论著

文章编号:1000-5404(2005)10-1030-03

凋亡抑制因子 survivin 在膀胱移行细胞癌中的表达及意义

郑清友[1],靳凤烁[1],李增鹏[2],杨雨馨[2],刘 光[3],黄晓楠[3] (第三军医大学大坪医院野战外科研究所:[1]泌尿外科,[2]病理科,重庆 400042;[3]北京军区总医院病理科,北京 100700)

提 要:目的 研究凋亡抑制因子 survivin 在膀胱移行细胞癌(BTCC)中的表达及其临床意义。**方法** 采用免疫组化法(S-P法),检测 54 例 BTCC 和 8 例正常膀胱组织中 survivin 的表达,分析其表达情况并与肿瘤病理学分级、临床分期和患者复发等情况的关系。**结果** Survivin 在正常膀胱组织中不表达,在 BTCC 中有不同程度表达,其表达随 BTCC 的病理分级、临床分期的增高而相应增高,复发 BTCC 表达明显增高。Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ级 BTCC 表达率分别为 54.5%、75.0%、81.8%($P<0.05$);浅表性(T1~T2)、浸润性(T3~T4) BTCC 表达率分别为 69.6%、87.5%($P<0.05$);未复发、复发 BTCC 表达率为 61.8%、90.0%($P<0.01$)。**结论** Survivin 在 BTCC 组织中表达上调,survivin 随 BTCC 病理分级、分期增高而表达增高,并与肿瘤复发有关。Survivin 有望成为判断分级、分期和监测复发的指标。

关键词: survivin; 膀胱肿瘤;凋亡;免疫组织化学
中图法分类号: R341; R394.2; R737.14 **文献标识码**: A

Expression and significance of survivin in bladder transitional cell carcinomas

ZHENG Qing-you[1], JIN Feng-shuo[1], LI Zeng-peng[2], YANG Yu-xin[2], LIU Guang[1], HUANG Xiao-nan[1] ([1]Department of Urology, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, [2]Department of Pathology, General Hospital of Beijing Military Area Command, Beijing 100700, China)

Abstract: **Objective** To study the expression of survivin, a novel member of inhibitor of apoptosis protein family, in bladder transitional cell carcinomas (BTCC) and the relationship between clinicopathological characteristics and outcome. **Methods** Immunohistochemistry was used to detect the expression of survivin in bladder tissues from 54 cases of BTCC and 8 normal subjects. The relationship of survivin expression and pathological grade, clinical staging, and recurrence was analyzed. **Results** The positive expression rate of survivin in bladder tissues from 54 BTCCs was 72.2%, while no positive expression was found in non-neoplastic and 8 normal bladder tissues. The expression level of survivin elevated as the grade and stage got higher in BTCC. The positive rates in grade Ⅰ, Ⅱ, Ⅲ were 54.5%, 75.0%, 81.8%; in stage of T1-T2, T3-T4 69.6%, 87.5%; and primary, recurrent cases 61.8%, 90.0%, respectively. Multivariate Cox proportional hazards model analysis identified survivin expression as an independent prognostic factor of disease-free survival ($P=0.008$, $r=3.12$). When clinical data such as sex, age, tumor number, size, or shape were examined in correlation with survivin status, but no statistically significant relationship was noted. **Conclusion** The up-regulated expression of survivin in BTCC suggests that survivin may play an important role in tumor recurrence and progression through inhibiting cell apoptosis. Besides, the higher the grade and stage are, the higher the expression level of survivin is. Survivin is correlated with recurrence of BTCC. High survivin expression is expected to be a new prognostic factor in BTCC.

Key words: survivin; bladder neoplasm; apoptosis; immunohistochemistry

膀胱癌是泌尿系统最常见的肿瘤,具有多发、高复发的生物学特点,且随着复发,恶性程度也呈增高趋势,最终发生浸润转移而危及生命。寻找经济方便、非浸入性的,且敏感性高、特异性强的膀胱癌新瘤标,一直是泌尿外科研究的重要课题。Survivin 是凋亡抑制蛋白(inhibitor of apoptosis proteins, IAP)家族的新成员,研究表明在正常组织中沉默,但在多种肿瘤组织中高表达,且与肿瘤进展、抵抗化疗及预后不良有关[1,2]。为此我们检测了正常膀胱移行上皮及膀胱移行细胞癌

作者简介:郑清友(1967-),男,江西省抚州市人,硕士研究生,副主任医师,副教授,主要从事泌尿外科肿瘤及肾移植方面的研究。电话:(023)68757344
通讯作者:靳凤烁,电话:(023)68757364,E-mail: fengshuojin@hotmail.com
收稿日期:2005-03-07;修回日期:2005-04-10

患者的手术摘除标本 survivin 的表达情况，并研究了其表达情况与患者临床病理特征的关系，现报告如下。

1　材料与方法

1.1　材料

选择性收集我院及北京军区总医院 2000 年 1 月至 2004 年 10 月病理确诊为膀胱移行细胞癌资料完整的膀胱癌患者的手术切除石蜡包埋标本 54 例，其中男性 48 例，女性 6 例；年龄 36 ~ 82 岁，平均(61.6 ± 12.5)岁；病史 2 个月至 10 年，平均(8.4 ± 2.5)个月；随访时间为 2 个月至 3 年 10 个月，平均(24.4 ± 6.5)个月。肿瘤单发 28 例，多发 26 例；直径≥3 cm 30 例，< 3 cm 24 例；肿瘤初发 34 例，复发 20 例。根据 WHO 病理分级及 TNM 临床分期诊断标准，其中Ⅰ级 11 例、Ⅱ级 32 例、Ⅲ级 11 例；T1 ~ T2 46 例、T3 ~ T4 8 例。另选择正常膀胱标本 8 例作为阴性对照(来自非肿瘤患者)。

1.2　检测方法

手术标本按病理科常规处理。免疫组化染色采用过氧化物酶标记的链霉卵白素染色试剂合(S-P 法)。常规石蜡切片，脱蜡，水化，0.1% 胰蛋白酶修复抗原，3% H_2O_2 作用 10 min 后加 survivin 抗体(Santa Cruz，编号为 sc-10811)，一抗稀释度为 1∶30。按标准 S-P 法步骤进行，DAB 显色，苏木素复染，脱水，透明，封片。由两名病理科医师独立阅片取均值。

1.3　结果判定

参照汪小明等[3]判断标准。高倍显微镜(×400)下观察 5 个视野，切片上胞质无染色者为阴性细胞，计为 0%，胞质中染色呈淡黄色者为弱阳性，计为 1%，棕黄色者为中度阳性，计为 2%，棕褐色者为强阳性，计为 3%；阳性细胞占肿瘤细胞总数≤5% 计为 0%，6 ~ 25% 计为 1%，26% ~ 50% 计为 2%，≥50% 计为 3%。结果以细胞染色强度百分比和阳性细胞百分比相加累计，阴性计为 -，1% ~ 2% 计为轻度阳性(+)，3% ~ 4% 计为中度阳性(++)，5% ~ 6% 计为强阳性(+++)。

1.4　统计学分析

数据采用 SPSS10 软件处理，膀胱肿瘤 survivin 表达与病理特征的关系采用 χ^2 检验。不同变量与无瘤生存的关系分析采用多变量危险因素回归模型。

2　结果

2.1　免疫组化染色

54 例膀胱癌患者，39 例 survivin 表达阳性，占 72.2%，其中 +21 例，++ 14 例，+++ 4 例。Survivin 主要在肿瘤细胞胞浆中表达。膀胱癌周围正常粘膜及 8 例正常膀胱粘膜均未见 survivin 表达。

2.2　Survivin 表达与临床病理特征的关系

从表 1 中可看出，survivin 表达与患者年龄、性别、肿瘤大小、形状及数目无统计学差异。但 survivin 表达与临床分期及病理分级差异有显著意义。Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ级膀胱移行细胞癌 survivin 表达阳性率分别为 54.5%、75.0%、81.8% ($P < 0.05$)；T1 ~ T2、T3 ~ T4 期膀胱移行细胞癌 survivin 表达阳性率分别为 69.6%、87.5% ($P < 0.05$)。

表 1　Survivin 表达与临床病理特征的关系

Tab 1　Relationship between the expression of survivin in bladder cancer and the characteristics of patients

Variables		n	Survivin expression					P
			-	+	++	+++	Positive rate (%)	
Age	≥60	22	5	9	6	2	77.3	>0.05
	<61	32	10	12	8	2	68.8	
Sex	Male	48	14	20	11	3	70.8	>0.05
	Female	6	1	1	3	1	83.3	
Diameter of tumor(cm)	≥3	30	7	11	9	3	76.7	>0.05
	<3	24	8	10	5	1	66.7	
Growth mode of tumor	Papillary	37	11	16	9	1	70.3	>0.05
	Non-papillary	17	4	5	5	3	76.5	
Number of tumor	Solitary	28	10	9	7	2	64.3	>0.05
	Multiple	26	5	12	7	2	80.8	
Stage of tumor	T1 - T2	46	14	20	11	1	69.6	<0.05
	T3 - T4	8	1	1	3	3	87.5	
Grade of tumor	Ⅰ	11	5	3	2	1	54.5	<0.05
	Ⅱ	32	8	16	7	1	75.0	
	Ⅲ	11	2	2	5	2	81.8	
Primary recurrent of tumor	Primary	34	13	11	8	2	61.8	<0.01
	Recurrent	20	2	10	6	2	90.0	

2.3　Survivin 表达与膀胱癌复发的关系

54 例膀胱癌患者，在随访时间内，有 20 例复发，复发患者中 18 例初诊时 survivin 表达阳性，占 90.0%，明显高于未复发者(61.8%)，有显著统计学差异($P < 0.01$)。

2.4　Survivin 表达与预后的关系

多变量危险因素分析表明(表 2)，年龄、性别、肿瘤大小、形状及数目的差异对患者无瘤生存无明显影响($P > 0.05$)，而肿瘤分级、分期及 survivin 表达差异均为独立的预后因素，其相对危险系数(relative risk)分别为 2.4($P = 0.014$)、2.12($P = 0.028$)、3.12($P = 0.008$)。

表 2　多变量危险因素回归模型分析不同变量与无瘤生存的关系

Tab 2　Relationship between different factors and tumor-free survival

P	Variables	Risk factor	95% CI
Survivin(negative *vs* positive)	3.12	1.24 - 7.20	0.008
Age(<60 *vs* ≥60)	0.48	0.27 - 1.20	0.102
Sex(male *vs* female)	0.68	0.14 - 2.37	0.486
Diameter of tumor (<3 cm *vs* ≥3 cm)	0.78	0.26 - 1.84	0.560
Number of tumor (solitary *vs* multiple)	1.28	0.84 - 3.10	0.310
Stage of tumor (T1 - 2 *vs* T3 - 4)	2.12	1.32 - 6.54	0.028
Grade of tumor(Ⅰ or Ⅱ *vs* Ⅲ)	2.40	1.54 - 6.64	0.014

3　讨论

膀胱肿瘤是泌尿系统最常见的恶性肿瘤，其发病率在美国排在恶性肿瘤第 5 位，是肿瘤病因引起死亡的第 4 位[4]。移行细胞癌是其最常见的病理类型，具有多发、高复发性(单纯手术复发率为 60% ~ 80%，手术 + 膀胱灌注治疗复发率为 25% ~ 40%)的特点，且

随着复发，恶性程度也呈增高趋势，最终发生浸润转移而危及生命。近半个世纪以来，膀胱癌的发病率明显上升，发病年龄范围也在加宽。如何提高膀胱肿瘤的治疗效果是目前泌尿外科领域未解决的难点和一大课题。Survivin是凋亡抑制蛋白(inhibitor of apoptosis proteins, IAP)家族的新成员。1997年由耶鲁大学的Altieri实验组杂交筛选中首先分离出来。Survivin最显著的特点就是在多种肿瘤组织中高表达，却在正常组织中沉默[2]。基因芯片研究表明在100多种肿瘤特异性表达基因中，其表达特异性列前四位。Survivin选择性过度表达提示肿瘤进展，抵抗化疗及预后不良[2]。

细胞增殖和凋亡的失衡对肿瘤的发生与发展取重要作用。在IAP家族中，survivin是新近发现的一种作用最强的细胞凋亡抑制因子，它具有两种重要功能：抑制细胞凋亡与调节细胞周期[1]。其抗凋亡机制尚未完全研究清楚，目前认为主要是抑制caspase 3和caspase 7的活性，从而阻止细胞凋亡。Survivin的存在使肿瘤细胞凋亡受到抑制[5]，对化疗与放疗的抵抗性增强，5年生存率及总生存率下降，无瘤生存时间缩短，复发率增加[2]。Survivin在大多数恶性肿瘤中都有表达，而在除胚胎期外的正常组织中都不表达。这种特异性表达使人们很自然地把它和恶性肿瘤的诊断联系了起来。Shariaf和Smith等[5,6]检测了survivin在膀胱移行细胞癌患者尿中表达，其敏感性为100%，特异性为95%，认为检测尿中survivin表达有助于膀胱癌的诊断，其灵敏度明显高于尿细胞学检查。本研究表明survivin在膀胱移行细胞癌组织中也有较高表达，其表达水平在膀胱癌不同的临床分期和病理分级中差异显著，随肿瘤分期和分级的增高而增加；多因素分析survivin表达水平为一独立的预后因素，survivin表达水平增高预示肿瘤易复发或转移，提示临床上需密切观察和随访或采取更积极治疗措施(包括尽早行膀胱全切除术)。Survivin检测是否有望成为一理想的肿瘤标志物，还需要大样本数的资料积累和进一步的临床研究。随着对survivin蛋白及其对膀胱癌复发及转移分子机制的进一步研究和认识，必将对膀胱癌的诊断处理提供更积极有效的治疗策略。

参考文献：

[1] Ambrosini G, Adida C, Altieri D C. A novel antiapoptosis gene, survivin, expressed in cancer and lymphoma[J]. Nat Med, 1997, 3(8): 917-921.

[2] Altieri D C. The molecular basis and potential role of survivin in cancer diagnosis and therapy[J]. Trends Mol Med, 2001, 7(12): 542-547.

[3] 汪小明，黄 循，张选志. 膀胱移行细胞癌中凋亡抑制因子survivin的表达及意义[J]. 中国现代医学杂志，2004，14(2)：25-27.

[4] Michaud D S, Spiegelman D, Clinton S K, *et al*. Prospective study of dietary supplements, macronutrients, micronutrients, and risk of bladder cancer in US men[J]. Am J Epidemiol, 2000, 152(12): 1145-1153.

[5] Shariaf S F, Casella R, Khoddami S M, *et al*. Urine detection of survivin is a sensitive marker for the noninvasive diagnosis of bladder cancer[J]. J Urol, 2004, 171(2 Pt 1): 626-630.

[6] Smith S D, Wheeler M A, Plescia J, *et al*. Urine detection of surviving and diagnosis of bladder cancer[J]. JAMA, 2001, 285(3): 324-328.

(编辑 陈聪连)

(上接1029页)

C臂定位无创血管夹阻断颈内静脉，以防异物随血流漂移；行颈前部离机化处段颈总动脉、迷走神经及颈内静脉后，在超声的吸引下，用尖刀切透血管壁，取出金属片异物，面积约0.4 cm×0.6 cm；吻合颈内静脉壁破口，逐层间断缝合伤口。颈部加压包扎。术后抗感染、止血。痊愈出院。

2 讨论

颈动脉鞘金属异物取出术风险很大，成功取出的关键在于对异物的解剖定位，合理的手术径路及对颈动脉鞘解剖的熟练掌握[1]。

术前定位[2-4]检查相当重要，有利于术中的正确处理。由于该患者属再次手术，为明确异物与颈部血管及神经的关系，术前行CT检查。颈动脉造影显得无为必要，有利于区分异物毗邻或嵌顿血管的性质(动脉或静脉)，为术中决定是否行血管结扎提供依据。CT检查可初步明确异物与颈动脉鞘的关系；若造影结果显示异物与颈总动脉或颈内动脉无关，即使术中发现异物嵌入血管壁，结合术中解剖关系，可果断用无创血管夹阻断血管，以防异物漂移，进入下腔静脉，甚至随血流进入右心房/室、肺动脉，严重者亦有可能随血流进入体循环。

对于手术径路的选择，本者认为：颈动脉三角、肌三角或颈下三角内的异物，可不考虑伤口的位置，一律行胸锁乳突肌前缘切口；锁骨上三角内异物可沿锁骨上缘作切口；枕后三角可于斜方肌前缘作切口。

颈动脉鞘金属异物取出术，要求术中充分解剖颈动脉鞘，为预防嵌顿于静脉壁中的异物漂移，可在分离异物所在处机化对面，于其上、下游用无创血管夹阻断血流或预置结扎线；另外，在分离异物所在处机化对时，应小心谨慎，以防用力不当造成医源性血管破裂。

关键词：颈动脉鞘；异物

中图法分类号：R767.91 文献标识码：B

参考文献：

[1] 张中原，张保宁，何 虎，等. 颈部金属异物的处理方法与体会[J]. 创伤外科杂志，2001，3(4)：277.

[2] 陆 兰，吉伟强，姚 伟，等. 颈部微小金属异物的定位及取出[J]. 实用疾病杂志，2003，10(3)：15-16.

[3] 张玉伟，陈恩河，白亚日，等. X线电视尿路下取头颈部异物术12例[J]. 临床耳鼻咽喉科杂志，1998，12(12)：568.

(编辑 张大春)