

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2017.29.008
文章编号: 1005-8982 (2017) 29-0039-06

宫颈癌组织中 CDK8、p53、VEGF 表达水平 与肿瘤血管生成的关系研究

薛宏¹, 汪光慧¹, 李勇², 卜兴江³

(安徽省芜湖市第二人民医院 1. 妇科, 2. 病理科, 安徽 芜湖 241000; 3. 安徽师范大学
生命科学学院, 安徽 芜湖 241000)

摘要:目的 探讨宫颈癌组织中细胞周期依赖性蛋白激酶 8 (CDK8)、p53、血管内皮生长因子 (VEGF) 表达水平, 及其与肿瘤血管生成的关系。**方法** 收集该院收治的宫颈癌患者 60 例, 检测宫颈癌组织中 CDK8、p53、VEGF 及微血管密度 (MVD), 分析 CDK8、p53、VEGF、MVD 与宫颈癌患者主要临床特征的关系。**结果** VEGF 阳性患者 MVD 水平高于 VEGF 阴性患者 ($P < 0.05$), CDK8 阳性患者 MVD 水平高于 CDK8 阴性的患者 ($P < 0.05$)。p53 阳性与阴性患者 MVD 水平比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。与癌旁组织比较, 宫颈癌组织中 VEGF (+)、CDK8 (+)、p53 (+) 及 MVD 水平升高 ($P < 0.05$)。与宫颈癌国际妇产科联盟分期 I 期患者相比, II ~ IV 期患者的 VEGF (+)、CDK8 (+)、p53 (+) 及 MVD 水平升高 ($P < 0.05$)。与肿瘤细胞高分化患者相比, 中、低分化患者的 CDK8 (+) 水平升高 ($P < 0.05$)。与鳞癌患者相比, 腺癌患者的 VEGF (+) 和 MVD 水平升高 ($P < 0.05$)。多元线性回归分析显示, VEGF 和 CDK8 是宫颈癌组织中 MVD 水平的影响因素 ($P < 0.05$)。**结论** 宫颈癌组织中 CDK8、VEGF 和 p53 蛋白表达水平升高, 促进肿瘤细胞的生长和转移, CDK8、VEGF 可能与肿瘤血管生成有关。

关键词: 宫颈癌; 血管内皮生长因子; 细胞周期依赖性蛋白激酶 8; 微血管密度; p53

中图分类号: R737.33

文献标识码: A

Expressions of CDK8, p53 and VEGF in cervical cancer and their correlations with angiogenesis

Hong Xue¹, Guang-hui Wang¹, Yong Li², Xing-jiang Bu³

(1. Department of Gynecology, 2. Department of Pathology, the Second People's Hospital of Wuhu, Wuhu, Anhui 241000, China; 3. School of Life Sciences, Anhui Normal University, Wuhu, Anhui 241000, China)

Abstract: Objective To investigate the expressions of cyclin-dependent kinase 8 (CDK8), p53 and vascular endothelial growth factor (VEGF) in the cervical cancer tissues and their correlations with tumor angiogenesis. **Methods** Sixty cervical cancer patients were collected in our hospital. And the CDK8, p53, VEGF and microvessel density (MVD) in the cervical cancer tissues were detected. The correlations of CDK8, p53, VEGF and MVD with the main clinical features of cervical cancer were studied. **Results** MVD of the VEGF-positive patients was higher than that of the VEGF-negative patients ($P < 0.05$); MVD of the CDK8-positive patients was higher than that of the CDK8-negative patients ($P < 0.05$); there was no significant difference in MVD between the patients with negative p53 and those with positive p53 ($P > 0.05$). Compared with the adjacent tissues, VEGF(+), CDK8(+) and p53(+) rates and MVD were significantly increased in the cervical cancer tissues ($P < 0.05$). Compared

with the patients of International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) stage I, the patients of FIGO stage II-IV got increased VEGF(+), CDK8(+) and p53(+) rates and MVD ($P < 0.05$). When compared with the patients with highly-differentiated carcinoma, the patients with moderately- or poorly-differentiated carcinoma got a higher CDK8(+) rate ($P < 0.05$). Compared with the squamous carcinoma patients, the patients with adenocarcinoma got a higher VEGF(+) rate and increased MVD ($P < 0.05$). Multiple linear regression analysis showed that VEGF and CDK8 were the factors influencing MVD in the cervical cancer tissues ($P < 0.05$). **Conclusions** The expression levels of CDK8, VEGF and p53 are elevated in cervical cancer tissues, which can promote the growth and metastasis of tumor cells. And CDK8 and VEGF may be related to tumor angiogenesis.

Keywords: cervical cancer; vascular endothelial growth factor; cyclin-dependent kinase 8; microvessel density; p53

每 10 万女性中, 有 15.9 ~ 32.8 例发生宫颈癌^[1], 有 5 例因宫颈癌而死亡^[2]。微血管密度 (microvessel density, MVD) 水平升高是肿瘤患者预后不良的主要因素^[3-4]。血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 是血管内皮细胞特异性的肝素结合生长因子, 细胞周期依赖性蛋白激酶 8 (cyclin dependent kinase 8, CDK8) 是蛋白质激酶家族中的一员, p53 基因是人体抑癌基因, MVD、VEGF、CDK8、p53 表达异常与患者预后不良有关^[5-8]。本研究探讨宫颈癌组织中 VEGF、CDK8 及 p53 与肿瘤血管生成的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

前瞻性收集 2015 年 1 月 -2017 年 1 月安徽省芜湖市第二人民医院收治的宫颈癌患者 60 例。纳入标准: ①宫颈癌 (均有术中病理确诊); ②在本院接受手术治疗可获得活体组织标本; ③年龄 18 ~ 70 岁; ④肿瘤细胞类型为腺癌或鳞癌; ⑤同意参与本研究。排除标准: ①术前曾接受放化疗、分子生物治疗等特殊治疗; ②合并其他恶性肿瘤; ③复发性宫颈癌; ④既往有心肌梗死、脑卒中等重大心血管疾病; ⑤肝、肾等脏器功能不全; ⑥生殖系统结核等其他重大生殖系统病变; ⑦不能配合本研究。研究期间, 根据纳入标准和排除标准, 共纳入宫颈癌患者 60 例, 其中宫颈癌国际妇产科联盟 (International Federation of Gynecology and Obstetrics, FIGO) 分期: I 期 37 例, II 期 18 例, III 期 4 例, IV 期 1 例; 肿瘤细胞分化程度: 低分化 8 例, 中分化 22 例, 高分化 30 例; 腺癌 15 例, 鳞癌 45 例; 体重指数 18.92 ~ 31.63 kg/m², 平均 (23.61 ± 3.46) kg/m², 年龄 31 ~ 70 岁, 平均 (47.82 ± 7.28) 岁。所有患者对本研究知情同意并签

署知情同意书, 本研究通过医院伦理委员会批准。

1.2 观察指标

主要观察指标为 VEGF、CDK8、p53 及 MVD, 同时观察患者的主要临床特征, 包括 FIGO 分期、肿瘤细胞分化程度、肿瘤细胞类型及年龄。分析 VEGF、CDK8、p53 与 MVD 的相关性, 同时分析 VEGF、CDK8、p53、MVD 与宫颈癌患者主要临床特征的相关性。

1.3 检测方法

收集宫颈癌组织和癌旁活体组织标本, 用 10% 甲醛固定, 用石蜡包埋、切片, 用 SP 免疫组织化学法检测组织中 VEGF、CDK8、p53、MVD 的表达 (相应的单克隆抗体购自福建迈新生物技术公司)。
① VEGF: 胞浆及胞膜出现黄色染色则为阳性, 无显色为 0 分, 淡黄色为 1 分, 黄色为 2 分, 棕黄色为 3 分; 阳性细胞百分比 ≤ 5% 为 0 分, 6% ~ 25% 为 1 分, 26% ~ 50% 为 2 分, 51% ~ 75% 为 3 分, >75% 为 4 分; 将染色和阳性细胞百分比 2 项得分相加, 0 ~ 1 分为阴性, ≥ 2 分为阳性。
② CDK8: 无染色 0 分, 轻度染色 1 分, 中度染色 2 分, 重度染色 3 分; 无阳性细胞为 0 分, 阳性细胞百分比 <10% 为 1 分, 10% ~ 50% 为 2 分, ≥ 50% 为 3 分; 将染色和阳性细胞百分比 2 项得分相加, 0 ~ 1 分为阴性, ≥ 2 分为阳性。
③ p53: 缺乏或弱染色 1 分, 中度染色 2 分, 强染色 3 分; 阳性细胞百分比 <10% 为 1 分, 10% ~ 50% 为 2 分, >50% 为 3 分; 将染色和阳性细胞百分比 2 项得分相乘, 1 ~ 3 分为 p53 阴性, >3 分为阳性。
④ MVD: 400 高倍镜下测定 18 个血管密集区的微血管数, 取平均值作为该患者相应组织中 MVD。

1.4 统计学方法

数据分析采用 SPSS 22.0 统计软件, 计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 用 t 检验; 计数资料以

率 (%) 表示, 用 χ^2 检验, 影响因素的分析采用多元线性回归模型, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 宫颈癌组织中 VEGF、CDK8、p53 与 MVD 的相关性分析

VEGF 阳性与阴性患者的 MVD 水平比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), VEGF 阳性患者高于 VEGF 阴性患者; CDK8 阳性与 CDK8 阴性患者 MVD 水平比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), CDK8 阳性患者高于 CDK8 阴性患者; p53 阳性与阴性患者 MVD 水平比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1 和附图。

表 1 宫颈癌组织中 VEGF、CDK8、p53 表达的 MVD 水平比较 (% , $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	MVD	t 值	P 值
VEGF				
阳性	35	51.11 ± 16.79	3.315	0.002
阴性	25	36.08 ± 18.05		
CDK8				
阳性	30	51.13 ± 16.17	2.738	0.008
阴性	30	38.57 ± 19.25		
p53				
阳性	31	48.52 ± 18.98	1.588	0.118
阴性	29	40.93 ± 17.96		

2.2 宫颈癌组织和癌旁组织中 VEGF、CDK8、p53 及 MVD 表达水平比较

癌旁组织与宫颈癌组织中 VEGF (+)、CDK8 (+)、p53 (+) 及 MVD 水平比较, 经 t 或 χ^2 检验, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 宫颈癌组织中 VEGF (+)、CDK8 (+)、p53 (+) 及 MVD 水平高于癌旁组织。见表 2。

2.3 宫颈癌组织中 VEGF、CDK8、p53 及 MVD 水平与年龄的关系

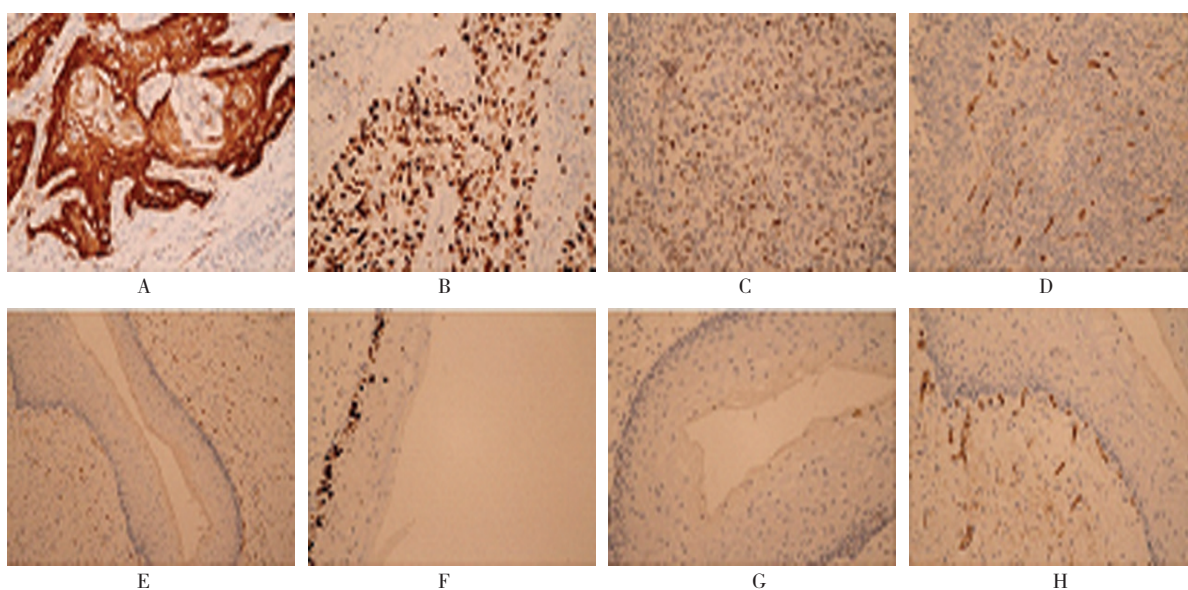
年龄 ≥ 50 岁与 < 50 岁患者的 VEGF (+)、CDK8 (+)、p53 (+) 及 MVD 水平比较, 经 t 或 χ^2 检验, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 3。

2.4 宫颈癌组织中 VEGF、CDK8、p53 及 MVD 与 FIGO 分期的关系

与 FIGO 分期 I 期与 II ~ IV 期患者的 VEGF (+)、CDK8 (+)、p53 (+) 及 MVD 水平比较, 经 t 或 χ^2 检验, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), FIGO 分期 II ~ IV 期患者的 VEGF (+)、CDK8 (+)、p53 (+) 及 MVD 水平高于 I 期患者。见表 4。

2.5 宫颈癌组织中 VEGF、CDK8、p53 及 MVD 水平与肿瘤细胞分化程度的关系

肿瘤细胞高分化与中、低分化患者的 CDK8 (+) 比例比较, 经 χ^2 检验, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 肿瘤细胞中、低分化患者的 CDK8 (+) 比例高于



A: VEGF 阳性表达; B: CDK8 阳性表达; C: p53 阳性表达; D: MVD 高表达; E: VEGF 阴性表达; F: CDK8 阴性表达; G: p53 阴性表达; H: MVD 低表达

附图 VEGF、CDK8、p53 和 MVD 在宫颈癌中的表达 (免疫组织化学法 $\times 400$)

高分化患者。肿瘤细胞高分化与中、低分化患者的 VEGF(+),p53(+)及 MVD 水平比较,经 t 或 χ^2 检验,差异无统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 5。

表 2 宫颈癌组织和癌旁组织中 VEGF、CDK8、p53 及 MVD 表达水平比较 ($n=60$)

组别	VEGF (+) 例 (%)	CDK8 (+) 例 (%)	p53 (+) 例 (%)	MVD/ (%, $\bar{x} \pm s$)
宫颈癌组织	35 (58.33)	30 (50.00)	31 (51.67)	44.85 \pm 18.73
癌旁组织	12 (20.00)	7 (11.67)	9 (15.00)	8.57 \pm 3.81
t/χ^2 值	18.502	20.671	18.150	13.422
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000

表 3 年龄与宫颈癌组织中 VEGF、CDK8、p53 及 MVD 水平的关系

组别	例数	VEGF (+) 例 (%)	CDK8 (+) 例 (%)	p53 (+) 例 (%)	MVD/ (%, $\bar{x} \pm s$)
年龄 \geq 50 岁	34	19 (55.88)	17 (50.00)	17 (50.00)	44.38 \pm 18.84
年龄 $<$ 50 岁	26	16 (61.54)	13 (50.00)	14 (53.85)	45.46 \pm 18.94
t/χ^2 值		0.194	0.000	0.087	0.219
P 值		0.660	1.000	0.768	0.827

表 4 FIGO 分期与宫颈癌组织中 VEGF、CDK8、p53 及 MVD 水平的关系

组别	例数	VEGF (+) 例 (%)	CDK8 (+) 例 (%)	p53 (+) 例 (%)	MVD/ (%, $\bar{x} \pm s$)
FIGO I 期	37	15 (40.54)	11 (29.73)	12 (32.43)	38.92 \pm 16.61
FIGO II ~ IV 期	23	20 (86.96)	19 (82.61)	19 (82.61)	54.39 \pm 18.30
t/χ^2 值		12.572	15.864	14.299	3.374
P 值		0.000	0.000	0.000	0.001

表 5 肿瘤细胞分化程度与宫颈癌组织中 VEGF、CDK8、p53 及 MVD 水平的关系

组别	VEGF (+) 例 (%)	CDK8 (+) 例 (%)	p53 (+) 例 (%)	MVD/ (%, $\bar{x} \pm s$)
中、低分化	20 (66.67)	19 (63.33)	18 (60.00)	47.20 \pm 18.01
高分化	15 (50.00)	11 (36.67)	13 (43.33)	42.50 \pm 19.44
t/χ^2 值	1.714	4.267	1.669	0.971
P 值	0.190	0.039	0.196	0.335

表 6 肿瘤细胞类型与宫颈癌组织中 VEGF、CDK8、p53 及 MVD 水平关系

组别	例数	VEGF (+) 例 (%)	CDK8 (+) 例 (%)	p53 (+) 例 (%)	MVD/ (%, $\bar{x} \pm s$)
腺癌	15	12 (80.00)	10 (66.67)	11 (73.33)	58.20 \pm 13.79
鳞癌	45	23 (51.11)	20 (44.44)	20 (44.44)	40.40 \pm 18.14
t/χ^2 值		3.863	2.222	3.760	3.474
P 值		0.049	0.136	0.053	0.001

2.6 宫颈癌组织中 VEGF、CDK8、p53 及 MVD 水平与肿瘤细胞类型关系

鳞癌与腺癌患者的 VEGF (+) 和 MVD 水平比较,经 χ^2 检验,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),腺癌高于鳞癌。鳞癌与腺癌患者的 CDK8 (+) 和 p53 (+) 比例比较,经 χ^2 检验,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 6。

2.7 宫颈癌组织中 MVD 水平的影响因素分析

多元线性回归分析因变量为 MVD,自变量为 VEGF、CDK8 和 P53,逐步回归结果显示,VEGF 和 CDK8 是宫颈癌组织中 MVD 水平的影响因素 ($P < 0.05$)。p53 对宫颈癌组织中 MVD 水平无明显影响 ($P > 0.05$)。见表 7。

表 7 宫颈癌组织中 MVD 的影响因素分析

变量	b	S _e	β	t 值	P 值
常数项	5.972	2.881	-	2.106	0.048
VEGF	0.648	0.252	0.382	2.628	0.018
CDK8	0.239	0.143	0.342	2.228	0.038
p53	0.395	0.198	0.263	1.673	0.173

注: $R^2=0.605$, $F=8.763$, $P=0.001$ 。

3 讨论

宫颈癌为实体瘤, 由肿瘤细胞和间质构成, 间质包含血管、淋巴管和结缔组织等, 其中肿瘤血管起营养和支持肿瘤细胞的作用, 肿瘤的新生血管在肿瘤的生长和扩散中具有重要意义^[9-11]。VEGF、CDK8、p53 被证实与肿瘤的生长和转移有关^[12-14], 但 VEGF、CDK8、p53 与宫颈癌患者肿瘤血管生成的关系尚不清楚, 尤其是 CDK8。本结果结果显示, 宫颈癌组织中 VEGF、CDK8、p53 和 MVD 水平升高, VEGF、CDK8 与 MVD 水平有关, VEGF、CDK8、p53、MVD 水平与 FIGO 分期有关, CDK8 与肿瘤细胞分化程度有关, 而 VEGF 与肿瘤细胞类型有关。

CDK8 是蛋白质激酶家族中的一员, 与细胞周期蛋白的结合, 发挥细胞周期有序进行的关键功能。2016 年我国学者梅兴明等^[15]证实, CDK8 与宫颈癌患者淋巴结转移有关。该研究提示, CDK8 在宫颈癌的发生、发展中具有促进作用, 与本研究结果相同^[15]。但是该研究未能分析 CDK8 水平与宫颈癌组织中血管生成的关系。CDK8 在肿瘤细胞增殖中的主要功能是促进肿瘤细胞分裂增殖, 保证细胞周期的顺利进行。CDK 家族还可以正向调节 p53 的表达。FIRESTEIN 等^[16]研究纳入了 470 例结直肠癌患者, 结果发现, CDK8 阳性患者的 p53 阳性率显著增高, 最终促进肿瘤的增殖和转移。在乳腺癌中的研究表明, CDK8 与肿瘤细胞的浸润、转移等有关, CDK8 高表达是乳腺癌患者预后不良的主要危险因素^[17]。目前 CDK 家族和 p53 已成为乳腺癌等肿瘤患者治疗的一个靶点^[18-20]。本研究虽然表明, CDK8 与肿瘤血管生成正相关, 但是其因果关系尚不明确, 尚需要临床研究进一步探讨。VEGF 是血管内皮细胞特异性的肝素结合生长因子, 可在体内诱导血管新生。ZHANG 等^[5]研究显示, 宫颈癌患者 VEGF 水平显著增高, 且与患者预后不良有关。SUN 等^[6]研究证实, VEGF 高表达与宫颈癌患

者淋巴结转移有关。另外, 本研究表明, VEGF 在宫颈癌腺癌中表达水平高于鳞癌, 与 BIEDKA 等^[4]研究一致。

综上所述, 宫颈癌组织中 CDK8、VEGF 和 p53 蛋白表达水平升高, 促进肿瘤细胞的生长和转移, CDK8、VEGF 可能与肿瘤血管生成有关。

参 考 文 献:

- [1] MOON E K, OH C M, WON Y J, et al. Trends and age-period-cohort effects on the incidence and mortality rate of cervical cancer in Korea[J]. *Cancer Res Treat*, 2017, 49(2): 526-533.
- [2] SOUSA A M, TEIXEIRA C C, MEDEIROS S D, et al. Cervical cancer mortality in the state of Rio Grande do Norte, Brazil, 1996-2010: time trends and projections up to 2030[J]. *Epidemiol Serv Saude*, 2016, 25(2): 311-322.
- [3] SAIJO Y, FURUMOTO H, YOSHIDA K, et al. Clinical significance of vascular endothelial growth factor expression and microvessel density in invasive cervical cancer[J]. *J Med Invest*, 2015, 62(3/4): 154-160.
- [4] BIEDKA M, MAKAREWICZ R, MARSZALEK A, et al. Labeling of microvessel density, lymphatic vessel density and potential role of proangiogenic and lymphangiogenic factors as a predictive/prognostic factors after radiotherapy in patients with cervical cancer[J]. *Eur J Gynaecol Oncol*, 2012, 33(4): 399-405.
- [5] ZHANG J, LIU J, ZHU C, et al. Prognostic role of vascular endothelial growth factor in cervical cancer: a meta-analysis[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(15): 24797-24803.
- [6] SUN H, TANG F, ZHOU S, et al. Association between vascular endothelial growth factor expression and lymph node metastasis in cervical cancer: a meta-analysis[J]. *J Obstet Gynaecol Res*, 2016, 42(10): 1310-1316.
- [7] MALINKOVA V, VYLICIL J, KRYSSTOF V. Cyclin-dependent kinase inhibitors for cancer therapy: a patent review (2009-2014)[J]. *Expert Opin Ther Pat*, 2015, 25(9): 953-970.
- [8] ZHOU R, WEI C, LIU J, et al. The prognostic value of p53 expression for patients with cervical cancer: a meta analysis[J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2015, 195(12): 210-213.
- [9] LI Y, ZHANG Z, XIAO Z, et al. Chemotherapy-mediated miR-29b expression inhibits the invasion and angiogenesis of cervical cancer[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(9): 14655-14665.
- [10] CHEN Y, WANG H, LIN W, et al. ADAR1 overexpression is associated with cervical cancer progression and angiogenesis[J]. *Diagn Pathol*, 2017, 12(1): 12.
- [11] WU L, YAO C, XIONG Z, et al. The effects of a picosecond pulsed electric field on angiogenesis in the cervical cancer xenograft models[J]. *Gynecol Oncol*, 2016, 141(1): 175-181.
- [12] LI X Y, LUO Q F, WEI C K, et al. siRNA-mediated silencing of CDK8 inhibits proliferation and growth in breast cancer cells[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7(1): 92-100.
- [13] ZHU X, ER K, MAO C, et al. miR-203 suppresses tumor growth

- and angiogenesis by targeting VEGFA in cervical cancer[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2013, 32(1): 64-73.
- [14] CAI S, HAN K. Research on expression and importance of p53, p16 and VEGF-C in cervical cancer[J]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod(Paris)*, 2015, 44(7): 639-645.
- [15] 梅兴明, 梁智敏, 张嫵, 等. 宫颈癌及宫颈上皮内瘤变组织 CDK8 表达临床意义 [J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2016, 23(S2): 48-49.
- [16] FIRESTEIN R, SHIMA K, NOSHO K, et al. CDK8 expression in 470 colorectal cancers in relation to beta-catenin activation, other molecular alterations and patient survival[J]. *Int J Cancer*, 2010, 126(12): 2863-2873.
- [17] BROUDE E V, GYORFFY B, CHUMANEVICH A A, et al. Expression of CDK8 and CDK8-interacting genes as potential biomarkers in breast cancer[J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2015, 15(8): 739-749.
- [18] JABBOUR-LEUNG N A, CHEN X, BUI T, et al. Sequential combination therapy of CDK inhibition and doxorubicin is synthetically lethal in p53-mutant triple-negative breast cancer[J]. *Mol Cancer Ther*, 2016, 15(4): 593-607.
- [19] CROWN J. CDK8: a new breast cancer target[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(9): 14269-14270.
- [20] MCDERMOTT M S, CHUMANEVICH A A, LIM C U, et al. Inhibition of CDK8 mediator kinase suppresses estrogen dependent transcription and the growth of estrogen receptor positive breast cancer[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(8): 12558-12575.

(童颖丹 编辑)