

· 临床研究 ·

Survivin 和 VEGF 在涎腺腺样囊性癌中的表达及临床意义*

刘敏, 李萍[△], 兰显国, 杨永
(遵义医学院附属口腔医院, 贵州遵义 563003)

摘要:目的 探讨 Survivin 和血管内皮生长因子(VEGF)在涎腺腺样囊性癌组织中的表达及两者的相关性。方法 采用免疫组织化学方法(S-P法)检测 38 例涎腺腺样囊性癌中 Survivin 和 VEGF 的表达。结果 38 例涎腺腺样囊性癌组织中 Survivin 和 VEGF 阳性表达率分别为 71.1%和 63.2%,Survivin 表达与病理分型和临床分期有关($P<0.05$),与发病部位、肿瘤大小及淋巴结转移无关;VEGF 表达与病理分型、临床分期、淋巴结转移有关($P<0.05$),与发病部位、肿瘤大小无关;涎腺腺样囊性癌中 Survivin 和 VEGF 表达存在相关关系($r=0.667, P<0.05$)。结论 Survivin、VEGF 可能参与涎腺腺样囊性癌的发生、发展, Survivin 和 VEGF 表达可作为判断涎腺腺样囊性癌生物学行为的指标。

关键词:涎腺;腺样囊性癌;Survivin;血管内皮生长因子;免疫组织化学

中图分类号:R739.87

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2010)10-1231-02

Expressions and significances of Survivin and vascular endothelial growth factor in salivary adenoid cystic carcinoma*

LIU Min, LI Ping[△], LAN Xian-guo, et al.

(Affiliated Stomatological Hospital, Zunyi Medical College, Zunyi, Guizhou 563003, China)

Abstract: Objective To investigate the expression of Survivin and its relationship with expression of vascular endothelial growth factor(VEGF) in adenoid cystic carcinoma(ACC)of salivary gland. **Methods** The expression of Survivin and VEGF were detected by Immunohistochemically ultrasensitive staining (S-P) in 38 cases of ACC tissues. **Results** The expression rates of Survivin and VEGF in the 38 cases of ACC were 71.1%and 63.2%, respectively. The positive rate of Survivin was strongly associated with pathological group and clinical grade($P<0.05$), but was not related to site, tumor size and lymph node metastasis. The positive rate of VEGF was strongly associated with clinical grade, pathological group and lymph node metastasis($P<0.05$), but was not related to site, tumor size. The expression of Survivin was correlated with that of VEGF($r=0.667, P<0.05$). **Conclusion** Survivin and VEGF may participate in the onset and development of ACC. Detection of Survivin and VEGF protein may be valuable to further understand the biological behavior of ACC.

Key words: salivary glands; adenoid cystic carcinoma; Survivin; VEGF; immunohistochemistry

腺样囊性癌(adenoid cystic carcinoma, ACC)是最常见的涎腺恶性肿瘤之一,具有侵袭性强、易沿神经血管扩散、手术后易复发及转移等生物学特点,给临床治疗带来了极大的困难。肿瘤的发生是一个多因素、多步骤的病理过程,凋亡调节机制的紊乱、肿瘤新生血管生成都会导致肿瘤的发生。Survivin 是凋亡抑制蛋白(inhibitor of apoptosis protein, IAP)家族的新成员,是迄今发现最强的凋亡抑制因子。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是最重要的促血管形成因子。目前关于涎腺腺样囊性癌中 Survivin 和 VEGF 蛋白表达的研究少见报道。作者采用免疫组化技术检测涎腺腺样囊性癌组织中 Survivin 和 VEGF 蛋白的表达,并分析其相关性和临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 10 例正常涎腺组织和 38 例涎腺腺样囊性癌为遵义医学院附属医院和附属口腔医院病理科手术标本,38 例涎腺腺样囊性癌患者中男 16 例,女 22 例,年龄 38~76 岁。标本经 10%甲醛固定,石蜡包埋,连续切片,切片厚 5 μm ,依照 WHO(2005 年)涎腺肿瘤组织学分型标准分为腺样/管状型 21 例,实性型 17 例;临床分期^[1]分为 I~II 期 23 例,III~IV 期 15 例。

1.2 试剂与方法 兔抗人多克隆抗体 Survivin 为 Neo mark-

ers 公司产品,鼠抗人 VEGF 单克隆抗体、S-P 试剂盒、DAB 显色剂均购自福州迈新公司。免疫组化采用 S-P 法,实验步骤严格按照说明书进行,用已知阳性切片作为阳性对照,以 PBS 代替一抗作为阴性对照。

1.3 结果判断 采用兼顾阳性染色强度和阳性细胞所占百分比的判断标准。(1)根据细胞染色强度记分:0 分为未染色,1 分为浅黄色,2 分为棕黄色,3 分为棕褐色;(2)以随意 5 个 400 倍视野的阳性细胞所占百分比记分:0 分为阳性细胞小于或等于 10%,1 分为阳性细胞为 11%~50%,2 分为阳性细胞为 51%~75%,3 分为阳性细胞大于 75%。染色结果以染色强度与阳性细胞百分比的乘积计算,大于或等于 3 分为阳性。

1.4 统计学方法 采用 SPSS13.0 统计软件进行统计学分析,采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法,Survivin 与 VEGF 表达之间的关系用相关分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Survivin 的表达 38 例涎腺腺样囊性癌中 Survivin 阳性表达率为 71.1%(27/38),与正常涎腺组织比较差异有统计学意义($P<0.01$),见表 1、图 1。Survivin 表达与肿瘤病理分型和临床分期有关($P<0.05$),与发病部位、肿瘤大小和淋巴结转移无关,见表 1、2。

* 基金项目:贵州省卫生厅资助项目(黔卫发 2007-119)。 [△] 通讯作者,电话:15329020077;E-mail:liuxia216@eyou.com。

表 1 正常涎腺及涎腺腺样囊性癌组织中 Survivin、VEGF 表达

项目	Survivin			P	VEGF			P
	n	+	- 阳性率(%)		+	- 阳性率(%)		
正常涎腺	10	1	9 10		1	9 10		
腺样囊性癌	38	27	11 71.1	<0.01	24	14 63.2	<0.01	

表 2 Survivin、VEGF 表达与涎腺腺样囊性癌临床病理指标的关系

病理指标	n	Survivin		P	VEGF		P
		-	+ 阳性率(%)		-	+ 阳性率(%)	
部位							
大涎腺	25	8	17 68.0	>0.05	11	14 56.0	>0.05
小涎腺	13	3	10 76.9		3	10 76.9	
大小(cm)							
≥2.5	17	5	12 70.6	>0.05	6	11 64.7	>0.05
<2.5	21	6	15 71.4		8	13 61.9	
临床分期							
I~II期	23	10	13 56.5	<0.05	12	11 47.8	<0.05
III~IV期	15	1	14 93.3		2	13 86.7	
分型							
腺样/管状型	21	10	11 52.4	<0.05	13	8 38.1	<0.05
实性型	17	1	16 94.1		1	16 94.1	
淋巴结转移							
阳性	7	1	6 85.7	>0.05	0	7 100	<0.05
阴性	31	10	21 67.7		14	17 54.8	

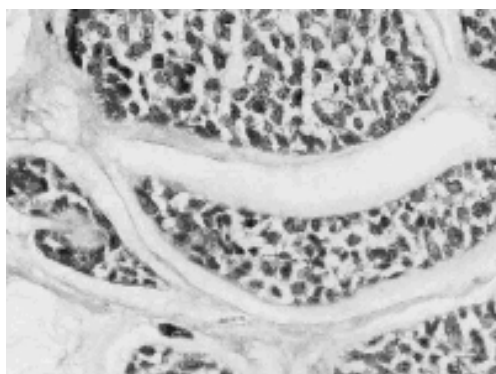


图 1 Survivin 在腺样囊性癌的表达(×400)

表 3 涎腺腺样囊性癌中 Survivin 与 VEGF 表达的关系

VEGF	n	Survivin		r	P
		+	-		
+	24	20	4		
-	14	7	7		
合计	38	27	11	0.667	0.033

2.2 VEGF 的表达 38 例涎腺腺样囊性癌中 VEGF 阳性表达率为 63.2%(24/38),与正常涎腺组织比较差异有统计学意

义($P<0.01$),见表 1、图 2。VEGF 的表达与患者的发病部位及肿瘤大小无关,而与不同的病理分型、临床分期、淋巴结转移有关($P<0.05$),见表 1、2。

2.3 涎腺腺样囊性癌中 Survivin 与 VEGF 表达的关系 38 例涎腺腺样囊性癌中 Survivin 与 VEGF 表达存在正相关关系,见表 3。

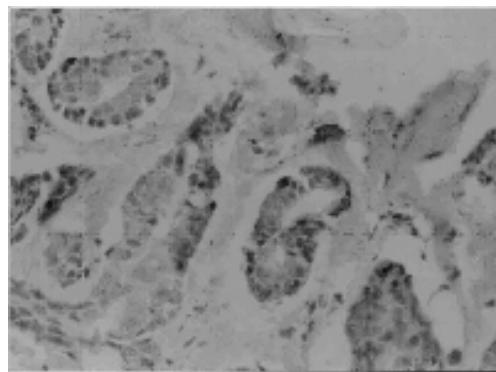


图 2 VEGF 在腺样囊性癌的表达(×400)

3 讨论

细胞增殖和凋亡平衡对于维持细胞内稳态至关重要,因此,研究凋亡因子对肿瘤的发生、发展和预后具有重要意义。Survivin 是凋亡抑制蛋白 IAP 家族新成员,主要通过抑制 caspase-3、caspase-7 的活性,阻断细胞的凋亡过程。Survivin 在胎儿及许多恶性肿瘤中呈高表达^[2-4],而在正常组织中呈低表达或不表达。本研究中腺样囊性癌及正常涎腺组织中 Survivin 阳性表达率分别为 71.1%和 10%($P<0.01$),与多数研究结果一致。一般认为实性型腺样囊性癌较腺样/管状型更容易复发和早期转移^[5]。本研究显示,实性型腺样囊性癌 Survivin 阳性表达率高于腺样/管状型,说明 Survivin 表达在一定程度上反映了肿瘤不良的预后;I~II期和 III~IV期涎腺腺样囊性癌中 Survivin 表达率分别为 56.5%和 93.3%,两者比较差异有统计学意义($P<0.05$),提示 Survivin 可能参与了涎腺腺样囊性癌的发展。

VEGF 作为血管内皮细胞特异有丝分裂原,VEGF 可由肿瘤细胞产生并以旁分泌形式调节血管生成。这种蛋白对血管内皮细胞具有特异性促分裂增殖的作用,也具有很强的血管渗透性并与细胞外基质相联系,从而有利于肿瘤血管生成和浸润,为肿瘤细胞的生长、浸润、转移提供了条件。研究证实 VEGF 与人类多种肿瘤的生长和转移有关^[6]。肖一平等^[7]研究发现,恶性淋巴瘤中 VEGF 阳性率明显高于炎症组和反应增生组,推测 VEGF 可作为良恶性淋巴结疾病鉴别的早期辅助判断指标。本研究发现,涎腺腺样囊性癌中 VEGF 阳性表达率明显高于正常组织($P<0.01$),临床分期 III~IV期肿瘤 VEGF 的表达高于 I~II期($P<0.05$),表明 VEGF 在涎腺腺样囊性癌的发展中起着重要作用;在病理分型方面,实性型 VEGF 的表达高于腺样/管状型($P<0.05$),表明 VEGF 的表达与病理类型有关;VEGF 的表达还与该瘤淋巴结有无转移有关($P<0.05$),提示 VEGF 表达可作为判断涎腺腺样囊性癌生物学行为的一个指标。

Survivin 不但具有抑制凋亡的作用,而且与肿瘤血管生成有密切关系。Mesri 等^[8]认为,VEGF 在肿瘤血管生成过程中发挥的内皮细胞抗凋亡作用依赖于 Survivin 表达上调,Survivin 的反义核苷酸可消除 VEGF 对抗肿瘤(下转第 1234 页)

随着根管长度测量仪技术的改进,其准确性不断提高^[3-5]。本研究结果显示,Root ZX 临床用于测定根管工作长度的准确率为 90.38%,虽较 Shabahang 等^[6]报道的 96.2%、McDonald 和 Hovland^[7]报道的 93.4%的研究结果低,但其大于 90%的准确率对于临床上直接测定根管工作长度已有很好指导意义。可以说,Root ZX 根管长度测量仪是能比较准确、快速测定根管工作长度的辅助工具,应用于临床有助于改善根管预备质量。

髓髓及根内残留物是影响根管长度测量仪测量准确性的一个重要因素,本研究中受根管内残留物影响的欠扩率为 5.77%,其中活髓欠扩率为 8.11%,受髓髓影响稍大;而根尖炎症使得根尖周破坏或根尖周牙槽骨吸收较多的,也影响电测量根管长度的准确性^[8]。本研究中超扩率为 3.85%,死髓牙超扩率为 6.1%,受根尖周骨吸收影响较为明显。为使根管预备长度更准确,在根管预备完成后再次测量根管长度,使根管内无血性分泌物,误差有所降低。本研究比较了使用根管测量仪测量活髓牙和死髓牙根管时确定根管工作长度准确率的差异,发现两者差异没有统计学意义。

Root ZX 是通过测量电极间阻抗差异来确定根管工作长度的新一代电子根管长度测量仪,准确度高,根管内电解质的存在不影响测量结果。影响测量结果的因素:根内有髓髓及根管残留物或有钙化及牙本质碎屑影响电测量根管的准确性^[9-10];过大根尖孔可使探测的距离小于根管实际长度^[11];根尖周病变的影响,根尖周病变形成的间隙会影响探针针尖与牙周膜的接触,从而造成测量长度大于根管的实际长度。其他影响电测量准确性的因素有金属充填物、口腔分泌物过多使根管浸入唾液、参考点变化、根管器械接触到口腔软组织、根管过于干燥等^[12-13]。

参考文献:

[1] 樊明文. 牙体牙髓病学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2003:253.

- [2] 王晓仪. 现代根管治疗学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2002:88.
- [3] 薛法义,王素杰,孙汉堂,等. 电子根尖定位仪测量根管长度偏差分析[J]. 牙体牙髓牙周病学杂志, 2005, 15(6): 346.
- [4] 于晓霞,欧汝强,宋斌. Root ZX 根尖定位仪对根管充填质量的影响[J]. 华中科技大学学报(医学版), 2004, 33(4):509.
- [5] Jenkins JA, Walker WA, Schindler W G, et al. An in vitro evaluation of the accuracy of the Root ZX in the presence of various irrigants[J]. J Endodon, 2001, 27(3):209.
- [6] Shabahang S, Goon WW, Gluskin AH. An in vivo evaluation of Root ZX electronic apex locator[J]. J Endod, 1996, 22(11):616.
- [7] McDonald NJ, Hovland EJ. An evaluation of the Apex Locator Endocater[J]. J Endod, 1990, 16(1):5.
- [8] 刘思逸,梅陵宜. 根尖周骨吸收对电子根尖定位仪准确性的影响[J]. 安徽医科大学学报, 2007, 42(1):100.
- [9] 赵莉琳,向学熔. Root ZX 根管测量仪与三联法对根管充填质量的比较研究[J]. 重庆医学, 2008, 37(4):406.
- [10] 宋卫健. 根管长度测量仪测定前牙根管工作长度准确性的评价[J]. 口腔医学, 2007, 27(1):41.
- [11] 孙驰,魏永杰,陆玉,等. 根尖定位仪测量根尖破坏牙根管长度的准确性研究[J]. 北京口腔医学, 2007, 15(5):251.
- [12] 雷月娟,何克新,罗莉,等. 根管干湿状态对电测根管长度准确性的影响[J]. 广东牙病防治, 2008, 16(7):294.
- [13] 邓蔓青,刘鲁川,安建平,等. Root ZX 根尖电测仪测定根管长度的准确性评价[J]. 口腔医学研究, 2005, 21(1):56.

(收稿日期:2009-12-25)

(上接第 1232 页)

坏死因子或神经酰胺诱导的细胞死亡的抗凋亡作用,导致内皮细胞凋亡和毛细血管迅速退化。本研究发现,在涎腺腺样囊性癌组织中 Survivin 和 VEGF 表达存在正相关($r=0.667, P<0.05$),提示涎腺腺样囊性癌中 VEGF 和 Survivin 的表达有协同作用,VEGF 可能促进 Survivin 的表达,而高表达的 Survivin 又可维持和保护 VEGF 的功能,从而促进肿瘤血管生成和转移。

综上所述,我们推测:Survivin 和 VEGF 参与了涎腺腺样囊性癌的发生、发展,可作为反映涎腺腺样囊性癌生物学行为的参考指标。对二者进行联合检测,对于评估涎腺腺样囊性癌患者预后有一定的意义。

参考文献:

- [1] 邱蔚六. 口腔颌面外科学[M]. 6 版. 北京:人民卫生出版社, 2008:316.
- [2] Kren L, Brazdil J, Hermanova M, et al. Prognostic significance of anti-apoptosis proteins Survivin and bcl-2 in non-small cell lung carcinomas: a clinicopathologic study of 102 cases [J]. Appl Immunohistochem Mol Morphol, 2004, 12(1):44.

- [3] Andersen MH, Svane IM, Becker JC, et al. The universal character of the tumor-associated antigen survivin[J]. Clin Cancer Res, 2007, 13(20):5991.
- [4] Kleinberg L, Florenes VA, Nesland JM, et al. Survivin, a member of the inhibitors of apoptosis family, is down-regulated in breast carcinoma effusions [J]. Am J Clin Pathol, 2007, 128(3):389.
- [5] 于世凤. 口腔组织病理学[M]. 6 版. 北京:人民卫生出版社, 2008:259.
- [6] Moulik S, Chatterjee A. Vascular endothelial growth factor(VEGF) & tumor angiogenesis[J]. Indian J Med Res, 2007, 125(6):715.
- [7] 肖一平,王珊,胡陶,等. PCNA, Ki67 及 VEGF 在淋巴结肿大疾病中表达差异的临床价值[J]. 重庆医学, 2009, 38(14):1800.
- [8] Mesri M, Morales-Ruiz M, Ackermann EJ. Suppression of vascular endothelial growth factor-mediated endothelial cell protection by survivin targeting [J]. Am J Pathol, 2001, 158(5):1757.

(收稿日期:2009-12-25)