

http://www.journals.zju.edu.cn/med

磷酸化JAK和磷酸化ERK及CyclinD1蛋白表达 与舌鳞状细胞癌的关系

李松英¹,戴杰²,胡济安¹

(1. 浙江大学医学院附属口腔医院病理科, 浙江 杭州 310031;

2. 台州医院口腔科, 浙江 临海 317000)

[摘要] **目的:**探讨磷酸化JAK和磷酸化ERK及CyclinD1蛋白在舌鳞状细胞癌(SCC)发生、发展中的作用及其表达的相互关系。**方法:**应用免疫组织化学技术,检测舌鳞状细胞癌30例,正常口腔舌黏膜组织20例,轻度上皮异常增生10例,中-重度上皮异常增生20例组织中磷酸化JAK和ERK及CyclinD1蛋白的表达情况。**结果:**与正常口腔舌黏膜相比,pJAK在舌鳞状细胞癌组织和上皮异常增生组织中阳性率明显增高($\chi^2=37.54, P<0.01$),且舌SCC中pJAK的阳性率又明显高于上皮异常增生($\chi^2=12.28, P<0.05$)。中-低分化鳞状细胞癌中pJAK的染色强度较高分化鳞状细胞癌显著升高($\chi^2=6.83, P<0.05$)。pERK在正常口腔舌黏膜上皮、SCC组织和上皮异常增生组织中的阳性率差异无显著性。在SCC中,pJAK和CyclinD1的阳性强度呈正相关($r_s=0.619, P<0.05$)。pERK和CyclinD1的阳性强度无相关性($r_s=0.231, P>0.05$)。**结论:**SCC的发生与发展可能与pJAK信号传导途径诱导CyclinD1过度表达,从而促使该肿瘤细胞维持高增殖状态有关。ERK信号途径在舌鳞状细胞癌中可能不是主要的致瘤途径。

[关键词] 癌,鳞状细胞/病理学;舌肿瘤/病理学;磷酸化JAK;磷酸化ERK;CyclinD1蛋白;舌鳞状细胞癌

[中图分类号] R 739.86 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-9292(2007)04-0396-05

Expression of pJAK, pERK and Cyclin D1 proteins in squamous-cell carcinoma of tongue

LI Song-ying, DAI Jie, HU Ji-an (*The Affiliated Hospital of Stomatology, College of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310006, China*)

[Abstract] **Objective:** To investigate the expression of JAK, ERK and Cyclin D proteins in squamous-cell carcinoma of tongue. **Methods:** The expression of JAK, ERK and Cyclin D1 proteins was determined with SP immunohistochemical method in 30 cases of lingual Squamous cell carcinoma, 20 of normal lingual mucosa, 10 of mild epithelial dysplasia and 20 of severe epithelial dysplasia. **Results:** The expression of pJAK in lingual squamous-cell carcinoma and epithelial dysplasia was stronger than that of normal lingual mucosa ($\chi^2=37.54, P<0.01$), and the expression of pJAK in lingual squamous-cell carcinoma was significantly higher than that of the epithelial dysplasia ($\chi^2=6.83, P<0.05$). pJAK expression in squamous-cell carcinoma of

收稿日期: 2006-10-25 修回日期: 2007-01-11

作者简介: 李松英(1972-), 女, 硕士研究生, 实验师, 从事口腔病理方面的研究; E-mail: lsy@zju.edu.cn

low-middle differentiation was stronger than that of high differentiation. There was no significant difference in pERK expression among lingual squamous-cell carcinoma, normal lingual mucosa and epithelial dysplasia. There was a significantly positive correlation between pJAK and Cyclin D1 expression in SCC ($r=0.619, P<0.05$). There was no significant correlation between the expression of pERK and Cyclin D1 ($r=0.231, P>0.05$). **Conclusion:** Over-expression of pJAK and Cyclin D1 may be associated with the occurrence and development of squamous-cell carcinoma of the tongue.

[Key words] Carcinoma, squamous cell/pathol; Tongue neoplasms/pathol; pJAK; pERK; CyclinD1; Lingual squamous-cell carcinoma

[J Zhejiang Univ (Medical Sci), 2007, 36(4):396-400.]

细胞信号传递和调控异常与肿瘤发生发展密切相关。细胞外信号调节的激酶(extra-cellular signal-regulated kinase,简称ERK)是MAPK的重要成员^[1]。ERK信号传导途径是目前研究最为彻底的MAPK通路,蛋白酪氨酸激酶JAK/信号传导子和转录激活子STAT信号通路是继Ras通路之后出现的又一重要的细胞因子信号传导通路^[2]。这两条通路是两种重要的信号级联分子,参与细胞生长、分化、分裂等生理过程,并在细胞恶性转化中起重要作用。舌鳞状细胞癌(SCC)发病的确切分子机理尚不清楚。为了阐明舌SCC是否象多数肿瘤一样,也是促生长和抑生长的信号级联分子异常,导致黏膜细胞的增殖失控和恶性转化?我们运用免疫组化法,对舌SCC中磷酸化JAK、磷酸化ERK及CyclinD1蛋白进行检测,并与正常口腔舌黏膜、上皮异常增生进行比较,以探讨其在舌SCC发生发展中的作用。

1 材料和方法

1.1 研究对象与分组 本研究选用浙江大学医学院附属口腔医院病理科自1988年至2003年间接收的标本,其中SCC 60例,正常口腔舌黏膜组织20例,轻度上皮异常增生10例,中-重度上皮异常增生20例。所有标本经10%福尔马林固定、石蜡包埋,HE染色。60例SCC组织学类型根据WHO(2005年)肿瘤新分类^[3]分为三型:高分化型22例,中分化型15例,低分化型23例。

1.2 材料 本研究所用的pJAK、pERK及CyclinD1单克隆抗体(工作浓度都是1:100)

以及SP试剂盒,均为福州迈新生物技术开发公司提供。将收集到的舌鳞状细胞癌组织和正常口腔舌黏膜、上皮异常增生组织的蜡块,经免疫组化染色SP法,观察JAK、ERK及CyclinD1的表达情况。

1.3 结果判断 pJAK、pERK及CyclinD1染色细胞的胞核呈棕黄色颗粒状沉积的为阳性反应。

1.4 统计处理 采用SPSS 12.0软件,用 χ^2 检验。pJAK、pERK与CyclinD1蛋白表达之间的关系采用Spearson相关分析。

2 结果

2.1 pJAK、pERK在正常口腔舌黏膜上皮中表现为细胞浆淡黄色着色,部分基底层,副基底层细胞核染色阳性。在舌SCC组织和上皮异常增生组织中,pJAK、pERK阳性染色多位于细胞核,集中于分化较低区域。舌SCC组织和上皮中-重度异常增生组织中pJAK的阳性率分别为76.7%(46/60)和20.0%(4/20),与正常口腔舌黏膜相比,pJAK在舌SCC组织和上皮中-重度异常增生组织中阳性率明显增高($\chi^2=37.54, P<0.01$),且舌SCC中pJAK的阳性率又明显高于上皮中-重度异常增生($\chi^2=12.28, P<0.05$)。中-低分化SCC中pJAK的染色强度较高分化SCC显著升高($\chi^2=6.83, P<0.05$)。见表1,图1、2。而pERK在舌SCC组织中阳性率为43.3%。pERK在正常口腔舌黏膜上皮、舌SCC组织和上皮异常增生组织中的阳性率差异无显著性(表2,图3)。

表1 pJAK 在正常黏膜,上皮异常增生和舌 SCC 中的表达

Table 1 pJAK expression in normal epithelial,dysplasis lesion and SCC

组 别	n	—	+	++	+++	阳性率/%
正 常 黏 膜						
上皮轻度异常增生	30	29	1	0	0	3.33
上皮中-重度异常增生	20	16	4	0	0	20.0*
舌 SCC	60	14	18	18	10	76.7*△
高 分 化	22	9	8	5	0	59.1
中 分 化	15	4	5	5	1	73.3▲
低 分 化	23	1	5	8	9	95.7▲

*:与正常口腔舌黏膜相比, $\chi^2=37.54,P<0.01$;△:与上皮中-重异常增生相比, $\chi^2=12.28,P<0.05$;▲:与高分化 SCC 相比, $\chi^2=6.83,P<0.05$

表2 pERK 在正常黏膜,上皮异常增生和舌 SCC 中的表达

Table 2 pERK expression in normal epithelial,dysplasis lesion and SCC

组 别	n	—	+	++	+++	阳性率/%
正 常 黏 膜						
上皮轻度异常增生	30	24	5	1	0	20.0
上皮中-重度异常增生	20	12	4	3	0	35.0
舌 SCC	60	34	16	9	1	43.3*
高 分 化	22	14	6	2	0	36.4
中 分 化	15	8	6	1	0	46.7
低 分 化	23	12	4	6	1	47.8

*:与正常口腔黏膜和上皮异常增生相比, $\chi^2=4.258,P>0.05$

2.2 随着 SCC 浸润程度的加深,pJAK 蛋白表达的阳性率增高。浸润黏膜浅层组和浸润肌层组之间比较,pJAK 的阳性率差异有显著性($\chi^2=14.915,P<0.01$),而pJAK 的阳性率与肿瘤的大小无关($\chi^2=2.874,P>0.05$)。见表3。

2.3 CyclinD1 蛋白在所有正常口腔舌黏膜和上皮异常增生组织中均为阳性,而在 SCC 中 CyclinD1 的阳性率为50.0%(30/60)。且中-低分化 SCC 中 CyclinD1 的染色阳性率较高分化 SCC 显著升高($\chi^2=8.139,P<0.05$)。见表4,图4。

2.4 在 SCC 中,pJAK 和CyclinD1 的阳性强度呈正相关($r_s=0.619,P<0.05$)。pERK 和 CyclinD1 的阳性强度无相关性($r_s=0.231,P>0.05$)。

表3 舌 SCC 中 pJAK 的表达与浸润深度和肿瘤大小的关系

Table 3 The relationship between the expression of pJAK and the deep of invasion and the size of carcinoma

分 组	n	—	+	χ^2	P
浸润深度					
黏膜浅层	39	14	25		
肌 层	21	0	21	14.915	<0.01
肿瘤大小					
长径>5 cm	18	3	15		
长径≤5 cm	42	11	31	2.874	>0.05

表4 CyclinD1 在舌 SCC 中的表达

Table 4 CyclinD1 expression in normal epithelial,dysplasis lesion and SCC

组 别	n	—	+	++	+++	阳性率/%
正 常 黏 膜	30	29	0	1	0	3.33
上皮轻度异常增生						
上皮中-重度异常增生	20	18	2	0	0	10.0
舌 SCC	60	30	12	9	3	50.0
高 分 化	22	13	6	3	0	40.9
中 分 化	15	7	6	1	1	53.3*
低 分 化	23	10	6	5	2	56.5*

* :与舌 SCC 高分化比较,χ²=8.139,P<0.05

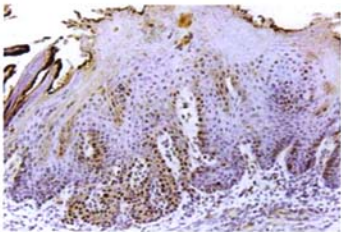


图1 pJAK 在上皮异常增生组
组织中阳性表达 SP×40

Fig.1 pJAK showed positive
expression in epithe-
lial dysplasia lesion

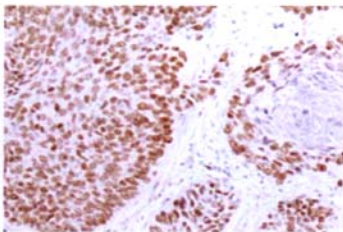


图2 pJAK 在舌 SCC 中阳性
表达 SP×200

Fig.2 pJAK showed positive
expression in SCC

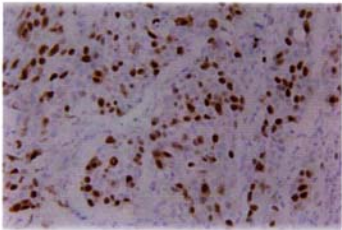


图3 pERK 在舌 SCC 中阳性
表达 SP×100

Fig.3 pERK showed posi-
tive expression in SCC

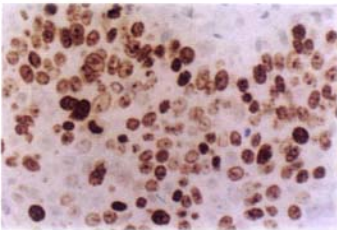


图4 CyclinD1 在舌 SCC 中阳
性表达 SP×400

Fig.4 Positive expression of
CyclinD1 in SCC

分化及凋亡密切相关,该通路持续激活可导致细胞异常增殖和恶性转化。而pERK 被激活后转入细胞核内,活化某些原癌基因,促使细胞增殖,抑制细胞凋亡^[1]。此通路的核心是由三种蛋白激酶(MAPKKK, MAPKK, MAPK)构成的蛋白激酶反应链,不同生长因子受体的信号通过ras/ERK这一共同通路,汇集至c-fos 和其他辅助调节基因启动子的主要调节元件—血清反应元件,调控细胞生长、发育和细胞间的功能同步等多种生理及病理过程。本研究结果显示,与正常口腔舌黏膜相比,磷酸化JAK 在舌 SCC 组织和上皮异常增生组织中的阳性率呈明显增高,SCC 中 pJAK 的阳性率又明显高于上皮异常增生组织,且 pJAK 在 SCC 中的表达均为核型,是该信号传导分子的活化型,活化的 JAK 蛋白可能促进其下游基因转录和表达,进而促进上皮黏膜细胞的过度增殖和恶性转化,表明 JAK 级联成分的活化

异常可能在 SCC 的发生中起重要作用。Wu 等^[4]对人类涎腺细胞系(human salivary gland cell line, HSG)的体外研究表明,JAK2 和 STAT1 通过激活 IFN-γ 而促进涎腺上皮细胞生长,同时可能对涎腺肿瘤的形成有一定的作

3 讨 论

3.1 JAK 在舌SCC 组织中的表达 JAK 蛋白酪氨酸激酶是转录信号传导子与活化子家族的重要成员,JAK 信号传导通路与细胞的增殖、

用。临床上舌SCC组织和上皮异常增生组织的生物学行为相差很大,在本研究中,低分化SCC中pJAK的染色强度较高分化SCC显著升高,随着SCC浸润程度的加深,pJAK蛋白的阳性率也增高。推测JAK的过度活化不但在SCC的发生发展中可能起重要作用,并可能与SCC的侵袭性生长潜能密切相关,可作为SCC预后判断的辅助指标之一。

3.2 ERK在舌SCC组织中的表达 在人结肠癌、乳腺癌和肺癌等多种肿瘤中,均可检测到ERK表达水平增高^[5]。持续激活的ERK通路可促进正常细胞向肿瘤表型转化,本研究结果却发现尽管SCC中pERK有43.3%的阳性率,但pERK在正常口腔舌黏膜和表皮的低恶性肿瘤中的阳性率差异无统计学意义,提示pJAK比pERK在SCC的发生中起更重要的作用。

3.3 CyclinD1在舌SCC组织中的表达 在细胞周期进程中,CyclinD1作为正性调节因子,促使细胞完成细胞周期而增殖。CyclinD1基因是近几年来提出的重要原癌基因^[6],基因蛋白产物在细胞周期关键限速点G1-S转换中起重要正调控作用,G1→S期间调控点是细胞内外信号传递,整合汇集到细胞核,对细胞的增殖进行调控的关键点,该点调控的异常与肿瘤的发生发展关系密切。与之相关的Rb、CyclinD1、p16等共同组成一条重要的细胞调节通路,该蛋白通过与细胞周期素依赖激酶4结合形成复合物加快细胞由G1期进入S期,正调节细胞增殖周期,关键限速点处正性调节基因CyclinD1的失控表达,引起细胞周期失控,从而引起癌变。Fukuchi等^[7]报道,在食管癌中CyclinD1的表达与颈淋巴结转移存在相关性,但是无显著性差异。

3.4 JAK和ERK与CyclinD1在舌SCC组织中的表达关系 JAK和ERK均为CyclinD1表达的上游基因,所以在头颈部的SCC中有JAK的活化与CyclinD1蛋白的表达呈正相关,ERK磷酸化及转入细胞核可诱导CyclinD1癌基因表达。本研究结果显示,低分化SCC中CyclinD1的染色强度较高分化SCC显著升高,且SCC中

pJAK和CyclinD1的阳性强度呈正相关,而pERK和CyclinD1的阳性强度未见明显相关性。这提示SCC的发生与发展可能与pJAK信号传导途径诱导CyclinD1过度表达,从而促使该肿瘤细胞维持高增殖状态有关。ERK信号途径在舌SCC中可能不是主要的致癌途径。

References:

- [1] REDDY K B, NABHA S M, ATANASKOVA N. Role of MAP kinase in tumor progression and invasion [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2003, 22 (4):395-403.
- [2] JOHNSON G L, LAPADAT R. Mitogen-activated protein kinase pathways mediated by ERK, JNK, and p38 protein kinases [J]. *Science*, 2002, 298(6):1 911-1 912.
- [3] EL-NAGGAR A K, HUVOS A G. Adenoid cystic carcinoma. In: Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sidransky D, editors. World Health Organization classification of tumours [J]. *Pathology and genetics of head and neck tumours*, 2005:221-222.
- [4] WU A J, CHEN Z J, KAN E C, et al. Interferon- γ -induced JAK2 and STAT1 signalling in a human salivary gland cell line [J]. *J Cell Physiol*, 1997, 173(1):110-114.
- [5] EBISUYA M, KONDOH K, NISHIDA E. The duration, magnitude and compartmentalization of ERK MAP kinase activity: mechanisms for providing signaling specificity [J]. *J Cell Sci*, 2005, 118:2 997-3 002.
- [6] JONES C D, DARNELL K H, WARNKE R A, et al. CyclinD1/CyclinD3 ratio by real-time PCR improves specificity for the diagnosis of mantle cell lymphoma [J]. *Mol Diagn*, 2004, 6:84-89.
- [7] FUKUCHI M, FUKAI Y, KIMURA H, et al. Prolyl isomerase Pin1 expression predicts prognosis in patients with esophageal squamous cell carcinoma and correlates with cyclinD1 expression [J]. *Int J Oncol*, 2006, 29(2): 329-334.

[责任编辑 张荣连]