

了小部分;重度 HIE 的异常 EEG 形式主要为电静息 (占 57.1%), 爆发 - 抑制 (14.3%), 痫性放电 (19.1%), 而反映 EEG 轻度异常的形式低电压, 背景波率慢 (9.5%) 很少见。说明 EEG 的严重程度与新生儿 HIE 的临床分度相符, 这与高晶^[4]、谭小红^[5]、裴竹英^[6] 等学者的研究结果相一致。EEG 是脑功能直接的反应, 新生儿 HIE 发生时, 脑部受到轻度损害时可导致脑血流量轻微灌注不足, 脑组织水肿, 从而 EEG 表现为背景波局部电压降低。当严重缺氧缺血性脑损伤发生后, 脑组织进行无氧代谢产生乳酸堆积使脑组织代谢出现异常, 有惊厥发作时因加重患儿通气障碍和大量消耗氧及能量, 进一步脑缺氧、缺血和梗死, 促使脑组织进一步死亡和凋亡, EEG 表现为背景波电压平坦近似于电静息现象; 爆发 - 抑制; 尖波、棘波等阵发性放电; 两侧大脑损害程度不一样时则表现为两侧脑电波不对称。因

此研究 HIE 的 EEG 改变, 对于 HIE 病情的评估具有重要意义。

参考文献

- 1 福田幸夫 [日], 张书香. 小儿实用脑电图学 [M]. 北京: 人民卫生出版社. 1987: 57 - 83.
- 2 刘晓燕. 新生儿脑电图及其在评价脑损伤中的应用 [J]. 中国实用儿科杂志, 2006, 21(3): 228 - 230.
- 3 刘康. 新生儿缺氧缺血性脑病脑电图与临床相关性分析 [J]. 实用医药杂志, 2007, 24(7): 802 - 804.
- 4 高晶. 脑电图监测在新生儿缺氧缺血性脑病中的价值 [J]. 中国妇幼保健, 2008, 23(13): 1879 - 1880.
- 5 谭小红, 谭军. 脑电图检查在新生儿缺氧缺血性脑病中的价值 [J]. 中国实用神经疾病杂志, 2007, 10(6): 113.
- 6 裴竹英, 皮桂莲, 杨悦琴, 等. 脑电图对新生儿缺氧缺血性脑病的诊断及预后评估 [J]. 中国优生与遗传杂志, 2006, 14(3): 93 - 95.

[收稿日期 2009 - 03 - 13] [本文编辑 韦挥德 黄晓红]

临床研究

抑癌基因 PTEN 与 Cyclin D1/CDK4 在口腔鳞癌中的表达及其相关性分析

陈红英, 谢思明

作者单位: 533000 百色, 广西百色市妇幼保健院口腔科

作者简介: 陈红英 (1968 -), 女, 本科, 学士, 主治医师, 研究方向: 口腔疾病诊治。E-mail: chenhy6151@126.com

[摘要] 目的 通过检测口腔鳞癌及癌前病变中抑癌基因 PTEN 与 Cyclin D1/CDK4 的表达, 分析其相关性, 初步探讨 PTEN 在口腔鳞癌中的意义。方法 通过免疫组化 SP 法检测 60 例口腔鳞癌、15 例单纯增生、25 例异常增生中 PTEN、Cyclin D1/CDK4 的表达, 以 10 例正常口腔黏膜为对照。结果 在口腔鳞癌中 PTEN 阴性、弱阳性表达的占 21.8%, 显著低于正常组、单纯增生组及异常增生组 ($P < 0.01$); Cyclin D1 及 CDK4 在 OSCC 中均以阳性表达及强阳性表达为主, 分别占 53.3% 和 100%, 显著高于正常组、单纯增生组及异常增生组 ($P < 0.01$)。PTEN 与 Cyclin D1、CDK4 间呈显著的负相关关系, Cyclin D1 与 CDK4 间呈显著的正相关关系。结论 研究结果提示 PTEN 在口腔鳞癌的发生发展过程中起着一定的作用; 在口腔鳞癌中 PTEN 可能是通过下调 Cyclin D1/CDK4, 从而抑制细胞的生长。

[关键词] 口腔鳞癌; 免疫组化; PTEN; Cyclin D1; CDK4

[中图分类号] Q 753 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674 - 3806(2009)07 - 0700 - 05

doi:10.3969/j.issn.1674 - 3806.2009.07.15

Expression of tumor suppressor gene PTEN, Cyclin D1, CDK4 in oral squamous cell carcinoma and the analysis of their correlations CHEN Hong - ying, XIE Shi - ming. Baise Women and Children's Health Hospital, Baise Guangxi 533000, China

[Abstract] **Objective** To detect the expression of PTEN, Cyclin D1 and CDK4 in oral squamous cell carcinoma.

noma (OSCC) and analyze the relationship between PTEN, Cyclin D1 and CDK4. **Methods** Immunohistochemical staining by SP method was used to detect the expression of PTEN, Cyclin D1, CDK4 in 60 cases of OSCC, 25 cases of dysplasia, 15 cases of simple hyperplasia, and 10 cases of normal oral membrane. **Results** The negative or low expression of PTEN in OSCC group was 21.8%, which was significantly lower than that in normal, simple hyperplasia and dysplasia group. The positive expression of Cyclin D1 and CDK4 in most of OSCC group were observed, which was 53.3% and 100%, respectively, and was much higher than those in normal, simple hyperplasia and dysplasia group. The negative correlation between PTEN with Cyclin D1 and CDK4 and the positive correlation between Cyclin D1 and CDK4 were observed. **Conclusion** Our findings suggest that the tumor suppress gene PTEN may play a role in the pathogenesis of OSCC. In OSCC, PTEN may down-regulate the expression of Cyclin D1/CDK4, which results in the suppression of cell growth.

[Key words] Oral squamous cell carcinoma; Immunohistochemistry; PTEN; Cyclin D1; CDK4

与张力蛋白同源 10q 丢失的磷酸酶基因 (Phosphatase and tensin homology deleted on chromosome 10, PTEN) 是 1997 年由三个研究小组发现的一种具有磷酸酶活性的抑癌基因^[1]。研究表明, PTEN 在许多肿瘤中均有异常表达, 而且与细胞周期的关系比较密切。目前在口腔癌中有关 PTEN 与细胞周期关键蛋白 Cyclin D1/CDK4 之间关系的研究较少。本文拟通过检测口腔鳞癌 (oral squamous cell carcinoma, OSCC) 及与癌变密切相关的病变口腔扁平苔藓 (oral lichen planus, OLP)、口腔黏膜白斑 (oral leukoplakia, OLK) 中 PTEN 的表达情况, 并探讨其与肿瘤组织学类型的关系及与细胞周期 Cyclin D1、CDK4 之间的关系。

1 材料及方法

1.1 标本 收集 2002-01~2008-01 广西百色市妇幼保健院口腔科和暨南大学医学院 OSCC、OLK 和 OLP 病例的活检标本和手术切除标本 (均为原发病例, 患者术前均未采用化疗、放疗治疗), 另取正常口腔黏膜 (normal oral mucosa, NOM) 作对照。所有病例均根据 WHO 诊断标准, 由口腔病理专家确诊并筛选出合适的标本, 共 110 例, 其中 NOM 10 例, OLP、OLK 各 20 例, OSCC 60 例。然后进行分组: NOM 组 10 例作为正常对照组; 根据 OLP 和 OLK 的病理学形态, 将其分为单纯增生组 (Simple Hyperplasia, SH) 25 例和异常增生组 (Dysplasia, Dys) 15 例; 根据 OSCC 的分化程度分为 OSCC I、II、III 级, 各 20 例。

1.2 免疫组织化学方法

1.2.1 主要试剂 鼠抗人 PTEN 单抗 (工作型) (北京中山生物技术有限公司); 鼠抗人 Cyclin D1 单抗及 CDK4 (浓缩型) (福州迈新生物技术开发公司), 工作浓度均为 1:100。链霉素抗生物素蛋白-过氧化物酶 (streptavidin-peroxidase, SP) 试剂盒及

DAB 显色液 (福州迈新生物技术开发公司)。

1.2.2 染色方法 标本经常规石蜡包埋, 4 μm 连续切片, 常规脱蜡、水化, 微波修复, 采用 SP 法免疫组织化学染色, DAB 显色, 苏木素复染。用 PBS 代替一抗作为空白对照, 淋巴结组织作为阴性对照, 已知阳性片作为阳性对照。结果在光学显微镜下进行半定量分析。

1.2.3 免疫组化结果判断 PTEN、CDK4 表达产物均定位于胞浆, 呈黄色或棕褐色; Cyclin D1 阳性表达于胞核。显微镜下随机选取 10 个高倍视野 (×400), 计数阳性细胞所占的百分比, 并分为四个等级: 阳性细胞比例 <10% 为 (-) (阴性), 11%~50% 为 (+) (弱阳性), 50%~75% 为 (++) (阳性), >75% 为 (+++) (强阳性)。采用单盲法统计实验结果。

1.3 统计学方法 采用 SPSS12.0 软件进行统计学处理, 因各指标均为等级资料, 故其组间的比较采用非参数秩和检验 Kruskal Wallis Test; 而各指标间的相关关系则采用 Spearman 等级相关分析, 检验水准均取双侧 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 PTEN 的表达情况 PTEN 在各组中的表达情况见表 1。PTEN 在正常组、单纯增生和异常增生组中主要均呈强阳性表达, 尤以基底层细胞和棘细胞显著, 主要表达于胞浆。在这三组中 PTEN 的表达差异无统计学意义 ($\chi^2=4.55, P=0.103>0.05$)。在 OSCC 组中 PTEN 主要表达在癌巢中央分化较好的细胞和角化珠附近 (图 1), 阴性表达和弱阳性表达占 21.8% (13/60), 与正常组、单纯增生组、异常增生组相比差异有统计学意义 ($\chi^2=12.40, P=0.0004<0.01$)。PTEN 在 OSCC 各组间的表达差异无统计学意义 ($\chi^2=2.16, P=0.340>0.05$)。

表 1 PTEN 在各组中的表达情况

Group	例数	(-)	(+)	(++)	(+++)
NOM*	10	0	0	0	10
SH*	25	0	1	1	23
Dys	15	0	1	3	11
OSCC	60	5	8	12	35
OSCC I	20	1	1	4	14
OSCC II	20	1	3	6	10
OSCC III	20	3	4	2	11
Total	115	5	10	17	83

注: * NOM、SH 与 Dys、OSCC 相比,经 Kruskal Wallis Test, $P = 0.0004 < 0.01$

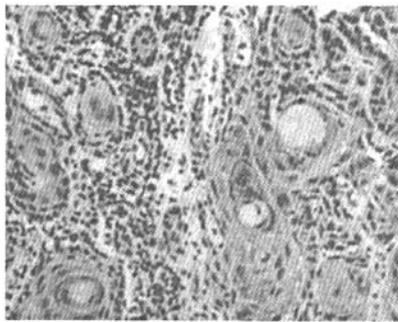


图 1 PTEN 在口腔鳞癌中的表达,主要表达于胞浆 (免疫组化 SP 法, DAB 显色, $\times 400$)

2.2 Cyclin D1 的表达情况 Cyclin D1 在各组中的表达情况见表 2。在正常组、单纯增生组和异常增生组中主要为阴性或弱阳性表达,分别占 70.0% (7/10)、88.0% (22/25) 和 80.0% (12/15),其表达差异无统计学意义 ($\chi^2 = 2.88, P = 0.237 > 0.05$)。在 OSCC 中阳性或强阳性表达的占 53.3% (32/60),主要表达在细胞核(图 2),与正常组、单纯增生组、异常增生组相比差异有统计学意义 ($\chi^2 = 22.65, P = 0.000001 < 0.01$),而在 OSCC 各组间的表达差异无统计学意义 ($\chi^2 = 1.40, P = 0.498 > 0.05$)。

表 2 Cyclin D1 在各组间的表达情况

Group	例数	(-)	(+)	(++)	(+++)
NOM*	10	7	2	1	0
SH	25	12	10	3	0
Dys	15	5	7	3	0
OSCC*	60	10	18	18	14
OSCC I	20	2	8	5	5
OSCC II	20	3	8	7	2
OSCC III	20	5	2	6	7
Total	115	35	40	26	14

注: * OSCC 与 NOM、SH、Dys 相比,经 Kruskal Wallis Test, $P = 0.000001 < 0.01$

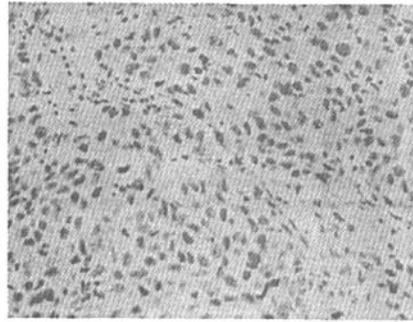


图 2 Cyclin D1 在口腔鳞癌中的表达,主要表达于细胞核 (免疫组化 SP 法, DAB 显色, $\times 400$)

2.3 CDK4 的表达情况 CDK4 在各组中的表达情况见表 3。CDK4 在正常口腔黏膜上皮细胞、单纯增生组、异常增生组中均以阳性或强阳性表达为主,其表达差异无统计学意义 ($\chi^2 = 0.060, P = 0.97 > 0.05$)。在 OSCC 组也全为阳性或强阳性表达,强阳性表达占 95.0% (57/60),主要表达于胞浆(图 3),与正常组、单纯增生组及异常增生组相比差异有统计学意义 ($\chi^2 = 22.64, P = 0.000001 < 0.01$)。OSCC 各组间的比较差异无统计学意义 ($\chi^2 = 1.80, P = 0.41 > 0.05$)。

表 3 CDK4 在各组中的表达情况

Group	例数	(-)	(+)	(++)	(+++)
NOM	10	0	2	2	6
SH*	25	2	4	4	15
Dys	15	0	3	4	8
OSCC	60	0	0	3	57
OSCC I	20	0	0	3	17
OSCC II	20	0	0	1	19
OSCC III	20	0	0	0	20
Total	115	2	8	14	91

注: * NOM、SH 与 Dys、OSCC 相比,经 Kruskal Wallis Test, $P = 0.000 < 0.01$

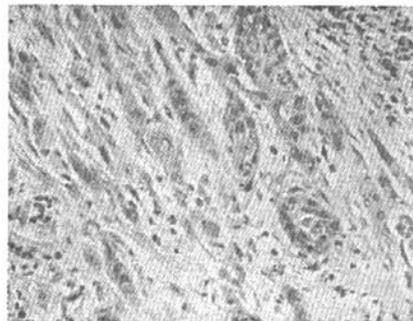


图 3 CDK4 在口腔鳞癌中的表达,主要表达于胞浆 (免疫组化 SP 法, DAB 显色, $\times 400$)

2.4 PTEN、Cyclin D1、CDK4 之间的相关关系 经 Spearman 等级相关分析,PTEN 与 Cyclin D1、CDK4 之间均呈负相关(r 分别为 -0.28 和 -0.34 , P 分别为 0.000 和 0.003 , 均 <0.01); Cyclin D1 与 CDK4 之间也呈显著的正相关($r = 0.32$, $P = 0.000 < 0.01$)。

3 讨论

3.1 已发现 PTEN 在许多肿瘤中都有异常表达,被认为是继 p53 之后另一种改变较广泛、与肿瘤发生关系较密切的抑癌基因。PTEN 是 1997 年发现的一种抑癌基因,定位于 10q23.3,全长约 200 Kb,编码由 403 个氨基酸组成的蛋白,是迄今为止发现的第一个具有磷酸酶活性的抑癌基因^[1]。本研究结果表明,PTEN 在正常口腔黏膜上皮、单纯增生和异常增生组中主要为强阳性表达,而有 21.8% 的 OSCC 其 PTEN 蛋白表达缺失或减少,与正常组、单纯增生、异常增生组相比差异有统计学意义($P < 0.01$),表明 PTEN 在 OSCC 中表达下调,这与国内外学者的研究结果基本一致^[2-4],提示在口腔癌的发生和发展过程中 PTEN 起着一定的作用。本研究还观察到,在 OSCC 中,PTEN 主要分布在分化较好的细胞和角化珠中,在分化较差的细胞中其表达有所降低,但经统计学检验,PTEN 与 OSCC 的分化程度无差异;但也有学者认为 PTEN 与 OSCC 的组织学分型以及预后相关,并提出 PTEN 可作为评价患者预后的指标之一^[2]。这可能与本研究的例数还不够多有关。

3.2 Cyclin D1/CDK4 在细胞周期的调控中起着关键的作用。正常情况下 Cyclin D1 处于低表达,当其表达增加时可促进细胞的增生,导致肿瘤的发生。本研究观察到 Cyclin D1 在正常口腔黏膜上皮中、单纯增生组和异常增生组中以阴性或弱阳性表达为主,三者相比差异无统计学意义($P > 0.05$)。在 OSCC 中 Cyclin D1 为阳性或强阳性表达的占 53.3%,与正常、单纯增生、异常增生组相比,差异有统计学意义($P < 0.01$),表明 Cyclin D1 在 OSCC 中表达上调,这与肿瘤细胞增殖比较旺盛的特点相一致。CDK4 在正常口腔黏膜、单纯增生、异常增生组中均以阳性或强阳性表达为主,差异无统计学意义($P > 0.05$);正常、单纯增生、异常增生组与 OSCC 组比较,差异有统计学意义($P < 0.01$)。这说明 CDK4 在正常细胞中也有一定的表达,而在肿瘤细胞中其表达显著上调。这与陈谦明等^[5]的研究结果基本一致。Cyclin D1/CDK4 在 OSCC 各组间的比较差异

无统计学意义($P > 0.05$),提示 Cyclin D1/CDK4 与 OSCC 的分化程度无关,这与以往的研究结果相近^[5,6]。以往的研究表明 Cyclin D1 和 CDK4 的过表达与 OSCC 的发生发展有密切的关系,本研究也观察到 Cyclin D1、CDK4 之间存在正相关关系($r = 0.32$),差异有统计学意义($P < 0.01$),提示在 OSCC 中 Cyclin D1 与 CDK4 相互作用,促进细胞的增殖。

3.3 有研究表明 PTEN 能通过下调 Cyclin D1 而阻滞细胞周期^[7]。本研究也观察到 PTEN 与 Cyclin D1、CDK4 之间也存在显著的负相关关系(r 分别为 -0.28 和 -0.34 , P 分别为 0.000 和 0.003 , 均 < 0.01)。以往研究表明 PTEN 能使 PI3K 去磷酸化导致其失活^[8,9],而 Li 等^[10]观察到 PI3K 通路的靶基因 PKB 可上调 Cyclin D1/CDK4 复合体,这提示 PTEN 可通过抑制 PI3K 通路来调节 Cyclin D1/CDK4,抑制细胞的增生;而在 OSCC 肿瘤细胞中,由于 PTEN 表达的缺失,PIP3 通路被激活,导致 Cyclin D1/CDK4 表达上调,从而导致细胞的异常增殖。目前尚缺乏有关这方面的研究,还有待作进一步的探讨。

3.4 本研究表明 PTEN 在 OSCC 的发生发展过程中起着一定的作用。那么 PTEN 与肿瘤转移、病人预后之间是否有关联,由于本研究资料所限,在这方面未能作进一步的探讨。如能明确这一关系,将对判断病人的预后有重要的参考价值。

参考文献

- 1 Steck PA, Pershouse MA, Jasser SA, et al. Identification of a candidate tumor suppressor gene, MMAC1, at chromosome 10q23.3 that is mutated in multiple advanced cancers [J]. Nat Genet, 1997, 15 (4): 356 - 362.
- 2 龚莉,周铁军,陈鲜,等.应用自制组织芯片研究抑癌基因 PTEN 在口腔鳞癌中的表达 [J]. 肿瘤防治研究, 2007, 34 (2): 100 - 103.
- 3 Kurasawa Y, Shiiba M, Nakamura M, et al. PTEN expression and methylation status in oral squamous cell carcinoma [J]. Oncol Rep, 2008; 19(6): 1429 - 1434.
- 4 周传香,高文信,魏秀峰,等.口腔鳞癌发展过程中抑癌基因 PTEN 的蛋白表达及意义 [J]. 口腔医学研究, 2003, 19 (5): 365 - 368.
- 5 陈谦明,罗刚,李秉琦,等. CDK4 蛋白在口腔黏膜癌变过程中表达的研究 [J]. 华西口腔医学杂志, 1999, 17 (1): 8 - 10.
- 6 Juan CV, Agustin HZ, Fresno MF, et al. Expression of Cyclin D1 and Ki - 67 in squamous cell carcinoma of the oral cavity: clinicopathological and prognostic significance [J]. Oral Oncol, 2002, 38 (3): 301 - 308.
- 7 Ji M, Zhang Q, Ye J, et al. Myostatin induces p300 degradation to

silence cyclin D1 expression through the PI3K/PTEN/Akt pathway [J]. Cell Signal, 2008, 20(8): 1452 - 1458.

8 Carracedo A, Pandolfi PP. The PTEN - PI3K pathway: of feedbacks and cross - talks [J]. Oncogene, 2008, 27(41): 5527 - 5541.

9 De Graffenried L A., Fulcher L., Friedrichs W E., et al. Reduced PTEN expression in breast cancer cells confers susceptibility to inhibitors of the PI3 kinase/Akt pathway[J]. Ann Oncol, 2004, 15(10):

1510 - 1516.

10 Li Y, Dowbenko D, Lasky LA. AKT/PKB phosphorylation of p21Cip/ WAF1 enhances protein stability of p21Cip/WAF1 and promotes cell survival[J]. J Biol Chem, 2002, 277 (13): 11352 - 11361.

[收稿日期 2009 - 05 - 18] [本文编辑 韦挥德 刘京虹]

临床研究

宫颈环形电切术治疗慢性宫颈炎 161 例临床分析

虞善芝, 马 刚, 陈昌益, 吴吉芳

作者单位: 530021 南宁, 广西壮族自治区人民医院妇产科

作者简介: 虞善芝(1971 -), 女, 大学本科, 主治医师, 研究方向: 宫颈环形电切术治疗宫颈病变。E - mail: gxlqj@163.com

[摘要] 目的 探讨宫颈环形电切术(LEEP)治疗慢性宫颈炎的临床价值。方法 回顾性分析2006 - 08 ~ 2007 - 12 行LEEP治疗的161 慢性宫颈炎患者的临床资料。结果 术后4 周治愈率达80.1% (129/161), 8 周治愈率达97.5% (157/161)。手术时间(11 ± 3.8)min, 术中出血量(10 ± 1.5)ml。结论 LEEP 治疗慢性宫颈炎操作简单、安全、损伤小、治愈率高, 具有诊断与治疗的双重功效。

[关键词] 慢性宫颈炎; 宫颈环形电切术; 治疗

[中图分类号] R 711.32 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674 - 3806(2009)07 - 0704 - 03

doi: 10.3969/j.issn.1674 - 3806.2009.07.16

Clinical analysis of 161 patients with chronic cervicitis treated by loop electrosurgical excision procedure YU Shan - zhi, MA Gang, CHEN Chang - yi, et al. Department of Obstetrics and Gynecology, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, China

[Abstract] **Objective** To evaluate the clinical value of loop electrosurgical excision procedure (LEEP) in treatment of chronic cervicitis. **Methods** A retrospective analysis of the clinical data was carried out in 161 patients with chronic cervicitis underwent LEEP from August 2006 to December 2007. **Results** The cure rate was 80.1% (129/161) four weeks after LEEP, the cure rate was 97.5% (157/161) eight weeks after LEEP. The mean operative time was (11 ± 3.8)min, and the mean operative blood loss was (10 ± 1.5)ml. **Conclusion** LEEP is a simple, safe and effective procedure for patients with chronic cervicitis. There is double effect of diagnosis and therapy of LEEP in the treatment of chronic cervicitis.

[Key words] Chronic cervicitis; Loop electrosurgical excision procedure; Treatment

慢性宫颈炎是育龄妇女的常见病及多发病,也是诱发宫颈癌的高危因素之一。治疗方法较多,以局部治疗为主。我院于2006 - 08 ~ 2007 - 12 对排除宫颈癌的161 例慢性宫颈炎患者进行了宫颈环形电切术(LEEP)治疗,效果良好,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 2006 - 08 ~ 2007 - 12 就诊于我院

妇产科的161 例慢性宫颈炎患者,其中宫颈肥大并Ⅲ度糜烂58 例,宫颈肥大并Ⅱ度糜烂49 例,宫颈赘生物及息肉36 例,宫颈肥大并多个纳氏囊肿18 例。年龄最大65 岁,最小22 岁,平均(41.3 ± 2.8)岁。所有患者均有性生活史,其中有分娩史133 例,无分娩史28 例。

1.2 诊断标准 参照文献^[1]的标准,根据宫颈糜烂