

CCNG2 在前列腺癌中的表达及其临床意义

孙国贵¹, 崔大为², 程云杰³, 景绍武³, 刘青³, 杨从容³

(1. 唐山市人民医院, 河北 唐山 063000; 2. 唐山市工人医院, 河北 唐山 063000;

3. 河北医科大学第四医院, 河北 石家庄 050017)

摘要: [目的] 探讨细胞周期蛋白 G2 (CCNG2) 在前列腺癌中的表达及意义。[方法] 采用免疫组织化学方法、Western blot 检测 85 例前列腺癌组织及距其癌组织边缘 2cm 以上镜下未见癌浸润的正常组织中 CCNG2 蛋白的表达情况。[结果] 免疫组织化学结果表明, CCNG2 蛋白在前列腺癌组织及正常前列腺组织中的表达阳性率分别为 31.8%、96.5%, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。Western blot 结果表明, CCNG2 蛋白在前列腺癌组织的相对表达量较正常前列腺组织的相对表达量明显降低, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。CCNG2 蛋白表达与前列腺癌患者年龄、肿瘤大小、PSA 水平无关 ($P > 0.05$); 而与 Gleason score、淋巴结转移以及肿瘤临床分期有关 ($P < 0.05$)。[结论] 前列腺癌组织中 CCNG2 蛋白表达明显降低, 且与前列腺癌 Gleason score、淋巴结转移、临床分期有关。

关键词: CCNG2; 前列腺肿瘤; 预后; 肿瘤转移

中图分类号: R737.25 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2014)12-1018-04

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2014.12.B010

Expression of CCNG2 in Prostate Cancer and Its Significance

SUN Guo-gui¹, CUI Da-wei², CHENG Yun-jie³, et al.

(1. Tangshan People's Hospital, Tangshan 063000, China; 2. Tangshan Works Hospital, Tangshan 063000, China; 3. The Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China)

Abstract: [Purpose] To investigate the expression of Cyclin G2 (CCNG2) in prostate carcinoma and its clinical significance. [Methods] Immunohistochemistry and Western blot were used to detect CCNG2 protein expression in 85 cases of prostate cancer and ≥ 2 cm cancer adjacent normal tissues. [Results] Immunohistochemistry: the level of CCNG2 protein expression was significantly lower in prostate cancer tissues than that in normal tissues ($P < 0.05$). Western blot: the relative amount of CCNG2 protein in prostate cancer tissues was significantly lower than that in normal tissues ($P < 0.05$). The level of CCNG2 protein expression did not correlate with age, PSA content and tumor size ($P > 0.05$), but it correlated with lymph node metastasis, clinic stage and Gleason score ($P < 0.05$). [Conclusion] Expression of CCNG2 downregulates in prostate cancer tissues and significantly correlates with lymph node metastasis, clinic stage and Gleason score. It suggests that CCNG2 may play an important role as a negative regulator to prostate cancer.

Subject words: CCNG2; prostate neoplasms; prognosis; tumor metastasis

前列腺癌是泌尿系统比较常见的恶性肿瘤之一, 目前其主要治疗手段为手术治疗, 而生物学治疗手段亟需提高。因此分析前列腺癌的生物学特性, 探索其治疗的新途径成为临床关注的问题。近年研究发现细胞周期蛋白 G2 (CyclinG2, CCNG2) 基因在某些肿瘤中表现出的生物学和遗传学特征具有肿瘤抑癌基因的特性, 由此推测 CCNG2 在肿瘤的形成和发展中具有重要作用^[1]。我们采用免疫组织化学、

Western blot 方法研究 CCNG2 在前列腺癌中的表达情况, 以期今后的临床治疗找到新的基因靶点。

1 资料与方法

1.1 临床资料

2010 年 1 月至 2012 年 12 月于唐山市工人医院手术切除的 85 例新鲜前列腺癌标本, 分别于肿瘤组织及距肿瘤边缘 2cm 以上 (镜下未见癌) 的正常前列腺组织处取材。根据 Jewett 改良分期法及 2002 年 AJCC 的 TNM 分期进行临床参数判定。年龄 22~

通讯作者: 孙国贵, 主治医师, 博士; 唐山市人民医院放疗科, 河北省唐山市路南区胜利路 65 号 (063000); E-mail: guogui_sun@hotmail.com

收稿日期: 2014-01-16; **修回日期:** 2014-07-06

73岁,中位年龄65岁,其中 ≤ 65 岁者32例, >65 岁者53例;外周血PSA $<10\text{ng/ml}$ 者36例, $\geq 10\text{ng/ml}$ 者49例;肿瘤直径 T_1+T_2 者37例, T_3+T_4 者48例;Gleason score 分级2~6者26例,7~10者59例;淋巴结转移中 N_0 者32例, N^+ 者53例;临床分期A+B期27例,C+D期58例。所有患者术前均未行放、化疗,标本均为术后立即取材,于液氮中保存,供免疫组织化学及Western blot检测。

1.2 免疫组织化学

将 $4\mu\text{m}$ 石蜡切片脱蜡至水,3%过氧化氢10min阻断内源性过氧化物酶,胰酶修复20min,10%山羊血清室温封闭20min,CCNG2抗体(1:100)湿盒中 4°C 冰箱过夜,滴加二抗、三抗室温湿盒内孵育各20min,DAB显色,苏木精复染,常规脱水,封片。结果判定:由两名病理科医生在未知患者临床资料的情况下采用双盲法进行计数。细胞计数在显微镜下,每张切片上肿瘤组织整个视野,每个标本计数3张切片。CCNG2表达以细胞阳性百分率及细胞染色强度得分之和进行判定。细胞阳性百分率分为4个等级: $\leq 5\%$ 计0分, $5\%\sim 25\%$ 计1分, $25\%\sim 50\%$ 计2分, $>50\%$ 计3分;细胞染色强度分数标准:无染色记0分,弱染色(浅黄色)计1分,中等染色(棕黄色)计2分,强染色(黄褐色)计3分。两项标准相加:0分为阴性(-),1~6分为阳性。以PBS替代一抗作为阴性对照。

1.3 Western blot

提取前列腺癌组织及正常组织总蛋白。 4°C ,

12000r/min离心20min,取上清, -20°C 备用。BCA蛋白定量试剂盒检测蛋白浓度,按每孔上样量 $50\mu\text{g}$ 进行SDS-PAGE电泳,稳压冰浴电转至硝酸纤维素膜上,5%脱脂牛奶封闭2h,一抗孵育 4°C 过夜(CCNG2 1:1 000,GAPDH 1:3 000),兔抗人红外荧光标记二抗(1:20 000),Odyssey 双色红外荧光扫描系统进行检测,计算蛋白相对值=蛋白A值/GAPDH A值。

1.4 统计学处理

本实验结果均应用SPSS16.0统计软件处理数据。率的比较采用 χ^2 检验。以 $\alpha=0.05$ 为检验水准, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

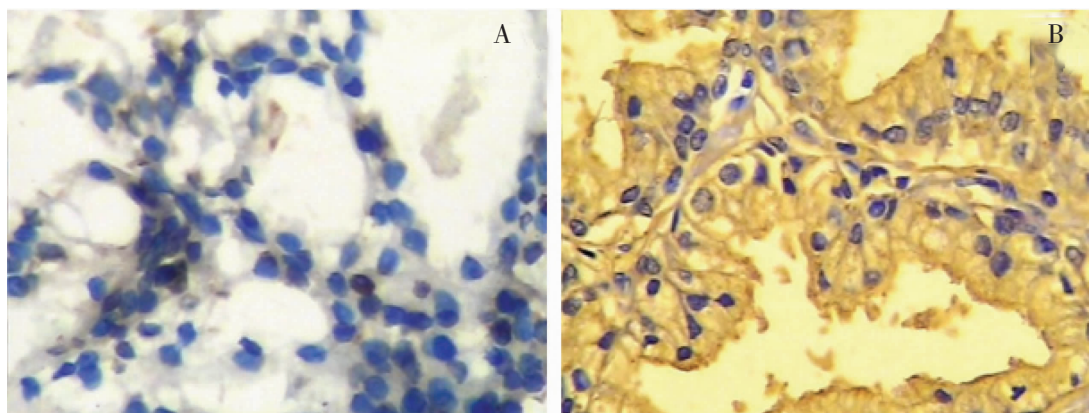
2 结果

2.1 CCNG2 在前列腺癌组织中的表达

免疫组织化学结果显示,CCNG2阳性表达主要表现为将胞浆染成浅黄色、棕黄色或黄褐色。CCNG2在前列腺癌组织、正常前列腺组织的阳性表达率分别为31.8%(27/85)及96.5%(82/85),两组之间比较差异具有统计学意义($\chi^2=79.018$, $P=0.000$)(Table 1, Figure 1)。Western blot结果显示,CCNG2蛋白在前列腺癌组织的表达量为 0.315 ± 0.023 ,明显低于正常前列腺组织(0.668 ± 0.058),两组之间比较差异具有统计学意义($t=9.799$, $P=0.001$)(Figure 2)。

2.2 CCNG2 与前列腺癌临床病理参数的关系

临床因素分析显示,CCNG2蛋白表达与前列腺癌患者年龄、肿瘤大小及外周血PSA水平无关($P>$



A:prostate cancer tissue;B:normal prostate tissue

Figure 1 Expression of CCNG2 in prostate cancer tissues and normal prostate tissues by immunohistochemistry($\times 400$)

Table 1 Expression of CCNG2 in prostate cancer tissues and normal prostate tissues

Groups	N	Expression of CCNG2 protein				χ^2	P
		-	+	++	+++		
Cancer tissue	85	58	7	11	9	79.018	0.000
Normal tissue	85	3	26	21	35		

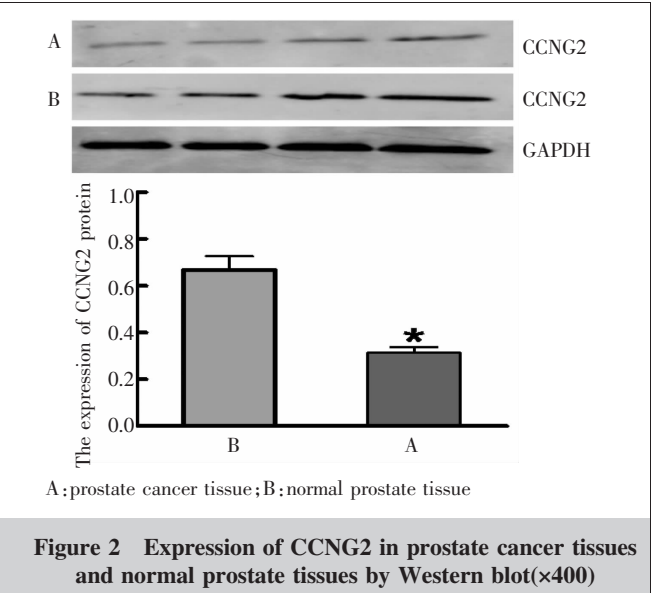


Figure 2 Expression of CCNG2 in prostate cancer tissues and normal prostate tissues by Western blot(x400)

0.05);而在不同 Gleason score 分级、有无淋巴结转移以及不同肿瘤临床分期中表达差异具有统计学意义 ($P<0.05$)(Table 2)。

Table 2 Relation between CCNG2 expression and clinic characteristics in prostate cancer patients

Factors	N	Expression of CCNG2 protein		χ^2	P
		-	+~+++		
Age (years)					
≤65	32	15	10	0.583	0.445
>65	53	25	11		
PSA concentration(ng/ml)					
<10	36	23	13	0.544	0.461
≥10	49	35	14		
Tumor size (cm)					
T ₁ +T ₂	37	25	12	0.013	0.908
T ₃ +T ₄	48	33	15		
Clinic stage					
A~B	27	14	13	4.900	0.027
C~D	58	44	14		
Gleason score					
2~6	26	12	14	8.426	0.004
7~10	59	46	13		
Lymph node metastasis					
N ₀	32	17	15	5.406	0.020
N ⁺	53	41	12		

3 讨论

CCNG2 与细胞周期蛋白 G1 同属于细胞周期蛋白 G 家族。该蛋白于 1996 年首次发现,其编码基因定位于人染色体 4q21.1,虽然在 cDNA 碱基序列和蛋白氨基酸残基结构上与细胞周期蛋白 A 相似,但在生物学功能上明显不同于传统的细胞周期蛋白^[2]。CCNG2 负性调控细胞周期进程,CCNG2 基因表达受 DNA 损伤及其他生长抑制性信号均上调,与蛋白质磷酸脂酶 PP2A 形成复合体,抑制细胞周期依赖型激酶 CD2Z,并与中心体结合,阻滞细胞周期进程,调节细胞增殖^[3]。目前研究发现,CCNG2 在口腔鳞癌^[4]、喉鳞状细胞癌^[5]、膀胱移行细胞癌^[6]及胃腺癌^[7]等肿瘤组织表达水平与相应正常组织相比较明显下调,提示 CCNG2 基因可能是一个重要的抑癌基因并且参与肿瘤的发生、发展。但是目前在前列腺癌中有关 CCNG2 的研究仍然鲜有报道。研究 CCNG2 在前列腺癌中的表达情况,并深入探讨 CCNG2 参与前列腺癌发生发展、增殖恶变的分子生物学机制,有助于进一步全面明确前列腺癌的恶性生物学行为及机理,并且有望为前列腺癌的临床治疗和预后判断提供新的分子指标。

本研究首次用免疫组织化学及 Western blot 技术对前列腺癌组织及正常前列腺组织进行定量检测,结果显示 CCNG2 蛋白在前列腺癌组织中的表达水平均显著低于正常前列腺组织,取得了一致结果。这一研究与 CCNG2 在胃癌^[8]、膀胱癌^[6]、口腔鳞癌^[4]、食管癌^[9]、鼻咽癌^[10]等组织中的表达水平明显低于其正常组织的结果一致。本组结果的单因素分析也显示,CCNG2 蛋白的表达水平与前列腺癌组织有无淋巴结转移、临床分期及 Gleason 评级有关,而与前列腺癌患者年龄、外周血 PSA 水平无关。国内作者研究发现,CCNG2 在无淋巴结转移或高分化的喉癌组织中其表达较高,而在有淋巴结转移或病理低分化的喉癌中表达下降^[11]。此结果提示 CCNG2 表达水平可能与前列腺癌的发生发展有关,可能起潜在的抑癌作用,但表达降低机制的研究尚不十分明确。

本研究结果提示,前列腺癌组织中 CCNG2 蛋白的表达明显降低,且与前列腺癌淋巴结转

移、临床分期及 Gleason 评级有关。然而,细胞癌变为一个纷繁复杂的综合过程,CCNG2 涉及癌变的信号转导机制尚需进一步明确。

参考文献:

- [1] Ahmed S, Al-Saigh S, Matthews J. FOXA1 is essential for aryl hydrocarbon receptor-dependent regulation of cyclin G2[J]. Mol Cancer Res, 2012, 10(5): 636-648.
- [2] Bates S, Rowan S, Vousden KH. Characterization of human cyclin G1 and G2; DNA damage inducible genes[J]. Oncogene, 1996, 13(5): 1103-1109.
- [3] Horne MC, Goolsby GL, Donaldson KL, et al. Cyclin G1 and cyclin G2 comprise a new family of cyclins with contrasting cycle-regulated expression[J]. J Biol Chem, 1996, 271(11): 6050-6061.
- [4] Kim Y, Shintani S, Kohno Y, et al. Cyclin G2 dysregulation in human oral cancer[J]. Cancer Res, 2004, 64(24): 8980-8986.
- [5] Cui XF, Liu AJ, Xu ZM. Expression of Cyclin G2 and its clinical significance in laryngeal squamous cell carcinoma[J]. J Clin Otorhinolaryngology, 2009, 23(6): 277-279.
- [6] Shan G, Shan SG, Zhang XB. Expression and clinical significance of cyclin G1 and cyclin G2 in transitional cell carcinoma of bladder [J]. Chin J Histochemistry and Cytochemistry, 2009, 18(3): 268-272.
- [7] Choi MG, Noh JH, An JY, et al. Expression levels of cyclin G2, but not cyclin E, correlate with gastric progression [J]. J Surg Res, 2009, 157(2): 168-174.
- [8] Shi W, Yu KR, Wu GY, et al. Expression of CCNG2 in gastric carcinoma and its relationship with prognosis [J]. Chin J Cell Biol, 2011, 33(9): 994-997.
- [9] Chen JQ, Liu CJ, Wen HX, et al. Changes in the expression of cyclin G2 in esophageal cancer cell and its significance [J]. Tumour Biol, 2014, 35(4): 3355-3362.
- [10] Sun GG, Cui DW, Cheng YJ, et al. Expression of CCNG2 in nasopharyngeal carcinoma and its significance [J]. Journal of Chinese Oncology, 2014, 20(4): 316-319. [孙国贵, 崔大为, 程云杰, 等. CCNG2 在鼻咽癌中的表达及其临床意义 [J]. 肿瘤学杂志, 2014, 20(4): 316-319.]
- [11] Song YL, Hu GH. Cyclin G2: correlation with head and neck neoplasms [J]. Int J Otolaryngology-Head and Neck Surg, 2006, 30(1): 8-11.

《肿瘤学杂志》投稿须知

1. 文稿务必材料可靠, 数据准确, 论点清楚, 论据充足, 结论明确。
2. 文字通顺、准确和简练, 重点突出, 层次清楚。论著需附结构式摘要, 包括目的、方法、结果、结论四部分。中文摘要 200~300 字; 英文摘要务必与中文摘要一一对应翻译。英文摘要前加英文文题、作者姓名汉语拼音、单位英文全称、所在城市名及邮政编码。
3. 图表请附中英文各一份, 包括图表的题目、内容及注释。
4. 所列参考文献限作者亲自阅读的已发表的近 3 年文献为主, 按文内引用先后顺序列于文末, 并在正文内引文处右上角以 [] 号注明序号。具体格式举例如下:
期刊: [序号] 作者 (3 位以下全部写出, 不同作者姓名中间加逗号, 英文文献作者为姓全称, 加名缩写; 3 位以上时只写前 3 位, 于后加 “, 等.” 或 “, et al.) 文题 [J]. 刊名 (英文为缩写), 年, 卷 (期): 起页-止页。
书籍: [序号] 作者. 书名 [M]. 版本. 出版地 (即城市名): 出版者, 出版年. 起页-止页。
学位论文: [序号] 作者. 学位论文名 [D]. 城市: 培养单位, 年。
电子文献: [序号] 作者. 题名 [电子文献类型]. 可获得的网址, 发表或更新的日期。
其中, 电子文献类型, 是网上期刊时, 用 [J/OL]; 是网上电子公告时, 用 [EB/OL]; 是网上联机数据库时, 用 [DB/OL]。特别注意的是, 所有中文文献, 需同时附原刊物中的英文翻译。
5. 有通讯作者的文稿, 请在文章首页左下角注明通讯作者职务、职称、学位、工作单位 (详细到科室)、详细通讯地址 (邮编) 和 E-mail。
6. 本刊启用稿件远程处理系统, 只接受网上投稿, 网址 <http://www.chinaoncology.cn>。不再接收电子邮件投稿和纸质稿。
7. 编辑部对来稿有文字修改权, 凡涉及内容的修改, 则提请作者考虑, 文责自负。文稿一般不退, 请作者自留底稿。来稿不收审稿费, 一经录用, 收取一定版面费, 发表后寄赠当期杂志 2 册并酌付稿酬。