

Cyclin D1、P53和CDK4蛋白与胰腺癌的相关性

乔文辉, 胜利

■背景资料

胰腺癌是一种较常见的消化系统恶性肿瘤, 近年来其发病率在世界范围内有增加之势。其预后差, 5年生存率约4%, 总的中位生存期不超过20 mo。近年来随着分子生物学的发展, 提出胰腺癌的发生、发展与原癌基因的激活及抑癌基因的失活有关。

乔文辉, 兰州大学第一医院普通外科 甘肃省兰州市 730000
胜利, 西北民族大学医学院病原生物学与免疫学教研室 甘肃省兰州市 730030

通讯作者: 乔文辉, 730000, 甘肃省兰州市城关区东岗西路1号, 兰州大学第一医院普通外科, wenhuiqiao@yahoo.com.cn

电话: 0931-8625200 传真: 0931-8619797

收稿日期: 2008-04-28 修回日期: 2008-09-28

接受日期: 2008-10-14 在线出版日期: 2008-10-28

Expression of Cyclin D1, P53 and CDK4 in pancreatic carcinoma

Wen-Hui Qiao, Li Sheng

Wen-Hui Qiao, Department of General Surgery, the First Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730000, Gansu Province, China

Li Sheng, Department of Immunology and Pathogenic Organism, Medical College, Northwest Nationality University, Lanzhou 730030, Gansu Province, China

Correspondence to: Wen-Hui Qiao, Department of General Surgery, the First Hospital of Lanzhou University, 1 Donggang West Road, Chengguan District, Lanzhou 730000, Gansu Province, China. wenhuiqiao@yahoo.com.cn

Received: 2008-04-28 Revised: 2008-09-28

Accepted: 2008-10-14 Published online: 2008-10-28

Abstract

AIM: To study the expression of Cyclin D1, P53 and Cyclin-dependent kinase (CDK4) in pancreatic carcinoma, and to explore the relationship of Cyclin D1, P53 and CDK4 with pancreatic carcinoma.

METHODS: A total of 48 cases with pancreatic cancer were collected from the First Hospital of Lanzhou University and Dingxi district hospital from July 1997 to January 2004. Immunohistochemical staining (S-P method) was used to detect the expressions of Cyclin D1, P53 and CDK4 in 48 cases of pancreatic carcinoma.

RESULTS: No significant difference between Cyclin D1, P53 and CDK4 expression was detected in different gender, age groups of pancreatic cancer. Positive expression rates of Cyclin D1 and CDK4 were significantly higher in the poorly differentiated, lymph node metastasis, clinical stage III, IV phase groups than in well-differenti-

ated, no lymph node metastasis, clinical stage I, II phase groups (Cyclin D1: $\chi^2 = 10.540, 14.225, 5.043, P < 0.01$ or 0.05 ; CDK4: $\chi^2 = 7.619, 4.006, 5.581, P < 0.05$). The P53 positive expression rate was significantly higher in lymphatic metastasis group than the non-lymph node metastasis group ($\chi^2 = 6.146, P < 0.05$). However, no significant difference in P53 expression was detected between different differentiation groups or between different clinical stage groups.

CONCLUSION: As Cyclin D1 is over expressed in pancreatic carcinoma, it can be used as a biomarker for early diagnosis of pancreatic carcinoma. However, P53 and CDK4 play important synergistic roles in pathogenesis and development of pancreatic carcinoma.

Key Words: Cyclin D1; P53 protein; Cyclin-dependent Kinase 4; Pancreatic carcinoma

Qiao WH, Sheng L. Expression of Cyclin D1, P53 and CDK4 in pancreatic carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(30): 3460-3463

摘要

目的: 研究细胞周期蛋白D1(Cyclin D1)、P53蛋白和细胞周期蛋白依赖性激酶4 (CDK4)在胰腺癌中的表达差异, 阐明其与胰腺癌的相关性。

方法: 兰州大学第一医院和定西地区医院1997-07/2004-01手术切除胰腺癌患者48例, 术后标本均经病理证实。采用免疫组化SP法检测Cyclin D1、P53和CDK4在胰腺癌患者不同临床指标下的表达水平。

结果: 胰腺癌不同性别、年龄分组中Cyclin D1、P53与CDK4的阳性表达率均无显著差异。在低分化、有淋巴结转移、临床分期III、IV期的胰腺癌组织中Cyclin D1和CDK4的阳性表达率明显高于高分化、无淋巴结转移、临床分期I、II期的胰腺癌中的阳性表达率(Cyclin D1: $\chi^2 = 10.540, 14.225, 5.043, P < 0.01$ 或 0.05 ; CDK4: $\chi^2 = 7.619, 4.006, 5.581, P < 0.05$)。有淋巴转移的胰腺癌组织中P53的阳

■同行评议者

房林, 副教授, 同济大学附属上海市第十人民医院普外科

性表达率明显高于无淋巴转移的组中的阳性表达率($\chi^2 = 6.146, P < 0.05$); 而不同分化程度和临床分期的胰腺癌组织中P53的表达无明显的差异性。

结论: Cyclin D1可以作为早期诊断胰腺癌的生物学指标, 而P53和CDK4在胰腺癌的发生、发展过程中起重要的协同作用。

关键词: 细胞周期蛋白D1; P53蛋白; 细胞周期蛋白依赖性激酶4; 胰腺癌

乔文辉, 胜利. Cyclin D1、P53和CDK4蛋白与胰腺癌的相关性. 世界华人消化杂志 2008; 16(30): 3460-3463
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/3460.asp>

0 引言

胰腺癌是一种较常见的消化系统恶性肿瘤, 近年来其发病率在世界范围内有增加之势. 其预后差, 5年生存率约4%, 总的中位生存期不超过20 mo^[1]. 近年来随着分子生物学的发展, 提出胰腺癌的发生、发展与原癌基因的激活及抑癌基因的失活有关. 本文通过检测细胞周期蛋白D1(Cyclin D1)、P53基因和细胞周期蛋白依赖性激酶4(CDK4)在胰腺癌中的表达, 进而阐明其各自与胰腺癌的相关性。

1 材料和方法

1.1 材料 收集兰州大学第一医院和定西地区医院1997-07/2004-01手术切除胰腺癌病例48例, 术后标本均经病理证实. 其中男27例, 女21例; 年龄36-78(中位年龄53)岁. 病理分级: 高分化16例, 中分化14例, 低分化18例. 有淋巴转移者30例, 无淋巴转移者18例; 临床分期按1992年国际抗癌联盟(UICC)的TNM分期: I, II期19例, III, IV期29例. 所有标本均经40 g/L甲醛固定, 石蜡包埋, 按常规制作石蜡切片, 切片厚度为4 μm . 石蜡切片机, 德国Leitz; Olympus双筒显微镜, 日本BH-Z型; 电热恒温箱, 美国SHEL-LAB, 18.5TC型; Sanyo型低温冰箱, 日本日立公司; 普感0.1 g电子天平, 瑞士METTLER TOLEDO; TGL-16M型高速冷冻离心机, 长沙科威实业有限公司; YJ-875医用净化工作台, 苏州净化设备厂; 96E全自动酶标检测仪, ERMA公司; Cyclin D1、P53、CDK4单抗, 北京中山生物技术公司; S-100蛋白, 北京鼎国生物技术公司; SP试剂盒, 北京鼎国生物技术公司。

1.2 方法 免疫组化染色SP法, 按使用说明操作, 测定P53、Cyclin D1、CDK4在胰腺癌中的表

达. Cyclin D1、CDK4均为细胞核着色, 部分病例中为细胞胞质着色或胞质胞核同时着色, 胞质着色视为阴性, 胞质胞核同时着色的参与评分. 参照Fromowitz *et al*^[2]的方法在高倍镜下对细胞核内反应做如下的评分: (1)无着色为0分, 淡黄色为1分, 棕黄色为2分, 棕褐色为3分. (2)计数400个细胞, 按显色细胞占观察细胞的比例分为: 0%-5%为0分, 5%-25%为1分, 26%-50%为2分, 51%-15%为3分, >75%为4分. 两项结果相加: <2分为阴性(-), 2-3分为弱阳性(+), 4-5分为中度阳性(++), 6-7分为强阳性(+++).

统计学处理 计数资料两两间比较用 χ^2 检验, 计量资料两两间比较采用 t 检验; 相关分析采用Spearman法. 按 $\alpha = 0.05$ 的水准判断是否具有统计学意义. 所有数据均经SPSS10.0软件统计分析, 得出结论。

2 结果

胰腺癌不同性别、年龄分组中Cyclin D1的阳性表达率均无显著差异($P > 0.05$, 表1). 在低分化、有淋巴结转移、临床分期III, IV期的胰腺癌组织中Cyclin D1和CDK4的阳性表达率明显高于高分化、无淋巴结转移、临床分期I, II期的胰腺癌中的阳性表达率($P < 0.01, P < 0.05$). 胰腺癌中P53与CDK4的表达率在不同性别、年龄分组中差异无显著性($P > 0.05, P > 0.05$). 有淋巴转移的胰腺癌组织中P53的阳性表达率明显高于无淋巴转移的组中的阳性表达率($P < 0.05$); 而不同分化程度和临床分期的胰腺癌组织中P53的表达无明显的差异性($P > 0.05$).

3 讨论

肿瘤被认为是一种细胞周期性疾病, 细胞周期存在G₁/S期和G₂/M期两个关键的调节位点, 其中以G₁/S位点尤为重要, 他可以决定细胞是继续增殖抑或进入G₀期还是永久的离开细胞周期进入终末分化及死亡. Cyclin D1可以和CDK4结合形成Cyclin D1/CDK4复合物, 作为细胞周期G₁/S位点的正向调节子, 促进了细胞的增殖, 从而参与肿瘤的发生、发展; 影响肿瘤的生物行为。

Cyclin D1家族至少有D1、D2、D3个成员. 依次由11q13的CCND1、12q13的CCND2、6q21的CCND3基因编码^[3]. Cyclin D1能和CDK4结合, 形成Cyclin D1/CDK4复合物, 该复合物可以介导成视网膜母细胞瘤易感基因(RB)的产物P105RB磷酸化失活, 和E2F分离, P105RB在去磷

■ 相关报道

Cyclin D1在甲状腺癌、乳腺癌、肝癌、食道癌中存在过度表达, Susanne *et al*发现的胰腺癌中Cyclin D1的阳性表达率与本研究的結果相近. 欧阳迪平 *et al*、何劲松 *et al*的研究亦分别报道了Cyclin D1、CDK4在胰腺癌中阳性表达, 当前国内外研究中P53在胰腺癌中的阳性表达率与本文的研究结果一致。

■创新盘点

本研究显示, Cyclin D1的表达参与胰腺癌的发生、发展,与胰腺癌细胞的增殖有关,可以作为早期诊断胰腺癌的生物学指标。而P53、CDK4的表达,则通过P53、CDK4途径在胰腺癌的发生、发展过程中起重要的协同作用。两者与胰腺癌细胞的增殖有关,影响胰腺癌生物学行为。

表 1 胰腺癌中Cyclin D1、P53和CDK4的表达与临床病理参数的关系 $n(\%)$

分组	n	Cyclin D1			P53			CDK4		
		阳性	χ^2	P	阳性	χ^2	P	阳性	χ^2	P
性别										
男	27	19(70.37)	0.006	>0.05	14(51.85)	0.485	>0.05	16(59.26)	0.610	>0.05
女	21	15(71.43)			13(61.90)			14(66.67)		
年龄										
≤40	7	5(71.43)	0.151	>0.05	4(57.14)	0.049	>0.05	4(57.14)	0.177	>0.05
40-60	19	14(73.68)			11(57.89)			12(63.16)		
>60	22	15(68.18)			12(54.55)			14(63.64)		
分化程度										
高	16	7(43.75)	10.540	<0.01	8(50.00)	3.410	>0.05	6(37.50)	7.619	<0.05
中	14	10(71.43)			6(42.86)			9(64.29)		
低	18	17(94.44)			13(72.22)			15(83.33)		
淋巴转移										
无	18	7(38.89)	14.225	<0.01	6(33.33)	6.146	<0.05	8(44.44)	4.006	<0.05
有	30	27(90.00)			21(70.00)			22(73.33)		
TNM分期										
I / II	19	10(52.63)	5.043	<0.05	9(47.37)	1.008	>0.05	8(42.11)	5.581	<0.05
III / IV	29	24(82.76)			18(62.07)			22(75.86)		

酸状态下为激活状态,可以调节细胞周期,使细胞停滞于G₁期不进入S期,从而失去了对细胞周期的负向调控,促进了细胞增殖和肿瘤的发生。Cyclin D1作为一种原癌基因最早是Motokura *et al*^[4]在甲状腺癌中发现存在过度表达而被证实的,此后相继报道了其在乳腺癌、肝癌、食道癌中存在过度表达^[5],但是关于胰腺癌中Cyclin D1的报道较少见。本研究发现胰腺癌中Cyclin D1的阳性表达率是70.83%, Gansauge *et al*^[6]的研究结果提示胰腺癌中Cyclin D1基因表达的阳性率为68.4%,而在正常的胰腺组织中几乎没有见到Cyclin D1基因的表达。这和本研究的结果一致。本研究还同时发现低分化、有淋巴结转移、临床分期III, IV的胰腺癌中Cyclin D1的阳性表达率分别是: 94.44%、90.00%、82.76%,明显高于高分化、无淋巴结转移、临床分期I, II的43.75%、38.89%、52.63%($P<0.05$)。这和国内欧阳迪平 *et al*^[7]的研究结果一致。而低分化、有淋巴结转移、临床分期III, IV的胰腺癌中CDK4的阳性表达率分别是: 83.33%、73.33%、75.86%,明显高于高分化、无淋巴结转移、临床分期I, II的37.50%、44.44%、42.11%($P<0.05$),国内也有相近数据的报道^[8]。这些结果提示: Cyclin D1和CDK4不仅参与胰腺癌的发生、发展,而且和胰腺癌的临床病理参数及预后密切的关系。

人类肿瘤发生过程中, P53监控功能丧失是目前最常检测的变化之一,是肿瘤发生过程中最常见、最重要的原因。本研究发现P53在胰腺癌中的阳性表达率为56.25%,和国内外目前的研究结果一致^[9-10]。本研究还同时发现有淋巴结转移的胰腺癌组织中P53的阳性表达率为70.00%,明显高于无淋巴结转移的组织中33.33% ($P<0.05$),但是在不同的性别、年龄、临床分期、病理分级分组比较中P53的阳性表达率无显著差异,提示P53参与胰腺癌的发生并和淋巴结转移相关。

因此, Cyclin D1的表达参与胰腺癌的发生、发展,与胰腺癌细胞的增殖有关,可以作为早期诊断胰腺癌的生物学指标。而P53、CDK4的表达,则通过P53、CDK4途径在胰腺癌的发生、发展过程中起重要的协同作用。两者与胰腺癌细胞的增殖有关,影响胰腺癌生物学行为。总之,肿瘤的发生、发展是多基因联合作用的结果,本研究只是探讨了Cyclin D1、P53和CDK4与胰腺癌的相关性,为胰腺癌的发生、发展提供了一定的实验基础。

4 参考文献

- 1 Rosenberg L. Pancreatic cancer: a review of emerging therapies. *Drugs* 2000; 59: 1071-1089
- 2 Fromowitz FB, Viola MV, Chao S, Oravez S, Mishriki Y, Finkel G, Grimson R, Lundy J. ras p21 expression in the progression of breast cancer. *Hum Pathol* 1987; 18: 1268-1275
- 3 Bartkova J, Lukas J, Strauss M, Bartek J. Cell cycle-

- related variation and tissue-restricted expression of human cyclin D1 protein. *J Pathol* 1994; 172: 237-245
- 4 Motokura T, Yi HF, Kronenberg HM, McBride OW, Arnold A. Assignment of the human cyclin D3 gene (CCND3) to chromosome 6p---q13. *Cytogenet Cell Genet* 1992; 61: 5-7
- 5 Zhang YJ, Jiang W, Chen CJ, Lee CS, Kahn SM, Santella RM, Weinstein IB. Amplification and overexpression of cyclin D1 in human hepatocellular carcinoma. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 196: 1010-1016
- 6 Gansauge S, Gansauge F, Ramadani M, Stobbe H, Rau B, Harada N, Beger HG. Overexpression of cyclin D1 in human pancreatic carcinoma is associated with poor prognosis. *Cancer Res* 1997; 57: 1634-1637
- 7 欧阳迪平, 杨竹林, 李永国. 胰腺良性和恶性病变组织中cyclinD1、CDK4、p16和Rb的表达及其意义. *中华普通外科杂志* 2000; 15: 466-468
- 8 何劲松, 赖焕辉, 姜立华, 吕新生, 曹亚, 卓纘, 黄幸青, 王江桥. p16、CyclinD1、Cdk4、Rb基因在胰腺癌中的表达及其意义. *癌症* 1999; 4: 418
- 9 Eymin B, Leduc C, Coll JL, Brambilla E, Gazzeri S. p14ARF induces G2 arrest and apoptosis independently of p53 leading to regression of tumours established in nude mice. *Oncogene* 2003; 22: 1822-1835
- 10 于观贞, 朱明华, 倪灿荣, 李芳梅, 郑建明, 龚志锦. 胰腺癌p53上下游基因mdm2、p21~(WAF/CIP1)以及p14~(ARF)蛋白的表达及相互关系. *中华病理学杂志* 2004; 33: 130-134

■同行评价

本文对Cyclin D1、P53蛋白和胰腺癌相关性进行研究, 设计合理, 有一定临床参考价值.

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2008年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

世界华人消化杂志正文要求

本刊讯 本刊正文标题层次为 0引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文. 以下逐条陈述: (1)引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系. (2)材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可. (3)结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论. (4)讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾. 图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: … 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: ^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ ($P>0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则¹ $P<0.05$, ² $P<0.01$; 第3套为³ $P<0.05$, ⁴ $P<0.01$. P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t=4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^{\circ}\text{C}$ 表达. 黑白图请附黑白照片, 并拷入光盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片. 彩色图片大小 $7.5\text{ cm}\times 4.5\text{ cm}$, 必须使用双面胶条黏贴在正文内, 不能使用浆糊黏贴. (5)致谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐. (常务副总编辑: 张海宁 2008-10-28)