

- 2 中华医学会呼吸病学分会. 医院获得性肺炎诊断和治疗指南(草案)[J]. 中华结核和呼吸杂志, 1999, 22(4): 201-203.
- 3 刘又宁, 曹彬, 王辉, 等. 中国九城市成人医院获得性肺炎微生物学与临床特点调查[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2012, 35(10): 739-746.
- 4 胡付品, 朱德妹, 汪复, 等. 2013年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2014, 14(5): 365-374.
- 5 Chopra S, Ramkissoon K, Anderson DC. A systematic quantitative proteomic examination of multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii* [J]. J Proteomics, 2013, 84(12): 17-39.
- 6 Munoz-Price LS, Weinstein RA. *Acinetobacter* infection[J]. N Engl J Med, 2008, 358(12): 1271-1281.
- 7 陈洁语, 龚智峰. 耐药鲍曼不动杆菌感染的防治进展[J]. 中国临床新医学, 2011, 4(7): 690-693.
- 8 Robenshtok E, Paul M, Leihovici L, et al. The significance of *Acinetobacter baumannii* bacteraemia compared with *Klebsiella pneumoniae* bacteraemia: risk factors and outcomes[J]. J Hosp Infect, 2006, 63(3): 282-287.
- 9 陈列彬, 郭雪君, 陈峰. 医院获得性肺炎铜绿假单胞菌感染危险因素与耐药性分析[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2013, 27(11): 1082-1083.
- 10 农生洲, 梁亮, 周莹. 2012年广西地区细菌的临床分离情况与耐药性分析[J]. 中国抗生素杂志, 2014, 39(5): 327-331.
- 11 崔畅, 朱卫民, 唐小红. 2010-2013年我院肺炎克雷伯菌感染的临床及耐药分析[J]. 中国抗生素杂志, 2015, 40(5): 372-381.

[收稿日期 2015-08-17][本文编辑 刘京虹]

博硕论坛·论著

CDC2 和 PFTK1 在食管鳞癌中的表达及其临床意义

孙江涛, 楚旭, 陈建民, 肖中岳, 宋开放, 范俊利, 王喜

作者单位: 471003 洛阳, 河南科技大学第一附属医院肿瘤科

作者简介: 孙江涛(1971-), 男, 医学硕士, 副主任医师, 研究方向: 肺癌和消化道肿瘤的基础与临床研究。E-mail: sunjtdoctor@126.com

[摘要] 目的 探讨 CDC2 和 PFTK1 在食管鳞癌中的表达情况, 并分析其与临床分期、病理分级和侵袭转移等恶性生物学特性的关系及临床意义。方法 采用免疫组织化学 SP 法检测 CDC2 及 PFTK1 蛋白在 60 例食管鳞癌组织及相应的癌旁组织中的表达情况。结果 CDC2 在食管鳞癌组织及相应癌旁组织的阳性率分别为 80.00%、50.00%, 差异具有统计学意义($P < 0.01$); PFTK1 在食管鳞癌组织及相应癌旁组织的阳性率分别为 53.33%、30.00%, 差异具有统计学意义($P < 0.05$)。CDC2 及 PFTK1 表达均与 TNM 分期、浸润深度、淋巴结转移有关($P < 0.05$)。CDC2 与 PFTK1 在食管鳞癌组织中的表达呈正相关($r = 0.367, P = 0.004$)。结论 CDC2 及 PFTK1 可能共同参与食管鳞癌的发生、发展。

[关键词] CDC2; PFTK1; 食管鳞癌

[中图分类号] R 735.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2015)12-1142-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2015.12.10

Expressions of CDC2 and PFTK1 in esophageal squamous cell carcinoma and their clinical significances

SUN Jiang-tao, CHU Xu, CHEN Jian-min, et al. Department of Oncology, the First Affiliated Hospital of Henan University of Science and Technology, Luoyang 471003, China

[Abstract] **Objective** To investigate the expressions of CDC2 and PFTK1 in esophageal squamous cell carcinoma and to analyze their relationship with biological characteristics of malignant, clinical stage, pathological grade and invasion and metastasis of ESCC and clinical significances. **Methods** The expressions of CDC2 and PFTK1 in esophageal squamous cell carcinoma tissues and their para-cancerous tissues were detected by immunohistochemical SP method. **Results** The positive rates of CDC2 in esophageal squamous cell carcinoma, para-cancerous tissues were

80.00%, 50.00% ($P < 0.05$), the differences were statistically significant; the positive rates of PFTK1 in esophageal squamous cell carcinoma, para-cancerous tissues were 53.33%, 30.00% ($P < 0.05$), the differences were statistically significant. The expressions of CDC2 and PFTK1 were associated with TNM stage, invasive depth and lymph node metastasis ($P < 0.05$). There was positive correlation between the expressions of CDC2 and PFTK1 in esophageal squamous cell carcinoma ($r = 0.367$, $P = 0.004$). **Conclusion** CDC2 and PFTK1 may be involved in the occurrence and development of esophageal squamous carcinoma.

[Key words] CDC2; PFTK1; Esophageal squamous cell carcinoma

食管癌是世界上常见的肿瘤之一,仅 2008 年就有 482 000 例新发病例,它在癌症死亡原因中排第六位,死亡人数约 406 000 人/年(占有癌症死亡人数的 5.4%)^[1]。近年来大量研究显示,在细胞发生恶性转化的过程中,除了受癌基因与抑癌基因的正负性调控之外,细胞周期调控分子也参与了细胞的癌变过程。从一定程度上说,肿瘤被认为是一种细胞周期疾病,肿瘤的发生、发展与细胞周期调控的失调密切相关^[2]。CDC2 即细胞周期依赖性激酶 1 (cyclin dependent kinase 1, CDK1), 是 Cdc2 基因编码的一个蛋白质,可以控制细胞周期的 G1-S 期及 G2-M 期,是控制细胞周期最重要的因子,被认为与多种肿瘤的发生有关^[3~5]。PFTK1 即细胞周期依赖性蛋白激酶 14 (cyclin dependent kinase 14), 其作为 Cdc2 相关的一个蛋白激酶,为目前研究比较热的一个因子,与肝癌的发生发展关系已经明确^[6], 然而其在食管鳞癌中的表达尚不明确。同时研究 CDC2 及 PFTK1 在食管鳞癌中的表达也鲜见报道。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集我院 2014-03 ~ 2014-06 共 60 例食管鳞癌患者的癌组织及相应癌旁组织。其中男 20 例,女 40 例;年龄 45 ~ 78 岁,平均年龄 61 岁, ≥ 61 岁 38 例, < 61 岁 22 例;临床分期采用国际抗癌联盟(IUCC)2009 年公布的 PTNM 分期标准, I 期 8 例, II 期 24 例, III 期 28 例;淋巴结转移阳性 28 例, 阴性 32 例;高分化 14 例, 中分化 36 例, 低分化 10 例。纳入标准:患者无明显手术禁忌证,无远处转移,无心肺等重要脏器疾病。排除标准:术前行放疗或者化疗治疗。

1.2 仪器与试剂 一抗兔抗人 CDC2 多克隆抗体购自 santacruz 生物技术开发公司(工作浓度 1:400);兔抗人 PFTK1 多克隆抗体购自北京博奥森生物科技有限公司(工作浓度 1:150);SP 试剂盒, DAB 显色剂购自福州迈新生物公司。

1.3 检测方法 所有组织均先用 10% 福尔马林固

定,常规石蜡包埋,厚度为 4 μm ,然后每个蜡块标本连续切片 7 张,取其中一张给予 HE 染色,用于病理学诊断的复核,剩余 6 张行免疫组化染色,用于免疫组织化学研究。免疫组织化学染色严格按照 SP 试剂盒标准步骤进行。采用柠檬酸抗原修复液修复,一抗孵育条件:4 $^{\circ}\text{C}$ 放置 > 15 h。为排除假阳性和假阴性,采用已知阳性片为阳性对照和 PBS 液代替一抗设为阴性对照。

1.4 结果判定 以细胞浆或细胞核出现棕黄色颗粒为阳性细胞。染色强度评分标准为:无着色为 0 分,淡黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分。阳性细胞数评分:染色需与背景着色相比较,再将阳性细胞百分比打分:阴性为 0 分,阳性细胞 $< 10\%$ 为 1 分, $11\% \sim 50\%$ 为 2 分, $51\% \sim 75\%$ 为 3 分, $> 75\%$ 为 4 分。两者乘积作为每一张切片最后计分。最后得分 > 3 分者为阳性。结果判定由 2 位资深的病理学医师单独进行,取平均值。

1.5 统计学方法 应用 SPSS17.0 统计软件进行数据分析,计数资料比较采用 χ^2 检验或者 Fisher 确切概率法,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 CDC2 与 PFTK1 在癌组织中的表达与患者年龄、性别及肿瘤病理学参数之间的关系 CDC2 蛋白的阳性表达主要定位于细胞质,细胞核有时也有少量表达,呈棕黄色颗粒(见图 1)。CDC2 蛋白在食管鳞癌组织、相应癌旁组织阳性率分别为 80.00% (48/60)、50.00% (30/60),差异有统计学意义 ($P = 0.001$);PFTK1 蛋白的阳性表达主要定位于细胞质(见图 2)。PFTK1 在食管鳞癌组织、相应癌旁组织的阳性率分别为 53.33% (32/60)、30.00% (18/60),差异有统计学意义 ($P = 0.010$)。CDC2 与 PFTK1 在癌组织中的表达与患者年龄、性别及肿瘤病理学参数之间的关系见表 1。

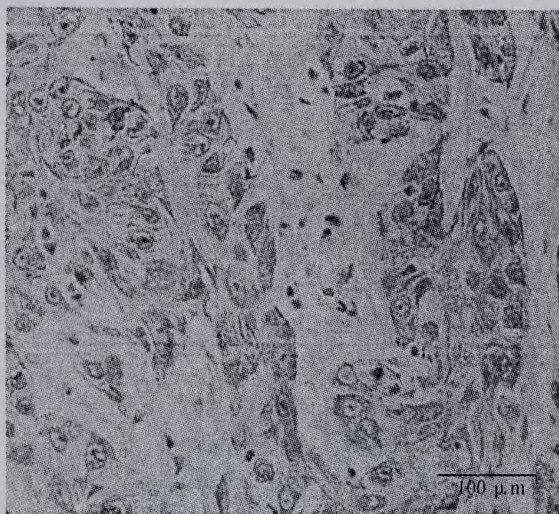


图1 CDC2在食管鳞癌中的阳性表达(×200)

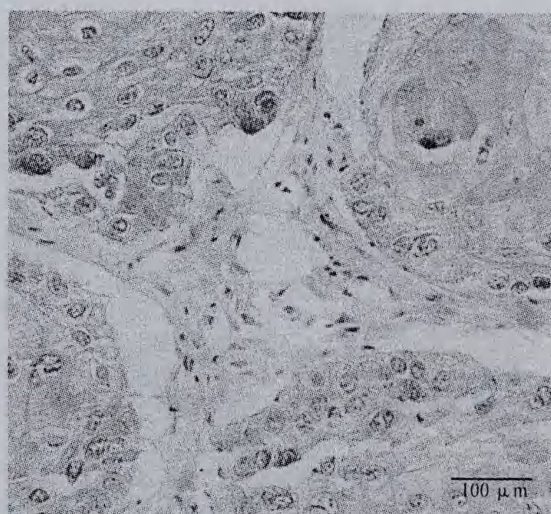


图2 PFTK1在食管鳞癌中的阳性表达(×200)

表1 CDC2与PFTK1在癌组织中的表达与患者年龄、性别及肿瘤病理学参数之间的关系

临床参数	例数	CDC2 阳性表达例数(%)	χ^2	P	PFTK1 阳性表达例数(%)	χ^2	P
性别							
男	20	18(90.00)	1.875	>0.05	12(60.00)	0.536	>0.05
女	40	30(75.00)			20(50.00)		
年龄							
≥61	38	32(84.21)	1.148	>0.05	18(47.37)	1.482	>0.05
<61	22	16(72.73)			14(63.64)		
分化程度							
高、中分化	50	42(84.00)	3.000	>0.05	28(56.00)	0.857	>0.05
低分化	10	6(60.00)			4(40.00)		
淋巴结转移							
否	32	22(68.75)	5.424	<0.05	8(25.00)	22.117	<0.05
有	28	26(92.86)			24(85.71)		
浸润深度							
T1+T2	10	4(40.00)	12.000	<0.05	2(20.00)	5.357	<0.05
T3+T4	50	44(88.00)			30(60.00)		
临床分期							
I期+II期	32	22(68.75)	5.424	<0.05	11(34.38)	9.902	<0.05
III期	28	26(92.86)			21(75.00)		

2.2 CDC2与PFTK1在食管鳞癌组织中表达的相关性 CDC2与PFTK1在食管鳞癌组织中表达呈正相关性($r=0.367, P=0.004$)。见表2。

表2 CDC2与PFTK1在食管鳞癌组织中表达的相关性

CDC2	例数	PFTK1 表达(n)		阳性率(%)	r	P
		+	-			
+	48	30	18	62.50	0.367	0.004
-	12	2	10	16.67		

3 讨论

食管癌是我国常见的恶性肿瘤,其平均5年生存率为18.1%~40.0%,中晚期食管癌5年生存率不到25%。早期手术是食管癌治疗的主要手段,因此对食管癌发病原因的研究十分重要^[7]。细胞周期调控机理是研究癌变机理的重要内容之一。细胞周期调控是高度受管制的步骤,是多种细胞调节因子在细胞周期检查点的共同监控下精确而有序地完成

成细胞周期过程。许多研究表明,细胞周期的检查点功能失常与细胞癌变存在密切关系。有缺陷的 DNA 复制最终导致癌症的发生,因此学者们提出了“癌症可能是一类细胞周期出现异常而导致的疾病”的观点。其中 CDC2 相关蛋白激酶在从酵母到人类的生长和分化中,扮演重要的角色^[8]。Nozoe 等^[9]用免疫组织化学法研究了 91 例食管鳞状细胞癌中 CDC2 的表达情况,41 例主要在细胞质中高表达,50 例主要在细胞核中高表达,并且细胞质中高表达 CDC2 者食管鳞癌的角质化比例显著高于细胞核中高表达者($P=0.006$),提示 CDC2 可能参与食管鳞癌的分化。PFTK1 是最近被确认为 Cdc2 基因相关的依赖性蛋白激酶的一种,与 CDKs 存在有限同源性的蛋白激酶,影响细胞周期的进展和增殖。Pang 等^[10]研究发现 PFTK1 基因在肝癌中过度表达且与肝癌的转移特性($P=0.032$)及肿瘤的微血管入侵有关($P=0.012$),而且敲除 PFTK1 基因的肝癌细胞株 Hep3B 细胞侵袭和转移能力明显下降。在食管癌研究方面,Miyagaki 等^[11]检测了 PFTK1 在 77 例食管鳞状细胞癌中的表达情况,发现 PFTK1 的表达是正常表皮细胞的 2.61 倍。在我们的研究中发现 CDC2 和 PFTK1 蛋白在食管鳞癌组织、相应癌旁组织差异具有统计学意义,说明两者可能共同参与了食管癌的发生。而且 CDC2 和 PFTK1 蛋白的表达程度在不同 TNM 分期、浸润深度及淋巴结转移与否患者中的差异均有统计学意义($P<0.05$),也说明两者可能与食管鳞癌恶性程度及预后有关。另外术前新辅助化疗可以降低食管癌分期,争取更大的手术机会。相关研究表明,PFTK1 可能在肿瘤预后和化疗药物耐药中起重要作用。Miyagaki 等^[11]利用免疫组织化学技术分析 223 例食管鳞状细胞癌患者样本的 PFTK1 蛋白表达,并且还发现在某些病例中化疗前后的 PFTK1 蛋白水平也发生改变,约 90% 的患者在治疗前 PFTK1 检测呈阳性,化疗后仍呈阳性;而化疗前 PFTK1 阴性,化疗后有超过 30% 的患者在被切除组织中 PFTK1 却呈阳性表达。

本研究表明,CDC2 和 PFTK1 蛋白共同参与了食管鳞癌的发生和发展,并与食管鳞癌恶性程度及预后有关。两者很可能成为食管鳞癌治疗新的靶点。但由于免疫组织化学技术的有限性及化疗标本的不易收集,两者与食管鳞癌发生、发展及与化疗的关系仍需进一步深入研究。

参考文献

- 1 Ferlay J, Shin HR, Bray F, et al. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN[J]. *Int J Cancer*, 2010, 127(12): 2893 - 2917.
- 2 Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer[J]. *Cell*, 2000, 100(1): 57 - 70.
- 3 Shapiro GI. Cyclin-dependent kinase pathways as targets for cancer treatment[J]. *J Clin Oncol*, 2006, 24(11): 1770 - 1783.
- 4 de Cárcer G1, Pérez de Castro I, Malumbres M. Targeting cell cycle kinases for cancer therapy[J]. *Curr Med Chem*, 2007, 14(9): 969 - 985.
- 5 Aleem E, Kiyokawa H, Kaldis P. Cdc2-cyclinE complexes regulate the G1/S phase transition[J]. *Nat Cell Biol*, 2005, 7(8): 831 - 836.
- 6 Sun T, Co NN, Wong N. PFTK1 interacts with cyclin Y to activate non-canonical Wnt signaling in hepatocellular carcinoma[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 449(1): 163 - 168.
- 7 Lin Y, Totsuka Y, He Y, et al. Epidemiology of esophageal cancer in Japan and China[J]. *J Epidemiol*, 2013, 23(4): 233 - 242.
- 8 Goga A, Yang D, Tward AD, et al. Inhibition of CDK1 as a potential therapy for tumors over-expressing MYC[J]. *Nat Med*, 2007, 13(7): 820 - 827.
- 9 Nozoe T, Takahashi L, Baba H, et al. Relationship between intracellular localization of p34cdc2 protein and differentiation of esophageal squamous cell carcinoma[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2005, 131(3): 179 - 183.
- 10 Pang EY, Bai AH, To KF, et al. Identification of PFTK1 protein kinase 1, a novel cell division cycle-2 related gene, in the motile phenotype of hepatocellular carcinoma cells[J]. *Hepatology*, 2007, 46(2): 436 - 445.
- 11 Miyagaki H, Yamasaki M, Miyata H, et al. Over expression of PFTK1 predicts resistance to chemotherapy in patients with oesophageal squamous cell carcinoma[J]. *Br J Cancer*, 2012, 106(5): 947 - 954.

[收稿日期 2015-03-30][本文编辑 杨光 and]