

文章编号:1005-6947(2004)03-0193-03

· 实验研究 ·

Cyclin E 在肝细胞癌中的表达及其意义

周奇¹, 王广田², 梁力建¹, 郑蔚², 庞志刚²

(1. 中山大学第一附属医院 肝胆外科, 广东 广州 510080; 2. 郑州大学第二附属医院 肝胆外科, 河南 郑州 450052)

摘要:目的 探讨 Cyclin E 在肝细胞癌中的表达及其意义。方法 应用同一组织连续切片免疫组化 SABC 法, 检测 Cyclin E 在 45 例肝细胞癌(HCC)及 30 例癌旁肝组织中的表达及其与临床病理资料的关系。其中门静脉癌栓形成者 12 例, 有转移者 11 例, 肝内肿瘤播散或有卫星结节者 12 例, 肿瘤包膜侵袭者 19 例, 以上 4 项中有任何 1 项阳性或 1 项以上阳性者归入侵袭转移组。结果 Cyclin E 在 HCC 组织中阳性表达率 35.6% (16/45), 癌旁肝组织无阳性表达。Cyclin E 表达与年龄、性别、乙肝表面抗原、血清甲胎蛋白、肿瘤大小、包膜形成、肝外转移及癌灶数目无关 ($P > 0.05$), 与组织分化、癌栓形成有关 ($P < 0.05$)。Cyclin E 在侵袭转移组较非侵袭转移组表达增高 ($P < 0.05$)。结论 Cyclin E 与肝细胞癌的发生、分化及侵袭转移有关, 检测其表达有助于协助临床诊断治疗及判断预后。

关键词: 癌, 肝细胞/病理学; 基因表达; Cyclin E

中图分类号: R730.261 **文献标识码:** A

Significance of expression of cyclin E in hepatocellular carcinoma

ZHOU Qi¹, WANG Guang-tian², Liang Li-jian¹, ZHEN Wei², PANG Zhi-gang²

(1. Department of Hepatobiliary Surgery, The First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University of Medical Sciences Guangzhou 510080, China; 2. Department of Hepatobiliary Surgery, The second Affiliated Hospital, Zhenzhou University, Zhenzhou 450052, China)

Abstract: Objective To study the significance of expression of Cyclin E in hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods** Cyclin E expressions were examined in 45 specimens of HCC and 30 specimens of paracancer tissues, and the relationship between Cyclin E with the clinico-pathological parameters was determined. Among the 45 patients, 19 were poor encapsulatic; 12 patients had portal vein thrombus; 11 had extrahepatic metastasis; 12 had intrahepatic metastasis. Any patient had one or more of 4 conditions mentioned above was considered as invasion and metastasis. **Results** The overexpression of Cyclin E in HCC tissues was seen in 16 cases (35.6%), but not seen in paracancer tissues. Cyclin E overexpression occurred more frequently in HCC patients with poor differentiation and portal vein thrombus ($P < 0.05$). The overexpression of Cyclin E in HCC patients with invasive and metastasis was significantly higher than that in non-invasive and non-metastasis patients ($P < 0.05$). There were no significant difference between the expression of Cyclin E with patients' age, sex, tumor size, HBsAg, AFP, capsure formation and tumor number ($P > 0.05$). **Conclusions** Expression of Cyclin E is related with HCC carcinogenesis; differentiation, invasion and metastasis, detection of expression of Cyclin E may be helpful in the diagnosis, treatment and prediction of the prognosis of patients with HCC.

Key words: CARCINOMA, HEPATOCELLULAR/pathol; GENE EXPRESSION; Cyclin E

CLC number: R730.261 **Document code:** A

肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是我国常见的恶性肿瘤之一, 研究肝细胞癌发生、发展

及侵袭转移的机制, 探索有效的防治途径是当前肝细胞癌研究的热点。细胞增殖活性与肿瘤的发生、发展及侵袭转移直接相关。在细胞周期中, G_1 后期到 S 期是细胞增殖最重要的时期, 细胞是否通过 G_1 后期检测点 (check point) 或 G_1/S 期转换, 决定了细胞是否继续增殖^[1]。Cyclin E 对细胞 G_1/S 期转换

收稿日期:2002-09-07; 修订日期:2003-08-07。

作者简介:周奇(1971-),男,河北邯郸人,中山大学第一附属医院医师,主要从事肝细胞癌方面的研究。

具有重要调节作用^[2]。近年来研究^[3]表明, Cyclin E 蛋白水平改变或基因改变与多种肿瘤的发生有关。而在肝细胞癌中报道较少。本研究采用免疫组化 SABC 法, 联合检测 45 例 HCC 组织及 30 例癌旁组织中 Cyclin E 的表达, 以期探讨 Cyclin E 与 HCC 发生、发展及侵袭转移的关系。

1 材料与方法

1.1 标本及其临床资料

用本院 1994 ~ 1999 年病理教研室存档 HCC 蜡块 45 例, 30 例带有癌旁组织。所有患者术前均未进行放疗和化疗、肝动脉栓塞或免疫治疗, 术后均经病理证实为 HCC。45 例中男 36 例, 女 9 例; 年龄为 30 ~ 65 岁。其中伴癌栓形成者 12 例, 有肝门淋巴结或肝外转移转移者 11 例, 肝内肿瘤播散或有卫星结节者 12 例, 肿瘤包膜不完整或无包膜以及包膜侵袭破坏者 19 例, 参照文献标准^[4], 以上 4 项中有任何 1 项阳性或 1 项以上阳性者归入侵袭转移组, 共 25 例 (55.56%)。

1.2 材料与检测方法

兔抗人 Cyclin E 多克隆抗体购自美国 Santa-cruz 生物有限公司; 免疫组化 SABC 染色试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司。采用免疫组化 SABC 法, 试验步骤按免疫组化 SABC 试剂盒说明书进行。染色结果判定^[5]: Cyclin E 的表达以核表达细胞为阳性表达细胞, 阳性细胞数 > 5% 为阳性 (+), ≤ 5% 或无表达为阴性 (-)。

1.3 统计学方法

应用 SPSS 8.0 FOR WINDOWS 软件处理, 两组间计量资料比较采用 *t* 检验, 计数资料比较采用 χ^2 检验, 以 $P < 0.05$ 认为有显著性差异。

2 结果

2.1 HCC 组织中 Cyclin E 表达率

以核表达定为阳性, Cyclin E 于 HCC 组织中以核表达为主, 部分细胞呈胞浆表达 (图 1, 2); HCC 组织中 Cyclin E 阳性表达率为 35.6% (16/45)。癌旁肝组织无胞核表达, 部分细胞呈胞浆表达。

2.2 Cyclin E 表达与临床病理特征的关系

Cyclin E 表达与细胞分化、癌栓形成及侵袭转移有关。Cyclin E 表达与包膜形成、淋巴结/肝外转移、癌灶数目、肿瘤大小及年龄、性别、乙肝表面抗原 (HBsAg)、甲胎蛋白 (AFP) 等均无关 (表 1, 2)。

图 1 HCC 组织 Cyclin E 胞核阳性表达 (SABC × 400)

图 2 HCC 组织 Cyclin E 胞浆表达 (SABC × 400)

表 1 Cyclin E 表达与临床病理特点的关系

临床病理特点	n	Cyclin E		P
		(+)	(-)	
组织学分级				
I + II	26	5	21	<0.05
III + IV	19	11	8	
肿瘤大小(直径)				
≤5cm	9	1	8	>0.05
5 < ~ ≤10cm	19	7	12	
>10cm	17	8	9	
包膜				
完整	26	7	19	>0.05
无/不完整	19	9	10	
癌栓形成				
+	13	8	5	<0.01
-	32	8	24	
转移				
有	11	6	5	>0.05
无	34	10	24	
癌灶数目				
< 2	33	9	24	>0.05
≥2	12	7	5	
侵袭性				
非侵袭转移	20	4	16	<0.05
侵袭转移	25	12	13	

表2 Cyclin E表达与一般临床资料的关系

一般资料	Cyclin E		P
	(+)	(-)	
总例数	16	29	
年龄(岁)	46.80 ± 10.21	47.29 ± 9.38	>0.05
性别(男/女)	12/4	24/5	>0.05
HBsAg(+/-)	12/4	20/9	>0.05
AFP(+/-)	13/3	17/12	>0.05

3 讨 论

Cyclin E 是主要作用于细胞周期 G₁ 晚期→S 期早期的细胞周期蛋白^[6]。人类 Cyclin E 基因定位于 19q12 ~ 13, 有 4 个外显子和 3 个内含子, 其 mRNA 长约 2.2 kb, 编码 395 个氨基酸的蛋白质, 为核内蛋白, 半衰期较短约 30 min。Cyclin E 与 CDK2 结合后形成 Cyclin E/CDK2 复合物可对 Cyclin E 自身磷酸化, 调节 Cyclin E 降解; 它是细胞周期 G₁/S 期转换主要限速因子之一。尽管 Cyclin E 在细胞浆中合成与降解, 但通常会迅速转移到细胞核执行功能; 如果不进入核中, Cyclin E 即不能起到影响细胞分裂的作用。本研究表明 Cyclin E 在肝癌组织中主要为核表达, 阳性表达率达 36.5% (16/45, 表 1), 在癌旁肝组织中无胞核表达, 与国外研究结果^[7]类似。提示 HCC 核组织中 Cyclin E 蛋白水平升高可能促进了细胞周期进行及细胞增殖, 与 HCC 的发生有关。部分细胞呈胞浆表达, Cyclin E 在胞浆中的聚集, 可能反映了其合成增多, 降解减少或部分核转运失败。

Ann 等^[8]在胃癌中的研究发现, Cyclin E 蛋白表达水平增高与胃癌的浸润和组织学分级有关, 提出 Cyclin E 含量与细胞增殖潜能或细胞分化程度相关。本研究结果表明, 在恶性程度高的低分化肝癌组 Cyclin E 蛋白表达率较恶性程度低的高分化组明显升高 ($P < 0.05$), 即组织学分级高, 细胞分化差者, Cyclin E 表达高(表 2)。此结果说明 Cyclin E 过度表达可能与分化不良有关。在与侵袭性相关的指标中, Cyclin E 阳性表达率与是否有癌栓形成有关, 而与肿瘤大小、包膜是否完整、有无转移及卫星灶无关, 在侵袭转移组 Cyclin E 表达较非侵袭转移组明显升高 ($P < 0.05$, 表 2), 提示 Cyclin E 阳性

患者肿瘤侵袭转移力强, 可能预后不佳。

体外试验研究证实^[9], 培养系统中加入 Cyclin E IgM 抗体可使增殖的肿瘤细胞系阻滞于 G₁ 期, 动物实验表明下调 G₁/S 期蛋白可降低肿瘤的侵袭性^[10]。Cyclins 有可能成为未来肿瘤基因治疗的目标, 采用分子生物学技术, 进一步明确其相互作用机制, 调节水平、调节方法, 有望为肝细胞癌的治疗提供新的突破点。

参考文献:

- [1] Pardee AB. G₁ events and regulation [J]. Science, 1989, 246 (5098): 603 - 608.
- [2] Koff A, Giordano A, Desai D, et al. Formation and activation of a cyclin E-cdk2 complex during the G₁ phase of the human cell cycle [J]. Science, 1992, 257(5135): 1689 - 1694.
- [3] Donnellan R, Chetty R. Cyclin E in human cancer [J]. FASEB J, 1999, 13(3): 773 - 780.
- [4] 姚昱, 周信达, 刘银坤, 等. 上皮钙黏蛋白 (E-cadherin) 在高侵袭性肝细胞癌中的表达 [J]. 中华消化杂志, 1998, 18 (1): 31 - 33.
- [5] Peng SY, Chou SP, Hsu HC. Association of down-regulation of cyclinD and of overexpression of Cyclin E with p53 mutation, high tumor grade and poor prognosis in hepatocellular carcinoma [J]. J Hepatol, 1998, 29(2): 281 - 289.
- [6] Won KA, Reed SI. Activation of Cyclin E/cdk2 is coupled to site specific autophorylation and ubiquitin-dependent degradation of Cyclin E [J]. EMBO J, 1996, (16): 4182 - 4193.
- [7] Ohashi R, Gao C, Miyazaki M, et al. Enhanced expression of cyclin E and cyclin A in human hepatocellular carcinomas [J]. Anticancer Res, 2001, 21(1B): 657 - 662.
- [8] Ann M, Kim B, Jang S, et al. Expression of cyclinD and Cyclin E in human gastric carcinoma and its clinicopathologic significance [J]. J Korean Med Sci, 1998, 13(4): 513 - 518.
- [9] Marches R, Schenermann RH, Uhr TW. Cancer dormancy: role of cyclin-dependent kinase inhibitors in induction of cell cycle arrest mediated via membrane IgM. Cancer Res, 1998, 58(3): 691 - 697.
- [10] Pascale RM, Simile MM, De Miglio MR, et al. Cell cycle deregulation in liver lesions of rats with and without genetic predisposition to hepatocarcinogenesis [J]. Hepatology, 2002, 35(6): 1341 - 1350.