

CDK20 在肺腺癌中的表达及预后意义^{*}

王 欣¹,任英红¹,丁 鹏²,王力宏²,荆冠军¹,谢英瑛¹,刘维帅^{3△}

陕西省商洛市中心医院:1.肿瘤科;2.病理科,陕西商洛 726000;

3.陕西省杨凌示范区医院病理科,陕西咸阳 712100

摘 要:目的 探讨 CDK20 在肺腺癌组织中的表达及预后意义。方法 选取 2002—2017 年商洛市中心医院 127 例经病理学确诊的原发性肺腺癌患者的癌组织,以配对的癌旁组织为对照,采用免疫组织化学法检测 CDK20 在不同组织表达的差异性。结果 CDK20 在肺腺癌癌组织中的表达明显高于癌旁组织。 $T_2 \sim T_4$ 期患者癌组织 CDK20 高表达占比为 94.0%, T_1 期占比为 6.0%。不同淋巴结转移状态患者之间 CDK20 表达阳性占比差异不大。有器官远处转移的患者 CDK20 高表达(61.2%)比例明显高于无远处转移患者(38.8%)。临床Ⅲ~Ⅳ期患者 CDK20 高表达(88.0%)比例明显高于其他分期患者(12.0%),差异有统计学意义($P < 0.05$)。61 例Ⅳ期患者生存分析显示,CDK20 高表达晚期转移患者总生存期相对较短。结论 CDK20 在肺腺癌组织高表达。CDK20 高表达与肺腺癌患者临床分期及不良预后有关。CDK20 可作为肺腺癌诊断和预后评估的一项参考指标。

关键词:CDK20; 肺腺癌; 免疫组织化学; 预后

中图法分类号:R734.2

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2020)21-3073-04

The expression and prognostic significance of CDK20 in lung adenocarcinoma^{*}

WANG Xin¹,REN Yinghong¹,DING Peng²,WANG Lihong²,

JING Guanjun¹,XIE Yingying¹,LIU Weishuai^{3△}

1. Department of Oncology; 2. Department of Pathology, Shangluo Central Hospital,

Shangluo, Shannxi 726000, China; 3. Department of Pathology, Yangling Demonstration Zoon

Hospital, Xianyang, Shannxi 712100, China

Abstract: Objective To investigate the expression of CDK20 in lung adenocarcinoma and its prognostic significance. Methods The cancer tissues of 127 patients with primary lung adenocarcinoma diagnosed pathologically in Shangluo Central Hospital were selected from 2002 to 2017. Paired paracancerous tissues were used as controls. Immunohistochemistry was used to detect the expression of CDK20 in different tissues. Results The expression of CDK20 in lung adenocarcinoma tissue was significantly higher than that in paracancerous tissues. The proportion of patients with high expression of CDK20 in $T_2 - T_4$ stage cancer was 94.0%, and the proportion of patients with T_1 stage was 6.0%. There was little difference in the proportion of CDK20 positive expression among patients with different lymph node metastasis status. The high expression of CDK20 in patients with distant metastasis (61.2%) was significantly higher than that in patients without distant metastasis (38.8%). The high expression of CDK20 in patients with clinical stage Ⅲ—Ⅳ (88.0%) was significantly higher than that of patients with other stages (12.0%), and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The survival analysis of 61 patients with stage Ⅳ showed that the overall survival of patients with high CDK20 expression was relatively short. Conclusion CDK20 is highly expressed in lung adenocarcinoma tissue. The high expression of CDK20 is related to the clinical stage and poor prognosis of patients with lung adenocarcinoma. CDK20 can be used as a reference index for the diagnosis and prognosis evaluation of lung adenocarcinoma.

Key words:CDK20; lung adenocarcinoma; immunohistochemistry; prognosis

肺癌作为一种发病率最高的恶性肿瘤,严重损害人类的健康。目前,肺癌的 5 年生存率还不足 15%,虽然肺癌研究不断推进和发展,新型药物也不断研发,但是并没有显著提高肺癌患者总生存期,也没有明显降低其发生率^[1]。非小细胞肺癌作为肺癌的主要类型,约占

85%,近些年国内外流行病学研究显示,非小细胞肺癌病理类型分布比例发生了变化,肺腺癌所占比例上升,甚至超过了肺鳞癌的发病率^[2]。

CDK20 是细胞周期蛋白依赖性激酶家族最新发现的成员。自 2004 年发现 CDK20 敲除对人类宫颈

^{*} 基金项目:陕西省商洛市科技计划项目(社会发展 SK2018-14)。

作者简介:王欣,男,主治医师,主要从事肿瘤临床和基础研究。

[△] 通信作者,E-mail:liuweishuaiyou@163.com。

癌细胞 Hela 细胞的生长抑制作用以后,越来越多的研究显示,CDK20 作为癌基因在肿瘤发生、发展的调控机制中扮演着重要角色。在肝癌、脑胶质细胞瘤、结肠癌、肺癌、胃癌等多种肿瘤中发现,CDK20 通过参与不同的信号调节通路对肿瘤细胞的生长、肿瘤的免疫微环境等发挥着重要作用^[3]。本研究采用免疫组织化学法检测 CDK20 在肺腺癌组织中的表达情况,分析 CDK20 表达与肺腺癌临床特征之间的关系,并探讨表达情况与预后的相关性,旨在探索肺腺癌靶向诊疗新的标志物。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2002—2017 月于商洛市中心医院进行肺癌手术切除和活检,病理确诊为肺腺癌且临床资料完整的患者 127 例为研究对象。患者男 65 例,女 62 例,年龄 39~75 岁,平均(62.0±7.9)岁。所有患者均按照国际抗癌联盟第八版肺癌 TNM 分期标准进行分期。T:原发病灶;N:淋巴结转移;M:远处器官转移。临床分期 I 期 18 例,II 期 25 例,III 期 32 例,IV 期 52 例,所有患者均为初治患者,术前均未行放化疗。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学染色 患者石蜡包埋的标本切片固定后脱蜡水化,加入过氧化氢室温孵育 15 min。采用 PBS 漂洗 3 次,共 6 min,滴加 5% BSA 封闭 60 min。加入一抗 CDK20(Origene Technologies)后 4℃ 冰箱过夜。PBS 漂洗后加入二抗,室温孵育 30 min,PBS 再次漂洗,加入 DAB 染色,苏木精对比染色,脱水、透明、固定。结果判定:CDK20 阳性为细胞质中出现棕黄色或棕褐色颗粒,细胞核为棕黄色。CDK20 在肺腺癌组织中的表达按照免疫组织化学染色评分进行分析。随机选取 5 个视野计算阳性细胞数量,计算染色评分,染色评分=染色深度得分×染色细胞比例得分。染色深度得分:阴性为 0 分,低表达为 1 分,中表达为 2 分,高表达为 3 分;染色细胞比例得分:0~25% 为 1 分,>25%~50% 为 2 分,>50%~75% 为 3 分,>75% 为 4 分。染色评分 0 分为阴性表达组,>0~8 分为低表达组,>8 分为高表达组^[4]。

1.2.2 随访情况 采用门诊方式持续随访,截止日

期为 2019 年 12 月,第 1 年每 3 个月随访 1 次,之后每 6 个月随访 1 次,记录肺腺癌患者相关生存时间。

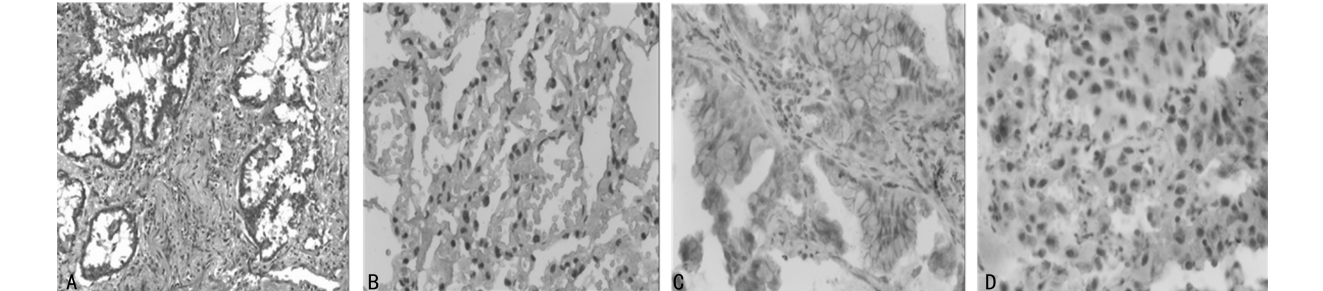
1.3 统计学处理 采用 SPSS20.0 统计学软件进行统计分析,计数资料以率(%)表示,采用 χ^2 检验;生存分析采用 Kaplan-Meier 法,生存率比较采用 Log-rank 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CDK20 在肺腺癌细胞中的染色特点 CDK20 在肺腺癌癌组织细胞中均有不同程度的表达,肺腺癌癌组织染色强度明显高于癌旁组织,肺腺癌癌旁组织阴性表达例数也明显高于肺腺癌癌组织。同时,肺腺癌癌组织阳性病例的百分率也明显高于癌旁组织(50.0% vs. 5.5%)。CDK20 在肺腺癌癌组织肿瘤细胞的细胞质和细胞核中均有表达,但主要表达于细胞质,阳性细胞呈棕黄色或棕褐色颗粒分布。本研究对转移淋巴结进行染色,转移淋巴结肺腺癌肿瘤细胞也呈 CDK20 高表达。见图 1、2。

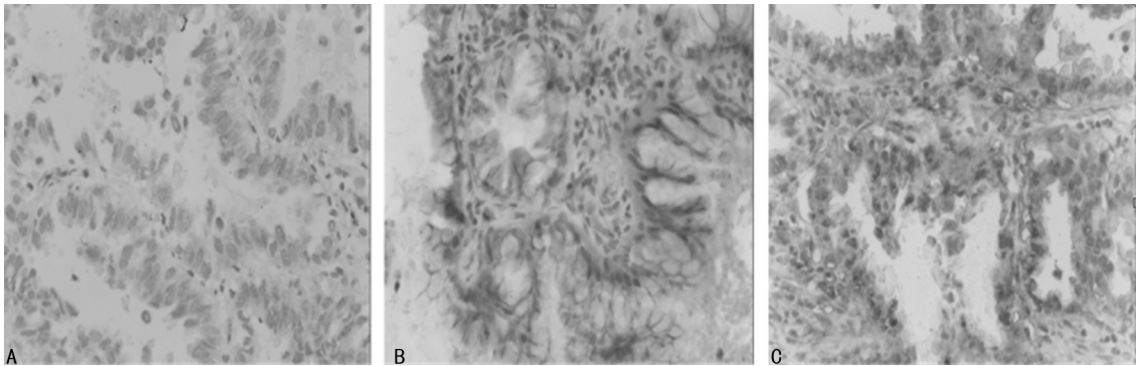
2.2 CDK20 表达水平与肺腺癌临床特征的关系 肺腺癌癌组织 CDK20 高表达比例明显高于癌旁组织($P<0.01$),见表 1。将阴性组和低表达组进行合并以后,进行 CDK20 表达与肺腺癌临床特征分析,结果显示,肺腺癌患者不同性别、年龄与 CDK20 表达无明显相关性($P>0.05$)。原发灶 T 分期较晚的组织 CDK20 相对高表达, $T_2\sim T_4$ 期患者癌组织 CKD20 高表达占比为 94.0%, T_1 期患者占比为 6.0%。肺腺癌晚期伴有远处转移(M1 期)的患者癌组织也呈现明显的 CDK20 高表达状态($P<0.05$),有远处转移的患者 CDK20 高表达(61.25%)比例明显高于无转移患者(38.8%)。临床 III~IV 期 CDK20 高表达患者比例(88.0%)明显高于其他分期患者比例(12.00%)。见表 2。

2.3 CDK20 表达与肺腺癌患者预后的关系 对 CDK20 高表达组和阴性+低表达组患者总的生存时间进行分析,虽然 CDK20 高表达组总的生存期较短,但差异无统计学意义($P>0.05$)。考虑到研究对象中肺腺癌晚期转移患者的例数占比较大,进一步对晚期转移患者(IV 期)的总生存期进行分析,结果显示,CDK20 高表达的晚期转移患者总生存期明显短于 CDK20 阴性+低表达患者($P<0.05$)。见图 3、4。



注:A 表示肺腺癌 HE 染色(×100);B 表示癌旁组织 CDK20 低表达(×200);C 表示癌组织 CDK20 高表达(×200);D 表示转移淋巴结组织 CDK20 表达阳性(×200)。

图 1 肺腺癌癌旁组织、癌组织和转移淋巴结组织 CDK20 阳性表达情况



注:A 表示低表达;B 表示中表达;C 表示高表达。

图 2 肺腺癌组织 CDK20 不同染色表达强度 (SP×200)

表 1 肺腺癌组织和癌旁组织中 CDK20 蛋白表达染色评分分组情况比较[n(%)]				
组织	n	阴性表达组	低表达组	高表达组
肺腺癌组织	127	11(8.7)	56(44.1)	60(47.2)
癌旁组织	127	47(37.0)	73(57.5)	7(5.5)

表 2 CDK20 表达与肺腺癌临床特征的关系[n(%)]				
临床特征	n	阴性+低表达组 (n=60)	高表达组 (n=67)	P
性别				0.646
男	65	32(53.3)	33(49.3)	
女	62	28(46.7)	34(50.7)	
年龄(岁)				0.572
≤60	26	11(18.3)	15(22.4)	
>60	101	49(81.7)	52(77.6)	
T				0.037
1	17	13(21.7)	4(6.0)	
2	59	23(38.3)	36(53.7)	
3	28	15(25.0)	13(19.4)	
4	23	9(15.0)	14(20.9)	
N				0.864
0	47	22(36.7)	25(37.3)	
1	30	16(26.7)	14(20.9)	
2	40	18(30.0)	22(32.8)	
3	10	4(6.7)	6(9.0)	
M				0.002
0	66	40(66.7)	26(38.8)	
1	61	20(33.3)	41(61.2)	
分期				<0.001
I	17	15(25.0)	2(3.0)	
II	20	14(23.3)	6(9.0)	
III	29	11(18.3)	18(26.9)	
IV	61	20(33.3)	41(61.2)	

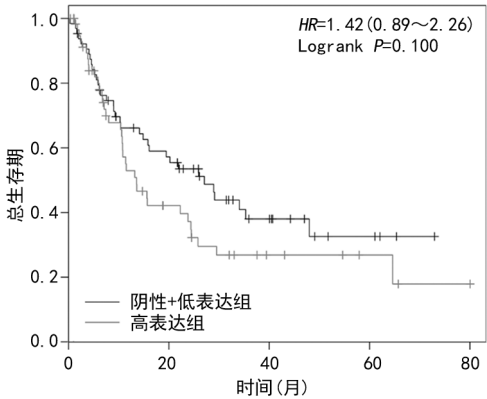


图 3 127 例患者总生存分析生存曲线

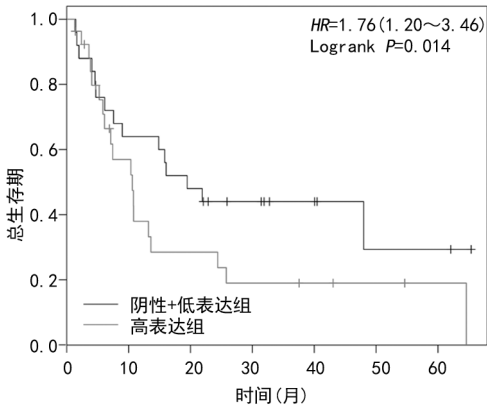


图 4 61 例Ⅳ期患者总生存分析生存曲线

3 讨 论

早在 2004 年就有研究显示,宫颈癌细胞中敲除 CDK20 后肿瘤细胞克隆生长得到明显抑制,而这是通过活化 CDK2 磷酸化抑制实现的^[4-5]。CDK20 是含有 11 个保守丝氨酸/苏氨酸的蛋白激酶,CDK20 基因位于染色体上的 9q22.1,基因组长度为 8 kb,具有 7 个外显子,并且其作为一种癌基因在包括肝癌、结肠癌、脑胶质瘤的发生、发展过程中起到重要的调控作用^[5]。

本研究结果显示,CDK20 在肺腺癌组织和转移淋巴结组织中明显高表达。CDK20 染色定位在肿瘤细胞的细胞核和细胞质,这些结果提示 CDK20 可能通过肺腺癌细胞的细胞质和细胞核信号通路对肺腺癌生物学特性发挥调控作用。CDK20 通过调节 CDK20

的磷酸化,并通过影响 G₁/S-特异性周期蛋白(Cyclin) D1 和 Cyclin E 来控制胶质瘤、卵巢癌和结肠癌细胞的生长和增殖。而在肝癌细胞中 CDK20 活化 β -catenin/T 细胞因子活化信号通路可促进肝癌的发生。同时,CDK20 与核因子 E2 相关因子 2 竞争,与 Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白 1 结合,降低细胞活性氧的水平,影响放化疗的敏感性^[6]。这些穿梭于细胞内结构之间的 CDK20 信号通路调节机制使 CDK20 具有作为癌基因的作用。肝癌、脑胶质瘤及结肠癌临床研究显示,CDK20 高表达患者不良预后较差,因此,CDK20 可能成为临床肿瘤预后评估的有效生物学指标^[7-8]。目前,CDK20 如何影响肺腺癌的机制还有待进一步研究,CDK20 通过调节免疫微环境各种肿瘤相关细胞因子发挥抗肿瘤的作用,不断更新研究者对 CDK20 的认识^[9]。

本研究数据显示,61.2%有远处转移患者肺腺癌组织中 CDK20 高表达(>8 分)。I 期和 II 期总共只有 8 例(12.0%)患者 CDK20 高表达,而 III、IV 期 59 例(88.0%)患者肺腺癌组织中 CDK20 高表达,远高于 I、II 期患者比例。这些结果提示,CDK20 的高表达可能参与肺腺癌的进展及促进肿瘤的远处转移。而在随访结果中,虽然 CDK20 高表达组患者有相对较差的预后生存期,但差异无统计学意义,进一步对 IV 期晚期转移的患者随访数据进行分析,结果显示,CDK20 高表达组患者其生存期明显缩短。本研究结果提示,CDK20 表达强度也就是 CDK20 在肿瘤组织中的表达量,与肺腺癌的病情进展及转移有关,这使得 CDK20 表达可能可以作为预后预测的一项重要的重要的参考指标。已有研究显示,CDK 与肺癌有着广泛的联系,包括 Cyclin D、Cyclin E、CDK1 和 CDK2 等都与肺癌发生、发展相关,研究者也在进行 CDK2 和 CDK7 的抑制剂针对肺癌的作用机制研究^[10-12]。目前鲜见 CDK20 参与肺腺癌调控作用机制和肺腺癌预后研究的文献,尤其是用免疫组织化学这种临床常用方法检测分析。本研究对肺腺癌临床标本进行 CDK20 免疫组织化学法染色并分析其在诊断和预后中的作用,这为进一步研究 CDK20 作用机制和作为治疗靶点提供了线索。

综上所述,CDK20 与肺腺癌发生、发展密切联系,CDK20 高表达可能提示肺腺癌患者不良预后。这有助于深入理解肺腺癌肿瘤侵袭、转移分子机制,对寻找新的肺癌治疗靶点、预后评估有一定的参考价值。但本研究方法较单一,还有待在细胞转录水平和动物模型上进一步研究 CDK20 的表达和功能。

参考文献

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2020[J]. CA: a cancer journal for clinicians, 2020, 70(1): 7-30.
- [2] KINOSHITA F L, ITO Y, NAKAYAMA T. Trends in lung cancer incidence rates by histological type in 1975—2008: a population-based study in Osaka, Japan[J]. J Epidemiol, 2016, 26(11): 579-586.
- [3] MOK M T, ZHOU J Y, TANG W S, et al. CCRK is a novel signalling hub exploitable in cancer immunotherapy[J]. Pharmacol Ther, 2018, 67(5): 931-944.
- [4] FEDCHENKO N, REIFENRATH J. Different approaches for interpretation and reporting of immunohistochemistry analysis results in the bone tissue: a review[J]. Diagn Pathol, 2014, 29(9): 221.
- [5] 李亚林, 廖鸿纯. 宫颈癌组织中细胞周期相关激酶的表达功能与化疗药物敏感性的关系[J]. 贵州医药, 2016, 40(8): 801-803.
- [6] WANG Q, MA J, LU Y, et al. CDK20 interacts with KEAP1 to activate NRF2 and promotes radiochemoresistance in lung cancer cells[J]. Oncogene, 2017, 36(37): 5321-5330.
- [7] 孔令斌, 贺军, 张秋生, 等. siRNA 沉默细胞周期相关激酶基因对鼠结肠癌生长及其细胞凋亡的影响[J/CD]. 中华诊断学电子杂志, 2016, 4(3): 160-163.
- [8] 贺军, 张秋生, 孔令斌, 等. 结直肠癌 CCRK 基因表达在分化程度评估中的意义[J]. 济宁医学院学报, 2016, 39(5): 324-327.
- [9] JINGYING Z, MAN L, HANYONG S, et al. Hepatoma-intrinsic CCRK inhibition diminishes myeloid-derived suppressor cell immunosuppression and enhances immune-checkpoint blockade efficacy[J]. Gut, 2018, 67(5): 931-944.
- [10] QIN A, REDDY H G, WEINBERG F D, et al. Cyclin-dependent kinase inhibitors for the treatment of lung cancer[J]. Expert Opin Pharmacother, 2020, 21(24): 1-12.
- [11] KAWAKAMI M, MUSTACHIO L M, RODRIGUEZ-CANALES J, et al. Next-generation CDK2/9 inhibitors and anaphase catastrophe in lung cancer[J]. J Natl Cancer Inst, 2017, 109(6): 297.
- [12] CHENG Z J, MIAO D L, SU Q Y, et al. THZ1 suppresses human non-small-cell lung cancer cells in vitro through interference with cancer metabolism[J]. Acta Pharmacol Sin, 2019, 40(6): 814-822.

(收稿日期: 2020-03-12 修回日期: 2020-07-02)