

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2010.01.018

• 短篇论著 •

Caspase-3、P73、CDK4 在口腔黏膜鳞状细胞癌化疗前后的表达及其意义

Caspase-3, P73, and CDK4 expressions in buccal mucosa squamous cell carcinoma before and after chemotherapy and their clinical significance

郭建文, 刘亮, 左连富, 刘江惠, 王静, 刘辉 (河北医科大学第四医院肿瘤研究所流式细胞室, 河北石家庄 050011)

[摘要] 目的: 观察 caspase-3、P73、CDK4 在口腔黏膜鳞状细胞癌平阳霉素治疗前后的表达及其临床意义。方法: 临床标本取自河北医科大学第四医院口腔科 1988 年至 2005 年的 23 例病理学确诊的口腔鳞状细胞癌患者。流式细胞术检测 caspase-3、P73、CDK4 在口腔黏膜鳞状细胞癌中的表达。结果: Caspase-3 在口腔鳞癌中的表达水平显著性低于正常组织 ($P < 0.05$), 平阳霉素化疗后表达显著性增高 ($P < 0.05$)。P73 表达量在口腔鳞状细胞癌中明显升高, 平阳霉素化疗后显著性下降 ($P < 0.05$)。口腔鳞状细胞癌中 CDK4 表达明显增高, 平阳霉素化疗后显著性下降 ($P < 0.05$)。结论: Caspase-3、P73、CDK4 在口腔黏膜中的异常表达与口腔鳞癌的发生有关, 平阳霉素可能通过调节 caspase-3、P73、CDK4 的表达起到抗癌作用。

[关键词] 口腔黏膜鳞状细胞癌; caspase-3; P73; CDK4; 平阳霉素

[中图分类号] R739.85; R730.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2010)01-0093-02

肿瘤的发生发展是一个多因素、多步骤的复杂过程, 与细胞的增殖、基因改变和凋亡调节失控有关。天冬氨酸特异的半胱氨酸蛋白酶 (cysteiny aspartate-specific protease, caspase) 是细胞凋亡的核心机制, 其级联反应的激活决定了凋亡发生的进程, caspase-3 是 caspase 家族中的关键效应酶^[1]。P73 是一种癌基因, Kang 等^[2]认为, P73 高表达可能是肿瘤生长过程中伴随的氧缺乏和营养不足所激发。细胞周期蛋白依赖性激酶 (cyclin-dependent kinases, CDKs) 表达及活性的调控是细胞周期调控的核心, 其中 CDK4 主要作用于 G₁ 期和 S 期, 具有启动 DNA 复制和诱导有丝分裂的双重作用^[3]。实验显示 CDK4 与细胞增殖之间密切关系, 其表达增加导致 DNA 合成增加, 进而促进细胞分裂增殖, 导致癌变^[4]。

本实验应用流式细胞术检测了 caspase-3、P73、CDK4 在口腔黏膜鳞状细胞癌 (oral squamous cell carcinoma, OSCC) 中的表达, 并对平阳霉素 (Bleomycin A5) 化疗前后进行了比较, 探讨他们在口腔黏膜鳞状细胞癌的诊断及治疗中的意义。

1 材料与方 法

1.1 标本的采集

所有标本取自河北医科大学第四附属医院口腔科手术病例, 从 1988 年至 2005 年共取 23 例患者的正常口腔黏膜、化疗前后口腔黏膜鳞状细胞癌组织。样品经 4% 甲醛固定, 4℃ 保存。所有癌组织均为高

分化鳞癌, 男性 12 例、女性 11 例, 中位年龄 60 岁。

1.2 单细胞悬液的制备

首先将标本组织依次置 100%、90%、70%、50% 乙醇中 10 min 进行水化, 最后放入双蒸水中水化 10 min。水化后将组织放 120 目不锈钢网上用眼科剪将组织剪碎, 用眼科镊子轻轻搓细胞块, 边搓边用生理盐水冲洗, 直至将组织完全搓碎。将平皿中的混悬液用 300 目铜网过滤去除细胞团块, 收集细胞悬液, 以 800 r/min 离心 3 min。

1.3 流式细胞术检测 caspase-3、P73、CDK4 的表达

取 0.1 ml (含 1×10^6 个细胞) 单细胞悬液加入一抗 100 μ l, 室温放置 30 min, 继续加入二抗, 室温下避光放置 30 min, 上机检测。caspase-3、P73、CDK4 一抗及荧光抗体均购自 Santa Cruz 公司。

采用美国 Beckman Coulter 公司生产的 Epics-XL II 型流式细胞仪, 激发光源为 15 mW 氩离子激发器, 激发波长为 488 nm, 检测前以荧光微球作为标准样品调整仪器, CV 值在 2.0% 以内。蛋白表达定量分析以荧光指数 (FI) 表示, 它们的相对含量公式为: $FI = [\text{样品蛋白的平均荧光强度}] / [\text{正常对照样品平均荧光强度}]$, 如果 $FI > 1.0$ 为阳性表达, $FI \leq 1.0$ 为阴性表达。

[作者简介] 郭建文 (1954—), 男, 河北省安平市人, 副主任技师, 主要从事肿瘤病理学方面的研究

[通信作者] 左连富 (ZUO Lian-Fu, corresponding author), E-mail: zuolianfu40909@sina.com