

DOI:10.3724/SP.J.1008.2011.01153

• 短篇论著 •

喉鳞癌组织中 PKC- δ 的表达及临床意义

Expression of PKC- δ in laryngeal carcinoma and its clinical significance

黄 华, 施公胜*, 章建国

南通大学附属医院病理科, 南通 226001

[摘要] **目的** 观察喉鳞癌组织中蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC)- δ 的表达水平, 探讨其可能的临床意义。**方法** 采用免疫组织化学法对 60 例喉鳞癌组织和 20 例正常喉黏膜 PKC- δ 蛋白表达情况进行检测。**结果** 喉鳞癌组织中 PKC- δ 表达显著高于正常对照组织 ($P < 0.01$)。III~IV 期喉鳞癌组织 PKC- δ 表达明显高于 I~II 期 ($P < 0.05$); 伴有颈淋巴结转移的喉鳞癌组织 PKC- δ 表达明显高于无淋巴结转移组织 ($P < 0.05$); PKC- δ 表达阳性组与阴性组患者间生存率差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** PKC- δ 在喉鳞癌组织中高表达, 并且其表达程度与喉鳞癌的分期及是否存在淋巴结转移有关, 提示 PKC- δ 过表达可能与喉鳞癌的发生、发展相关。

[关键词] 喉肿瘤; 鳞状细胞癌; 蛋白激酶 C; 免疫组织化学

[中图分类号] R 739.65

[文献标志码] B

[文章编号] 0258-879X(2011)10-1153-03

蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) 是一种脂质依赖性丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 存在于哺乳动物细胞质内, 是凋亡信号的重要参与者^[1-3]。PKC- δ 是新型 PKC 亚型中的一种, 它在许多类型细胞的凋亡及细胞周期调节中发挥重要作用^[2]。有研究证实, PKC- δ 具有双重作用, 即促凋亡作用与抗凋亡作用^[1-2], 并且可能与肿瘤浸润和转移相关。因此, 本研究采用免疫组织化学 EliVision 法检测 PKC- δ 在正常喉黏膜、喉鳞癌组织中的表达情况, 探讨其与临床分期、病理分级及淋巴结转移等的关系, 为了解喉癌的生物学行为、判断其预后提供依据, 为喉癌的治疗寻找新的途径。

1 材料和方法

1.1 标本来源及一般资料 组织标本均来自我院 2002~2005 年手术获得的原发喉癌切除标本 60 例, 其中男 45 例, 女 15 例, 年龄最大 78 岁, 最小 32 岁, 平均 (58±10.58) 岁。临床分期按国际抗癌协会 (UICC) 1997 年第 5 版的分期方法, 其中 I 期 10 例、II 期 18 例、III 期 18 例、IV 期 14 例。有淋巴结转移 28 例, 无淋巴结转移 32 例。另取 20 例正常喉黏膜作为对照。所有病例随访从 2002 年 2 月至 2005 年 8 月, 随访期至少 15 个月以上, 失访 4 例 (6.6%)。

1.2 主要试剂及仪器 鼠抗人 PKC- δ 单克隆抗体购于美国 Santa Cruz 公司。EliVison 试剂盒 (PV-9000) 和 DAB 酶底物显色试剂盒均购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.3 免疫组织化学染色 标本经 4% 中性甲醛溶液固定, 脱水, 透明, 浸蜡处理 (Leica 自动脱水机), 石蜡包埋, 使用 Leica 切片机切成厚度为 3~4 μm 薄片, 切片烘烤 2 h 后, 经脱蜡、脱苯、水化, 采用 EliVisonTM plus 检测试剂盒进行免疫组织化学染色。

1.4 结果判定 PKC- δ 抗体稀释度 (1:100), 阳性表达为细胞质中出现棕黄色颗粒 (图 1)。每例标本随机选取 10 个高倍视野, 每个视野计数 100 个瘤细胞, 按着色细胞占视野细胞总数多少来计分: $\leq 10\%$ 为 1 分, $10\% \sim 25\%$ 为 2 分, $26\% \sim 50\%$ 为 3 分, $> 50\%$ 为 4 分; 按着色细胞染色强度分: 无着色为 0 分, 淡黄色颗粒为 1 分, 棕黄色颗粒为 2 分, 棕褐色颗粒为 3 分。两项计分相乘, 总计分 0~2 分为阴性 (-), 3~4 分为弱阳性 (+), 5~8 分为阳性 (++) , 9~12 分为强阳性 (+++)。

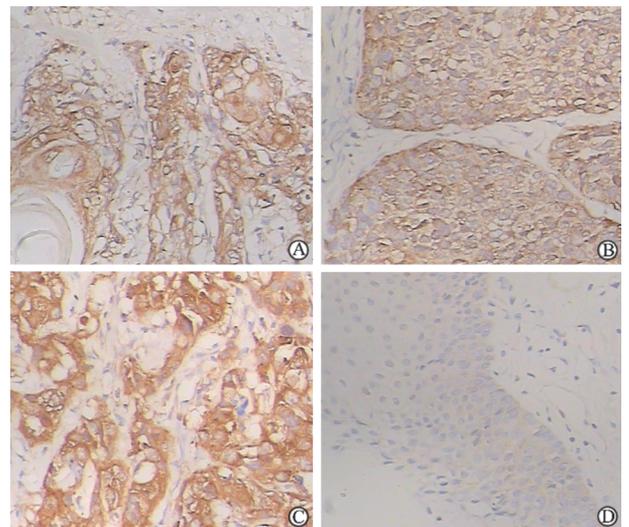


图 1 PKC- δ 在喉癌及正常组织中的表达 (EliVison)
A: PKC- δ 在喉高分化鳞癌组织中表达阳性; B: PKC- δ 在喉中分化鳞癌组织中表达阳性; C: PKC- δ 在喉低分化鳞癌组织中表达阳性; D: PKC- δ 在正常喉黏膜组织中表达阴性。Original magnification: $\times 200$

[收稿日期] 2011-07-22 **[接受日期]** 2011-10-05

[作者简介] 黄 华, 主管技师。E-mail: hhua666@126.com

* 通信作者 (Corresponding author). Tel: 0513-85052118, E-mail: sgs85530620@126.com

1.5 统计学处理 采用 SPSS 13.0 统计软件,不同组间阳性率差异比较采用 χ^2 检验,检验水准(α)为 0.05。

2 结果

2.1 PKC- δ 在喉癌与正常喉黏膜中表达的比较 结果表明:PKC- δ 在喉癌组织中阳性表达率为 61.6%(37/60),在正常对照组织中表达率为 15.0%(3/20),两组间差异有统计学意义($\chi^2=13.07, P<0.05$)。

2.2 PKC- δ 表达与喉癌患者临床病理特征的关系 结果(表1)表明:PKC- δ 表达与喉癌分化程度、临床分期及淋巴结转移间差异有统计学意义($P<0.05$)。

表 1 PKC- δ 表达与喉癌患者临床病理特征的关系

指标	例数	PKC- δ		χ^2	P
		阳性数	阳性率(%)		
性别				0.59	>0.05
男性	45	29	64.4		
女性	15	8	53.3		
年龄(岁)				0.76	<0.05
<50	17	9	52.9		
≥ 50	43	28	65.1		
分化程度				7.08	<0.05
高分化	16	5	31.3		
中分化	30	18	60.0		
低分化	14	11	78.5		
TNM 分期				5.15	<0.05
I+II	28	13	46.4		
III+IV	32	24	75.0		
生存期 t/月				6.89	<0.01
≥ 60	27	8	29.6		
<60	33	21	63.6		
淋巴结转移				10.79	<0.01
无	38	11	28.9		
有	22	16	72.7		

2.3 PKC- δ 表达与患者预后分析 结果(图2)表明:PKC- δ 表达阳性组与阴性组间生存率差异有统计学意义($P<0.05$)。

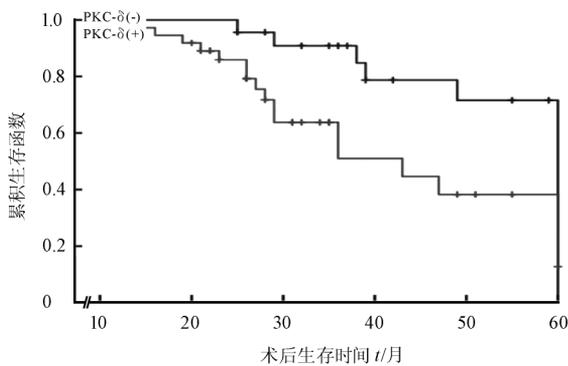


图 2 喉癌组织中 PKC- δ 表达与预后的关系

3 讨论

PKC 存在于哺乳动物细胞胞质内,是一组由单一多肽链

组成的磷脂依赖性 Ca^{2+} 激活的蛋白丝氨酸/苏氨酸激酶。目前已发现 PKC 分为经典 PKC、新型 PKC、非经典型 PKC 及 PKC μ 四类。PKC 调节细胞的代谢、生长、增殖和分化是通过催化多种蛋白质上丝氨酸/苏氨酸磷酸化及酪氨酸磷酸化^[3],很多基因如 src、ras 的激活需要通过 PKC 发挥其细胞转变的作用。1987 年 PKC- δ 被 Ono 等自鼠脑 cDNA 库中克隆出来,位于人的 3 号染色体和鼠的 14 号染色体,是新型 PKC 亚型家族的成员^[4]。目前发现 PKC- δ 具有双重作用,即抗凋亡(促生存)作用和促凋亡作用,这可能与 PKC- δ 的上游因子激活和作用物底物相关^[5]。酪氨酸激酶是 PKC- δ 激活受体,具有抗凋亡作用,上皮细胞的表皮生长因子受体激活需要 PKC- δ ,EGFR 激活支持 Bcl-x_L 表达,下调 Bim 蛋白,表现出抗凋亡作用^[6]。PKC- δ 通过靶基因的诱导影响肿瘤细胞的发生,阻断细胞凋亡,加速细胞周期,促进血管生存,增强肿瘤细胞的浸润及转移能力^[7-8]。PKC- δ 在凋亡过程中同样发挥着重要的作用,PKC- δ 通过参与线粒体凋亡通路及细胞核损伤诱导的凋亡通路发挥细胞凋亡作用^[9]。PKC- δ 的抗凋亡及促凋亡的双重作用,是否与其细胞的特异性或者转位不同、作用底物不同相关,还需要进一步探讨。活化的 PKC 导致肿瘤生长、血管生成及抑制癌细胞凋亡,抑制 PKC 的活性可能影响癌细胞的侵袭和转移潜能,此外还能够增强癌细胞对化疗的敏感性^[10]。

本实验应用免疫组织化学染色法研究 PKC- δ 在喉癌组织中的表达,结果显示喉正常组织中 PKC- δ 的表达显著低于喉癌组织中的表达,说明 PKC- δ 的表达与喉癌的发生、发展有关。随着临床分期及病理分级增加,PKC- δ 的表达阳性程度增加,说明随着肿瘤的发展,喉癌组织中 PKC- δ 的表达逐渐增高,PKC- δ 表达与喉癌的分化程度及恶性程度有关。通过对患者随访的生存时间分析显示,PKC- δ 的表达阳性组与阴性组之间的生存率差异有统计学意义,表明 PKC- δ 在喉癌组织中的表达与患者预后相关,可作为判断临床预后的一个重要指标。

综上所述,喉鳞癌组织中存在 PKC- δ 的高表达,且其表达与患者的临床预后密切相关,提示 PKC- δ 在恶性肿瘤中的高表达可能成为肿瘤早期诊断及治疗的靶点,并且有可能通过抑制 PKC- δ 的表达降低喉癌的生长、转移能力,从而提高喉癌患者生存率,为喉癌的早期诊断、临床病理分期、预后评估提供新的依据和指标。

[参考文献]

[1] Abbas T, White D, Hui L, Yoshida K, Foster D A, Bargonetti J. Inhibition of human p53 basal transcription by down-regulation of protein kinase C delta[J]. J Biol Chem, 2004, 279: 9970-9977.
 [2] Ringshausen I, Oelsner M, Weick K, Bogner C, Peschel C, Decker T. Mechanisms of apoptosis-induction by rottlerin; therapeutic implications for B-CLL[J]. Leukemia, 2006, 20: 514-520.

- [3] Huang J, Mohanty S, Basu A. Cisplatin resistance is associated with deregulation in protein kinase C-delta[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 316:1002-1008.
- [4] Yuan L W, Soh J W, Weinstein I B. Inhibition of histone acetyltransferase function of p300 by PKCdelta[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2002, 1592:205-211.
- [5] He Y, Liu J, Durrant D, Yang H S, Sweatman T, Lothstein L, et al. N-benzyladriamycin-14-valerate (AD198) induces apoptosis through protein kinase C-delta-induced phosphorylation of phospholipid scramblase 3[J]. *Cancer Res*, 2005, 65: 10016-10023.
- [6] Yadav V, Yanez N C, Fenton S E, Denning M F. Loss of protein kinase C delta gene expression in human squamous cell carcinoma: a laser capture microdissection study[J]. *Am J Pathol*, 2010, 176:1091-1096.
- [7] 蒋 文,何永文. 蛋白激酶 C- δ 与细胞凋亡[J]. *国际病理科学与临床杂志*, 2008, 28:24-27.
- [8] Doller A, Winkler C, Azrilian I, Schulz S, Hartmann S, Pfeilschifter J, et al. High-constitutive HuR phosphorylation at Ser 318 by PKC{delta} propagates tumor relevant functions in colon carcinoma cells[J]. *Carcinogenesis*, 2011, 32:676-685.
- [9] Nitti M, d'Abramo C, Traverso N, Verzola D, Garibotto G, Poggi A, et al. Central role of PKC delta in glycoxidation-dependent apoptosis of human neurons[J]. *Free Radic Biol Med*, 2005, 38:846-856.
- [10] Nakajima T. Positive and negative regulation of radiation-induced apoptosis by protein kinase C[J]. *J Radiat Res (Tokyo)*, 2008, 49: 1-8.

[本文编辑] 贾泽军