

## P21 及 CDK6 与宫颈鳞状细胞癌的关系

刘 静,江 叶,闵 敏,许建琼,袁 华,曾 淋,宋大萍<sup>△</sup>

(四川省绵阳市第三人民医院病理科 621000)

**[摘要]** **目的** 观察 P21、CDK6 在宫颈鳞状细胞癌中的表达情况,探讨其与宫颈鳞状细胞癌的关系。**方法** 采用免疫组织化学 ABC 法检测 100 例宫颈鳞状细胞癌、20 例宫颈上皮内瘤变(CIN)及 20 例正常宫颈组织中 P21 及 CDK6 的表达情况,分析他们与癌组织分化程度、浸润深度、淋巴结转移及临床分期的关系。**结果** 宫颈鳞状细胞癌组织的 P21 及 CDK6 表达率均明显高于 CIN 组及正常组;P21 的低表达与肿瘤浸润深度、淋巴结转移及临床分期( $P<0.05$ )有关,与肿瘤分化程度( $P>0.05$ )无关;CDK6 的高表达与肿瘤分化程度、浸润深度、淋巴结转移及临床分期( $P<0.05$ )均有关。**结论** P21 及 CDK6 表达异常可能在宫颈鳞状细胞癌的发生、发展中起重要作用;且二者对判断宫颈鳞状细胞癌的预后有一定意义。

**[关键词]** P21;细胞周期蛋白依赖激酶 6;宫颈肿瘤;肿瘤,鳞状细胞

**[中图分类号]** R737.33

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-8348(2017)23-3231-03

## Expression and significance of P21 and CDK6 protein in cervical squamous cell carcinoma

Liu Jing, Jiang Ye, Min Min, Xu Jianqiong, Yuan Hua, Zeng Lin, Song Daping<sup>△</sup>

(Department of Pathology, the Third People's Hospital of Mianyang city, Mianyang, Sichuan 621000)

**[Abstract]** **Objective** To observe the expression of P21 and CDK6 in cervical squamous cell carcinoma, and to investigate the relationship between their expression and cervical squamous cell carcinoma. **Methods** The expression of CDK6 and P21 in 100 cases of cervical squamous cell carcinoma, 20 cases of cervical CIN lesions and 20 cases of normal cervical tissues were detected by immunohistochemical ABC method, and the relationship between them and tumor differentiation, invasion depth, lymph node metastasis and clinical stage were analyzed. **Results** The expression rates of P21 and CDK6 in cervical squamous cell carcinoma tissues were significantly higher than those in CIN lesions and normal cervical tissues; The low expression of P21 was associated with the depth of tumor invasion, lymph node metastasis and clinical stage ( $P<0.05$ ), and was not associated with the degree of tumor differentiation ( $P>0.05$ ); The high expression of CDK6 was associated with tumor differentiation, invasion depth, lymph node metastasis and clinical stage ( $P<0.05$ ). **Conclusion** The abnormal expression of P21 and CDK6 may play an important role in the occurrence and development of cervical squamous cell carcinoma, and the two may have a certain significance in the prognosis of cervical squamous cell carcinoma.

**[Key words]** P21 protein; cyclin-dependent kinase 6; uterine cervical neoplasms; neoplasms, squamous cell

近年来对于肿瘤发生、发展的分子机制研究很多,发现细胞癌变与细胞周期调控异常密切相关,细胞周期素依赖性激酶(CDK)推动细胞过度增殖,细胞 CDK 抑制剂抑制细胞过度增殖<sup>[1]</sup>。宫颈癌是一渐进性的细胞周期调控机制破坏的疾病,其发生是细胞增殖生长的调控与调节严重紊乱的结果<sup>[2]</sup>。本研究检测 CDK6 及 CDK I P21 在宫颈鳞状细胞癌中的表达情况,探讨其与宫颈鳞状细胞癌的关系,评价其对于宫颈癌患者的预后意义。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 所有病例及标本均为本院 2011 年 1 月至 2015 年 1 月经病理诊断为宫颈鳞状细胞癌和宫颈上皮内瘤样变(CIN)的组织,以及因其他原因行子宫全切除术而宫颈正常组织,并经过复验证实。病理诊断、分类均参照 WHO 的分类标准,临床病理分期均按宫颈癌国际妇产科联盟 2000 年(FIGO 2000)标准。选择对象均无术前放、化疗史,术后均有随访。其中宫颈鳞状细胞癌组 100 例, CIN 组 20 例,正常宫颈组 20 例。宫颈鳞状细胞癌组低分化 19 例,中高分化 81 例;临床病理分期 I、II 期 83 例, III、IV 期 17 例;有淋巴结转移 16 例,无淋巴结转移 84 例。全部标本均为 5% 中性甲醛固定,常规石蜡包埋切片。

**1.2 方法** 采用免疫组织化学 ABC 法对本标本进行 P21、

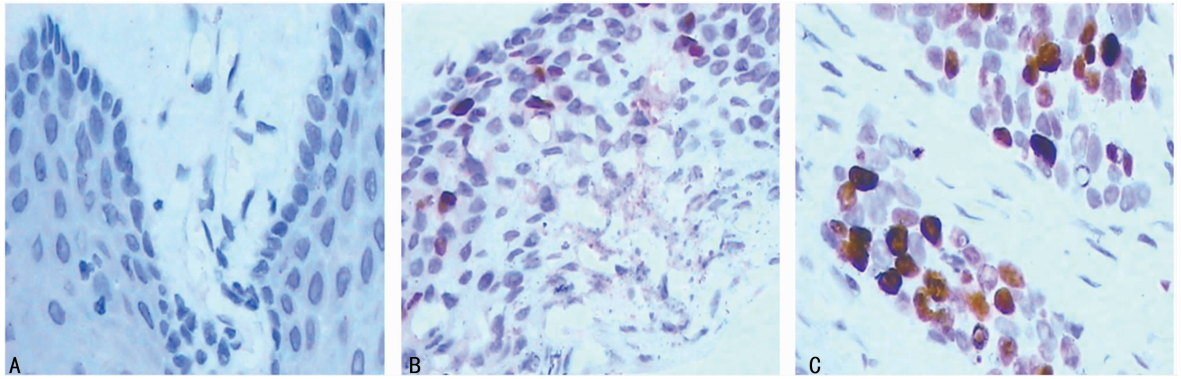
CDK6 检测。即用型非生物素聚合物免疫组织化学 Polink-1 检测试剂盒(PV-6000)及鼠抗 P21、CDK6 单克隆抗体(工作液)均来自北京中杉金桥公司。以 PBS 液代替一抗作为阴性对照,以已知的多次试验对照有效的宫颈癌标本作为阳性对照。全部切片均厚 4  $\mu\text{m}$ 。

**1.3 判断标准** P21 阳性着色定位于细胞核,细胞核出现棕黄色颗粒则为阳性细胞;反之,则为阴性细胞。CDK6 阳性着色定位于细胞核、细胞质,细胞核、细胞质出现棕黄色颗粒则为阳性细胞;反之,则为阴性细胞。随机抽取 20 个高倍视野,计数大于或等于 500 个肿瘤细胞,按阳性细胞所占百分比分级如下:阳性细胞数小于 10% 为阴性表达;阳性细胞数大于或等于 10% 为阳性表达。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS13.0 软件进行统计分析,计数资料用率表示,率的比较采用四格表  $\chi^2$  检验,检验水准  $\alpha=0.05$ ,以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

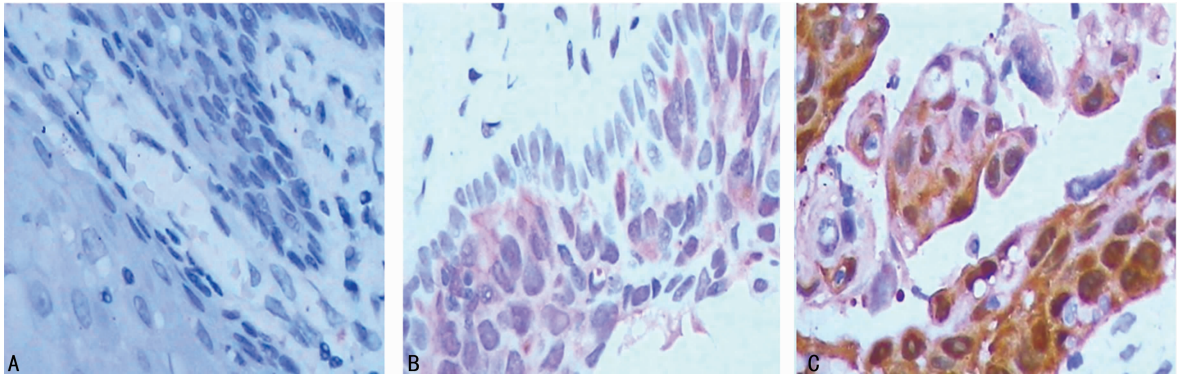
## 2 结果

**2.1 P21 与 CDK6 在各组中表达** P21 在正常宫颈组、CIN 组及宫颈鳞状细胞癌组中的阳性表达率逐渐升高(依次为 0、15.0%、44.0%),宫颈鳞状细胞癌组与正常宫颈组相比差异有统计学意义( $P<0.01$ ),宫颈鳞状细胞癌组与 CIN 组相比差异有统计学意义( $P<0.05$ )。CDK6 在正常宫颈组、CIN 组及宫



A:正常宫颈组;B:CIN组;C:鳞状细胞癌组

图1 P21在各组中的表达(×400)



A:正常宫颈组;B:CIN组;C:鳞状细胞癌组

图2 CDK6在各组中的表达(×400)

颈鳞状细胞癌组中的阳性表达率逐渐升高,宫颈鳞状细胞癌组与正常宫颈组比较差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),宫颈鳞状细胞癌组与 CIN 组比较差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),见图 1、2 及表 1。

表1 P21与CDK6在各组中的表达情况[n(%)]

组别	n	P21 阳性	CDK6 阳性
正常宫颈组	20	0	1(5.0)
CIN 组	20	3(15.0)	7(35.0)
宫颈鳞状细胞癌组	100	44(44.0)	67(67.0)

表2 P21、CDK6 阳性表达与临床病理特征的关系[n(%)]

临床病理	n	P21 阳性	P	CDK6 阳性	P
分化程度			>0.05		<0.05
高中	79	38(48.1)		49(62.0)	
低	21	6(28.6)		18(85.7)	
浸润深度			<0.05		<0.05
<1/2 间质	36	23(63.9)		19(52.8)	
≥1/2 间质	64	21(32.8)		48(75.0)	
淋巴结转移			<0.05		<0.05
有	18	4(22.2)		16(88.9)	
无	82	40(48.8)		51(62.2)	
FIGO 分期			<0.05		<0.05
I、II	68	35(51.4)		41(60.3)	
III、IV	32	9(28.1)		26(81.3)	

2.2 P21 及 CDK6 的表达与肿瘤临床病理特征的相关性 P21 在高中分化及低分化宫颈鳞状细胞癌组中的阳性表达率逐渐降低(分别为 48.1%、28.6%),但差异无统计学意义( $P > 0.05$ );P21 的阳性表达降低与肿瘤浸润深度( $P < 0.05$ )及淋巴结转移( $P < 0.05$ )相关;在 FIGO 分期中, I、II 期 P21 表达与 III、IV 期相比差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。CDK6 的阳性表达与肿瘤分化程度( $P < 0.05$ )、浸润深度( $P < 0.05$ )、淋巴结转移( $P < 0.05$ )相关;在 FIGO 分期中, I、II 期 CDK6 表达与 III、IV 期比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 2。

### 3 讨论

肿瘤是一种细胞周期性疾病,细胞周期主要依靠细胞周期素(cyclin)、CDK 及周期蛋白依赖性激酶抑制因子 CKI 三者的相互作用进行调控,cyclin 和 CDK 是细胞周期正调节蛋白,CKI 是细胞周期负调节蛋白<sup>[3]</sup>。

CDKs 处于细胞周期调控中心,在细胞周期的特定时相激活或失活,其异常表达可使细胞周期调控发生障碍,导致肿瘤发生<sup>[4]</sup>。许多研究一致表明胃癌<sup>[5]</sup>、肝癌<sup>[6]</sup>、子宫内膜腺癌<sup>[7]</sup>、口腔鳞状细胞癌<sup>[8]</sup>等的 CDK6 蛋白水平表达增高。本研究在 67% 的宫颈鳞状细胞癌组织标本中检测到 CDK6 蛋白水平也异常增高,并发现 CDK6 的阳性表达与宫颈鳞状细胞癌的分化程度、浸润深度、淋巴结转移情况及临床分期相关,提示 CDK6 有可能成为预测宫颈鳞状细胞癌预后的新指标,并为肿瘤的基因治疗提供新途径。

CKIs 家族成员包括 P16、P21、P27、P15。1993 年,Harper 分离出 P21 的 cDNA<sup>[9]</sup>。P21 蛋白可抑制 CDK2 和 CDK4/6 的活性,使去磷酸化 Rb 水平升高,抑制转录因子 E2F 所调控基因的激活,使细胞周期停滞于 G2 期<sup>[10]</sup>。所以理论上 P21 的表达水平在肿瘤中应该降低。但对现有的关于肝癌<sup>[11]</sup>、直肠癌<sup>[12]</sup>、淋巴瘤<sup>[13]</sup>、外阴癌<sup>[14]</sup>等 P21 的表达情况及意义的文献

进行分析,结果尚不一致。本研究发 现 P21 在宫颈鳞状细胞癌中 高表达,但随着肿瘤的分化程度变 差,浸润深度加深,有淋巴结转移 及临床分期晚时,P21 的表达逐渐 降低,且除了分化程度外( $P>0.05$ ),均有 明显相关性( $P<0.05$ ),这与张宏 等<sup>[15]</sup>的研究结果一致。P21 在宫颈 鳞状细胞癌中表达升高的发生机制 有待进一步研究探讨。

#### 参考文献

- [1] Mahler M, Miyachi K. The clinical significance of autoantibodies to the proliferating cell nuclear antigen[J]. *Autoimmun Rev*, 2012, 11(10): 771-775.
- [2] 沈树娜,王俊飞,王辉. HPV 和 CDK6 与宫颈癌的相关性研究[J]. *中国妇幼保健研究*, 2014, 25(1): 42-44.
- [3] 韦伟,龚建平,裘法祖. 细胞周期调控与肿瘤的发生发展[J]. *癌症*, 1999, 18(1): 95-97.
- [4] Evan GI, Vousden KH. Proliferation, cell cycle and apoptosis in tMulcer[J]. *Nature*, 2001, 411(6835): 342-348.
- [5] 潘新民,徐国辉,秦豪杰,等. 胃癌中 CDK6mRNA 表达变化研究[J]. *河南科技大学学报*, 2014, 32(2): 81-83.
- [6] 车宇芳,叶飞,青海涛,等. XIAP 通过调节 CDK4/CDK6/cyclin D1 复合物表达促进肝癌细胞增殖[J]. *胃肠病学和肝病杂志*, 2011, 20(10): 939-944.
- [7] 廖秀芳,林宇静,曹婉维. CyclinD1、Cdk6 在子宫内膜腺癌中的表达与临床意义[J]. *中国实用医学*, 2013, 8(8): 27-28.
- [8] Yuan S, Qu Y, Dang S, et al. MiR-145 inhibits oral squamous cell carcinoma (OSCC) cell growth by targeting c-Myc and Cdk6[J]. *Cancer Cell Int*, 2013, 13(1): 51.

- [9] Harper WJ, Adami GR, Wei N, et al. The p21 cdk-intraer-actin proteincipl is a protent inhibitor of G1 cyclin-dependent kinases[J]. *Cell*, 1993, 75: 805-816.
- [10] Wilson AJ, Byun DS, Popova N, et al. Histone deacetylase 3(HDAC3) and other class I HDACs regulate colon cell maturation and p21 expression and are deregulated in human colon cancer[J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(9): 13548-13558.
- [11] Baddour N, Farrag E, Zeid A, et al. Decreased apoptosis in advanced-stage/high-grade hepatocellular carcinoma complicating chronic hepatitis C is mediated through the downregulation of p21 ras[J]. *Chin J Cancer Res*, 2013, 25(3): 281-288.
- [12] 张文娟,鲁植艳,杨桂芳,等. 骨桥蛋白和 p21 蛋白在直肠癌组织中的表达及意义[J]. *临床外科杂志*, 2010, 18(9): 609-611.
- [13] 徐刚,王槐富,何刚,等. 鼻腔 NK/T 细胞淋巴瘤中 P53、P21 表达及其临床意义[J]. *四川大学学报*, 2010, 41(1): 132-136.
- [14] 罗雪慧,范余娟,杨开选,等. FHIT 蛋白和 p21 蛋白在外阴癌和外阴尖锐湿疣中表达的研究[J]. *广西医科大学学报*, 2010, 27(1): 29-31.
- [15] 张宏,刘晓伟,苏秀兰. 胃癌组织中 P53 蛋白及 Ras P21 蛋白的表达及意义[J]. *现代肿瘤医学*, 2012, 20(11): 2344-2348.

(收稿日期:2017-03-20 修回日期:2017-05-11)

(上接第 3230 页)

#### 参考文献

- [1] Xie H, Sun H, Li Z, et al. Successful fluid resuscitation in a patient with high extravascular lung water index by restricted fluid infusion strategy under pulse indicator continuous cardiac output monitoring[J]. *Am J Emerg Med*, 2015, 33(5): e1-e4.
- [2] Duan J, Cong LH, Wang H, et al. Clinical evaluation compared to the pulse indicator continuous cardiac output system in the hemodynamic assessment of critically ill patients[J]. *Am J Emerg Med*, 2014, 32(6): 629-633.
- [3] 顾亚楠,宋云林,窦清理. PICCO 与心脏彩色多普勒超声测量感染性休克心排血量的比较研究[J]. *中国急救医学*, 2014, 34(1): 35-38.
- [4] Ameloot K, Palmers PJ, Malbrain ML. The accuracy of noninvasive cardiac output and pressure measurements with finger cuff: a concise review[J]. *Curr Opin Crit Care*, 2015, 21(3): 232-239.
- [5] 陈灏珠,林果为. 实用内科学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2009: 1597.
- [6] 刘大为. 实用重症治疗学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2010: 410.
- [7] 李锦爽,陈军,程春齐,等. 脉搏指数连续心输出量监测在急性心肌梗死合并心源性休克患者中的应用[J]. *中国循*

证心血管医学杂志, 2014, 7(5): 545-547.

- [8] 陈小枫,叶纪录,朱志云,等. 脉搏指示连续心排血量监测指导高容量血液滤过治疗急性呼吸窘迫综合征的评价[J]. *中华危重病急救医学*, 2014, 26(9): 650-654.
- [9] 许秀娟,孟建标,张庚. PICCO 监测下的感染性休克早期液体复苏对血管外肺水的影响[J]. *实用医学杂志*, 2012, 28(7): 1110-1112.
- [10] 冯辉斌,张晓兵,童利群,等. PICCO 监测在脓毒性休克患者中的应用分析[J]. *安徽医药*, 2014(10): 1908-1910.
- [11] Dong ZZ, Fang Q, Zheng X, et al. Passive leg raising as an indicator of fluid responsiveness in patients with severe sepsis[J]. *World J Emerg Med*, 2012, 3(3): 191-196.
- [12] Ambrisko TD, Coppens P, Kabes R, et al. Lithium dilution, pulse power analysis, and continuous thermodilution cardiac output measurements compared with bolus thermodilution in anaesthetized ponies[J]. *Br J Anaesth*, 2012, 109(6): 864-869.
- [13] 蔡云,王雄雄,吕志刚,等. PICCO 监测对指导危重患者容量管理的临床研究[J]. *中国现代医生*, 2015, 9(2): 11-13.
- [14] 于翠珍. 慢性肺心病伴发急性心肌梗死临床分析[J]. *中国实用医药*, 2010, 5(12): 103-104.
- [15] 冯丽钦,饶丹灵,牛玉萍,等. PICCO 监测治疗在 CCU 危重患者的应用及护理[J]. *中外医疗*, 2013, 32(26): 31-32.

(收稿日期:2017-03-16 修回日期:2017-04-17)