论著

文章编号:1000-5404(2007)11-1096-03

新辅助化疗对乳腺癌 Survivin、p53 表达影响及意义

凡庆东,姜 军,杨新华,范林军,钟 玲 (第三军医大学西南医院乳腺疾病中心,重庆 400038)

提 要:目的 探讨乳腺癌新辅助化疗前后 Survivin、p53 蛋白表达变化,分析表达变化与临床疗效的关系。**方法** 51 例可手术女性乳腺癌患者采用 TE 方案新辅助化疗,免疫组化 S-P 法检测新辅助化疗前后 Survivin、p53 蛋白表达情况。**结果** ① 化疗后 Survivin 表达明显下降,p53 表达未见显著性变化。②化疗后 Survivin 表达降低,化疗有效率高,Survivin 的表达升高,化疗有效率低,两者有显著性差异($P<0.05$),p53 表达变化之间化疗有效率无显著性差异($P>0.05$)。**结论** Survivin 在新辅助化疗后表达显著降低,Survivin 可能是 TE 方案新辅助化疗的一个靶点。

关键词:乳腺癌;新辅助化疗;Survivin;p53

中图法分类号:R730.23;R730.53;R737.9 **文献标识码**:A

Effect of neoadjuvant chemotherapy on Survivin, p53 expression in breast cancer

FAN Qing-dong, JIANG Jun, YANG Xin-hua, FAN Lin-jun, ZHONG Ling (Breast Disease Center, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: **Objective** To study the expression changes of Survivin, p53 in breast cancer after neoadjuvant chemotherapy and analyze the relationship between expression changes and efficiency of neoadjuvant chemotherapy. **Methods** The expressions of Survivin, p53 were examined by immunohistochemical assay in breast tissue samples from 51 operable breast cancer patients before and after neoadjuvant chemotherapy of TE (Taxinol and Epirubicin) regimen. **Results** After neoadjuvant chemotherapy, the expression of Survivin decreased significantly ($P<0.05$), but p53 showed no significant changes. Altered expression of Survivin was correlated with efficiency of neoadjuvant chemotherapy ($P<0.05$). **Conclusion** After neoadjuvant chemotherapy of TE regimen, the expression of Survivin decreased. The gene Survivin may be a target gene in this regimen.

Key words: breast cancer; neoadjuvant chemotherapy; Survivin; p53

新辅助化疗作为对可手术乳腺癌的早期治疗在临床上已广泛开展。新辅助化疗为争取保乳机会、筛选敏感的化疗药物等方面的价值得到公认[1]。为研究预测、评价肿瘤反应的分子标志物提供了宝贵的机会。肿瘤细胞动力学研究表明大多数化疗药物通过肿瘤细胞的凋亡发挥作用。Survivin、p53 在诱导肿瘤细胞凋亡有重要作用。本研究选用 Survivin 和 p53 在化疗前后进行免疫组化检测,动态观测其变化,了解部分细胞生物学变化,加深新辅助化疗对肿瘤细胞生物学影响的理解。

1 资料与方法

1.1 一般资料

我院 2005 年 8 月至 2006 年 8 月收治的 302 例乳腺癌患者,53 例入选,2 例术后病理完全缓解,术后标本未见肿瘤细胞,剔除。共 51 例入选。患者均为女性,年龄 29~71(48.57±9.4)岁。均在超声引导下行穿刺活检证实为浸润性乳腺癌,化疗后标本取材于手术切除后新鲜标本。其中浸润性导管癌 39 例,浸润性小叶癌 8 例,特殊类型癌 4 例。临床病理分期:Ⅱ期 14 例,Ⅲ期 37 例。

1.2 病例入选标准

①可手术乳腺癌,化疗前经超声、X 线、骨扫描等检查无远处转移。②有可测量或可评价的肿瘤病灶,钼靶或 B 超可测病变直径≥2 cm。③无化疗禁忌证。④行 TE 方案新辅助化疗 3 个周期。⑤入院前未接受任何相关治疗。

1.3 病例剔除标准

化疗后病理完全缓解,术后石蜡切片经 HE 染色未见肿瘤细胞。

1.4 化疗方案及疗效评估

化疗方案 TE:紫杉醇(TAX)175 mg/m^2,表阿霉素(EPI)60 mg/m^2,第 1 天,21 d/周期;化疗前、3 周期化疗后分别进行超声或乳腺 X 线检查。实体瘤近期疗效评价标准按(RECIST)分为:完全缓解(CR):可见肿瘤完全消失;部分缓解(PR):肿

作者简介:凡庆东(1976-),男,安徽省宿州市人,硕士研究生,医师,主要从事乳腺癌新辅助化疗方面的研究。电话:(023)68754160, E-mail:fqd_995@163.com

通讯作者:姜 军, E-mail:jcbd@medmail.com.cn

收稿日期:2007-03-13;修回日期:2007-03-30

瘤最长径缩小 30% 以上；疾病稳定(SD)：肿瘤最长径缩小 30% 以下或增长 20% 以下；疾病进展(PD)：肿瘤最长径增加 20% 以上。有效(RR) = CR + PR。

1.5　Survivin、p53 蛋白表达及结果判定

收集标本经 10% 甲醛固定，常规石蜡包埋，连续 4 μm 切片，HE 染色和 S-P 免疫组化染色，严格按说明书步骤操作。Survivin、p53 单克隆抗体及试剂盒均购自福州迈新公司。Survivin 阳性物质定位于细胞质和/或细胞核；p53 阳性物质定位于细胞核。400 倍光镜下随机观察 10 个视野，计算出每 1 000 个肿瘤细胞中阳性细胞所占百分比。p53 、Survivin 结果判定采用 4 级评分法。将染色阳性细胞比例 < 10% 、10% ~ 20% 、21% ~ 50% 、51% ~ 100% ；分别计为(-)、(+) 、(++) 、(+++)。

1.6　统计学处理

应用 SPSS 13.0 统计软件，化疗前后变化用 Wilcoxon 符号秩和检验；Survivin、p53 表达变化与疗效关系用 Fisher 精确概率法检验。

2　结果

2.1　肿瘤对 TE 方案化疗反应

大多数病例对化疗敏感，其中 cCR 占 13.7% (7/51)，cPR 占 60.8% (31/51)，SD 占 25.5% (13/51)，PD 占 0% (0/51)，化疗总有效率为 74.5% 。

2.2　化疗前后 Survivin、p53 表达变化

新辅助化疗前 Survivin 阳性表达率 76.5% ，p53 阳性表达率 47.1% ，化疗后 Survivin 阳性率为 54.9% ，p53 阳性率为 41.2% 。符号秩和检验 Survivin 化疗前后变化显著，表达显著降低($P = 0.046$)(图 1A、B)；p53 化疗前后总体趋势阳性表达率略降低，化疗后阴性病例增多 (图 1C、D) ，但无统计学差别($P = 0.599$)。见表 1。

表 1　化疗前后 Survivin、p53 表达变化

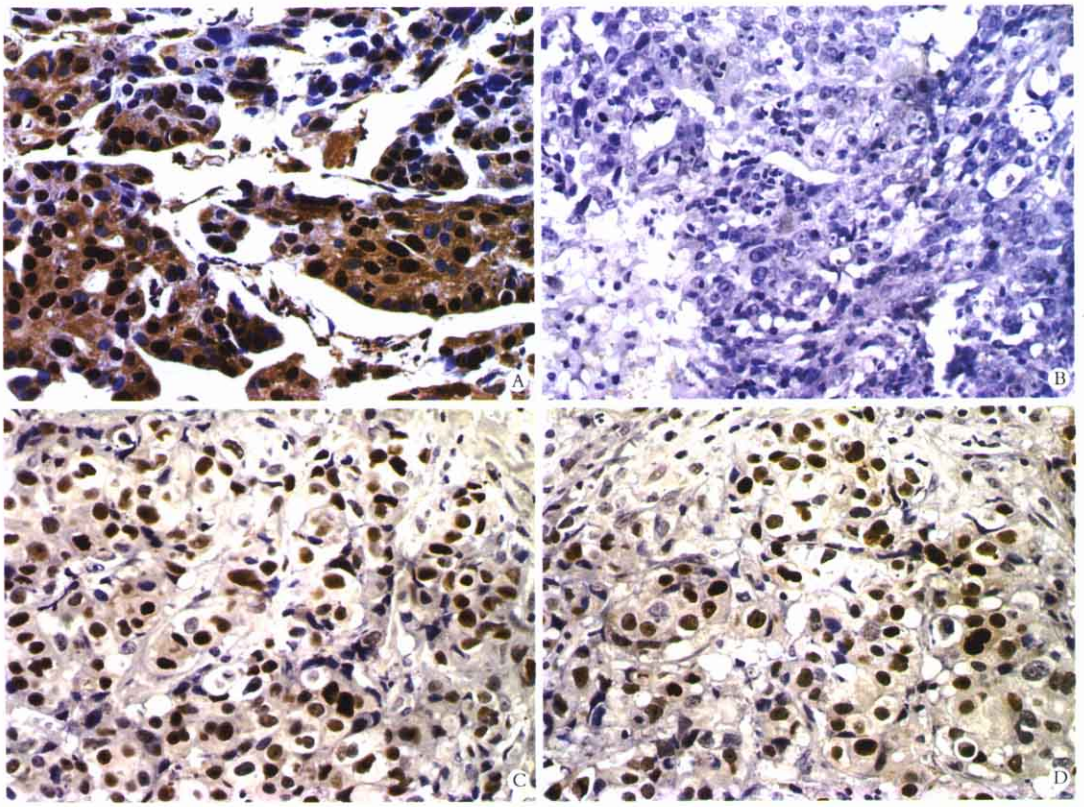
项目	Survivin 表达				p53 表达			
	-	+	++	+++	-	+	++	+++
化疗前	12	18	13	8	27	10	9	5
化疗后	23	10	12	6	30	6	11	4
z 值		-1.995				-0.525		
P 值		0.046				0.599		

2.3　化疗前后 Survivin、p53 表达变化与疗效关系

化疗后 Survivin 表达降低，化疗有效率高，Survivin 表达升高，化疗有效率低，两者之间有显著性差异($P = 0.038$)；p53 表达变化之间化疗有效率未见显著性差异($P = 0.342$)。见表 2。

表 2　Survivin、p53 表达变化与化疗效果的关系

疗效	Survivin		p53	
	降低($n = 18$)	升高($n = 6$)	降低($n = 10$)	升高($n = 8$)
有效(例)	15	2	7	3
无效(例)	3	4	3	5
P 值	0.038		0.342	



A：化疗前 Survivin 表达强阳性；B：化疗后 Survivin 表达阴性；C：化疗前 p53 表达强阳性；D：化疗后 p53 表达强阳性

图 1　新辅助化疗前后 Survivin、p53 表达的变化　(S-P × 400)

3 讨论

新辅助化疗在乳腺癌的综合治疗中占有重要地位。紫杉类和蒽环类药物联合化疗是乳腺癌术前化疗常用方案,患者耐受性好,有较好的临床反应。但临床观察发现,不同患者对相同化疗方案的治疗效果和反应有差异。化疗过程中由于化疗药物作用的不同机制,必然对肿瘤分子生物学指标有不同程度的影响,有必要在分子水平变化探索对肿瘤化疗敏感的原因。研究显示大多数化疗药物都是通过诱导肿瘤细胞凋亡发挥抗肿瘤作用。因此,调控肿瘤细胞凋亡基因的变化必然对化疗的效果产生影响。

在评价化疗效果方面,分子生物学指标研究集中在凋亡相关因子(IAP、BCL-2)癌基因(p53、HER-2)激素受体(ER/PR)耐药相关因子(MDR、GST)等。虽然研究颇多,但是还没有特异的标志物来说明问题。Survivin 是 1997 年发现的一种凋亡抑制蛋白,被认为是迄今发现的最强的凋亡抑制因子。在人类大多数肿瘤都有表达,据文献报道乳腺癌 Survivin 阳性表达率为 60% ~90%,在本研究中 Survivin 表达率为 76.5%。类似于其他 IAP,Survivin 通过抑制 caspase-3,7,9 阻滞凋亡,抑制 Survivin 表达则凋亡明显增加[2]。p53 基因是介导凋亡的重要因子,由于突变型 p53 丧失诱导肿瘤细胞凋亡功能,诱导其突变则凋亡显著减少。文献[3]显示 20% ~35% 乳腺癌组织表达突变型 p53,本研究 p53 阳性表达率为 47.1%,略高于文献报道,可能与不同的实验试剂和样本量太小有关。

Vegran 等[4]报道在蒽环类药物为基础的化疗后,Survivin mRNA 表达显著降低。Dutta 等[5]报道在卵巢癌紫杉类药物为基础新辅助化疗后 Survivin 表达显著降低。本研究表明在乳腺癌 TE 方案新辅助化疗后 Survivin 蛋白表达显著降低($P<0.05$),可能原因为 TE 方案化疗有效率高,清除部分 Survivin 表达阳性肿瘤细胞;紫杉类和蒽环类药物可能通过下调凋亡抑制蛋白 Survivin 发挥抗肿瘤作用。体外研究显示在乳腺癌 MCF-7 细胞株蒽环类药物可以明显上调野生型 p53 表达,下调 Survivin 表达。野生型 p53 可结合 Survivin 的启动子,抑制其与 E2F 转录因子结合,发挥负性调控作用,使细胞在 G_2/M 期凋亡[6]。有趣的是在乳腺癌 MCF-7 细胞株紫杉类药物作用后 2 h Survivin 呈一过性表达升高,继之表达下降[7]。在本研究中 Survivin 表达降低 18 例,其中 16 例临床有效,2 例无效。理论上 Survivin 表达降低,肿瘤细胞凋亡增多,肿瘤应有较好临床反应。这有待于我们进一步研究。Survivin 化疗后表达显著降低,且 Survivin 降低伴有较好疗效,这可能提示 Survivin 是 TE 方案新辅助化疗的一个靶点。

一般来讲,化疗药物的作用有利于 p53 突变,但在本研究中 p53 化疗后无明显改变($P=0.599$),相反,总体趋势阳性表达率略有降低。虽有 8 例化疗后表达升高,仅有 4 例从化疗前阴性变为化疗后阳性。说明 p53 突变常发生在肿瘤进展过程中,且突变型 p53 表型稳定,TE 方案 3 周期化疗并不能诱导 p53 基因的突变。文献[8]报道 p53 化疗后表达升高,或降低[9],在食管癌 p53 表达降低有较好疗效和无病生存率[10],在本研究中 p53 变化与疗效不相关($P=0.342$),可能提示 p53 表达变化不宜作为反应疗效的指标。

总之,本研究结果显示:TE 方案新辅助化疗可明显降低 Survivin 表达,其表达降低伴有较好的近期疗效。这可能进一步提示,通过降低 Survivin 表达是抗癌药物诱导肿瘤细胞凋亡的机制之一,Survivin 表达降低能否预后较好,需要我们进一步长期随访。针对 Survivin 的肿瘤靶向治疗已开始进行临床试验,必将有广阔前景。

参考文献:

[1] Buchholz T A, Hunt K K, Whitman G J, *et al*. Neoadjuvant chemotherapy for breast carcinoma: multidisciplinary considerations of benefits and risks[J]. Cancer, 2003, 98(6): 1150 - 1160.

[2] Pennati M, Binda M, Colella G, *et al*. Ribozyme-mediated inhibition of Survivin expression increases spontaneous and drug-induced apoptosis and decreases the tumorigenic potential of human prostate cancer cells[J]. Oncogene, 2004, 23(2): 386 - 394.

[3] Lacroix M, Toillon R A, Leclercq G, *et al*. p53 and breast cancer, an update[J]. Endocr Relat Cancer, 2006 13(2): 293 - 325.

[4] Vegran F, Boidot R, Oudin C, *et al*. Distinct expression of Survivin splice variants in breast carcinomas[J]. Int J Oncol, 2005, 27(4): 1151 - 1157.

[5] Dutta T, Sharma H, Kumar L, *et al*. Neoadjuvant chemotherapy for epithelial ovarian cancer--role of apoptosis [J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2005, 56(4): 427 - 435.

[6] Hoffman W H, Biade S, Zilfou J T, *et al*. Transcriptional repression of the anti-apoptotic Survivin gene by wild type p53[J]. J Biol Chem, 2002, 277(5): 3247 - 3257.

[7] Ling X, Bernacki R J, Brattain M G, *et al*. Induction of Survivin expression by taxol (paclitaxel) is an early event, which is independent of taxol-mediated G2/M arrest[J]. J Biol Chem, 2004, 279(15): 15196 - 15203.

[8] Pohl G, Rudas M, Taucher S, *et al*. Expression of cell cycle regulatory proteins in breast carcinomas before and after preoperative chemotherapy[J]. Breast Cancer Res Treat, 2003, 78(1): 97 - 103.

[9] Anelli A, Brentani R R, Gadelha A P, *et al*. Correlation of p53 status with outcome of neoadjuvant chemotherapy using paclitaxel and doxorubicin in stage ⅢB breast cancer[J]. Ann Oncol, 2003, 14(3): 428 - 432.

[10] Heeren P A, Kloppenberg F W, Hollema H, *et al*. Predictive effect of p53 and p21 alteration on chemotherapy response and survival in locally advanced adenocarcinoma of the esophagus[J]. Anticancer Res, 2004, 24(4): 2579 - 2583.

(编辑 陈聪连)