿瘤学分册), 1997, 24:168-170
- [4] Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, et al. Low-dose IL-2 induces cytokine cascade, eosinophilia, and a transient Th2 shift in melanoma patients[J]. Cancer Immunol Immunother, 2005, 54:1095-1105
- [5] Ito N, Suzuki Y, Taniguchi Y, et al. Prognostic significance of T helper 1 and 2 and T cytotoxic 1 and 2 cells in patients with non-small cell lung cancer[J]. Anticancer Res, 2005, 25:2027-2031

(收稿日期 2008-03-07)

第一作者简介:陈莉婷(1979-),南方医科大学南方医院妇产科硕士研究生。现工作单位:佛山市妇幼保健院。主要研究方向:妇科肿瘤、妇产科疾病介入治疗。

(上接第 521 页)

cyclin B1 为细胞周期正相调控因子, p27 为细胞周期负相调控因子。本研究结果显示, cyclin B1 与 p27 在恶性上皮性卵巢肿瘤组织中的表达水平呈负相关。提示 cyclin B1 高表达和 p27 低表达共存现象与卵巢肿瘤恶性程度更具有相关性。因此,通过检测 cyclin B1 与 p27 的表达水平,可以判断上皮性卵巢肿瘤分化程度和生物学行为。

参 考 文 献

- [1] Bai M, Vlachonikolis J, Agnantis NJ, et al. Low expression of p27 protein combined with altered p53 and Rb/p16 expression status is associated with increased expression of cyclin A and cyclin B1 in diffuse large B-cell lymphomas [J]. Mod Pathol, 2001, 14:1105-1113
- [2] Yasuda M, Takesue F, Inutsuka S, et al. Overexpression of cyclin B1 in gastric cancer and its clinicopathological significance: an immunohistological study [J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2002, 128:412-416

- [3] Suzuki T, Urano T, Miki Y, et al. Nuclear cyclin B1 in human breast carcinoma as a potent prognostic factor [J]. Cancer Sci, 2007, 98:644-651
- [4] Hassan KA, El-Naggar AK, Soria JC, et al. Clinical significance of cyclin B1 protein expression in squamous cell carcinoma of the tongue [J]. Clin Cancer Res, 2001, 7:2458-2462
- [5] Scott IS, Heath TM, Morris LS, et al. A novel immunohistochemical method for estimating cell cycle phase distribution in ovarian serous neoplasms; implications for the histopathological assessment of paraffin-embedded specimens [J]. Br J Cancer, 2004, 90:1583-1590
- [6] Bryant P, Zheng Q, Pumiglia K. Focal adhesion kinase controls cellular levels of p27/Kip1 and p21/Cip1 through Skp2-dependent and -independent mechanisms [J]. Mol Cell Biol, 2006, 26:4201-4213

(收稿日期 2008-06-04)

第一作者简介:孙淑玉(1954-),女,山东大学校医院副主任医师。主要研究方向:妇科、产科、妇幼保健。