

Survivin 蛋白和 PTEN 基因在直肠癌中的表达及其意义

徐万宇¹, 徐 德²

(攀枝花学院:1. 医学院;2. 附属医院病理科, 四川攀枝花 617000)

摘要:目的 观察 Survivin 蛋白和 PTEN 基因在直肠癌中的表达, 分析二者与直肠癌临床病理特征的关系, 评价其对直肠癌发生发展的影响。方法 采用链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶连接法, 检测 Survivin 和 PTEN 在 72 例直肠癌组织中的表达, 并随机抽取 20 例癌旁正常组织作为对照组。结果 在癌旁正常组织中, Survivin 的阳性表达率为 0, PTEN 的阳性表达率为 85.0%; 在直肠癌组织中, Survivin 的阳性表达率为 61.1%, PTEN 的阳性表达率为 41.7%。Survivin 和 PTEN 的表达与直肠癌患者的性别、年龄无关, 与分化程度、Dukes 分期和淋巴结转移有关。Survivin 与 PTEN 在直肠癌中的表达呈负相关。结论 直肠癌发生发展的相关因素中, PTEN 的低表达和 Survivin 的过表达可能起重要作用, 可作为判断直肠癌分期分级的指标。

关键词: 直肠肿瘤; 免疫组织化学; Survivin; PTEN

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.06.014

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2014)06-0676-03

Expression and significance of Survivin and PTEN in rectal carcinoma

Xu Wanyu¹, Xu De²

(1. School of Medicine; 2. Department of Pathology of Affiliated Hospital, Panzhihua University, Panzhihua, Sichuan 617000, China)

Abstract: Objective To detect the expression of Survivin, PTEN and to discuss the correlations between them and the clinicopathological characteristic of rectal carcinoma, evaluate their effects on the development of rectal carcinoma. Methods SP immunohistochemical was used to detect the expression level of Survivin and PTEN in 72 rectal carcinoma samples, and randomly selected 20 cases of normal paraneoplastic tissues as control group. Results The positive rate of Survivin and PTEN in normal paraneoplastic tissues were 0 and 85.0% respectively; The positive rate in rectal carcinoma samples were 61.1% and 41.7% respectively. Positive expressions of Survivin and PTEN did not had no correlation with gender, age, but correlated with differentiation, dukes staging and lymph node metastasis. PTEN expression was negatively correlated with Survivin expression in rectal carcinoma. Conclusion The low expression of Survivin and high expression of PTEN might promote tumor genesis and progression of rectal carcinoma, which could be used to judge the rectal cancer clinical staging and pathologic grading.

Key words: rectal neoplasms; immunohistochemistry; Survivin; PTEN

直肠癌是胃肠道最常见的恶性肿瘤之一, 预后较差, 且发病率和术后复发率逐年提高^[1]。研究认为, 直肠癌的发生发展可能是由于多种原癌基因被激活且过度表达, 导致细胞恶变, 同时细胞内抑癌基因表达被下调, 抑癌作用减弱或消失, 导致肿瘤不断发展。Survivin 是一种凋亡抑制蛋白, 其基因定位于人染色体 17q25, Survivin 蛋白被认为是抑制细胞凋亡的关键分子, 他处于细胞增殖与细胞死亡界面之间, 能够抑制半胱氨酸蛋白酶的活性, 促使肿瘤细胞发生抗凋亡^[2]。Survivin 在正常分化组织中几乎不能检测出, 却强烈表达在各种肿瘤组织中^[3]。PTEN 基因是定位于 10q23 的抑癌基因, 他的基因产物表达磷酸酶活性, 能够抑制肿瘤的生成^[4], 在消化道恶性肿瘤发展过程中, PTEN 基因发生了突变^[5]。

本文利用免疫组织化学(SP)法, 对直肠癌和癌旁正常组织中 Survivin 和 PTEN 的表达进行检测, 分析两种肿瘤相关蛋白质的关系, 同时检测在直肠癌的不同发展阶段, 这两种蛋白质的表达情况, 探讨他们与直肠癌恶化进展的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集攀枝花学院附属医院病理科 2001~2010 年直肠癌手术切除并经病理证实的 72 例患者的石蜡包埋组织标本, 患者男 39 例, 女 33 例, 年龄 32~74 岁, 中位年龄

58 岁。另收集 20 份癌旁正常组织, 均取自距肿瘤标本 5 cm 以外的正常直肠黏膜。所有标本临床分期按 Dukes 分期, 其中 A、B 期 40 例, C、D 期 32 例。患者术前未经任何化疗、放疗, 临床治疗完整。

1.2 方法 所有手术切除标本均经 10% 甲醛固定, 石蜡包埋后 4 μm 连续切片, 每例均行苏木精-伊红(HE)染色法和免疫组织化学(SP)法染色, DAB 显色, 以磷酸盐缓冲液(PBS)代替第一抗体做阴性对照, 用已知阳性切片作阳性对照。所用即用型兔抗人 Survivin 多克隆抗体、鼠抗人 PTEN 单克隆抗体、SP 染色试剂盒, 以及 DAB 显色试剂均购自福州迈新公司。

1.3 结果判断 结果的判断是在双盲下进行的, 细胞计数时不显示标本患者的临床病理资料。Survivin 蛋白染色阳性在细胞质内出现棕黄色颗粒, PTEN 蛋白染色阳性在细胞核或胞浆内出现棕黄色颗粒。免疫组织化学结果采用半定量积分法, 细胞核或胞浆见清晰棕褐色颗粒者为表达阳性^[6-7]。每例切片选 10 个高倍视野, 按阳性细胞数占同类计数细胞的百分比, 将免疫组织化学结果分为: <11% 为 0 分, 11%~25% 为 1 分, 26%~50% 为 2 分, 51%~75% 为 3 分, >75% 为 4 分。阳性强度以多数细胞呈色为准, 未着色为 0 分, 淡黄色为 1 分, 橙黄色为 2 分, 棕褐色为 3 分。两分相乘作为阳性(+)表达评分标

准,0 分为阴性(-),1~2 分为+,3~5 分为++,>5 分为+++。

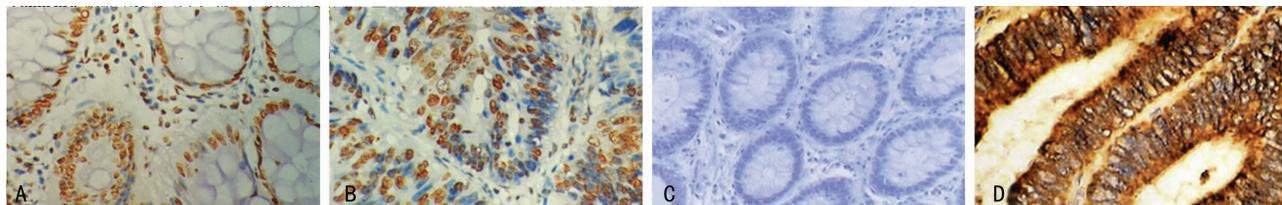
1.4 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计软件进行统计分析,计数资料采用 χ^2 检验;计量资料为偏态分布资料,采用 Fisher 确切概率法。采用秩相关分析 Survivin 与 PTEN 之间的相关关系,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 Survivin 和 PTEN 在直肠癌组织和癌旁正常组织中的表达 Survivin 蛋白和 PTEN 蛋白阳性染色主要位于胞浆,少数

位于细胞核内,见图 1。72 例直肠癌组织标本中 Survivin 阳性表达率为 61.1%,癌旁正常组织阳性表达率为 0。PTEN 蛋白在直肠癌组织中阳性表达率为 41.7%,癌旁正常组织阳性表达率为 85.0%。见表 1。

2.2 Survivin 和 PTEN 的表达与临床病理特征之间的关系 本研究结果显示,Survivin 和 PTEN 蛋白的阳性表达与直肠癌患者的性别、年龄无关($P>0.05$)。随组织分化程度的增加、Dukes 分期的进展及淋巴结转移,Survivin 阳性率呈上升趋势,PTEN 阳性率则逐渐下降(均 $P<0.05$)。见表 2。



A:PTEN 在直肠癌旁正常组织的阳性表达(SP×200);B:PTEN 在直肠癌组织的阳性表达(SP×200);C:Survivin 在直肠癌旁正常组织的表达(SP×200);D:Survivin 在直肠癌组织的表达(SP×400)

图 1 Survivin 和 PTEN 在直肠癌组织和癌旁正常组织中的表达

表 1 Survivin 与 PTEN 表达的比较[n(%)]

组织类型	Survivin		P	PTEN		P
	+~+++	-		+~+++	-	
直肠癌组织	44(61.1)	28(38.9)	0.000	30(41.7)	42(58.3)	0.001
癌旁正常组织	0(0.0)	20(100.0)		17(85.0)	3(15.0)	

表 2 Survivin 和 PTEN 在直肠癌中的表达与临床病理特征之间的关系(n)

病理特征	n	Survivin		P	PTEN		P
		+~+++	-		+~+++	-	
分化程度							
高	21	18	3	0.000	4	17	0.018
中	32	21	11		14	18	
低	19	5	14		12	7	
Dukes 分期							
A、B 期	40	19	21	0.008	23	17	0.002
C、D 期	32	25	7		7	25	
淋巴结转移							
有	41	33	8	0.000	93	2	0.000
无	31	11	20		21	10	

2.3 Survivin 和 PTEN 在直肠癌组织中表达的相关性 72 例直肠癌中,9 例 Survivin 与 PTEN 都呈阳性表达,7 例呈阴性表达,PTEN 阳性而 Survivin 阴性者为 21 例,PTEN 阴性而 Survivin 阳性者为 35 例。Survivin 和 PTEN 的表达呈明显的负相关关系($P=0.000$)。

3 讨 论

3.1 Survivin 在直肠癌中的表达与意义 肿瘤细胞凋亡可以消除肿瘤,凋亡抑制则可促进肿瘤的发生、发展。Survivin 是凋亡蛋白抑制因子家族成员,其基因定位于人染色体 17q25。

现有研究表明,caspase-3、caspase-7 等凋亡蛋白酶能够抑制肠癌细胞的生长,而 Survivin 能抑制 caspase-3、caspase-7 的促细胞凋亡功能^[8];Survivin 还能够解除 P21 蛋白对细胞周期的阻滞作用,降低 P21 的活性,从而调节细胞周期,促进肿瘤的发生与发展^[9-10]。本次研究表明,Survivin 在癌旁正常组织中无表达,但在直肠癌组织中,随着癌组织从低分化到高分化的转变,Survivin 的阳性表达率分别为 35.7%(5/19)、66.0%(21/32)、86.0%(18/21);无淋巴结转移组的阳性率为 35.5%(11/31),有淋巴结转移组的阳性率为 80.5%(33/41)。这表明,正常直肠组织中一般不表达 Survivin,但随着正常组织向癌细胞转化并持续发展,Survivin 在直肠组织的表达亦随之增高,尤其是直肠组织中 Survivin 阳性,揭示正常细胞癌变的可能性^[11]。

3.2 PTEN 在直肠癌中的表达与意义 PTEN 是一个新发现的抑癌基因,定位于人类的染色体 10q23。PTEN 蛋白产物含有酪蛋白磷酸酶的功能区,所以 PTEN 可能通过去磷酸化进行细胞调控,参与多条抑癌途径。目前认为,一个重要作用机制是 PTEN 蛋白通过静电相互作用协同结合到细胞膜上,与定位于胞膜内侧的 PIP3 相互作用使之去磷酸化,生成 PIP2,导致 PI3K-AKT 信号下调,由此抑制非贴壁依赖性细胞增殖和体内的肿瘤生长^[12]。以往研究发现,在多种人类肿瘤中,普遍存在 PTEN 基因的杂合性丢失或发生突变。本研究表明,癌旁正常组织中,PTEN 蛋白阳性率为 85.0%,直肠癌组织中 PTEN 蛋白阳性率为 41.7%,二者差异有统计学意义($P<0.05$),说明 PTEN 低表达,可能使 PTEN 抑制肿瘤细胞增殖的能力下降,从而参与直肠癌的发生。进一步分析表明,与 A、

B 期癌组织比较, C、D 期癌组织 PTEN 蛋白阳性率明显降低; 有淋巴结转移的直肠癌组织中, PTEN 蛋白阳性率明显低于无淋巴结转移的直肠癌组织。这提示 PTEN 蛋白表达率下降, 使其抑制直肠癌蔓延和转移的能力下降, 肿瘤更容易扩散^[13]。

3.3 Survivin 与 PTEN 在直肠癌中的表达关系 目前对于 Survivin 和 PTEN 在肿瘤中表达的相互关系研究较少, 本研究表明, Survivin 与 PTEN 在直肠癌中的表达有明显的负相关关系。可能是由于 PTEN 失活, 对 PIP3 去磷酸化功能下降, PI3K 信号活化, 促使核转录因子- κ B 活化, 最终上调 Survivin 的表达^[14], 使之发挥抑制肿瘤细胞和血管内皮细胞凋亡的作用, 促进肿瘤细胞的增殖、血管生长和稳定, 更有利于肿瘤生长、浸润和转移^[15]。

综上所述, Survivin 和 PTEN 与直肠癌的发生、发展关系密切, PTEN 的低表达与 Survivin 的过表达是直肠癌发生、发展的重要因素, 检测 Survivin 和 PTEN 的表达对直肠癌生物学行为与预后的判断有重要意义, 两者也可能成为直肠癌靶向基因治疗的选择。

参考文献:

[1] 刘彦龙, 杨艳梅, 徐海涛, 等. 直肠癌术后复发的时间规律及预后评价指标的筛选[J]. 中华外科杂志, 2009, 47(2): 102-105.

[2] Croci DO, Cogno IS, Vittar NB, et al. Silencing survivin gene expression promotes apoptosis of human breast Cancer cells through a caspase-independent pathway[J]. J Cell Biochem, 2008, 105(2): 381-390.

[3] Bao R, Connolly DC, Murphy M, et al. Activation of cancer-specific gene expression by the survivin promoter[J]. J Natl Cancer Inst, 2002, 94(7): 522-528.

[4] Sanchez T, Thangada S, Wu MT, et al. PTEN as an effector in the signaling of antimigratory G protein-coupled receptor[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2005, 102(12): 4312-4317.

[5] 温玉刚, 王权, 周崇治, 等. 胃癌抑癌基因 PTEN 突变对

PI3K/AKT 通路的影响[J]. 中华实验外科杂志, 2010, 27(10): 1466-1469.

[6] 刘志慧, 顾振鹏, 马立新, 等. PTEN 及 Survivin 在卵巢上皮性癌中的表达及相关性[J]. 中国临床医学, 2011, 18(1): 35-37.

[7] 许良中, 杨文涛. 免疫组织化学反应结果的判定标准[J]. 中国癌症杂志, 1996, 6(4): 229-231.

[8] Lu H, Gan M, Zhang G, et al. Expression of survivin, caspase-3 and p53 in cervical Cancer assessed by tissue microarray: correlation with clinicopathology and prognosis[J]. Eur J Gynaecol Oncol, 2010, 31(6): 662-666.

[9] 熊娟, 李一荣, 汤兆明, 等. P21 对肝癌细胞中 survivin 转录的影响及调控机制的探讨[J]. 中华肿瘤杂志, 2008, 30(8): 583-587.

[10] 蔡贤福, 何卫阳. Survivin 特性及其在抗肿瘤中的应用[J]. 医学综述, 2012, 18(3): 362-365.

[11] Nourae N, Mowla SJ, Ozhand A, et al. Expression of survivin and its spliced variants in bladder tumors as a potential prognostic marker[J]. Urol J, 2009, 6(2): 101-108.

[12] Huang J, Yan J, Zhang J, et al. SUMO1 modification of PTEN regulates tumorigenesis by controlling its association with the plasma membrane[J/OL]. Nat Commun, 2012, 3(3): 911.

[13] 梁文同, 成志勇, 贾志强, 等. PTEN: 抑制肿瘤侵袭及转移的新靶点[J]. 生理科学进展, 2011, 42(3): 201-205.

[14] Wang J, Yang L, Yang J, et al. Transforming growth factor beta induces apoptosis through repressing the phosphoinositide 3-kinase/AKT/survivin pathway in colon Cancer cells[J]. Cancer Res, 2008, 68(9): 3152-3160.

[15] 成志勇, 万建设, 王亚丽, 等. PTEN 基因对慢性粒细胞白血病 Survivin, Xiap, Smac 调控的研究[J]. 中华医学杂志, 2011, 91(40): 2868-2872.

(收稿日期: 2013-10-25 修回日期: 2013-12-13)

(上接第 675 页)

2001, 13(3): 246-250.

[3] 李民, 张丽萍, 吴新民. 右美托咪定在临床麻醉中应用的研究进展[J]. 中国临床药理学杂志, 2007, 23(6): 466-470.

[4] Bagatini A, Volquind D, Rosso A, et al. Dexmedetomidine as adjuvant drug for wake-up test during scoliosis correction surgery: case report[J]. Rev Bras Anesthesiol, 2004, 54(2): 247-251.

[5] Raw DA, Beattie JK, Hunter JM. Anaesthesia for spinal surgery in adults[J]. Br J Anaesth, 2003, 91(6): 886-904.

[6] Liu EH, Wong HK, Chia CP, et al. Effects of isoflurane and propofol on cartical somatosengory evoked potentials during comparable depth of anaesthesia as guided by bispectral index [J]. Br J Anaesth, 2005, 94(2): 193-197.

[7] 田玉科, 陈治军. 恶性高热的发病机理及其防治[J]. 临床麻醉学杂志, 2002, 18(1): 56-58.

[8] Crottke O, Dietrich PJ, Wiegels S, et al. Intraoperative wake-up test and postoperative emergence in patients undergoing spinal surgery: a comparison of intravenous and inhaled anaesthetic techniques using shortacting anaesthetics[J]. Anaesth Analg, 2004, 99(5): 1521-1527.

[9] Yildiz M, Tavlan A, Tuncer S, et al. Effect of dexmedetomidine on haemodynamic responses to laryngoscopy and intubation: perioperative haemodynamics and anaesthetic requirements[J]. Drugs R D, 2006, 7(1): 43-52.

[10] 杨伟, 邵建林. 右美托咪定用于腹腔镜胆囊切除术中的临床观察[J]. 临床麻醉学杂志, 2011, 27(1): 47-48.

(收稿日期: 2013-10-04 修回日期: 2013-12-25)