Ki67、CyclinD1 和 E-cad 在皮肤鳞状细胞癌中的表达及意义

余 琦,杨江辉,李 宁 (解放军第 309 医院病理科,北京 100091)

[摘 要] **目的** 探讨 ki67、CyclinD1 和 E-cad 在皮肤鳞状细胞癌中的作用。**方法** 采用免疫组化 SP 法检测 ki67、CyclinD1 和 E-cad 在 35 例皮肤鳞状细胞癌组织的表达,并以 10 例正常皮肤组织作为对照。**结果** ki67、CyclinD1 在皮肤鳞状细胞癌组织中表达显著高于正常对照组($P<0.05$),且与肿瘤分级相关($P<0.05$);E-cad 在皮肤鳞状细胞癌组织中表达明显低于正常对照组($P<0.05$),与肿瘤分级相关($P<0.05$);ki67 与 CyclinD1 在皮肤鳞状细胞癌中表达呈正相关($r=0.551$, $P<0.05$);ki67 与 E-cad 在皮肤鳞状细胞癌中表达不相关($P>0.05$);CyclinD1 与 E-cad 在皮肤鳞状细胞癌中表达不相关($P>0.05$)。**结论** ki67 和 CyclinD1 在皮肤鳞状细胞癌中阳性表达上调;ki67、CyclinD1 和 E-cad 均与肿瘤分级相关,可以作为判断皮肤肿瘤恶性程度的指标。

[关键词] ki67;CyclinD1;E-cad;皮肤鳞状细胞癌;免疫组织化学
[中图分类号] R739.5 [文献标识码] A [文章编号] 1672-5042(2014)04-0352-03

Expression and clinical significance of Ki67, CyclinD1 and E-cad in cutaneous squamous cell carcinoma

YU Qi, YANG Jiang-hui, LI Ning (Department of Pathology, The 309th Hospital of PLA, Beijing 100091, China)

Abstract: Objective To explore the function of Ki67, CyclinD1 and E-cad in the squamous cell carcinoma(SCC). **Methods** The expression of Ki67, CyclinD1 and E-cad in 35 cases of SCC and 10 cases of normal skin tissues were detected by immunohistochemistry SP technique. **Results** The expression rates of Ki67 and CyclinD1 in SCC were higher than those in control group ($P<0.05$), and related to

doi:10.11659/jjssx.1672-5042.201404009
[收稿日期] 2014-03-12 [修回日期] 2014-03-22

所延长[3]。同时,高效液相色谱仪的应用,一方面可以提高溶液中万古霉素浓度检测的灵敏度,另一方面,根据待测物质出现峰形的时间,还可以判断是否为万古霉素而非其他物质。

总之,通过优化万古霉素和藻酸盐混合溶液的不同比例,筛选高含量的万古霉素藻酸盐微球。再通过调整包裹万古霉素藻酸盐微球的纤维蛋白凝胶的构成成分纤维蛋白原的浓度,筛选万古霉素缓释时间长的微球,在此基础上进一步检测其对共培养细胞的毒性和对标准菌株的活性。结果显示 FG-Vanco-AB 释放的万古霉素浓度体外达到可杀灭标准菌株的时间为 19 d,对共培养细胞增殖影响微弱,提示其在骨科抗感染治疗中具有潜在的应用价值。

[参考文献]

[1] 侯天勇,罗 飞,许建中. 山羊骨髓间充质干细胞的分离培养及鉴定[J]. 局解手术学杂志,2008,17(6):376 - 378.
[2] Keshaw H, Forbes A, Day RM. Release of angiogenic growth factors from cells encapsulated in alginate beads with bioactive glass[J]. Biomaterials, 2005, 26(19): 4171 - 4179.
[3] Ueng SW, Lee SS, Lin SS, et al. Biodegradable alginate antibiotic beads [J]. Clin Orthop Relat Res, 2000, (380): 250 - 259.
[4] Xing J, Hou T, Luobu B, et al. Anti-Infection Tissue Engineering Construct Treating Osteomyelitis in Rabbit Tibia[J]. Tissue Eng Part A, 2013, 19(1 - 2): 255 - 263.
[5] Chun KH, Kwon IC, Kim YH, et al. Preparation of sodium alginate microperes containing hydrophilic β-lactam antibiotics[J]. Arch Pharm Res, 1996, 19(1): 106 - 111.
[6] Mckee MD, Wild LM, Schemitsch EH, et al. The use of an antibiotic-impregnated, osteoconductive, bioabsorbable bone substitute in the treatment of infected long bone defects: early results of a prospective trial [J]. J Orthop Trauma, 2002, 16(9): 622 - 627.
[7] Calhoun JH, Mader JT. Treatment of osteomylitis with a biodegradable antibiotic implant[J]. Clin Orthop Relat Res, 1997, (341): 206 - 214.
[8] Mehlhorn AT, Schmal H, Kaiser S, et al. Mesenchymal stem cells maintain TGF-beta mediated chondrogenic phenotype in alginate bead culture [J]. Tissue Eng, 2006, 12(6): 1393 - 1403.
[9] Mierisch CM, Cohen SB, Jordan LC, et al. Transforming growth factor-beta in calcium alginate beads for the treatment of articular cartilage defects in the rabbit[J]. Arthroscopy, 2002, 18(8): 892 - 900.
[10] Esquisabel A, Hernández RM, Igartua M, et al. Production of BCG alginate-PLL microcapsules by emulsification/internal gelation[J]. J Microencapsul, 1997, 14(5): 627 - 638.
[11] Jeon O, Ryu SH, Chung JH, et al. Control of basic fibroblast growth factor release from fibrin gel with heparin and concentrations of fibrinpgen and thrombin[J]. J Control Release, 2005, 105(3): 249 - 259.
[12] Sakiyama-Elbert SE, Hubbell JA. Development of fibrin derivatives for controlled release of heparin-binding growth factors[J]. J Control Release, 2000, 65(3): 389 - 402.

(编辑:雷 艳)

the histological grades of SCC ($P<0.05$). The expression rates of E-cad in SCC were lower than those in control group ($P<0.05$), and related to the histological grades of SCC ($P<0.05$). The expression of Ki67 and CyclinD1 was positively correlated in SCC ($r=0.551$, $P<0.05$); The expression of E-cad had no relation with Ki67 and CyclinD1 ($P>0.05$). **Conclusion** The positive rate of Ki67 and CyclinD1 was up-regulated in SCC. Ki67, CyclinD1 and E-cad were related to the histological grades of SCC, which can be used as indicators of the skin tumors.

Keywords: Ki67; CyclinD1; E-cad; skin squamous cell carcinoma; immunohistochemistry

皮肤鳞状细胞癌(squamous cell carcinoma, SCC)是一种发生在表皮上皮细胞的恶性肿瘤,是一种常见的皮肤科恶性肿瘤。该肿瘤的发生是由多种因素共同作用的结果,本试验通过免疫组化方法观察 ki67、CyclinD1 和 E-cad 3 种抗体在皮肤鳞状细胞癌中的表达以及 3 种抗体表达之间的关系,了解 3 种抗体在皮肤鳞状细胞癌的发生和发展过程中的作用,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

本组 35 例皮肤鳞癌标本均经病理确诊,其中男 26 例,女 9 例,平均 60.4 岁。对照组为外科手术皮损边缘切除组织,为正常组织,共 10 例。根据 WHO 分级,将皮肤鳞癌分为 3 级,其中Ⅰ级(高分化)15 例,Ⅱ级(中分化)13 例,Ⅲ级(低分化)7 例。

1.2 方法

采用免疫组化 SP 法,所有组织切片制作环境相同,每批切片均设阳性对照和阴性对照。Ki67、CyclinD1 和 E-cad 抗体购于北京中杉金桥生物试剂公司。

1.3 结果判断

细胞核或细胞浆内出现棕黄色反应物颗粒表达为阳性。按着色细胞百分比划分积分,1% ~25% 积 1 分:;26% ~50% 积 2 分;51% ~75% 积 3 分;76% ~100% 积 4 分。按染色强弱的深浅划分积分,无染色,0 分;弱阳性,1 分;强阳性,2 分。然后按照阳性细胞 × 染色强弱划分积分[1],阴性(-)积 1 ~2 分,弱阳性(+)积 3 ~4 分,阳性(++)积 5 ~6 分,强阳性(+++)积 7 ~8 分。

1.4 统计学分析

采用 SPSS 17.0 统计软件进行分析。两样本率的比较采用 χ^2 检验,两两之间的相关性采用 Spearman 等级相关分析,$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Ki67 表达情况

Ki67 阳性表达定位于细胞核,阳性染色细胞散在分布于表皮及癌组织中。Ki67 在鳞癌组织中阳性表达高于正常组织,2 组差异有统计学意义($\chi 2=18.579$, $P<0.05$)。在高、中、低分化组中阳性率分别为 73.3%、84.6%、100% ($\chi^2=24.795$, $P<0.05$),见表 1。

表 1 ki67 在皮肤鳞癌组织和正常皮肤组织的表达(例)

组别	n	-	+	++	+++	阳性率(%)
正常皮肤	10	9	1	0	0	10.0
鳞癌皮肤	35	6	18	6	5	82.9*

*:与正常皮肤比较,$P<0.05$

2.2 CyclinD1 表达情况

CyclinD1 阳性表达定位于细胞核和细胞浆,阳性染色细胞散在分布于表皮及癌组织中。CyclinD1 在鳞癌组织中阳性表达高于正常组织,2 组差异有统计学意义($\chi^2=9.643$, $P<0.05$)。在高、中、低分化组中阳性率分别为 46.7%、76.9%、100% ($\chi^2=13.456$, $P<0.05$),见表 2。

表 2 CyclinD1 在皮肤鳞癌组织和正常皮肤组织的表达(例)

组别	n	-	+	++	+++	阳性率(%)
正常皮肤	10	8	2	0	0	20.0
鳞癌皮肤	35	10	10	7	8	71.4*

*:与正常皮肤比较,$P<0.05$

2.3 E-cad 表达情况

E-cad 阳性表达定位于细胞浆,阳性染色细胞散在分布于表皮及癌组织中。E-cad 在鳞癌组织中阳性表达低于正常组织,两组差异有统计学意义($\chi^2=10.452$, $P<0.05$)。在高、中、低分化组中阳性率分别为 86.7%、76.9%、57.1% ($\chi^2=12.842$, $P<0.05$),见表 3。

表 3 E-cad 在皮肤鳞癌组织和正常皮肤组织的表达(例)

组别	n	-	+	++	+++	阳性率(%)
正常皮肤	10	0	1	3	5	100
鳞癌皮肤	35	8	13	10	4	77.1*

*:与正常皮肤比较,$P<0.05$

2.4 ki67、CyclinD1 和 E-cad 相关性检测

Ki67、CyclinD1 和 E-cad 三者中两两之间的关系:Ki67 与 CyclinD1 在皮肤鳞癌中表达呈正相关($r=0.551$, $P<0.05$);Ki67 与 E-cad 在皮肤鳞癌中表达不相关($r=0.113$, $P>0.05$);CyclinD1 与 E-cad 在皮肤鳞癌中表达不相关($r=0.108$, $P>0.05$),见表 4、表 5。

表 4 抗体 Ki67 与 CyclinD1、E-cad 之间的表达关系(例)

Ki67	CyclinD1 表达			E-cad 表达		
	阴性	阳性	合计	阴性	阳性	合计
阴性	5	1	6	2	4	6
阳性	5	24	29	6	23	29
合计	10	25	35	8	27	35

表 5 抗体 CyclinD1 和 E-cad 的表达关系(例)

CyclinD1	E-cad 表达		
	阴性	阳性	合计
阴性	3	7	10
阳性	5	20	25
合计	8	27	35

3 讨论

Ki67 是一种增殖细胞相关的核抗原,其功能与细胞的有丝分裂密切相关,在细胞增殖过程中是不可缺少的,但其确切机制尚不清楚,Ki67 作为标记细胞增殖状态的抗原,表达阳性说明癌细胞增殖活跃[2]。Ki67 也是一种与细胞分裂相关的核抗原,它的表达量随着细胞增殖周期不同而有所不同,是目前应用最广泛的细胞增殖标志之一。在很多常见的恶性肿瘤中,Ki67 的表达远高于正常组织细胞,并且与肿瘤的恶性生物学行为和预后相关。对此现象有 2 种解释:一是 Ki67 本身就是原癌基因,它的过度表达使得细胞能够无限制增生而导致肿瘤的发生,另一种是肿瘤的过度增生使 Ki67 抗原过度表达[3]。陈松波等[4]检测皮肤鳞癌中 Ki67 的表达,结果显示随着肿瘤细胞分化程度的降低 Ki67 表达逐渐增高。沈金翠等[5]也证明 Ki67 在皮肤鳞癌中表达活跃,且阳性率与肿瘤的恶性程度显著正相关。本研究中 Ki67 在皮肤鳞状细胞癌中表达强度明显高于正常组织,且表达强度随着肿瘤分级增高而呈增高趋势。

细胞周期蛋白(CyclinD1)是细胞周期中短暂出现的基因表达产物,具有严格的周期顺序性,与特定的 CDK(周期素依赖性激酶)结合构成复合体,可在 G1/S 交界处将信号转导途径与细胞周期调控联系起来,完成各个时期的转换,而后降解[6]。其过度表达可缩短 G1 期,并减少对生长因子的依赖性。故可在限制正常细胞生长的条件下越过 G0/S 和(或)G1/s 过渡点而持续分裂增殖。研究显示 CyclinD1 在 ATC 比 DTC 中的表达率要高,其阳性表达率与甲状腺癌、皮肤鳞状细胞癌的恶性程度、期别成正相关。CyclinD1 基因位于 11q13 染色体上,全长约 15 kD,编码含有 295 个氨基酸的蛋白,该蛋白属于核内调控蛋白[7]。CyclinD1 是细胞周期调节的主要因子之一,在细胞周期的 G1/S 期的转变中起着关键的作用。CyclinD1 在肺癌、肝癌等多种恶性肿瘤细胞中都有过量表达,本研究中 CyclinD1 在皮肤鳞癌组织中表达明显高于正常组织,表明该抗体在皮肤鳞癌的发生过程中起某种促进细胞增殖恶化的作用。这与李灵等[8]研究 CyclinD1 在皮肤鳞癌组织中的表达结果一致。

E-cad 是钙粘附蛋白家族中的一个重要组成成员,被广泛分布于各类上皮细胞表面,具有促进上皮细胞间相互粘附,是维持细胞形态和结构的完整性和极性的重要分子[9]。E-Cad 是分布在上皮组织中的糖蛋白,是调节细胞与细胞之间和细胞与基质之间粘附反应的重要媒介[4]。E-Cad 丢失或功能缺失与恶性肿瘤的发生、侵袭和转移过程密切相关,肿瘤转移过程中瘤细胞间粘附作用的下降及肿瘤细胞与基质细胞黏附的增强都有利于其脱离原发灶,发生转移[10]。本研究中 E-Cad 在皮肤鳞癌组织中的表达低于正常组织,且在高分化肿瘤中表达较多,低分化肿瘤中表达较少,E-Cad表达与肿瘤恶性程度相关。

本研究中 Ki67 和 CyclinD1 在皮肤鳞癌组织均高于正常组织,与肿瘤恶性程度正相关。二者均在细胞增殖周期中发挥作用,可能在肿瘤发展过程中协同。Ki67、CyclinD1 和 E-cad 均和皮肤鳞癌组织的分化程度相关,三者中两两之间的相互关系怎样在肿瘤发生发展过程中协调作用还有待进一步研究。

[参考文献]

[1] 颜林志,王乐丹,王洪萍. CD44v6、ICAM-1 与 E-–cadherin 在子宫内膜异位症中的表达及意义[J]. 中国妇幼保健,2010,25(15):2135–2137.

[2] 刘培淑,李爱华,董瑞英,等. Ki67 抗原在卵巢肿瘤组织中的表达及与临床病理参数的关系[J]. 现代妇产科进展,2001,10(5):362–363.

[3] 王 允,周清华,陈桂枝,等. 核增殖抗原表达基因 Ki67 与人肺癌临床病理生理特征及其预后的关系[J]. 中国胸心血管外科临床杂志,2001,8(2):103–106.

[4] 陈松波,吴华红,许锡荣,等. Ki-67,E-cad 在皮肤基底细胞癌和鳞状细胞癌的表达及其意义[J]. 实用医学杂志,2008,24(12):1085–1086.

[5] 沈金翠,李 灵. PTEN,Ki-67 和 CyclinD1 在皮肤鳞状细胞癌中的表达及意义[J]. 中国皮肤性病学杂志,2012,26(8):674–678.

[6] 李春蕊,张木勋,刘文励. 甲状腺肿瘤中细胞周期蛋白 D1、pRb 的表达[J]. 华中科技大学学报(医学版),2002,31(6):712–713.

[7] Williamaon JD, Miller ME, Bryan RN, et al. The action to control cardiovascular risk in diabetes memory in diabetes study (ACCORD–MIND): rationale, design, and methods[J]. Am J Cardioi, 2007, 99(12A):112–122.

[8] 李 灵,杨 红,李 科,等. PTEN,CyclinD1 在皮肤鳞状细胞癌中的表达和意义[J]. 四川医学,2011,32(1):16–17.

[9] 罗金明,陈少贤. E-钙粘蛋白与肺癌侵袭转移[J]. Int J Intern Med, 2007,34(8):441–444.

[10] Madahvan M, Srinvas P, Abraham E, et al. Cadherins as predictive markers of nodal metastasis in breast cancer[J]. Mod Pathol,2001,14(5):423–427.

(编辑:周小林)