

· 短篇论著 ·

Bcl-2 和 Hrk 及 Cyclin E 基因在胃癌组织中的表达及其意义

赵文江 周喜元 潘杰锋 金学勇 梁桂玲 赵梁 赵春宝 王志强 李勇

【摘要】 目的 研究凋亡抑制基因蛋白 Bcl-2 与促进凋亡基因蛋白 Hrk、细胞周期素 Cyclin E 基因蛋白在胃癌中的表达,探讨其在胃癌发生、发展中的生物学关系及意义。**方法** 应用 S-P 方法,检测 58 例胃癌组织及正常胃黏膜组织基因蛋白 Bcl-2 与 Hrk、Cyclin E 表达情况。**结果** Bcl-2 蛋白在胃癌组织中阳性表达 38 例,阳性率为 65.5%,在癌旁组织中阳性表达 14 例,阳性率为 24.1%,两组中 Bcl-2 蛋白阳性率比较,差异有统计学意义($\chi^2 = 20.077, P < 0.05$)。不同肿瘤分化程度、临床分期及有无淋巴转移胃癌患者中 Bcl-2 蛋白阳性率比较,差异均有统计学意义($P < 0.01$);不同年龄、肿瘤直径、Borrmann 分型、浸润深度胃癌患者中 Bcl-2 蛋白阳性率比较,差异均无统计学意义。Hrk 蛋白在癌旁组织中阳性表达 36 例,阳性率为 62.1%,在胃癌组织中阳性表达 12 例,阳性率为 20.7%,两组中 Hrk 蛋白阳性率比较,差异有统计学意义($\chi^2 = 20.471, P < 0.05$)。Cyclin E 蛋白在胃癌组织中阳性表达 34 例,阳性率为 58.6%,在癌旁组织中阳性表达 11 例,阳性率为 18.9%,两组中 Hrk 蛋白阳性率比较,差异有统计学意义($\chi^2 = 19.206, P < 0.05$)。Bcl-2 蛋白与 Hrk 蛋白和 Cyclin E 蛋白的相关分析,Bcl-2 蛋白与 Hrk 蛋白呈负相关($r_s = -0.312, P < 0.05$),与 Cyclin E 蛋白呈正相关($r_s = 0.682, P < 0.05$)。**结论** Bcl-2、Hrk 及 Cyclin E 基因蛋白均与胃癌发生有关,三者相互制约或协调,参与胃癌形成机制。

【关键词】 细胞凋亡; 基因,bcl-2; 细胞周期蛋白 E; 胃肿瘤; Hrk 基因

胃癌的发生是一个多因素、多阶段、多基因变异累积的复杂过程。现有的研究表明,胃癌的发生不仅是原癌基因的激活及抑癌基因的失活导致细胞过度增生和异常分化,还受抑制、促进凋亡基因、细胞周期素等多因素影响。细胞凋亡障碍异常是胃癌发生的重要机制之一,是胃癌发生的生物学基础。本研究应用免疫组化法观察胃癌患者凋亡抑制基因 Bcl-2 与凋亡促进基因 Hrk、细胞周期素 E(Cyclin E)的表达,探讨其在胃癌发生、发展中的作用及意义。

一、材料与与方法

1. 材料来源:选取库尔勒医院 2001 年 1 月至 2011 年 1 月收治并经手术病理证实的 58 例胃癌患者的癌组织蜡块标本及癌旁正常组织,其中男 40 例,女 18 例,维吾尔族 19 例,汉族 39 例,年龄 38~78 岁,中位年龄 58 岁。根据 1997 年国际抗癌联盟(UICC)制定的 TNM 分期标准进行临床分期:I 期 6 例,II 期 14 例,III 期 29 例,IV 期 9 例。分化程度:高中分化腺癌 33 例,低分化腺癌 25 例。术中发现有淋巴转移 28 例,无淋巴转移 30 例。患者术前均未经放疗或化疗,经病理切片证实,胃癌组织均为腺癌。

2. 试剂:(1)兔抗人 Bcl-2 抗体和链霉亲和素-生物素-过氧化物酶复合物(SABC)免疫试剂盒(北京中山生物制品公司)。(2)Hrk 蛋白酶免疫试剂盒(美国 ADL GDF-8 ELISA 试剂盒),购自厦门慧嘉生物科技有限公司,应用酶联免疫/酶免法(ELISA),按说明书进行操作。(3)鼠抗人 Cyclin E 单克隆抗体为美国 Santa Cruz 公司产品,免疫组化(S-P)试剂盒和 3-3'-二氨基联苯

胺-4 盐酸盐(DAB)显色剂购自北京中山技术有限公司,DAB 显色剂为含氨基酸、蛋白质、多肽、核苷酸、糖、脂类等与组织液、代谢生成液相近的显色剂,配制方法:试管中加入 0.85 ml 蒸馏水,再加入含有 DAB 缓冲液的试剂 A、含有 DAB 底物的试剂 B、含有 DAB 显色剂的试剂 C,混均即为 1 ml 的 DAB 显色剂。

3. 实验方法:切除标本均经 4% 中性甲醛固定,常规石蜡包埋后行 4 μm 连续切片,均行 HE 染色和 S-P 染色,光镜观察。

(1)采用 S-P 方法,测定 Bcl-2 蛋白的表达:抗 Bcl-2 的工作浓度为 1:50,生物素化单抗和 SABC 试剂的工作浓度均为 1:100。石蜡组织连续切片 5 μm ,载玻片防脱片处理,常规脱蜡、脱水,蜡切片经热抗原修复,滴加正常山羊血清封闭,室温 20 min,滴加 1:50 抗 Bcl-2 抗体,4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,次日滴加生物素化山羊抗兔 IgG,20~37 $^{\circ}\text{C}$ 20 min,再滴加 SABC 试剂,20~37 $^{\circ}\text{C}$ 20 min,用 PBS 缓冲液(800 ml 蒸馏水中溶解 8 g NaCl,0.2 g KCl,1.44 g 磷酸氢二钠和 0.24 g 磷酸二氢钾,用 HCl 调节溶液的 pH 值至 7.4,加水定容至 1 L,高压蒸汽灭菌 20 min,室温保存)清洗 5 min \times 4 次,DAB 室温显色 20 min,苏木精复染,脱水,透明,封片。以 0.01 mol/L 的 PBS 缓冲液代替一抗作阴性对照,以已知阳性反应片作阳性对照。

(2)Hrk 蛋白表达:标本常规石蜡包埋,制成 4 μm 连续切片,行常规 HE 染色,选择状态良好的细胞,应用 Hrk 蛋白酶免疫试剂盒,按说明进行 S-P 染色,用已知染色阳性胃癌细胞切片作对照。

(3)Cyclin E 蛋白检测方法:4 μm 厚的切片,按亲和素-生物素辣根过氧化物酶复合物(ABC)法进行 S-P 染色,组织切片经二甲苯脱蜡、水化后浸入 0.088 mol/L 的 H_2O_2 中 30 min,以阻断内源性氧化酶的活性。为充分暴露抗原,切片在 0.01 mol/L, pH 为 6.5 的柠檬酸缓冲液内加热到 100 $^{\circ}\text{C}$,持续 30 min。经抗 Cyclin E 单克隆抗体(体积比 1:600 稀释)4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 12 h 后,室温下切片,再与兔抗鼠血清反应 20 min,与酸性磷酸酶(PAP)复合物反应 15 min。随后 H_2O_2 -DAB 显色 2 min。经苏木精复染 1 min,

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2012.18.072

基金项目:新疆生产建设兵团卫生科技基金项目(XW:02550)

作者单位:481000 新疆农二师库尔勒医院普外科(赵文江、周喜元、潘杰锋、金学勇、梁桂玲、赵梁、赵春宝、王志强);河北医科大学第四医院胃肠外科(李勇)

通讯作者:赵文江,Email:dage-zhao@163.com

表1 Bcl-2与Hrk、Cyclin E蛋白在58例在胃癌组织中表达及关系

项目	例数	Bcl-2 蛋白表达(例)		+ ~ +++ (%)	χ^2 值	P 值	
		+ ~ +++	-				
年龄	<60 岁	37	25	12	67.6	0.190	0.663
	≥60 岁	21	13	8	61.9		
肿瘤直径	<5 cm	38	27	11	71.1	1.495	0.222
	≥5 cm	20	11	9	55.0		
Borrmann 分型	局限型	7	3	4	42.8	1.809	0.179
	浸润型	51	35	16	68.6		
分化程度	低分化	35	29	6	82.9	11.746	0.001
	高中分化	23	9	14	39.1		
浸润深度	T1 + T2	27	20	7	74.1	1.637	0.201
	T3 + T4	31	18	13	58.1		
临床分期	I、II 期	26	12	14	46.2	7.821	0.005
	III、IV 期	32	26	6	81.3		
淋巴结转移	有	39	30	9	76.9	6.855	0.009
	无	19	8	11	42.1		
Hrk	+	12	4	8	33.3	6.664	0.010
	-	46	34	12	73.9		
Cyclin E	+	34	28	6	82.4	10.309	0.001
	-	24	10	14	41.7		

脱水、透明、封片,进行观察及结果判定,以已知阳性反应片作阳性对照。

4. 结果判定: Bcl-2 与 Hrk、Cyclin E 蛋白染色阳性均为在胞质内或胞核出现棕褐色颗粒,其着色强度高于背景非特异性染色者为阳性,每例切片随机选取 5 个高倍视野进行结果判定。按染色强度及阳性细胞数占肿瘤细胞总数的百分比综合计分,染色强度: 无色为 0 分,淡黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分; 阳性细胞数: 小于总数的 5% 为 0 分, 5% ~ 25% 为 1 分, 26% ~ 50% 为 2 分, 大于 50% 为 3 分。染色强度得分与阳性细胞数得分相乘, 0 分计为阴性(-), 1 ~ 3 分计为弱阳性(+), 4 ~ 5 分计为中度阳性(++), 大于或等于 6 分计为强阳性(+++)

5. 统计学方法: 应用 SPSS 12.0 统计软件进行分析, 计数资料采用 χ^2 检验, 采用 Spearman 相关分析(r 值), 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

二、结果

1. Bcl-2 蛋白: Bcl-2 蛋白在胃癌组织中阳性表达 38 例, 阳性率为 65.5%, 在癌旁组织中阳性表达 14 例, 阳性率为 24.1%, 两组中 Bcl-2 蛋白阳性率比较, 差异有统计学意义($\chi^2 = 20.077$, $P < 0.05$)。Bcl-2 蛋白在高分化腺癌中主要在胞核表达, 呈灶性或弥漫性分布(图 1A), 在低分化腺癌中主要在胞质表达, 呈灶性或弥漫性分布(图 1B), 在癌旁组织中主要在胞质表达, 呈灶性或弥漫性分布(图 1C)。不同肿瘤分化程度、临床分期及有无淋巴转移胃癌患者中 Bcl-2 蛋白阳性率比较, 差异均有统计学意义($P < 0.01$); 不同年龄、肿瘤直径、Borrmann 分型、浸润深度胃癌患者中 Bcl-2 蛋白阳性率比较, 差异均无统计学意义(表 1)。

2. Hrk 蛋白: Hrk 蛋白在癌旁组织中阳性表达 36 例, 阳性率

为 62.1%, 在胃癌组织中阳性表达 12 例, 阳性率为 20.7%, 两组中 Hrk 蛋白阳性率比较, 差异有统计学意义($\chi^2 = 20.471$, $P < 0.05$)。

Hrk 蛋白在高分化腺癌中主要在胞核表达, 呈灶性或弥漫性分布(图 2A), 在低分化腺癌中主要在胞质表达, 呈灶性或弥漫性分布(图 2B), 在癌旁组织中主要在胞质表达, 呈灶性或弥漫性分布(图 2C)。

3. Cyclin E 蛋白: Cyclin E 蛋白在胃癌组织中阳性表达 34 例, 阳性率为 58.6%, 在癌旁组织中阳性表达 11 例, 阳性率为 18.9%, 两组中 Cyclin E 蛋白阳性率比较, 差异有统计学意义($\chi^2 = 19.206$, $P < 0.05$)。Cyclin E 蛋白在高分化腺癌中主要在胞核表达, 呈灶性或弥漫性分布(图 3A), 在低分化腺癌中主要在胞质表达, 呈灶性或弥漫性分布(图 3B), 在癌旁组织中主要在胞质表达, 呈灶性或弥漫性分布(图 3C)。

4. Bcl-2 蛋白与 Hrk 蛋白和 Cyclin E 蛋白的相关性: 去除影响 Bcl-2 蛋白表达的因素后进行 Spearman 相关分析, Bcl-2 蛋白与 Hrk 蛋白呈负相关($r_s = -0.312$, $P < 0.05$), 与 Cyclin E 蛋白呈正相关($r_s = 0.682$, $P < 0.05$)。见表 2。

三、讨论

细胞凋亡或称程序性细胞死亡(programmed cell death, PCD)是细胞对内外信号刺激作出的应答反映, 是维持内环境稳定的重要机制之一。近年来对细胞凋亡的研究, 发现细胞凋亡与许多疾病尤其肿瘤有密切关系。研究表明, 在肿瘤的发生发展中伴有抑凋亡、促凋亡蛋白的表达增强或减弱及多种因素参与。本文就凋亡相关的 Bcl-2 与 Hrk、Cyclin E 蛋白在胃癌组织中表达及相关性与胃癌的发生及生物学的关系作一探索。

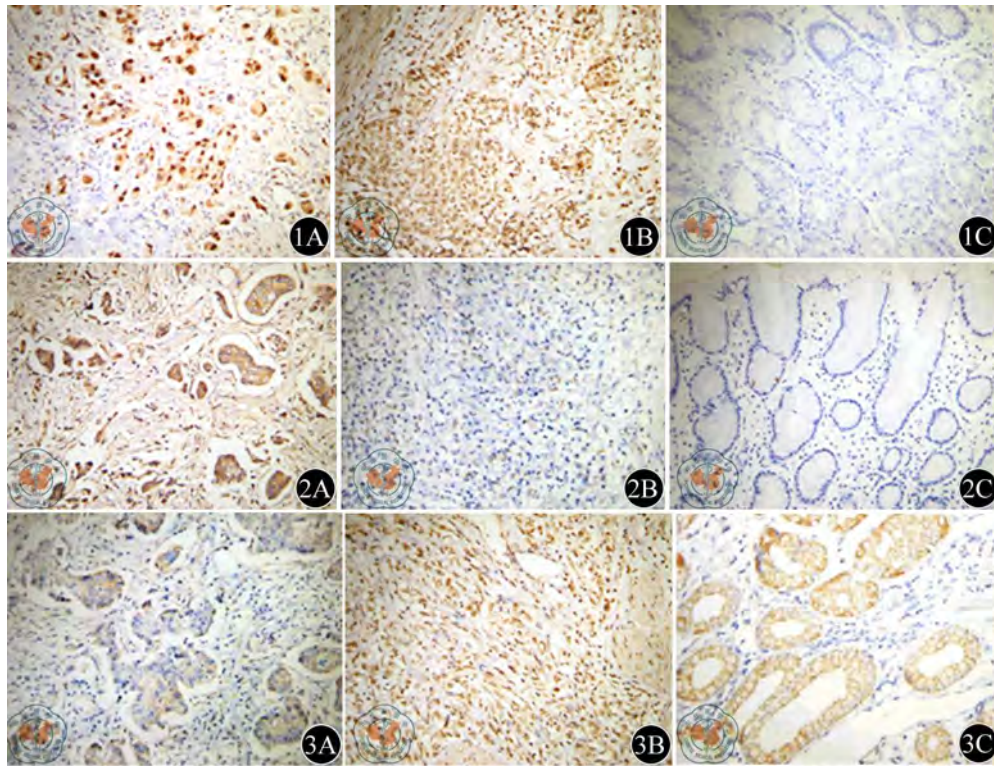


图1A 高分化腺癌中Bcl-2的表达(SP × 200) 图1B 低分化腺癌中Bcl-2的表达(SP × 200)
 图1C 正常胃黏膜中Bcl-2的表达(SP × 200) 图2A 高分化腺癌中Hrk的表达(SP × 200)
 图2B 低分化腺癌中Hrk的表达(SP × 200) 图2C 正常胃黏膜中Hrk的表达(SP × 200)
 图3A 高分化腺癌中Cyclin E的表达(SP × 200) 图3B 低分化腺癌中Cyclin E的表达(SP × 200)
 图3C 正常胃黏膜中Cyclin E的表达(SP × 200)

表2 Bcl-2 和 Hrk、Cyclin E 蛋白在 58 例在胃癌组织中表达的关系(例)

Bcl-2 蛋白	Hrk 蛋白				Cyclin E 蛋白			
	-	+	++	+++	-	+	++	+++
-	12	2	2	4	14	4	2	0
+	6	0	1	1	7	5	1	0
++	14	1	1	0	3	3	4	3
+++	14	0	0	0	0	2	2	8

注:与 Hrk 比较: $r_s = -0.312, P < 0.05$; 与 Cyclin E 比较: $r_s = 0.682, P < 0.05$

Bcl-2 蛋白是 1984 年 Tsujimoto 等从 B 细胞滤泡性淋巴瘤染色体断裂点发现的^[1]。已证实 Bcl-2 基因主要分布在线粒体外膜、粗面内质网和核膜上,可协助线粒体调控凋亡^[2],而具有抑制凋亡的作用^[3]。Bcl-2 基因属于一类新的癌基因家族成员,通过有效抑制许多不同类型细胞中许多不同类型的凋亡刺激诱导的细胞凋亡,延长细胞活力而发挥其生物学作用,对细胞周期的进程不发生影响。这说明它在细胞凋亡调控机制中起着十分重要的作用,可能是许多因子作用的共同分子基础。Bcl-2 基因是一种抗凋亡基因,细胞凋亡过程失去控制在肿瘤形成过程中起十分重要的作用^[4]。通过抑制细胞凋亡,细胞促凋亡基因活性受抑制和(或)抗凋亡基因被激活时,细胞不能凋亡而长期存活,如再加上癌基因异常高表达和(或)抑癌基因失活时,可引起细胞数动态失衡,就导致细胞癌变或肿瘤形成。调节细胞凋亡的基因参与了肿瘤的发生、发展过程,主要与三个基因家族即 Bcl-

2 家族、Caspase 家族和凋亡抑制蛋白(inhibitor of apoptosis, IAP) 家族关系密切^[5-6]。本研究结果表明,Bcl-2 蛋白在胃癌组织中阳性表达 38 例,阳性率为 65.5%,在癌旁组织中阳性表达 14 例,阳性率为 24.1%,两组中 Bcl-2 蛋白阳性率比较,差异有统计学意义($\chi^2 = 20.077, P < 0.05$)。不同肿瘤分化程度、临床分期及有无淋巴转移胃癌患者中 Bcl-2 蛋白阳性率比较,差异均有统计学意义;不同年龄、肿瘤直径、Borrmann 分型、浸润深度胃癌患者中 Bcl-2 蛋白阳性率比较,差异均无统计学意义,可证实 Bcl-2 蛋白在胃癌组织表达,参与胃癌发生生物学相关蛋白。

Hrk 蛋白(harakiri)于 1997 年由 Inohara 等使用酵母双杂交系统筛选 HeLa 细胞中与 Bcl-2 相作用的分子时发现^[7],已证实 Hrk 的表达与细胞凋亡密切相关,增加 Hrk 表达能促进细胞凋亡^[7-10]。Hrk 主要通过内源性途径活化 Caspase 信号级联,促进细胞凋亡。和 Hrk 直接作用的分子主要有 Bcl-2 家族和 Bcl-xL。Hrk 通过 BH3 结构域可以和 Bcl-2 或 Bcl-xL 结合,形成异二聚体,活化 Bax。活化的 Bax 构象发生变化,在线粒体外膜形成寡聚复合物,通过影响线粒体膜通透性转化孔(MPTP)等,改变线粒体通透性,释放凋亡相关分子,活化 Caspase 信号级联,诱导细胞凋亡^[7]。Hrk 可通过与 P32 结合,作用于线粒体通道孔,经由线粒体凋亡信号传导途径促进细胞凋亡^[11]。Hrk 在肿瘤、胃癌中的研究较少,已报道在胃癌和结肠癌、星形细胞瘤、中枢神经系统淋巴瘤和前列腺癌中存在 Hrk 基因水平和蛋白表达水平的变化,使用去甲基化试剂可以增加 Hrk 蛋白的表达,促进肿瘤细胞凋亡,增加肿瘤细胞对抗肿瘤药物的反应。Hrk 基因甲基化或杂合子缺失和 Hrk 蛋白表达缺失密切相关,与肿瘤细胞的凋亡调控紊乱有关。本研究结果表明,Hrk 蛋白在胃癌组织中阳性表

达12例,阳性率为20.7%,在癌旁组织中阳性表达36例,阳性率为62.1%,两组中Hrk蛋白阳性率比较,差异有统计学意义($\chi^2 = 20.471, P < 0.05$)。可证实Hrk蛋白在胃癌组织表达,参与调控胃癌发生生物学相关蛋白。

Cyclin E蛋白是重要的细胞周期素,一个典型的细胞周期由4个期即G1-S-G2-M构成,并受到胞内外信号传导途径及反馈环路的调控。目前已发现A~J 10种细胞周期素(Cyclins)作用于细胞周期,有些含亚型如Cyclin D1、Cyclin D2等共15种Cyclins,其中Cyclin E及其相关激酶CDK2是重要的G1期调节单位。Cyclin E是一类核蛋白,最初是从酿酒酵母菌中提取出来的,其表达升高始于G1中期,至G1晚期的G1/S交界处达高峰,细胞进入S期后,Cyclin E开始下降,到G2/M期降为零。故在正常细胞的G2和M期中无Cyclin E表达^[12]。Cyclin E的异常表达表现为表达过度,并可能出现于整个细胞周期中,已证实Cyclin E的异常表达可以缩小细胞体积,降低对生长因子的需求,加速细胞通过G1期^[13],可作为肿瘤增殖的标志^[14],细胞周期调控机制紊乱是细胞增生失控从而导致癌变的重要原因。而且Cyclin E的过度表达加速细胞周期,异常提高的细胞增殖能力而造成肿瘤发生的观点已经改变,Cyclin E蛋白还是与多种肿瘤的发生与进展相关联,由于Cyclin E蛋白在恶性肿瘤细胞中经常存在着失调,并且这种失调往往与肿瘤的侵袭性和不良的预后相关^[15],目前认为其可能通过提高杂合子缺失的程度而导致的CIN^[16]来促进肿瘤发生。即细胞周期调控机制紊乱是细胞增生失控从而导致癌变的重要原因,本研究结果表明,Cyclin E蛋白在胃癌中阳性表达率与Cyclin E蛋白表达率比较,差异有统计学意义,可证明Cyclin E蛋白在胃癌组织表达,参与调控胃癌发生生物学相关蛋白。研究得出,Cyclin E蛋白在胃癌组织中阳性表达34例,阳性率为58.6%,在癌旁组织中阳性表达11例,阳性率为18.9%,两组中Hrk蛋白阳性率比较,差异有统计学意义($\chi^2 = 19.206, P < 0.05$)。Bcl-2蛋白与Hrk蛋白和Cyclin E蛋白的相关分析,Bcl-2蛋白与Hrk蛋白呈负相关($r_s = -0.312, P < 0.05$),与Cyclin E蛋白呈正相关($r_s = 0.682, P < 0.05$),说明Bcl-2蛋白与Hrk蛋白及Cyclin E蛋白与胃癌发生相关,Bcl-2抗凋亡基因作用,受到Hrk促凋亡蛋白影响,提示抗凋亡蛋白的失调与促凋亡Hrk基因在胃癌的发生方面可能有相互促进作用,提示细胞周期调控机制紊乱是细胞增生失控从而导致癌变的重要原因,胃癌发生、发展不仅与Bcl-2蛋白抑制作用有关,还与Hrk蛋白表达缺失相关,与Cyclin E蛋白早期调节及多种蛋白相互作用调控,在基因水平上正负信号转导、调控有密切相关,在肿瘤组织发生、发展中表达其具体相互作用机制,有待进一步研究。

赵文江,周喜元,潘杰锋,等. Bcl-2和Hrk及Cyclin E基因在胃癌组织中的表达及其意义[J/CD]. 中华临床医师杂志:电子版,2012,6(18):5676-5679.

参 考 文 献

- [1] 杨光华. 病理学. 5版. 北京:人民卫生出版社,2001:107-113.
- [2] 孟庆超,王禾,于磊,等. Bag-1和Bcl-2在前列腺癌组织中的表达及意义. 现代肿瘤医学,2007,15:366-368.
- [3] 刘浩森,朱朝晖,曾甫清,等. 膀胱移行细胞癌中P53突变Bcl-2的表达及其临床意义. 中华实验外科杂志,2002,19:125-127.
- [4] Cross M, Dexter TM. Growth factors in development, transformation, and tumorigenesis. Cell,1991,64:271-280.
- [5] Altieri DC. The molecular basis and potential role of survivin in cancer diagnosis and therapy. Trends Mol Med,2001,7:542-547.
- [6] Conway EM, Pollefeyt S, Steiner-Mosonyi M, et al. Deficiency of survivin in transgenic mice exacerbates Fas-induced apoptosis via mitochondrial pathways. Gastroenterology,2002,123:619-631.
- [7] Inohara N, Ding L, Chen S, et al. harakiri, a novel regulator of cell death, encodes a protein that activates apoptosis and interacts selectively with survival-promoting proteins Bcl-2 and Bcl-X(L). EMBO J, 1997,16:1686-1694.
- [8] Imaizumi K, Morihara T, Mori Y, et al. The cell death-promoting gene DP5, which interacts with the BCL2 family, is induced during neuronal apoptosis following exposure to amyloid beta protein. J Biol Chem, 1999,274:7975-7981.
- [9] Harris CA, Johnson EM Jr. BH3-only Bcl-2 family members are coordinately regulated by the JNK pathway and require Bax to induce apoptosis in neurons. J Biol Chem,2001,276:37754-37760.
- [10] Kalinec GM, Fernandez-Zapico ME, Urrutia R, et al. Pivotal role of Harakiri in the induction and prevention of gentamicin-induced hearing loss. Proc Natl Acad Sci U S A,2005,102:16019-16024.
- [11] Sunayama J, Ando Y, Itoh N, et al. Physical and functional interaction between BH3-only protein Hrk and mitochondrial pore-forming protein p32. Cell Death Differ,2004,11:771-781.
- [12] Gong J, Traganos F, Darzynkiewicz Z. Threshold expression of cyclin E but not D type cyclins characterizes normal and tumour cells entering S phase. Cell Prolif,1995,28:337-346.
- [13] Resnitzky D, Gossen M, Bujard H, et al. Acceleration of the G1/S phase transition by expression of cyclins D1 and E with an inducible system. Mol Cell Biol,1994,14:1669-1679.
- [14] Dutta A, Chandra R, Leiter LM, et al. Cyclins as markers of tumor proliferation: immunocytochemical studies in breast cancer. Proc Natl Acad Sci U S A,1995,92:5386-5390.
- [15] Hwang HC, Clurman BE. Cyclin E in normal and neoplastic cell cycles. Oncogene,2005,24:2776-2786.
- [16] Spruck CH, Won KA, Reed SI. Deregulated cyclin E induces chromosome instability. Nature,1999,401:297-300.

(收稿日期:2012-05-07)

(本文编辑:戚红丹)