

[文章编号] 1000-2200(2009)03-0198-03

· 临床医学 ·

survivin 在食管癌的表达及其与 Bcl-2 相关性研究

李大鹏, 王启之

[摘要] **目的:**探讨食管癌中 survivin 和 Bcl-2 的表达及它们的相关性。**方法:**收集经病理证实的 40 例食管癌、12 例癌旁食管组织及 9 例食管炎标本,免疫组织化学 S-P 法检测 survivin 和 Bcl-2 蛋白的表达。**结果:**82.5% 食管癌组织 survivin 蛋白表达阳性, survivin 蛋白在食管癌中的表达与在食管炎及癌旁食管组织中的表达差异有统计学意义($P < 0.005$),在不典型增生的食管炎中可检测到 survivin 蛋白的表达; survivin 蛋白的表达与食管癌分化程度和年龄无明显关系($P > 0.05$);食管癌中 survivin 蛋白的表达与 Bcl-2 蛋白的表达有一定关系($P = 0.030$)。**结论:**食管癌组织中 survivin 表达上调,与肿瘤分化及病理分型无关, survivin 蛋白的表达与 Bcl-2 蛋白的表达有一定关系;不典型增生食管炎中可检测到 survivin 蛋白的表达,提示 survivin 蛋白的表达可能参与食管癌的发病,并在癌前病变向食管癌的转化中发挥作用。

[关键词] 食管肿瘤;免疫组织化学;survivin;Bcl-2

[中国图书资料分类法分类号] R 735.1 [文献标识码] A

Expression of survivin and its relationship to Bcl-2 in esophageal cancer

LI Da-peng, WANG Qi-zhi

(Department of Gastroenterology, The First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233004, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the expression of survivin and its correlation with Bcl-2 in esophageal cancer. **Methods:** Forty esophageal cancer's samples, 12 samples of normal esophageal tissues adjacent to esophageal cancer and 9 esophagitis samples were collected, and immunohistochemical SP method was used to detect the expression of survivin and Bcl-2 protein. **Results:** Positive survivin protein expression was detected in 82.5% esophageal cancerous tissues, which was significantly different from that of the esophageal tissues adjacent to esophageal cancer and the esophagitis tissues ($P < 0.005$). Survivin protein expression was detected in esophagitis with atypical hyperplasia, and the expression of survivin was not related to its differentiation degree or the patients' age ($P > 0.05$). The expression of survivin in esophageal cancer was correlated to that of Bcl-2 ($P = 0.030$). **Conclusions:** The expression of survivin in esophageal cancer tissue is up-regulated, but has no association with its pathology type or differentiation degree. survivin protein is correlated to the expression of Bcl-2. The expression of survivin is detected in esophagitis with atypical hyperplasia, which indicates that survivin may participate in the genesis of esophageal cancer and play a role in the progress of esophageal cancer.

[Key words] esophageal neoplasms; immunohistochemistry; survivin; Bcl-2

survivin 是近年发现的凋亡蛋白抑制因子家族的一个新成员,具有抑制细胞凋亡和调节细胞有丝分裂的双重作用。已有报道^[1,2], survivin 在肺癌、胰腺癌、结肠癌、乳腺癌、前列腺癌及淋巴瘤中的表达与肿瘤生物学行为的关系,但在食管癌组织中的表达与生物学行为关系及其与 Bcl-2 等凋亡相关基因关系的研究较少。本研究应用免疫组织化学方法检测食管癌、食管炎、正常食管组织中 survivin 蛋白及 Bcl-2 蛋白的表达,探讨 survivin 在食管癌发生、发展中的作用及 Bcl-2 蛋白表达相互之间的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2006 ~ 2007 年,我科胃镜活检并

经病理确诊食管癌 40 例。男 17 例,女 23 例;年龄 32 ~ 85 岁。留取标本前均未经过化疗和放疗。其中,鳞癌 34 例,差分化癌 4 例,差分化腺癌 1 例,食管腺癌 1 例;病理分级 I 级 9 例, II 级 24 例, III 级 7 例。40 例中在本院手术 12 例,留取相应癌旁食管黏膜。病理确诊食管炎胃镜标本 9 例(其中 2 例存在重度不典型增生)。男 5 例,女 4 例;年龄 57 ~ 72 岁。

1.2 方法 免疫组织化学采用链霉素抗生物素蛋白连接过氧化物酶(S-P)方法:一抗 survivin 羊抗人多克隆抗体, Bcl-2 兔抗人多克隆抗体, p53 兔抗人单克隆抗体(均为美国 Santa Cruz 公司产品),一抗工作浓度分别为 1:100、1:50 和 1:75, SP 试剂盒购于美国 Zymed 公司。实验操作过程参照试剂盒说明书进行,以 Santa Cruz 公司提供的已知阳性切片作阳性对照,用磷酸盐缓冲液(PBS 0.01 mol/L, pH 7.4)代替一抗作为阴性对照。

1.3 结果判定 免疫组织化学染色 survivin 阳性

[收稿日期] 2008-03-10

[基金项目] 安徽省教育厅自然科学研究资助项目(2005kj377zc)

[作者单位] 蚌埠医学院第一附属医院 消化内科,安徽 蚌埠 233004

[作者简介] 李大鹏(1976-),男,硕士,主治医师。

反应为棕黄色或黄色颗粒,定位于胞质。Bcl-2 定位于细胞胞质及核膜上,呈棕黄色颗粒。双人盲法观片,随机选择 5 个高倍镜(×400)视野,分别计数阳性肿瘤细胞和肿瘤细胞总数,统计阳性细胞百分数,按百分数分为 5 类:0 分表示 <5%;1 分表示 5%~25%;2 分表示 >25%~50%;3 分表示 >50%~75%;4 分表示 >75%。将染色强度分为 4 级:0 表示阴性;1 表示弱阳性(+);2 表示中度阳性(++);3 表示强阳性(+++)。参照 Lu 等^[3]的方法,将强度、数量积分相乘之积 ≥1 表示免疫组化阳性表达。

1.4 统计学方法 采用 χ^2 检验、秩和检验和四格表确切概率法。

2 结果

2.1 survivin 蛋白阳性的表达 survivin 蛋白阳性

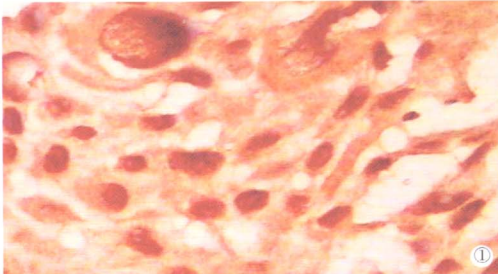


图 1 survivin 表达,胞质中可见大量棕黄色染色颗粒(SP ×400)

产物定位于胞质中,为棕黄色染色颗粒(见图 1)。40 例食管癌中 33 例表达为阳性,阳性率 82.5%。分化癌 5 例中 survivin 蛋白阳性 4 例(4/5),高、中分化癌 35 例中 survivin 蛋白阳性 29 例(82.85%),survivin 蛋白在分化癌和高、中分化癌之间的表达无统计学意义。12 例癌旁食管黏膜中 survivin 蛋白表达 0 例阳性,9 例食管炎标本 survivin 蛋白表达 2 例阳性,2 例阳性标本均存在重度不典型增生。食管炎及癌旁食管黏膜中 survivin 蛋白的表达与食管癌中 survivin 蛋白的表达差异有统计学意义($P < 0.01$)。Bcl-2 的表达及其与 survivin 蛋白表达的关系显示 Bcl-2 定位于细胞胞质及核膜上,呈棕黄色颗粒(见图 2)。40 例食管癌中 35 例为阳性,阳性率 87.5%,与 survivin 蛋白的表达阳性率之间有一定关系($P = 0.030$)(见表 1)。

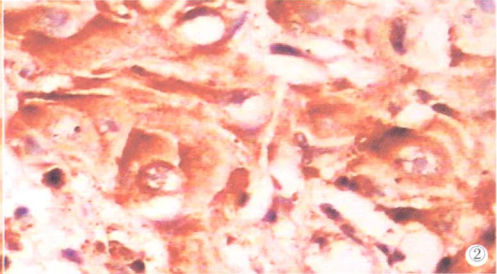


图 2 Bcl-2 表达,胞质及核膜上可见大量棕黄色染色颗粒(SP ×400)

表 1 食管癌临床病理参数及 Bcl-2 蛋白表达与 survivin 表达关系

临床观察项目	n	survivin 蛋白		阳性率(%)	χ^2	P
		阳性	阴性			
组织类型						
食管癌	40	33	7	82.5		
食管炎	9	2	7	2/7 $\Delta\Delta$	31.03	<0.005
癌旁正常食管黏膜	12	0	12	0/12 $\Delta\Delta$		
癌分化程度						
I、II 级	35	29	6	82.9		
III 级	5	4	1	4/5	—	1.000 Δ
年龄						
≤60 岁	18	4	14	22.2		
>60 岁	15	3	12	20.0	—	1.000 Δ
Bcl-2 蛋白表达						
阳性	35	31	4	88.6	—	0.030 Δ
阴性	5	2	3	2/5		

与食管癌比较 $\Delta\Delta P < 0.01$; Δ 示四格表确切概率法

表 2 癌旁食管黏膜、食管炎和食管癌中 Bcl-2 蛋白的表达(n)

组织类型	n	Bcl-2 蛋白		Hc	P
		阳性	阴性		
食管癌	40	35	5		
食管炎	9	2	7	35.56	<0.005
癌旁正常食管黏膜	12	0	12		
合计	61	37	24		

3 讨论

survivin 作为 IAP 家族的一员,是迄今发现最强的凋亡抑制因子^[4]。它通过与微管蛋白形成复合物来抑制末端控制酶 caspase-3、caspase-7 或 caspase-9 的活性^[5-7],从而抑制细胞的凋亡。survivin 还可与周期素依赖激酶(CDK4)相互作用,使 CD4K 中 p21 释放出来,并与 caspase-3 相结合,间接抑制 caspase-3 的活性,从而抑制凋亡。survivin 蛋白作为近年来新发现的一类凋亡抑制蛋白,不仅可抑制细胞凋亡,促进细胞增殖,参与细胞有丝分裂的调节,是联系细胞周期和细胞凋亡界面的重要因

2.2 不同组织中 Bcl-2 蛋白的表达 Bcl-2 蛋白在食管癌中的阳性表达率均高于食管炎和癌旁正常食管黏膜($P < 0.005$)(见表 2)。

子,并可能参与血管的形成,与许多肿瘤的发病密切相关^[8]。survivin mRNA 的表达,可有效抑制肿瘤细胞的生长^[9]。

本研究结果显示,食管癌中 survivin 蛋白表达阳性率为 82.5%,而癌旁正常组织无表达,食管炎 9 例中有 2 例表达,表明 survivin 在食管癌中选择性高表达,而在癌旁非瘤组织和食管炎中表达明显降低。本研究中,食管炎中 survivin 蛋白表达阳性 2 例经病理证实均存在不典型增生,而无不典型增生病例则无 survivin 表达,提示 survivin 的表达是食管癌发生的重要因素之一,可能在癌前病变向食管癌的转变中发挥重要作用。有研究表明,survivin 的表达与多种肿瘤的生物特性、分期密切相关^[10]。但本研究结果显示,survivin 表达与食管癌分化程度和患者无明显关系,可能与研究的样本量大小、抗体选择及实验方法不同有关。

Bcl-2 为研究较多的又一细胞凋亡的调控因子,其功能是阻遏细胞凋亡,过表达已被证实存在于多种肿瘤组织中^[11,12]。也证明,Bcl-2 在食管癌中的表达与其在食管炎及正常癌旁组织中的表达差异有统计学意义。食管癌组织中 survivin 蛋白的表达与 Bcl-2 蛋白的表达密切相关 ($P < 0.05$),与 Tanaka 等^[5]报道一致,在其它肿瘤的研究也证实这一点^[13],提示两者可能存在共同表达的路径,但 survivin 和 Bcl-2 分别行使不同的抗凋亡功能。一方面,survivin 直接抑制 caspase 的活性^[14],Bcl-2 则通过干扰细胞色素 C 自线粒体的释放,从而阻断 caspase 蛋白酶连锁反应的激活;另一方面,survivin 基因和 Bcl-2 基因均由 TATA 缺乏、GC 富集的启动子序列所调控,并且主要在增殖活跃的细胞中转录,提示可能存在转录活化的共同机制。本研究结果提示,在食管癌中这两条抗凋亡路径可能会聚起来,协同转化为强大的抗凋亡作用,促进食管癌的发生。

肿瘤的发生是一个多因素参与的多步骤过程,发病机制复杂。survivin 在人类肿瘤细胞中选择性高表达,使得应用 survivin 特异性抗体免疫治疗以及反义 survivin 基因治疗具有良好的靶向性、特异性及安全性。本实验证明,survivin 参与了食管癌的发生、发展过程,并与 Bcl-2 有密切关系,提示两者

的联合检测有望成为食管癌临床诊断的参考指标,并为食管癌的基因治疗提供新的靶点。

[参 考 文 献]

- [1] Ambrosini G, Adida C, Altieri DC. A novel anti-apoptosis gene, survivin, expressed in cancer and lymphoma [J]. *Nat Med*, 1997, 3(8):917-921.
- [2] 夏雪梅, 陈余清, 蔡映云, 等. Survivin 反义寡核苷酸诱导肺癌细胞株凋亡的研究 [J]. *蚌埠医学院学报*, 2005, 30(1):4-8.
- [3] Lu CD, Altieri DC, Tanigawa N. Expression of a novel antiapoptosis gene, survivin, correlated with tumor cell apoptosis and p53 accumulation in gastric carcinomas [J]. *Cancer Res*, 1998, 58(9):1808-1812.
- [4] 孙红亚, 郑健, 李维青, 等. RNA 干扰 survivin 基因在 EC109 细胞中作用的体内实验研究 [J]. *实用临床医药杂志*, 2008, 12(4):8-12.
- [5] Tanaka K, Iwamoto S, Gon G, et al. Expression of survivin and its relationship to loss apoptosis in breast carcinomas [J]. *Clin Cancer Res*, 2000, 6(1):127-134.
- [6] Deveraux QL, Reed JC. IAP family proteins-suppressors of apoptosis [J]. *Genes Dev*, 1999, 13(3):239-252.
- [7] Ito T, Shiraki K, Sugimoto K, et al. Survivin promotes cell proliferation in human hepatocellular carcinoma [J]. *Hepatology*, 2000, 31(5):1080-1085.
- [8] Jin Q, Feng L, Behrens C, et al. Implication of AMP-activated protein kinase and Akt-regulated survivin in lung cancer chemopreventive activities of deguelin [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(24):11630-11639.
- [9] Miao GY, Lu QM, Zhang XL. Downregulation of survivin by RNAi inhibits growth of human gastric carcinoma cells [J]. *World J Gastroenterol*, 2007, 13(8):1170-1174.
- [10] Altieri DC, Marchisio PC. Survivin apoptosis: an interloper between cell death and cell proliferation in cancer [J]. *Lab Invest*, 1999, 79(11):1327-1333.
- [11] Choi JH, Ahn MJ, Park CK, et al. Phospho-Stat3 expression and correlation with VEGF, p53, and Bcl-2 in gastric carcinoma using tissue microarray [J]. *APMIS*, 2006, 114(9):619-625.
- [12] Hussein MR. Analysis of Bcl-2 protein expression in choroidal melanomas [J]. *J Clin Pathol*, 2005, 58(5):486-489.
- [13] Al-Joudi FS, Iskandar ZA, Imran AK. Correlations in survivin expression with the expression of p53 and Bcl-2 in invasive ductal carcinoma of the breast [J]. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 2007, 38(5):904-910.
- [14] Wang JX, Zheng S. Caspase-3 and survivin expression in pediatric neuroblastoma and their roles in apoptosis [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2004, 117(12):1821-1824.

欢 迎 订 阅

欢 迎 投 稿