

基础研究

DOI: 10.3969/j.issn.0253-3626.2013.01.013

乳腺癌组织中 CKS1 和 CyclinD1 的表达及相关分析

刘晓丽¹, 马礼鸿², 王全义³

(1. 遵义医学院附属医院病理科, 遵义 563003; 2. 遵义市第一人民医院外科, 遵义 563003;

3. 济宁医学院附属医院病理科, 济宁 272029)

【摘要】目的:探讨细胞周期蛋白依赖性激酶调节亚基 1(cyclin kinase subunit1, CKS1)和细胞周期蛋白 D1(CyclinD1)在乳腺癌组织的表达及意义。**方法:**采用免疫组化 SP 法检测 105 例乳腺癌组织中 CKS1 和 CyclinD1 的表达,并同时检测 100 例乳腺纤维腺瘤作为对照,分析其在乳腺癌组织中的表达及临床意义。**结果:**CKS1 和 CyclinD1 在乳腺癌组织中的阳性率分别为 80.9%(85/105)和 85.7%(90/105),在乳腺纤维腺瘤中的阳性率分别为 22%(22/100)和 19%(19/100)。乳腺癌中两基因蛋白的阳性表达与淋巴管侵犯、淋巴结转移有关;乳腺癌中两基因蛋白的阳性表达均明显高于乳腺纤维腺瘤($P<0.05$);乳腺癌组织中 CKS1 与 CyclinD1 的阳性表达呈正相关($r=0.677, P<0.05$)。**结论:**CKS1 和 CyclinD1 在乳腺癌组织中的表达较对照组乳腺纤维腺瘤明显升高,并且与淋巴管侵犯、淋巴结转移呈正相关,提示检测 2 种蛋白的表达对乳腺癌的临床治疗及预后预测具有一定的意义。

【关键词】乳腺肿瘤;乳腺纤维腺瘤;细胞周期蛋白依赖性激酶调节亚基 1(CKS1);细胞周期蛋白 D1

【中国图书分类号】R739.9

【文献标志码】A

【收稿日期】2012-06-30

Expressions and significances of CKS1 and CyclinD1 in breast carcinoma

LIU Xiaoli¹, MA Lihong², WANG Quanyi³

(1. Department of Pathology, the Affiliated Hospital of Zunyi Medical College; 2. Department of Surgery, the First People's Hospital of Zunyi City; 3. Department of Pathology, the Affiliated Hospital of Jining Medical College)

【Abstract】Objective: To investigate the expressions and significances of cyclin kinase subunit1(CKS1) and CyclinD1 in breast carcinoma. **Methods:** Expressions of CKS1 and CyclinD1 in 105 cases of breast carcinoma were assessed by immunohistochemical technique(SP method) and those in 100 cases of breast fibroadenoma(control group) were simultaneously detected. Expressions and significances of CKS1 and CyclinD1 in breast carcinoma tissues were analyzed. **Results:** Positive rates of CKS1 and CyclinD1 in breast carcinoma were 80.9%(85/105) and 85.7%(90/105). Positive rates of CKS1 and CyclinD1 in breast fibroadenoma were 22%(22/100) and 19%(19/100). Positive expressions of two genes were in correlation with lymphatic vessel invasion and lymph node metastasis in breast carcinoma. Positive rates of CKS1 and CyclinD1 in breast carcinoma were higher than those in breast fibroadenoma($P<0.05$). Positive expressions of CKS1 and CyclinD1 in breast carcinoma were in positive correlation($r=0.677, P<0.05$). **Conclusions:** Positive expressions of CKS1 and CyclinD1 are significantly higher in breast carcinoma than in breast fibroadenoma. Positive expressions of CKS1 and CyclinD1 in breast carcinoma are positively related with lymphatic vessel invasion and metastasis of lymph node. Expressions of CKS1 and CyclinD1 may play a role in evaluating the prognosis and guiding the clinical treatment for breast carcinoma.

【Key words】breast carcinoma; breast fibroadenoma; cyclin kinase subunit1(CKS1); CyclinD1

乳腺癌是一种分子水平上具有高度异质性的肿瘤,其发生、发展与癌基因活化密切相关。研究乳腺癌的发生、发展机制,找出更有效的治疗方法和预后预测指标,是近年来乳腺癌研究的重要方向。细胞周期蛋白依赖性激酶调节亚基 1(cyclin kinase subunit1, CKS1)是高度保守的细胞周期调节蛋白

SUC1/CKS 家族成员之一,现已知 CKS1 在多种肿瘤中有较高表达^[1],近年有文献报道乳腺癌中 CKS1 表达升高^[2]。细胞周期蛋白 D1(CyclinD1)的表达失控会导致细胞周期异常产生肿瘤,有文献报道 CyclinD1 在乳腺癌组织中表达升高^[3-4]。本研究采用免疫组化 SP 法检测 CKS1 和 CyclinD1 在乳腺癌组织中的表达,并采用乳腺最常见的良性肿瘤——纤维腺瘤作为对照。研究两基因蛋白在乳腺癌及乳腺纤维

作者介绍:刘晓丽, Email: liuxiaolimy@126.com,

研究方向:肿瘤分子病理学。

腺瘤中的表达及其与临床病理的联系,探讨二者在乳腺癌诊治方面的意义。

1 材料与方法

1.1 标本来源

收集 2005 年 1 月-2011 年 6 月在遵义医学院附属医院、遵义市人民医院手术切除的女性乳腺癌标本 105 例和乳腺纤维腺瘤 100 例。按照 2003 年 WHO 乳腺癌组织学分类及分级标准诊断乳腺癌,105 例患者诊断均为乳腺浸润性导管癌非特殊型(病理组织学 I 级 51 例,II 级 29 例,III 级 25 例),年龄 29~75 岁,平均年龄 45.5 岁,其中伴有淋巴结转移 75 例(病理组织学 I 级 40 例,II 级 20 例,III 级 15 例),所有乳腺癌患者术前均未接受过化疗及内分泌治疗。乳腺纤维腺瘤患者年龄 19~59 岁,平均年龄 37.5 岁(表 1)。

表 1 乳腺癌临床病理特征与 CKS1 阳性表达的关系					
Tab.1 Significances of positive expressions of CKS1 and pathological characteristics of breast carcinoma					
项目	例数 (n)	CKS1		χ^2 值	P 值
		阳性 (%)	阴性 (%)		
年龄 (岁)					
≤50	55	45 (84.9)	8 (15.1)	1.085	0.298
>50	50	40 (76.9)	12 (23.1)		
肿瘤最大径 (cm)					
≤2	45	39 (86.7)	6 (13.3)	1.668	0.197
>2	60	46 (76.7)	14 (23.3)		
淋巴结转移					
无	30	19 (63.3)	11 (36.7)	8.456	0.004
有	75	66 (88.0)	9 (12.0)		
淋巴管侵犯					
无	35	24 (68.8)	11 (31.4)	5.219	0.022
有	70	61 (87.1)	9 (12.9)		
组织学分级					
I 级	51	43 (84.3)	8 (15.7)	0.994	0.733
II 级	29	22 (75.9)	7 (24.1)		
III 级	25	20 (80.0)	5 (20.0)		

1.2 试剂及方法

一抗为兔抗人 CyclinD1 单克隆抗体(即用型),DAB 显色试剂盒,均购自福州迈新公司。CKS1 兔抗人抗体购自美国 ZYMED 公司,1:50 稀释。常规切片,将石蜡包埋的标本 4 μm 厚切片,采用免疫组化 SP 染色法进行检测,染色方法和实验步骤按 SP 法试剂盒的说明书进行操作,抗原修复采用柠檬酸钠缓冲液微波修复,DAB 显色。用 PBS 代替一抗作为阴性对照,用已知的阳性反应组织切片作为阳性对照。

1.3 结果判断

参照许良中等^[9]的免疫组织化学染色结果判定标准进行判断,CKS1 和 CyclinD1 的阳性信号为细胞核呈棕黄色或棕

褐色(图 1、2,图 3、4 为阴性对照),结果用双盲法进行评估。每张切片随机选取有肿瘤组织的不同高倍视野(400×),计数 1 000 个肿瘤细胞,根据阳性细胞占的百分比率进行评分分级:<10%为阴性,>10%为阳性。

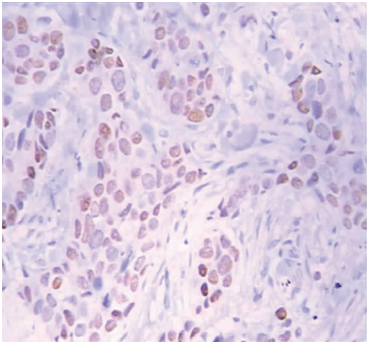


图 1 CKS1 在乳腺癌中的表达 (SP 法,400×)
Fig.1 Expressions of CKS1 in breast carcinoma (SP,400×)

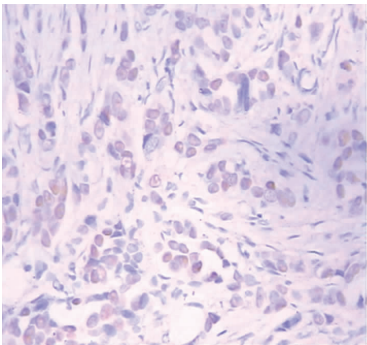


图 2 CyclinD1 在乳腺癌中的表达 (SP 法,400×)
Fig.2 Expressions of CyclinD1 in breast carcinoma (SP,400×)



图 3 CKS1 在乳腺纤维腺瘤的阴性表达 (SP 法,200×)
Fig.3 Negative expressions of CKS1 in breast fibroadenoma (SP,200×)

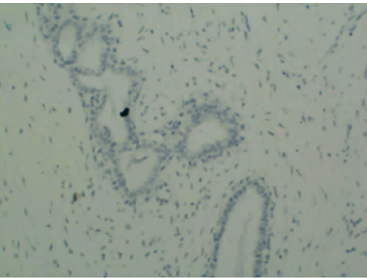


图 4 CyclinD1 在乳腺纤维腺瘤的阴性表达 (SP 法,200×)
Fig.4 Negative expressions of CyclinD1 in breast fibroadenoma (SP,200×)

1.4 统计学方法

运用 SPSS 13.0 软件对数据分析,全部资料均为分类资料,用构成比描述,进行差异比较和相关分析,均采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CKS1 的表达

CKS1 在乳腺癌组织的阳性率占 81.%,明显高于纤维腺瘤(22%),差异有统计学意义($\chi^2=71.340, P<0.001$);在有淋巴管侵犯的乳腺癌组织表达较高,而在无淋巴管侵犯的乳腺癌组织表达较低,两组间比较差异有统计学意义($\chi^2=5.219, P=0.022$)。CKS1 的表达也与有无淋巴结转移有关,有淋巴结转移者 CKS1 的表达较高,无淋巴结转移者 CKS1 的表达较低,两组间比较差异有统计学意义($\chi^2=8.456, P=0.004$)。CKS1 的表达与组织学分级未见差异($\chi^2=0.994, P=0.733$),与乳腺癌患者肿瘤大小未见差异($\chi^2=1.668, P=0.197$),表 1。

2.2 CyclinD1 的表达

CyclinD1 在乳腺癌组织的阳性率占 85.7%,明显高于纤维腺瘤(19%),差异有统计学意义($\chi^2=91.555, P<0.001$);在有淋巴管侵犯的乳腺癌组织表达较高,而在无淋巴管侵犯的乳腺癌组织表达较低,两组间比较差异有统计学意义($\chi^2=8.750, P=0.003$)。CyclinD1 的表达也与有无淋巴结转移有关,有淋巴结转移者 CyclinD1 的表达较高,无淋巴结转移者 CyclinD1 的表达较低,两组间比较差异有统计学意义($\chi^2=6.769, P=0.009$)。CyclinD1 的表达与组织学分级差异无统计学意义($\chi^2=2.010, P=0.343$),与乳腺癌患者肿瘤大小差异无统计学意义($\chi^2=0.784, P=0.376$),表 2。

表 2 乳腺癌临床病理特征与 CyclinD1 阳性表达的关系

Tab.2 Relationship between positive expressions of CyclinD1 and pathological characteristics of breast carcinoma

项目	例数 (<i>n</i>)	CKS1		χ^2 值	<i>P</i> 值
		阳性 (%)	阴性 (%)		
年龄 (岁)					
≤50	55	49 (89.1)	6 (10.9)	1.075	0.300
>50	50	41 (82.0)	9 (18.0)		
肿瘤最大径 (cm)					
≤2	45	37 (82.2)	8 (17.8)	0.784	0.376
>2	60	53 (88.3)	7 (11.7)		
淋巴结转移					
无	30	21 (70.0)	9 (30.0)	6.769	0.009
有	75	69 (92.0)	6 (8.0)		
淋巴管侵犯					
无	35	25 (71.4)	10 (28.6)	8.750	0.003
有	70	65 (92.9)	5 (7.1)		
组织学分级					
I 级	51	46 (90.2)	5 (9.8)	2.010	0.343
II 级	29	23 (79.3)	6 (20.7)		
III 级	25	21 (84.0)	4 (16.0)		

2.3 CKS1 和 CyclinD1 在乳腺癌组织中表达的相关性

CKS1 和 CyclinD1 在乳腺癌组织中的阳性表达呈正相关($r=0.677, \chi^2=6.694, P=0.010$)。

3 讨论

CKS1 是高度保守的细胞周期调节蛋白 SUC1/CKS 家族成员之一。研究表明,细胞周期抑制蛋白 p27 水平的下调与多种肿瘤的不良预后有关^[6-7]。无论在体外或体内,p27 蛋白在降解过程中,由 Sphase kinase protein2(SKP2)负责对 p27 的识别,但 SKP2 只有在结合 CKS1 后才能识别 p27,进行泛素化蛋白酶降解。Slotky 等^[8]报道 CKS1 的表达与肿瘤分化程度和患者生存期有明显相关性,Shapira 等^[9]报道 CKS1 在结、直肠癌中的表达与肿瘤分化程度及 p27 的表达呈明显负相关,而与结、直肠癌患者的不良预后有明显相关性。CKS1 的表达在胃癌和口腔鳞癌也有类似的报道。赵勇等^[1]报道 CKS1 在结、直肠癌和胃癌中有高表达,其表达水平与肿瘤的分化程度相关,但与肿瘤浸润深度、淋巴结转移和临床分期却无相关性。由此可见,CKS1 在细胞周期的调节中具有重要作用,在多种肿瘤中都有异常表达。

CyclinD1 是细胞周期成分中被证实与肿瘤有直接关系的癌基因,其调节作用与抑癌基因 pRb 的磷酸化有着密切关系,CyclinD1 与 CDK4 结合,形成 CyclinD1/CDK4 复合物,促进 pRb 的磷酸化,来调节细胞增生过程,细胞周期中呈正调节作用^[10]。在正常细胞周期中,CyclinD1 只在 G1 期有一过性表达,CyclinD1 的表达失控,会导致细胞周期从 G1 期进入 S 期,使细胞周期调节失控和细胞异常增殖,引起肿瘤发生^[11]。研究表明,在食管癌、胃癌、结肠癌、胰腺癌、肺癌、乳腺癌等均发现有 CyclinD1 基因的扩增和过表达,在某些恶性肿瘤中随肿瘤的生长 CyclinD1 的表达增加,并且在转移癌中 CyclinD1 的扩增明显高于原发肿瘤。Carreras 等^[12]的研究表明,CyclinD1 的异常表达与宫颈上皮病变的严重程度相关,其阳性率随着细胞分化程度的降低而升高。代军等^[13]研究报道,CyclinD1 在卵巢癌中表达水平升高。Arber 等^[14]报道,用反义 CyclinD1 cDNA 的逆转录病毒质粒 pMV7DIAS 转染细胞 CyclinD1 高表达的人类结肠癌细胞系 SW480E8 后,导致转染细胞 CyclinD1 蛋白表达下降,并丧失裸鼠的致瘤性。由此可见,CyclinD1 与恶性肿瘤的发生、发展有着密

切的关系。朱东兵等^[15]报道,淋巴结转移以及转移的数目是影响乳腺癌预后的决定性因素之一,有淋巴结转移者预后差。

乳腺癌的临床表现大多相似,转归及预后却较为复杂,目前尚缺乏完全反映其生物学特性的临床指标。本研究结果显示,CKS1 和 CyclinD1 蛋白在乳腺癌组织中阳性表达水平升高,明显高于其在乳腺纤维腺瘤组织中的表达,其表达程度与淋巴管侵犯、淋巴结转移呈明显正相关性,与患者年龄、肿瘤大小及组织学分级无相关性,且乳腺癌组织中 CKS1 和 CyclinD1 的阳性表达呈正相关。这些结果表明,CKS1 和 CyclinD1 的阳性表达程度与乳腺癌的增殖能力和恶性程度有着密切的关系。CKS1 和 CyclinD1 在乳腺癌的发生发展中可能起着重要的协同作用。

综上所述,联合检测乳腺癌组织中 CKS1 和 CyclinD1 的表达对预后预测及临床治疗都具有一定的指导意义。

参 考 文 献

- [1] 赵 勇,高建飞,饶建国,等.胃癌中 cks1, p27 和 skp2 蛋白的表达[J].肿瘤防治杂志,2007,34(2):118-120.
- [2] 王小春,田 静,吴海良,等.CKS1 和 p27 在乳腺癌中的表达及其意义[J].肿瘤防治杂志,2010,37(2):165-168.
- [3] Bilalovic N, Vranic S, Basic H, et al. Immunohistochemical evaluation of cyclinD1 in breast cancer[J]. Croat Med J, 2005, 46(3): 382-388.
- [4] 疏 楠,李连宏,孙志刚,等.P16、CDK4、CyclinD1 在乳腺癌中的表达及临床意义[J].大连医科大学学报,2009,31(4):255-259.
- [5] 许良中,杨文涛.免疫组织化学反应结果的判定标准[J].中国癌症杂志,1996,6:229-231.
- [6] Xu L Z, Yang W T. Immunohistochemistry reaction results judgment standard[J]. China Oncology, 1996, 6: 229-231.
- [7] Sitry D, Seeliger M A, Ko T K, et al. Three different binding sites of Cks1 are required for p27-ubiquitin ligation[J]. J Biol Chem, 2002, 277(44): 42233-42240.
- [8] 张 丰,李 楠.p27 的动能调控及其在乳腺肿瘤治疗中的应用[J].中国肿瘤生物治疗杂志,2006,13(5):397-399.
- [9] Zhang F, Li N. Kinetic energy control of P27 and its application in breast cancer treatment[J]. Chinese Journal of Cancer Biotherapy, 2006, 13(5): 397-399.
- [10] Slotky M, Shapira M, Ben-Izhak O, et al. The expression of the ubiquitin ligase subunit CKS1 in human breast cancer[J]. Breast Cancer Research, 2005, 7(5): R737-744.
- [11] Shapira M, Ben-Izhak O, Linn S, et al. The prognostic impact of the ubiquitin ligase subunits skp2 and cks1 in colorectal carcinoma[J]. Cancer, 2005, 103(7): 1336-1346.
- [12] 张宏艳,刘瑞祺,范 萍,等.乳腺癌普查初步报道及资料分析[J].解放军医学杂志,2007,32(6):654-655.
- [13] Zhang H Y, Liu R Q, Fan P, et al. Preliminary reports of breast census and its material analysis[J]. Med J Chin PLA, 2007, 32(6): 654-655.
- [14] Fu M F, Wang C G, Li Z P, et al. CyclinD1 normal and abnormal functions[J]. Endocrinology, 2004, 145(12): 5439-5447.
- [15] Carreras R, Alameda F, Mancebo G, et al. A study of Ki-67, cerbB2 and cyclin-D1 expression in CN- I, CN- III and squamous cell carcinoma of the cervix[J]. Histol Histopathol, 2007, 22(6): 587-592.
- [16] 代 军,张培海,刘培淑,等.CyclinD1 在上皮性卵巢癌 3A0 细胞中的表达及意义[J].中华医学杂志,2012,92(5):351-353.
- [17] Dai J, Zhang P H, Liu P S, et al. Expressions and significance of cyclinD1 in epithelial ovarian cancer cell 3A0[J]. Natl Med J China, 2012, 92(5): 351-353.
- [18] Arber N, Doki Y, Han E K, et al. Antisense to cyclin D1 inhibits the growth and tumorigenicity of human colon cancer cells[J]. Cancer Res, 1997, 57(8): 1569-1574.
- [19] 朱东兵,沈晓建,朱小燕,等.乳腺癌免疫活性细胞反应的意义及淋巴结转移的危险因素分析[J].临床与实验病理学杂志,2008,24(2):239-240.
- [20] Zhu D B, Shen X J, Zhu X Y, et al. Significance of reaction of breast cancer immune active cell and risk factor analysis on lymph node metastasis[J]. Chinese Journal of Clinical and Experimental Pathology, 2008, 24(2): 239-240.

(责任编辑:冉明会)