[5] Kawamura K, Kumagai J, Sudo S, *et al*. Paracrine regulation of mammalian oocyte maturation and male germ cell survival[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004, 101(19): 7323-7328.
[6] 宋晓峰, 魏光辉, 邓永继, 等. 邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯对原代培养小鼠胚胎睾丸Leydig细胞功能影响研究[J]. 第三军医大学报, 2006, 28(12): 1326-1329.
[7] 董正谋, 刘鲁川, 刘宁, 等. 复方奥硝唑甲磺酸培氟沙星牙周缓释制剂对雄性大鼠的生殖毒性[J]. 第三军医大学学报, 2010, 32(22): 2365-2369.
[8] Petersen P M, Daugaard G, Rorth M, *et al*. Endocrine function in patients treated for carcinoma *in situ* in the testis with irradiation[J]. APMIS, 2003, 111(1): 93-99.
[9] Ahmadloo N, Bidouei F, Mosleh-Shirazi M A, *et al*. Impact of scattered radiation on testosterone deficiency and male hypogonadism in rectal cancer treated with external beam relvic irradiation[J]. Middle East Cancer, 2010, 1(3): 115-122.
[10] Hussein M R, Abu-Dief E E, Abou-El-Ghait A T, *et al*. Morphological evaluation of the radioprotective effects of melatonin against X-ray-induced early and acute testis damage in Albino rats: an animal model[J]. Int J Exp Pathol, 2006, 87(3): 237-250.
[11] Sivakumar R, Sivaraman P B, Mohan-Babu N, *et al*. Radiation exposure impairs luteinizing hormone signal transduction and steroidogenesis in cultured human leydig cells[J]. Toxicol Sci, 2006, 91(2): 550-556.
[12] Petersen P M, Giwercman A, Daugaard G, *et al*. Effect of graded testicular doses of radiotherapy in patients treated for carcinoma-in-situ in the testis[J]. J Clin Oncol, 2002, 20(6): 1537-1543.
[13] Sebag-Montefiore D, Stephens R J, Steele R, *et al*. Preoperative radiotherapy versus selective postoperative chemoradiotherapy in patients with rectal cancer (MRC CR07 and NCIC-CTG C016): a multicentre, randomised trial[J]. Lancet, 2009, 373(9666): 811-820.

(**收稿**:2011-04-03;**修回**:2011-05-17)
(编辑 龙 亮)

个案与短篇

文章编号:1000-5404(2011)17-1826-01

胆囊癌中 Plk1 和 FoxM1 的表达及其临床意义

王瑞涛,刘 昌,吴齐飞,周 磊,雷 磊,曲 凯,孟凡迪
(710061 西安, 西安交通大学医学院第一附属医院肝胆外科)

[**关键词**] 胆囊癌;Plk1; FoxM1;免疫组化
[**中图法分类号**] R735.8;R341;R730.2 [**文献标志码**] B

胆囊癌具有发病隐匿和预后差的特点[1],至今其病因和发病机制不明确。Plk1(polo-like kinase 1)作为Polo-like激酶家族的重要成员,与中心体成熟及肿瘤发生、发展关系密切[2]。FoxM1(Forkhead box M1)是一种增殖特异性的核转录因子,与肿瘤发生的多种信号传导通路相关[3]。二者在胆囊癌中的表达及其相互关系尚不清楚。本实验运用免疫组化法检测胆囊癌中Plk1和FoxM1的表达及其与临床病理特征的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

随机选取我院2002-2008年手术切除的胆囊癌标本(均经病理确诊)64例,男性22例,女性42例,年龄37~86岁,中位年龄47岁。在标本中距肿瘤边缘约2 cm处取癌旁组织。另取单纯性胆囊结石患者手术切除的12例正常胆囊组织作为对照组。上述患者术前均未行放化疗。

1.2 免疫组化检测蛋白表达

兔抗人Plk1单抗(稀释度1∶100)、兔抗人FoxM1单抗(稀释度1∶150)均购自美国Abcam公司;S-P试剂盒、DAB显色剂均购自中国中杉金桥生物公司。免疫组化染色按S-P试剂盒说明书进行,PBS代替一抗作阴性对照,已知阳性片作阳性对照。Plk1主要表达于细胞质,部分表达于细胞核,FoxM1主要表达于细胞核。用染色强度和阳性细胞百分比来评价阳性强弱,由两位资深病理教研室老师独立观察每张切片后综合判断。

1.3 统计学方法

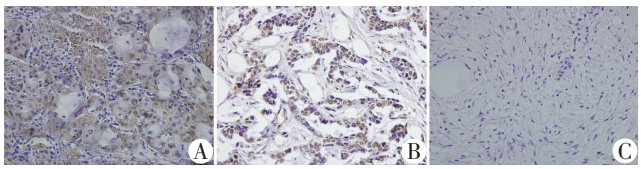
采用SPSS 16.0统计软件进行χ^2检验及Spearman等级相关分析。

[**通信作者**] 刘 昌,E-mail:eyrechang@126.com

2 结果

2.1 Plk1和FoxM1在胆囊癌、癌旁及正常胆囊组织中的表达

Plk1和FOXM1在64例胆囊癌中阳性率分别为65.6%、57.8%,在癌旁中分别为40.6%、32.8%,在12例正常胆囊组织中阳性表达均为1例(8.3%)。从胆囊癌、癌旁到正常胆囊组织Plk1和FoxM1的表达阳性率依次递减,差异具有统计学意义($P<0.05$)。见图1。



A:Plk1蛋白阳性表达呈棕黄色团块状,主要表达于细胞质,部分表达于细胞核;B:FoxM1蛋白阳性表达呈棕黄色颗粒状,主要表达于细胞核;C:正常胆囊组织中Plk1和FoxM1阴性表达

图1 Plk1和FoxM1在胆囊癌及正常胆囊组织中的表达 (S-P ×400)

2.2 Plk1和FoxM1表达与胆囊癌临床特征的关系

Plk1在40例浸润型中阳性表达(+6、++11、+++10)高于24例肿块型(+2、++1、+++12)($P<0.05$),在34例低分化中阳性表达(+5、++8、+++10)高于30例中高分化者(+3、++4、+++12)($P<0.05$),在31例Nevin分期Ⅰ~Ⅲ期中阳性表达(+5、++5、+++9)与33例Ⅳ~Ⅴ期(+3例、++7例、+++13)的差异有统计学意义($P=0.041$),在42例术后生存期

(下转1830页)

[6] Scott L, Finn A, O'Leary T, *et al*. Morphologic parameters of early cleavage-stage embryos that correlate with fetal development and delivery: prospective and applied data for increased pregnancy rates[J]. Hum Reprod, 2007, 22(1): 230-240.
[7] Salumets A, Hyden-Granskog C, Suikkari A M, *et al*. The predictive value of pronuclear morphology of zygotes in the assessment of human embryo quality[J]. Hum Reprod, 2001, 16(10): 2177-2181.
[8] Payne J F, Raburn D J, Couchman G M, *et al*. Relationship between pre-embryo pronuclear morphology (zygote score) and standard day 2 or 3 embryo morphology with regard to assisted reproductive technique outcomes[J]. Fertil Steril, 2005, 84(4): 900-909.
[9] Bar-Yoseph H, Levy A, Sonin Y, *et al*. Morphological embryo assessment: reevaluation[J]. Fertil Steril, 2011, 95(5): 1624-1628, e1-e2.
[10] 刘群, 朱桂金, 胡娟, 等. D2胚胎核状态影响胚胎质量和着床潜能[J]. 中华男科学杂志, 2008, 14(1): 26-29.
[11] Scott L. Pronuclear scoring as a predictor of embryo development[J]. Reprod Biomed Online, 2003, 6(2): 201-214.
[12] Payne D, Flaherty S P, Barry M F, *et al*. Preliminary observations on polar body extrusion and pronuclear formation in human oocytes using time-lapse video cinematography[J]. Hum Reprod, 1997, 12(3): 532-541.
[13] Liu Q, Zhu G, Hu J, *et al*. Relationship between pronuclear scoring and embryo quality and implantation potential in IVF-ET[J]. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci, 2008, 28(2): 204-206.
[14] Edirisinghe W R, Jemmott R, Smith C, *et al*. Association of pronuclear Z score with rates of aneuploidy in *in vitro*-fertilised embryos[J]. Reprod Fertil Dev, 2005, 17(5): 529-534.
[15] Weitzman V N, Schnee-Riesz J, Benadiva C, *et al*. Predictive value of embryo grading for embryos with known outcomes[J]. Fertil Steril, 2010, 93(2): 658-662.
[16] Scott L. The biological basis of non-invasive strategies for selection of human oocytes and embryos[J]. Hum Reprod Update, 2003, 9(3): 237-249.

(收稿:2011-05-06;修回:2011-06-13)
(编辑 汪勤俭)

(上接1826页)

<36个月中阳性表达(+5、++9、+++14)高于22例生存期≥36个月(+3例、++3例、+++8例)($P<0.05$)。FoxM1在47例浸润型中阳性表达(+7、++12、+++11)显著高于17例肿块型(+2、++2、+++3)($P=0.009$),在36例低分化中阳性表达(+6、++8、+++11)高于28例中高分化者(+3、++6、+++3)($P<0.05$),在30例合并淋巴转移中阳性表达(+6、++9、+++8)高于34例不合并淋巴转移者(+3、++5、+++6)($P<0.05$),在34例Nevin分期Ⅰ~Ⅲ期中阳性表达(+5、++6、+++3)与30例Ⅳ~Ⅴ期(+4、++8、+++11)的差异有统计学意义($P<0.05$),在40例术后生存期<36个月中阳性表达(+7、++12、+++10)高于24例生存期≥36个月(+2、++2、+++4)($P<0.05$)。Plk1和FoxM1在不同性别、年龄、合并胆囊病史、组织类型及术式的表达分析中差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.3 Plk1和FoxM1在胆囊癌中表达的相关性

将64例胆囊癌中Plk1和FoxM1的表达水平行Spearman等级相关性分析发现,Plk1与FoxM1的表达存在正相关关系,($r=0.403$,$P<0.05$)。

3 讨论

胆囊癌起病隐匿、早期诊断率低、预后差。研究发现在细胞周期性分裂G_1/S期及G_2/M期中心体相关激酶调节失控后中心体受损,纺锤体产生缺陷,难以准确定位并形成异倍体,引发癌基因活性或抑癌基因的缺失而使肿瘤发生[4]。Plk1在细胞周期中启动及维系有丝分裂的正常进行,参与包括中心体成熟、纺锤体形成等调节[5],Plk1由于发挥其调控功能而呈高表达状态,这与实验发现其从正常胆囊、癌旁到癌组织中表达递增相一致。由于恶性肿瘤呈侵袭性生长,Plk1发挥其调控功能而与新生肿瘤细胞伴随,本实验证实其高表达与胆囊癌的分化程度、术后生存时间等临床病理特征相关,也证实了Plk1表达于多数实体肿瘤组织且其表达具有预测预后价值[6]。

FoxM1是一种功能涉及胚胎发育、细胞周期调控、免疫调节及肿瘤发生等方面的核增殖转录调节因子,能够调节一系列与有丝分裂相关的蛋白和酶的表达,高表达于多种肿瘤细胞且阻断或抑制其表达能够显著抑制癌细胞的增殖侵袭能力[7]。这与本实验发现其从正常胆囊、癌旁到癌组织中阳性表达递增相符,且其高表达与胆囊癌的多个临床病理指标相关,其高表达的肿瘤恶性度较高,由此推测FoxM1参与的细胞增殖信号传导通路可能在胆囊癌的发生及演变中发挥作用,运用对FoxM1在其他肿瘤中的研究成果对胆囊癌的诊治进行深入探讨是可行的。

64例胆囊癌中Plk1和FoxM1的表达存在一定的相关性,由此推测二者在癌细胞的增殖过程中均不同程度地发挥作用,联合检测其表达可作为反映癌细胞增殖程度的指标。

参考文献:

[1] 石景森, 任予. 中国原发性胆囊癌的流行病学特点[J]. 中华肝胆外科杂志, 2003, 9(10): 583-584.
[2] Hanisch A, WeihnerA, Nigg E A, *et al*. Different Plk1 functions show distinct dependencies on Polo-Box domain-mediated targeting[J]. Mol Biol Cell, 2006, 17(1): 448-459.
[3] Chan D W, Yu S Y, Chiu P M, *et al*. Over-expression of FOXM1 transcription factor is associated with cervical cancer progression and pathogenesis[J]. J Pathol, 2008, 215(3): 245-252.
[4] Nakagawa Y, Numoto K, Yoshida A, *et al*. Chromosomal and genetic imbalances in synovial sarcoma detected by conventional and microarray comparative genomic hybridization[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2006, 132(7): 444-450.
[5] Strebhardt K, Ullrich A. Targeting polo-like kinase 1 for cancer therapy[J]. Nat Rev Cancer, 2006, 6(4): 321-330.
[6] Takai N, Hamanaka R, Yoshimatsu J, *et al*. Polo-like kinases (Plks) and cancer[J]. Oncogene, 2005, 24(2): 287-291.
[7] Wierstra I, Alves J. FOXM1, a typical proliferation-associated transcription factor[J]. Biol Chem, 2007, 388(11): 1257-1274.

(收稿:2011-04-08;修回:2011-06-02)
(编辑 邓强庭)