

凋亡基因 *Survivin* 在宫颈鳞癌中的表达及其相关性

李 云, 徐建平, 黎 清

(暨南大学附属第一医院妇产科, 广东 广州 510630)

[摘 要] 目的: 探讨不同分期宫颈鳞癌组织中 *Survivin* 基因表达的特征及其临床意义。方法: 应用免疫组化法(S-P法)及图像分析技术检测凋亡基因 *Survivin* 在38例宫颈鳞癌的表达情况。0期9例、Ib期10例、IIa期7例、IIb期7例、IIIa期5例, 将0期及Ib期合并为早期, IIa期~IIIa期合并为晚期。结果: 在早期和晚期宫颈鳞癌组织中均有凋亡基因 *Survivin* 的阳性表达, 但表达强度不同, 早期宫颈鳞癌组织中 *Survivin* PU值为 (20.65 ± 4.57) , 而晚期宫颈鳞癌组织中 *Survivin* PU值为 (24.94 ± 5.64) , 两者比较有统计学差异($P < 0.05$)。结论: *Survivin* 基因在宫颈鳞癌组织中异常表达与宫颈鳞癌的发生及临床分期相关。

[关键词] *Survivin* 基因; 宫颈鳞状细胞癌; 免疫组化; 图像分析

[中图分类号] R711.74·Q753 [文献标志码] A [文章编号] 1000-9965(2009)06-0628-03

Expression and correlation of apoptosis gene *survivin* in the different stages of cervical cancer

LI Yun, XU Jian-ping, LI Qing

(Department of Obstetrics and Gynecology, the First Affiliated Hospital, Jinan University, Guangzhou 510630, China)

[Abstract] Aim: To investigate the expression and correlation of apoptosis gene *survivin* in the different stages of cervical cancer tissue. Methods: Immunohistochemical and image analysis study of *survivin* gene was performed in 38 cases of cervical cancer (9 cases of 0 stage, 10 cases of Ib stage, 7 cases of IIa stage, 7 cases of IIb stage, 5 cases of IIIa stage). Results: The positive expressions of *survivin* were in the both of early stage cervical cancer and advanced cervical cancer. Intensity of *survivin* expressions changes correlated to different stage of cervical cancer. The mean positive unit of *survivin* in the early stage cervical cancer was (20.65 ± 4.57) and that of advanced cervical cancer was (24.94 ± 5.64) . Conclusion: Abnormal expression of *survivin* in cervical cancer is correlated with different clinical stages.

[Key words] *Survivin* gene; cervical cancer; immunohistochemistry; image analysis

宫颈鳞癌是常见的妇科恶性肿瘤, 是危害妇女健康与生命的主要疾病。宫颈癌的发生、发展是一个多基因、多阶段的演进过程。宫颈鳞癌的发生、发

展过程中与凋亡基因及凋亡蛋白关系密切。*Survivin* 是凋亡基因家族中的一员, 不仅有较强的抗凋亡作用, 还有肿瘤血管保护和细胞周期调节等多种

[收稿日期] 2009-09-24

[基金项目] 广东省医学科研项目(A2006350)

[作者简介] 李 云(1983-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 妇科肿瘤

通讯作者: 徐建平, 男, 主任医师, 硕士生导师, Tel: 020-38688693; E-mail: txjp@jnu.edu.com

生物学活性,*Survivin* 在由宫颈癌前病变向宫颈癌的发生过程中发挥重要作用^[1]。本研究通过对宫颈鳞癌组织标本进行凋亡基因 *Survivin* 表达的研究,探讨及分析不同阶段宫颈鳞癌组织中 *Survivin* 基因表达的特征及其临床意义。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取2007年1月-2008年10月在暨南大学附属第一医院病理科经病理证实的宫颈鳞状细胞癌手术的石蜡组织标本38例,年龄23~72岁,平均年龄46.83岁。依据国际妇产科联盟(FIGO,2000年)的临床分期^[2]:0期9例、Ib期10例、IIa期7例、IIb期7例、IIIa期5例;本研究将0期及Ib期合并为早期,IIa期~IIIa期合并为晚期。所有病例术前均未接受化疗、放疗及其他抗癌治疗,且不合并其他严重内科疾病或恶性肿瘤。

1.2 方法

(1)实验方法 将石蜡标本制成厚4 μm切片,脱蜡,免疫组化染色,采用链菌素亲生物素-过氧化物酶法(streptavidin-peroxidase, S-P法),*Survivin* 试剂盒购自福州迈新生物技术开发公司。

(2)染色结果图像分析 细胞胞浆内出现黄色颗粒者为 *Survivin* 反应阳性。应用阳性单位(positive unit, PU)定量表达免疫组化阳性反应的程度^[3]。将排除切片本底因素后的纯免疫组化反应程度按灰度图像分为0~100个等级,每个等级定义为1PU,PU值的大小与阳性反应程度成正比关系。在LeicaQ550IW图像分析系统上测试待测结构的灰度值 $G\alpha$ 和背景的灰度值 $G\beta$,按公式 $PU = [(G\alpha - G\beta)/G_{max}] \times 100$ 计算PU值。 $G\alpha$ 和 $G\beta$ 分别为待测结构 α 和背景 β 的平均灰度; G_{max} 为检测仪器最大灰度为256。每张免疫组化片400倍镜下随机测试10个视场,每个视场测定20个细胞。

1.3 统计学处理

图像分析测试结果PU值用(均数±标准差)($\bar{x} \pm s$)表示,应用SPSS 13.0医学统计软件进行两样本 t 检验分析,以 $P < 0.05$ 具有统计学差异。

2 结果

Survivin 的阳性表达呈棕黄色,颗粒状,主要定位于早期、晚期宫颈鳞癌细胞的胞浆,偶见于细胞核

(图1,2);两组间PU值比较(表1)。

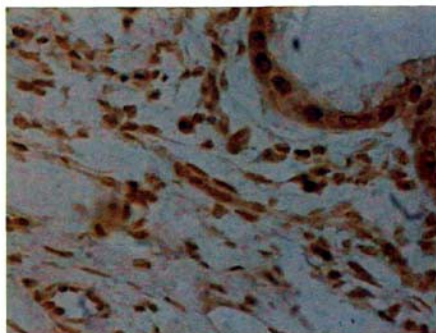


图1 0期宫颈鳞癌组织镜下结果(×400)

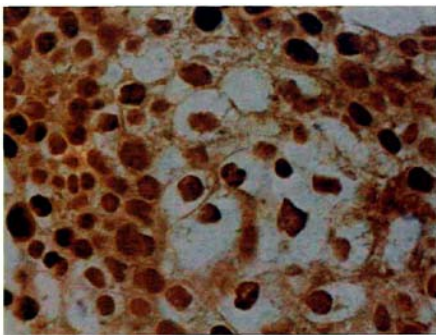


图2 IIIa期宫颈鳞癌组织镜下结果(×400)

表1 *Survivin* 在两组宫颈鳞癌组织中的表达($\bar{x} \pm s$)

组别	n/例	<i>Survivin</i> /PU
早期宫颈鳞癌	19	20.65 ± 4.57
晚期宫颈鳞癌	19	24.94 ± 5.64 ¹⁾

1) 与早期宫颈鳞癌组比较: $t = 2.29, P < 0.05$

3 讨论

目前,宫颈癌的发病率在不断增加,而宫颈癌发生及发展的过程与机体内凋亡基因的异常表达有着重要的关系。宫颈鳞状细胞癌是起源于宫颈移行带的恶性肿瘤,在移行带的变化过程中,可能出现一些相关基因的表达失调,使细胞的增殖与凋亡之间的平衡发生紊乱从而导致宫颈鳞癌的发生。

凋亡基因 *Survivin* 是凋亡抑制蛋白家族(inhibitor of apoptosis protein, IAP)的成员,具有抑制细胞凋亡与调节细胞增殖的作用,参与细胞凋亡的调控,主要通过抑制凋亡基因 *Caspase-3* 来实现其对细胞凋亡的调控作用,除与 *Caspase-3* 特异性结合使其在细胞内失活外;同时也能阻止 *Caspase-3* 的自发激

活;而在促进细胞分裂增殖中,*Survivin* 通过与细胞周期依赖性激酶 CDK4 结合,使 CDK4/P21 复合物中的 P21 释放并与线粒体的 Caspase 相互作用而抑制 Fas 介导的细胞凋亡;*Survivin* 与 CDK4 结合后还可促使 P27 脱离 CDK2/CyclinE 复合体,诱导 Rb 磷酸化并启动细胞周期,促进细胞分裂增殖^[4-5]。

Survivin 主要在胚胎组织中表达,而在分化成熟的组织中不表达或呈现低表达,在人类的大多数肿瘤中呈现高表达,与肿瘤的发生、发展和预后有着密切的关系^[6]。本研究结果显示 38 例宫颈鳞癌组织中凋亡抑制基因 *Survivin* 表达均呈阳性。由于 *Survivin* 在宫颈鳞癌组织中的高表达或表达上调,可能通过 Caspase-3 途径抑制子宫颈移行带细胞的凋亡,同时通过与细胞周期依赖性激酶 CDK4 结合,启动一系列反应,促使子宫颈鳞状细胞异常增殖,而鳞状细胞凋亡减少,出现鳞状细胞凋亡与增殖之间的平衡失调,最终导致子宫颈鳞状细胞异常增殖而形成子宫颈鳞状细胞癌。有研究表明,凋亡基因 *Survivin* 参与宫颈鳞癌早期发生过程^[3],在宫颈从癌前病变到癌的演变进程中起重要作用。

Kim 等^[7]对 41 例子宫颈上皮内瘤样病变及鳞癌患者的标本进行 *Survivin* 表达强度的研究发现,随着宫颈癌分期的提高,*Survivin* 的表达逐渐增强。本研究结果也显示 *Survivin* 在早期宫颈鳞癌组织中的阳性表达较晚期宫颈鳞癌的表达为低,提示宫颈鳞癌的临床分期早 *Survivin* 表达率低,而临床分期

晚,则 *Survivin* 表达率高。因此,*Survivin* 基因表达水平的监测可能有助于宫颈鳞癌分期的判断。

[参考文献]

- [1] 肖洪洋,屠蕊沁,卢邵华. 凋亡基因 *Survivin* 与宫颈癌的发生. 中国临床医学. 2007, 14(1): 70-74.
- [2] BENDEDET J L, BENDER H, JONES III H, et al. FIGO staging classifications and clinical practice guidelines in the management of gynecologic cancers [J]. International Journal of Gynecology & Obstetrics, 2000, 70: 209-262.
- [3] 申 洪. 免疫组织化学染色定量方法研究[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 1995, 4(1): 89-92.
- [4] SHIN S, SUNG B J, CHO Y S, et al. An anti-apoptotic protein human *Survivin* is a direct inhibitor of caspase-3 and-7[J]. Biochemistry, 2001, 40(4): 1117-1123.
- [5] SUZUKI A, ITO T, KAWANO H, et al. *Survivin* initiates procaspase3/P21 complex formation as a result of interaction with CDK4 to resist Fas-mediated cell death [J]. Oncogene, 2000, 19(10): 1346-1353.
- [6] CHAKRAVARTI A, NOLL E, BLACK P M, et al. Quantitatively determined *Survivin* expression levels are of prognostic value in human gliomas[J]. J Clin Oncol, 2002, 20(4): 1063-1068.
- [7] KIM H S, SHIRAKI K, PARK S H. Expression of *Survivin* in CIN and invasive squamous cell carcinoma of uterine cervix[J]. Anticancer Res, 2002, 22(2A): 805.

[责任编辑:朱颖嫒]