

· 论 著 ·

52 例胃癌组织中 Survivin 和 Bcl-2 蛋白表达研究*

李冬霞¹, 司艳莉¹, 邓晓慧², 冯艳玲^{3△}

(新乡医学院: 1. 机能实验室; 2. 解剖教研室, 河南新乡 453003;

3. 复旦大学附属公共卫生临床中心病理科, 上海 201508)

摘要:目的 探讨胃癌组织中 Survivin 及 Bcl-2 蛋白的表达及其与胃癌生物学行为的关系。方法 采用免疫组化 SP 法检测 52 例胃癌组织、30 例正常胃黏膜组织中 Survivin 及 Bcl-2 蛋白的表达。结果 Survivin、Bcl-2 蛋白在胃癌组织中的阳性表达均高于正常胃黏膜($P < 0.05$); Survivin、Bcl-2 蛋白表达均分别与胃癌的分化程度、淋巴结转移有关($P < 0.05$)。结论 Survivin、Bcl-2 蛋白表达上调可能与胃癌的发生、发展有关, 二者共同作用抑制凋亡。

关键词:胃肿瘤; 胃黏膜; 免疫组织化学

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2011.22.008

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2011)22-2206-02

Expressions of Survivin and Bcl-2 protein in 52 specimens of gastric carcinoma tissue*Li Dongxia¹, Si Yanli¹, Deng Xiaohui², Feng Yanling^{3△}

(1. Function Science Lab, Xinxiang Medical College, Xinxiang, Henan 453003, China;

2. Teaching and Research Section of Anatomy, Xinxiang Medical College, Xinxiang, Henan 453003, China;

3. Department of Pathology, Shanghai Public Health Center Affiliated to Fudan University, Shanghai 201508)

Abstract: **Objective** To investigate the expressions of Survivin and Bcl-2 protein in gastric carcinoma and their relationships with carcinomatous biological behaviour. **Methods** The expressions of Survivin and Bcl-2 protein were detected in 52 cases of surgically resected gastric carcinoma specimens and 30 cases of corresponding normal mucosa tissues using the immunohistochemistry S-P method. **Results** The expressions of Survivin and Bcl-2 protein in tumor tissues were significantly higher than those in adjacent mucosa tissues($P < 0.05$). Survivin and Bcl-2 protein expressions were correlated with tumor differentiation and lymph node metastasis($P < 0.05$). **Conclusion** Overexpressions of Survivin and Bcl-2 correlate with occurrence and development of gastric carcinoma, and their interaction inhibits apoptosis.

Key words: stomach neoplasms; gastric mucosa; immunohistochemistry

近年来细胞凋亡研究的开展,使人们对于胃癌及癌前病变的发生及发展有了更深刻的认识。Survivin 是凋亡抑制蛋白(inhibitor of apoptosis protein, IAP)家族新成员^[1],在几乎所有的恶性肿瘤组织中均广泛表达。bcl-2 是迄今为止研究非常深入的肿瘤相关因子,与细胞凋亡密切相关。有关 Survivin 与胃癌的相关报道较少,其与 bcl-2 基因在胃癌发生中的相互关系尚未明了。本组从蛋白水平研究胃癌组织中 Survivin 与 Bcl-2 蛋白的表达及其与胃癌生物学行为的关系,旨在阐明 Survivin、Bcl-2 在胃癌发生、发展及预后中的作用。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选用新乡医学院第一附属医院 2005~2006 年胃癌手术切除标本 52 例(每例标本取材均包括癌组织、癌旁相对应的正常组织,后者选取距癌 6~8 cm、肉眼观相对正常处,所有患者术前均未行放、化疗),其中男 39 例,女 13 例,年龄 18~78 岁,平均(58.50±2.21)岁;高分化胃癌 13 例,中分化胃癌 18 例,低分化胃癌 21 例;早期癌 11 例,进展期癌 41 例;淋巴结转移者 32 例,无淋巴结转移者 20 例。52 例胃癌标本中,最后确认癌旁对应的正常组织仅 30 例。上述标本均经病理检查验证和归类。

1.2 方法 所有标本经 4% 多聚甲醛固定、石蜡包埋、4 μm

连续切片。兔抗人 Survivin 多克隆抗体、鼠抗人 Bcl-2 单克隆抗体(工作浓度均为 1:50)均购于北京中山生物技术公司,应用免疫组化 SP 法检测 Survivin 和 Bcl-2 蛋白的表达,以中山公司赠送的阳性切片作为阳性对照,用磷酸盐缓冲液(PBS)代替一抗作为阴性对照。

1.3 结果判断 Survivin、Bcl-2 蛋白免疫染色阳性信号均定位于细胞浆,为棕黄色颗粒。染色结果按文献[2-3]的方法至少观察 5 个高倍视野(×400),按阳性细胞所占比例分为: < 5%(-), 5%~25%(+), > 25%~50%(++), > 50%(+++)。

1.4 统计学处理 应用 SPSS13.0 统计软件进行统计学处理。采用 χ^2 检验、Fisher 精确概率法。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 Survivin、Bcl-2 蛋白的表达情况 Survivin 蛋白在胃癌及正常组织中的阳性表达率分别为 59.6%(31/52)和 0(0/30),差异有统计学意义($P = 0.000$),见封 3 图 1、2; Bcl-2 蛋白在胃癌及正常组织中的阳性表达率分别为 69.2%(36/52)和 16.7%(5/30),差异有统计学意义($P < 0.05$),见封 3 图 3、4。

2.2 Survivin、Bcl-2 蛋白表达与胃癌临床病理参数的关系 Survivin、Bcl-2 蛋白表达均分别与胃癌患者的年龄、性别及病

* 基金项目:河南省自然科学基金资助项目(2006G310010);新乡医学院高学历资助项目(08sskyqd-015)。△ 通讯作者, Tel: 13262114839; E-mail: fyl-hy@163.com。

理分期无关($P>0.05$),但与胃癌的分化程度、淋巴结转移有关($P<0.05$),见表 1。

表 1 Survivin、Bcl-2 蛋白表达与胃癌临床病理参数的关系

临床病理参数	n	Survivin 蛋白表达		P	Bcl-2 蛋白表达		P
		阴性	阳性		阴性	阳性	
年龄							
≥60 岁	29	10	19	0.330	10	19	0.515
<60 岁	23	11	12		6	17	
性别							
男	39	14	25	0.253	13	26	0.729
女	13	7	6		3	10	
分化程度							
高分化	13	9	4	0.032	8	5	0.022
中分化	18	7	11		3	15	
低分化	21	5	16		5	16	
病理分期							
早期	11	7	4	0.154	6	5	0.054
进展期	41	14	27		10	31	
淋巴结转移							
无	20	13	7	0.004	10	10	0.018
有	32	8	24		6	26	

3 讨 论

胃癌是我国常见的恶性肿瘤之一,其发生是一个多步骤、多阶段的过程,与细胞凋亡过程被抑制有关。survivin 基因属于凋亡抑制基因,定位于 17q25 染色体,基因组全长约 14.7 kb,由 4 个外显子和 3 个内含子组成,编码 142 个氨基酸残基,相对分子质量为 16 389。Survivin 的主要作用是抑制肿瘤细胞凋亡,除了具有抗凋亡作用外,还有促细胞增殖、促血管生成的作用,这可能同肿瘤具有侵袭性及转移性有关^[4]。Survivin 蛋白除在成人的子宫内膜、胎盘及胸腺组织中存在不同程度的表达外,其他组织均未检测到 Survivin 蛋白的表达,但在几乎所有的恶性肿瘤中均可检测到 Survivin 蛋白的表达^[5-7]。目前 Survivin 蛋白在胃癌组织中的表达及与胃癌临床病理参数和预后的关系报道不一致。本研究用免疫组化 SP 法对 52 例散发性胃癌组织和 30 例正常胃黏膜组织的 Survivin 蛋白表达进行了检测,Survivin 蛋白在正常组织中的阳性表达率为 0% (0/30),胃癌组织中的阳性表达率为 59.6% (31/52),二者之间差异有统计学意义($P<0.05$),与 Da 等^[8]报道一致。Survivin 蛋白在胃癌组织中表达上调,可能通过抑制胃癌细胞凋亡及干扰正常细胞周期调控机制等途径而对胃癌的发生起作用。本谆谆教诲同时研究了胃癌组织中 Survivin 蛋白的表达与胃癌临床病理参数的关系,结果显示,Survivin 蛋白表达与胃癌患者的年龄、性别、病理分期无关($P>0.05$),与分化程度及淋巴结转移有关($P<0.05$)。这与有关文献报道一致^[8]。在胃癌组织中,Survivin 蛋白的阳性表达率随组织分化程度降低、出现局部淋巴结转移而增高,表明 Survivin 蛋白的表达强度与肿瘤的恶性程度及发展趋势明显相关,可以作为预后不良的一项参考指标。

bcl-2 基因又称 B 淋巴细胞瘤/白血病-2(B-cell lymphoma/leuke-2)基因,它是从 B 细胞滤泡性淋巴瘤染色体断裂点发现的,定位于 18q21 染色体,基因组全长约 230 kb,包括 3 个外显子和 2 个内含子,表达 1 个由 229 个氨基酸残基组成的蛋白。Bcl-2 蛋白过度表达常由于 t(14;18)染色体易位以及转录后调节异常导致。bcl-2 基因主要在 caspase 的上游抑制细胞

色素 C 等从线粒体释放而发挥抗凋亡作用^[9]。

近年来研究表明,Bcl-2 蛋白的过量表达与多种恶性肿瘤的发生、发展、不良预后密切相关^[10-13]。本研究用免疫组化 SP 法对 52 例散发性胃癌组织和 30 例正常胃黏膜组织的 Bcl-2 蛋白表达进行了检测,Bcl-2 蛋白在正常组织中的阳性表达率为 16.67% (5/30),胃癌组织中的阳性表达率为 69.2% (36/52),二者之间差异有统计学意义($P<0.05$),提示 Bcl-2 蛋白表达上调与胃癌的发生有关,与 Tsamandas 等^[14]报道一致。Bcl-2 蛋白表达上调抑制细胞的凋亡、延长细胞寿命、促进细胞生存,从而引起细胞异常积累,增加细胞其他基因突变机会或使突变基因在细胞内积聚,导致细胞恶性转化,从而引起肿瘤的发生。本文同时研究了胃癌组织中 Bcl-2 蛋白的表达与胃癌临床病理参数的关系,结果显示,Bcl-2 蛋白表达与胃癌患者的年龄、性别、病理分期无关($P>0.05$),与分化程度及淋巴结转移有关($P<0.05$),与有关文献报道一致^[15]。在胃癌组织中,Bcl-2 蛋白的阳性表达率随组织分化程度降低、出现局部淋巴结转移而增高,表明在胃癌的发生、发展中 bcl-2 基因介导的凋亡紊乱可促使不断分裂、增殖的恶性肿瘤细胞快速增多,恶性程度增加。检测 Bcl-2 蛋白的表达可以作为判断肿瘤恶性程度及预后不良的一项参考指标。

综上所述,在胃癌的发生、发展过程中,Survivin、Bcl-2 蛋白表达上调,二者共同作用抑制凋亡,进一步阐明 Survivin、Bcl-2 蛋白表达上调的分子机制将为胃癌的早期诊断、预防及基因治疗提供理论依据。

参考文献:

- [1] Ambrosine G, Adida C, Sirugo G, et al. Induction of apoptosis and inhibition of cell proliferation by survivin gene targeting[J]. J Biol Chem, 1998, 273(18): 11177-11182.
- [2] 苏晋捷, 曾祥福, 刘晓平, 等. 凋亡抑制蛋白 Survivin 在胃癌组织中的表达及意义[J]. 实用医学杂志, 2010, 26(8): 1345-1347.
- [3] 吴祥胜, 何靖康, 马海涛, 等. P15、P27 和 bcl-2 在人食管鳞状细胞癌中的表达及其临床意义[J]. 苏州大学学报: 医学版, 2010, 30(2): 365-368.
- [4] Sun DW, Chen Q. Expression of Survivin protein and its relationship with expression of PTEN protein in the precancerous lesions and early gastric cancer [J]. Pract J Cancer, 2008, 23(1): 28-31.
- [5] Horisberger K, Erben P, Str? bel P, et al. Annexin and survivin in locally advanced rectal cancer; indicators of resistance to preoperative chemoradiotherapy [J]. Onkologie, 2010, 33(8/9): 439-444.
- [6] 刘集鸣, 李旭艳, 钟远芳, 等. 实时荧光定量聚合酶链反应检测大肠癌生存素基因[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(7): 634-638.
- [7] 唐郢, 周琦, 叶学正, 等. Survivin 基因与子宫颈癌发生及预后的关系[J]. 重庆医学, 2007, 36(14): 1400-1402.
- [8] Da CL, Xin Y, Zhao J, et al. Significance and relationship between Yes-associated protein and survivin expression in gastric carcinoma and precancerous lesions [J]. World J Gastroenterol, 2009, 15(32): 4055-4061. (下转第 2210 页)

当然,本实验仅为 mRNA 水平检测,而非具有生物活性功能的蛋白水平检测,二者的表达时期通常不一致。因此上述检测基因在成骨分化过程中的作用尚有待进一步研究。另外,每个信号途径在调节细胞分化成熟的过程中都存在联系,相互调节。最近研究已经证实转化生长因子- β 信号途径和 Wnt 信号途径密切相关^[17-18], Axin2 基因敲除小鼠的 BMP2 及 BMP6 表达升高^[19]。

综上所述,包括 Axin2 在内的多个 Wnt 信号途径部分信号分子和相关基因均可能参与 BMSCs 的成骨分化,如能深入研究并确定有效基因靶点作为骨组织工程研究的切入点,通过基因沉默或加强个别基因的表达促进 BMSCs 的成骨分化和矿化对骨组织工程研究及其相关疾病的治疗具有重要意义。

参考文献:

- [1] Shahnazari M, Yao W, Corr M, et al. Targeting the Wnt signaling pathway to augment bone formation[J]. *Curr Osteoporos Rep*, 2008, 6(4):142-148.
- [2] Pettit AR, Ji H, Von Stechow D, et al. TRANCE/RANKL knockout mice are protected from bone erosion in a serum transfer model of arthritis[J]. *Am J Pathol*, 2001, 159(5):1689-1699.
- [3] Derubeis AR, Cancedda R. Bone marrow stromal cells (BMSCs) in bone engineering: limitations and recent advances[J]. *Ann Biomed Eng*, 2004, 32(1):160-165.
- [4] 高明勇,郑启新,肖建德,等. 胚胎源脊髓组织诱导骨髓基质干细胞向神经元样细胞的分化[J]. *中华实验外科杂志*, 2007, 24(7):841-842.
- [5] 田发明,张柳,孟亚强,等. 辛伐他汀对大鼠骨量及骨髓基质干细胞增殖、分化的影响[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2007, 13(8):580-584,595.
- [6] Wong RW, Rabie AB. Statin-induced osteogenesis uses in orthodontics: a scientific review [J]. *World J Orthod*, 2006, 7(1):35-40.
- [7] Silkstone D, Hong H, Alman BA. Beta-catenin in the race to fracture repair: in it to Wnt[J]. *Nat Clin Pract Rheumatol*, 2008, 4(8):413-419.
- [8] Sakanaka C, Leong P, Xu L, et al. Casein kinase epsilon in the wnt pathway: regulation of beta-catenin function[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96(22):12548-12552.
- [9] Behrens J, Jerchow BA, Wuertele M, et al. Functional in-

teraction of an axin homolog, conductin, with beta-catenin, APC and GSK3beta[J]. *Science*, 1998, 280(5363):596-599.

- [10] Behrens J, Von Kries JP, Kuhl M, et al. Functional interaction of beta-catenin with the transcription factor LEF-1[J]. *Nature*, 1996, 382(6592):638-642.
- [11] DeLise AM, Fischer L, Tuan RS. Cellular interactions and signaling in cartilage development[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2000, 8(5):309-334.
- [12] Thomas DM, Carty SA, Piscopo DM, et al. The retinoblastoma protein acts as a transcriptional coactivator required for osteogenic differentiation[J]. *Mol Cell*, 2001, 8(2):303-316.
- [13] Nakashima K, de Crombrughe B. Transcriptional mechanisms in osteoblast differentiation and bone formation[J]. *Trends Genet*, 2003, 19(8):458-466.
- [14] Ilmer M, Karow M, Geissler C, et al. Human osteoblast-derived factors induce early osteogenic markers in human mesenchymal stem cells[J]. *Tissue Eng Part A*, 2009, 15(9):2397-2409.
- [15] Westendorf JJ, Kahler RA, Schroeder TM. Wnt signaling in osteoblasts and bone diseases[J]. *Gene*, 2004, 341:19-39.
- [16] Ke Z, Zhou F, Wang L, et al. Down-regulation of Wnt signaling could promote bone marrow-derived mesenchymal stem cells to differentiate into hepatocytes[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 367(2):342-348.
- [17] Guo X, Ramirez A, Waddell DS, et al. Axin and GSK3-control Smad3 protein stability and modulate TGF-signaling[J]. *Genes Dev*, 2008, 22(1):106-120.
- [18] Dao DY, Yang X, Chen D, et al. Axin1 and Axin2 are regulated by TGF-and mediate cross-talk between TGF-and Wnt signaling pathways[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2007, 1116:82-99.
- [19] Liu B, Yu HM, Hsu W. Craniosynostosis caused by Axin2 deficiency is mediated through distinct functions of beta-catenin in proliferation and differentiation[J]. *Dev Biol*, 2007, 301(1):298-308.

(收稿日期:2011-03-04 修回日期:2011-04-31)

(上接第 2207 页)

- [9] Kluck RM, Bossy-Wetzl E, Green DR, et al. The release of cytochrome C from mitochondria a primary site for bcl-2 regulation of apoptosis[J]. *Science*, 1997, 275(5303):1132-1136.
- [10] Han ME, Lee YS, Baek SY, et al. Hedgehog signaling regulates the survival of gastric cancer cells by regulating the expression of bcl-2[J]. *Int J Mol Sci*, 2009, 10(7):3033-3043.
- [11] Yoo J, Jung JH, Lee MA, et al. Immunohistochemical analysis of non-small cell lung cancer: correlation with clinical parameters and prognosis[J]. *J Korean Med Sci*, 2007, 22(2):318-325.
- [12] 刁晓源,余红,张程,等. 肺癌 Stat3、bcl-2 表达的临床研究

[J]. *重庆医学*, 2008, 37(10):1072-1074.

- [13] Kim HS, Shiraki K, Park SH. Expression of surviving in CIN and invasive squamous cell carcinoma of uterine cervix[J]. *Anticancer Res*, 2002, 22(2):805-808.
- [14] Tsamandas AC, Kardamakis D, Tsiamalos P, et al. The potential role of bcl-2 expression, apoptosis and cell proliferation(Ki-67 expression)in cases of gastric carcinoma and correlation with classic prognostic factors and patient outcome[J]. *Anticancer Res*, 2009, 29(2):703-709.
- [15] Wu YL, Zheng JS, Cai QF, et al. Expression of Survivin, Bcl-2, Bax in gastric carcinoma and its clinical significance [J]. *World J Gastroenterol*, 2008, 29(14):1292-1294.

(收稿日期:2011-03-09 修回日期:2011-04-22)