论著

文章编号:1000-5404(2011)19-2074-03

大肠癌中 Survivin 和 nm23-H1 的表达及其联合检测的临床意义

刘 伟[1],黄 超[2],邢 伟[3] (541004 桂林,桂林医学院附属医院:普外科[1],消化内科[3];543002 广西壮族自治区 梧州,梧州市红十字会医院普外科[2])

[摘要] **目的** 观察 Survivin 与 nm23-H1 蛋白在大肠癌及其癌旁组织中的表达情况,探讨其联合检测与淋巴结转移的关系。**方法** 采用免疫组化 S-P 法研究 66 例大肠癌和 15 例癌旁组织的 Survivin 和 nm23-H1 的表达情况,分析其与临床病理特征的关系。**结果** 在大肠癌及其癌旁组织中,Survivin 阳性率分别为 75.7%、62.1%,有显著性差异(χ^2 = 13.254,P = 0.000);nm23-H1 的阳性率分别为 26.7%、93.3%,差异有统计学意义(χ^2 = 4.125,P = 0.042)。Survivin 的表达与肿瘤分化程度、淋巴结转移、肝转移、Dukes 分期有关(P < 0.05)。nm23-H1 的表达与淋巴结转移、肝转移、Dukes 分期有关(P < 0.01)。Survivin 阳性率与淋巴结转移呈正相关(r = 0.247,P = 0.046),nm23-H1 阳性率与淋巴结转移呈负相关(r = −0.359,P = 0.003)。Survivin 与 nm23-H1 蛋白表达呈负相关(r = −0.296,P = 0.016)。**结论** Survivin 蛋白的抑制凋亡作用和 nm23-H1 蛋白的抑制转移作用可能在大肠癌的发生、发展过程中起重要作用,联合检测是判断大肠癌患者淋巴结转移倾向及预后的重要指标。

[关键词] Survivin;NM23 核苷二磷酸激酶类;结直肠肿瘤;淋巴转移

[中图法分类号] R730.23; R730.43; R735.34 [文献标志码] A

Expressions of Survivin and nm23-H1 in human colorectal carcinoma and clinical significance of combined detection

Liu Wei[1], Huang Chao[2], Xing Wei[3] ([1]Department of General Surgery, [3]Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Guilin Medical College, Guilin, Guangxi Zhuang Autonomous Region, 541004; [2]Department of General Surgery, Wuzhou Red Cross Hospital, Wuzhou, Guangxi Zhuang Autonomous Region, 543002, China)

[**Abstract**] **Objective** To determine the relationship of the expression of Survivin and nm23-H1 protein with lymph node metastasis (LNM) in human colorectal carcinoma and cancer adjacent tissues. **Methods** The expression of Survivin and nm23-H1 protein was examined in 66 tissue samples of colorectal cancer and 15 cases of adjacent tissues using immunohistochemical S-P method, and the results were analyzed for its relationship with clinicopathological features. **Results** In colorectal carcinoma and adjacent tissues, Survivin positive rates were 75.7% and 62.1%, respectively, with significant difference (Chi sqaure = 13.255, P = 0.000); while those of nm23-H1 were 26.7% and 93.3% respectively, with statistically significance (Chi sqaure = 4.125, P = 0.042). Survivin protein expression was related with tumor differentiation, LNM, liver metastasis, Dukes stage (P < 0.05). The expression of nm23-H1 protein was related with LNM, liver metastasis, Dukes stage (P < 0.01). Positiveness to Survivin protein had positive correlation with the LNM (r = 0.247, P = 0.046), while that to nm23-H1 protein had negative correlation with the LNM (r = −0.359, P = 0.003). Negative correlation was found between Survivin and nm23-H1 expression (r = −0.296, P = 0.016). **Conclusion** The anti-apoptotic effect of Survivin protein and the anti-metastastic effect of nm23-H1 protein may play important role in the occurrence and development of colorectal carcinoma. It may be an important prognostic indicator to determine lymph node metastatic potential and prognosis in human colorectal carcinoma using joint detection of them.

[**Key words**] Survivin; NM23 nucleoside diphosphate kinases; colorectal neoplasms; lymphatic metastasis

Corresponding author: Huang Chao, E-mail: xingwei131@163.com

[通信作者] 黄 超,E-mail:xingwei131@163.com

大肠癌的发生、发展是多基因蛋白参与的结果。Survivin、Nm23-H1 的表达异常或缺失与肿瘤的侵袭、转移相关[1-2]，在食管癌中 Survivin 与 nm23-h1 蛋白呈低度负相关[3]，在大肠癌中联合检测分析两种蛋白及其与淋巴结转移的相关性鲜见研究报道。本研究应用免疫组织化学技术检测 Survivin 与 nm23-h1 蛋白在大肠癌及其癌旁组织中的表达，分析其与临床病理的关系以及与淋巴结转移的相关性，旨在为评估大肠癌淋巴结转移的预测及预后提供新靶点。

1 材料与方法

1.1 材料

选取桂林医学院附属医院病理科 2005 年 2 月至 2008 年 12 月的 66 例大肠癌及其 15 例癌旁组织的石蜡标本(大肠癌的组织学类型均为腺癌，癌旁组织是取距病灶 5 cm 的组织)，患者均未行放、化疗以及其他针对肿瘤的特殊治疗。其中男性 41 例，女性 25 例；平均年龄 53.5(32～75)岁，≤40 岁 19 例，>40 岁 47 例；直肠癌 39 例，结肠癌 27 例；肿瘤直径≤5 cm 21 例，>5 cm 45 例；肿瘤分化程度：高分化 20 例，中分化 25 例，低分化 21 例；有淋巴结转移 35 例，无淋巴结转移的 31 例；出现远处转移 23 例，无远处转移 43 例；按 Dukes 分期：A-B 期 25 例，C-D 期 41 例。

1.2 免疫组化检测

采用免疫组化 S-P 法。鼠抗人 Survivin 单克隆抗体、鼠抗人 nm23-H1 单克隆抗体、免疫组化 S-P 试剂盒均购自福州迈新生物技术公司(均为即用型)。操作按说明书进行，以试剂盒中所附已知阳性切片为阳性对照，以 PBS 代替一抗为阴性对照。石蜡 4 μm 切片后常规脱蜡至水化，然后 3% 过氧化氢室温孵育 10 min，消除内源性过氧化物酶活性，微波修复抗原 3 min 后自然冷却，用正常羊血清工作液封闭 10 min，加入一抗稀释液 37 ℃孵育 3 h 后 PBS 冲洗 3 min 3 次，添加用生物素标记的二抗 37 ℃孵育 15 min 后 PBS 冲洗 3 min 3 次，添加辣根酶标记链霉卵白素工作液 37 ℃孵育 15 min 后 PBS 冲洗 3 min 3 次，DAB 显色用自来水充分冲洗后，苏木精复染，常规脱水，透明，干燥，封片。光学显微镜下观察肿瘤细胞染色情况。Survivin 和 nm23-H1 以细胞质和(或)细胞核内出现棕黄色颗粒为阳性(+)，没有观察到棕色的阳性细胞为阴性(-)。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 17.0 统计软件，Survivin 和 nm23-H1 蛋白在大肠癌和癌旁组织中的表达及其与临床病理参数的显著性检验应用 χ^2 检验。Survivin 和 nm23-H1 蛋白表达的相关性及其与淋巴结的相关性采用 Pearson 相关分析。

2 结果

2.1 Survivin 和 nm23-H1 蛋白在大肠癌和癌旁组织的表达

Survivin 和 nm23-H1 蛋白均主要表达于癌细胞的细胞质中，在不同区域或者不同腺体中表现为显色的有无和强弱的差异(图 1)。Survivin 在大肠癌及其癌旁组织的阳性表达有显著性差异($\chi^2=13.254$，$P=0.000$)。Nm23-H1 在大肠癌及其癌旁组织的阳性表达有统计学差异($\chi^2=4.125$，$P=0.042$)。见表 1。

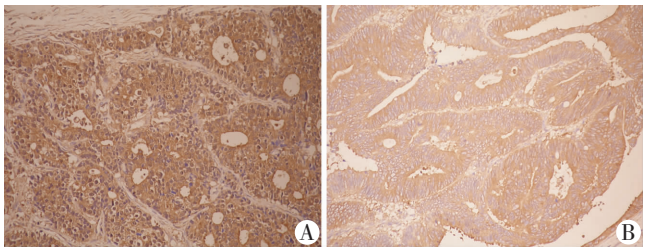


图 1 Survivin(A)与 nm23-H1 蛋白(B)细胞质的阳性表达 (S-P ×100)

表 1 Survivin 和 nm23-H1 蛋白在大肠癌和癌旁组织的表达

组别	n	Survivin +	Survivin −	阳性率(%)	χ^2	P	nm23-H1 +	nm23-H1 −	阳性率(%)	χ^2	P
大肠癌	66	50	16	75.7	13.254	0.000	41	25	26.7	4.125	0.042
癌旁组织	15	4	11	62.1			14	1	93.3		

2.2 Survivin 和 nm23-H1 蛋白在大肠癌中的表达与临床病理特征的关系

Survivin 和 nm23-H1 蛋白的表达与患者的性别、年龄、部位、肿瘤大小均无统计学意义($P>0.05$)。nm23-H1 的表达与肿瘤的分化程度无关($P>0.05$)，与患者的淋巴结转移、肝转移、Dukes 分期有关($P<0.01$)。Survivin 的表达与肿瘤分化程度、肝转移、Dukes 分期、淋巴结转移有关($P<0.05$，$P<0.01$)。见表 2。

表 2 Survivin 和 nm23-H1 蛋白的表达与临床病理特征的关系

临床病理指标	n	Survivin +	Survivin −	χ^2	P	nm23-H1 +	nm23-H1 −	χ^2	P
性别				0.394	0.530			1.752	0.186
男	25	20	5			13	12		
女	41	30	11			28	13		
年龄(岁)				2.306	0.129			1.516	0.218
≤40	19	12	7			14	5		
>40	47	38	9			27	20		
部位				0.815	0.367			0.159	0.690
直肠	39	28	11			25	14		
结肠	27	22	5			16	11		
肿瘤直径(cm)				1.386	0.236			1.134	0.287
≤5	21	14	7			15	6		
>5	45	36	9			26	19		
分化程度				7.236	0.027			3.324	0.190
高分化	20	12	8			15	5		
中分化	25	18	7			16	9		
低分化	21	20	1			10	11		
淋巴结转移				4.022	0.004			8.525	0.004
有	35	30	5			16	19		
无	31	20	11			25	6		
肝转移				4.646	0.031			7.93	0.005
有	23	21	2			9	14		
无	43	29	14			32	11		
Dukes 分期				5.441	0.020			8.187	0.004
A-B	25	15	10			21	4		
C-D	41	35	6			20	21		

2.3 Survivin 和 nm23-H1 蛋白表达与淋巴结转移的关系

Survivin 阳性率与淋巴结转移呈正相关($r=0.247$，$P=0.046$)，nm23-H1 阳性率与淋巴结转移呈负相关($r=-0.359$，

$P=0.003$，表3）。提示淋巴结转移与Survivin的阳性表达和nm23-H1的阴性表达有关。

表3 Survivin和nm23-H1蛋白表达与淋巴结转移的关系

淋巴结	n	Survivin		r	P	nm23-H1		r	P
		+	−			+	−		
有转移	35	30	5	0.247	0.046	16	19	−0.359	0.003
无转移	31	20	11			25	6		

2.4 Survivin和nm23-H1蛋白表达之间的关系

Survivin在nm23-H1阳性组中的表达率为65.9%（27/41），在nm23-H1阴性组中的表达率为92.0%（23/25），差异有统计学意义（$\chi^2=5.781$，$P=0.016$；$r=-0.296$，$P=0.016$），两者间呈负相关（表4）。

表4 Survivin、nm23-H1蛋白表达之间的关系

Survivin	nm23-H1		P
	+	−	
+	27	23	0.016
−	14	2	

3 讨论

Survivin具有抗凋亡作用，是迄今发现最强的凋亡抑制因子，几乎在大多数恶性实体肿瘤中呈高度选择性表达[1]，而在成人正常的末端分化组织中未见表达。在许多恶性肿瘤包括食管癌、胃癌、肝癌、软组织肉瘤中Survivin呈高表达，且与预后呈负相关。Lin等[4]认为在大肠癌中Survivin的表达与组织学类型和淋巴结转移密切相关，Tan等[5]认为与病理分级、是否有淋巴结转移及Dukes分期有关。本研究中Survivin蛋白的表达与患者的性别、年龄、部位、肿瘤大小均无关，而与肿瘤分化程度、肝转移、Dukes分期、淋巴结转移相关。Lin等[4]提示Survivin在肿瘤组织中的表达是一个渐进过程，大肠癌变过程的早期就有Survivin表达。近年来，应用靶向Survivin的抗大肠癌治疗成为研究的热点。研究发现在原发肿瘤中Survivin的高表达可能作为Ⅱ期和Ⅲ期接受新辅助化疗的乳腺癌患者的一个潜在的生物标志物[6]。从而在大肠癌中Survivin可能将成为一个重要的癌分子标志和治疗靶点。

nm23基因表达情况的变化与多种肿瘤的转移及预后相关。研究表明，起主要调控作用的nm23-H1其表达水平与黑色素瘤、乳腺癌、卵巢癌、结肠癌[2]等多种癌症的转移潜能呈负相关。nm23-H1蛋白在细胞质中的高表达与前列腺癌的进展相关，nm23-H1可作为前列腺癌的一种新的负基因标记物[7]。研究发现nm23-H1在T细胞淋巴瘤的高表达与短的总生存率密切相关，是个独立的预后因素[8]。上皮癌中nm23-H1的表达在早期侵袭过程对调控细胞黏附和迁移起着重要的作用，nm23-H1编码一个屏障抑制肿瘤从原位癌向恶性肿瘤的转化[9]。本研究中nm23-H1的表达与患者的淋巴结转移、肝转移、Dukes分期、淋巴结转移呈负相关。因此nm23-H1的表达缺失与大肠癌的转移密切相关，可能作为大肠癌的一个负基因生物标志物。

本研究表明，Survivin在nm23-H1阳性组中的表达率为65.9%（27/41），在nm23-H1阴性组中的表达率为92.0%（23/25），呈负相关。与任宏等[3]证明食管癌中Survivin与nm23-H1蛋白呈低度负相关一致。nm23-H1基因对大肠癌的生长及转移有抑制作用，在分化差及分期晚的大肠癌中缺失严重，与Survivin的表达呈负相关。联合检测可弥补单纯检查Survivin判断肿瘤恶性程度及指导治疗在现在学术界的不确定结论。

综上所述，在大肠癌早期就有Survivin的表达，而nm23-H1的表达缺失与大肠癌的转移密切相关，可作为大肠癌的一个负基因生物标志物。因此联合检测大肠癌组织中Survivin和nm23-H1的表达将成为一个重要的癌分子组合和为综合治疗提供新的治疗靶点。

参考文献：

[1] 李瑞，黄宗海，姚航，等. Survivin基因反义寡核苷酸与大肠癌血管形成的实验研究[J]. 第三军医大学学报，2009，31(13)：1272－1274.

[2] Horak CE, Lee JH, Elkahloun AG, *et al*. Nm23-H1 suppresses tumor cell motility by down-regulating the lysophosphatidic acid receptor EDG2[J]. Cancer Res, 2007, 67(15): 7238－7246.

[3] 任宏，姚佳，杜宁，等. 食管鳞癌中Survivin和Nm23－h1表达及其联合检测的临床意义[J]. 现代肿瘤医学，2009，17(7)：1255－1258.

[4] Lin LJ, Zheng CQ, Jin Y, *et al*. Expression of survivin protein in human colorectal carcinogenesis[J]. World J Gastroenterol, 2003, 9(5): 974－977.

[5] Tan HY, Liu J, Wu SM, *et al*. Expression of a novel apoptosis inhibitor-survivin in colorectal carcinoma[J]. World J Gastroenterol, 2005, 11(30): 4689－4692.

[6] Petrarca CR, Brunetto AT, Duval V, *et al*. Survivin As a Predictive Biomarker of Complete Pathologic Response to Neoadjuvant Chemotherapy in Patients With Stage II and Stage III Breast Cancer[J]. Clin Breast Cancer, 2011, 11(2): 129－134. Epub 2011 Apr 11.

[7] Andolfo I, De Martino D, Liguori L, *et al*. Correlation of NM23-H1 cytoplasmic expression with metastatic stage in human prostate cancer tissue[J]. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 2011, May 7 [Epub ahead of print].

[8] Niitsu N, Nakamine H, Okamoto M, *et al*. Expression of nm23-H1 Is Associated with Poor Prognosis in Peripheral T-Cell Lymphoma, Not Otherwise Specified[J]. Clin Cancer Res, 2011, 17(9): 2893－2899. Epub 2011 Apr 8.

[9] Boissan M, De Wever O, Lizarraga F *et al*. Implication of metastasis suppressor NM23-H1 in maintaining adherens junctions and limiting the invasive potential of human cancer cells[J]. Cancer Res, 2010, 70(19): 7710－7722. Epub 2010 Sep 14.

（收稿：2011-05-26；修回：2011-06-22）

（编辑 龙 亮）