论著

文章编号:1000-5404(2012)23-2408-03

XIAP、c-jun在肺癌组织中的表达及其意义

刘晓丽[1],马礼鸿[2],王全义[3],王 凯[1] (563003 贵州 遵义,遵义医学院附属医院病理科[1];563003 贵州 遵义,遵义市第一人民医院外科[2];272029 山东 济宁,济宁医学院附属医院病理科[3])

[摘要] **目的** 探讨XIAP及c-jun在原发性肺癌组织中的表达水平及其临床意义。**方法** 选用组织芯片应用免疫组化S-P法检测XIAP、c-jun蛋白在正常肺组织、肺良性病变、肺癌旁组织和原发性肺癌组织中的表达。**结果** XIAP、c-jun在肺癌组织中的阳性表达率均明显升高,恶性组显著高于正常组、良性组和癌旁组($P<0.05$),XIAP、c-jun在肺癌临床晚期(Ⅲ期和Ⅳ期)组的阳性表达水平(MOD值)均明显高于临床早期(Ⅰ期和Ⅱ期)组($P<0.05$),XIAP、c-jun的阳性表达水平在有淋巴结转移组均高于无淋巴结转移组($P<0.05$),XIAP与c-jun在肺癌组织中阳性表达呈正相关($r=0.232$, $P<0.05$),术后生存期小于1年患者的XIAP、c-jun阳性表达率均明显高于生存期超过1年患者($P<0.05$)。XIAP、c-jun的MOD值与患者性别、年龄、肿块直径和组织学类型均无关($P>0.05$)。**结论** XIAP、c-jun蛋白阳性水平的高表达提示患者预后较差,联合检测XIAP、c-jun蛋白阳性表达水平可作为临床诊断及患者预后预测的参考指标。

[关键词] XIAP;c-jun;肺癌;组织芯片;预后

[中图法分类号] R730.23; R734.2 [文献标志码] A

Expression and clinical significance of XIAP and c-jun in human lung cancer tissues

Liu Xiaoli[1], Ma Lihong[2], Wang Quanyi[3], Wang Kai[1] ([1]Department of Pathology, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi, Guizhou Province, 563003; [2]Department of Surgery, First People's Hospital of Zunyi City, Zunyi, Guizhou Province, 563003; [3]Department of Pathology, Affiliated Hospital of Jining Medical College, Jining, Shandong Province, 272029, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the expression levels and clinical significance of X-linked inhibitor of apoptosis protein (XIAP) and c-jun in primary lung cancer tissues. **Methods** Immunohistochemical SP method was used to detect the expression levels of XIAP and c-jun in normal lung tissues, lung benign lesions, adjacent tissues of lung cancer and primary lung cancer tissues. **Results** The positive expression rates of XIAP and c-jun in the primary lung cancer tissues were significantly higher than those in the normal lung tissues, lung benign lesions and adjacent tissues of lung cancer ($P<0.05$). The positive expression levels (MOD value) of XIAP and c-jun in advanced lung cancer tissues (Stage Ⅲ and Ⅳ) were significantly higher than those in the early-stage lung cancer tissues (Stage Ⅰ and Ⅱ) ($P<0.05$). The positive expression levels of XIAP and c-jun in the lung cancer tissues with lymph node metastasis were significantly higher than those in the lung cancer tissues without lymph node metastasis ($P<0.05$). The positive expression levels (MOD value) of XIAP and c-jun were positively correlated in the lung cancer tissues ($r=0.232$, $P<0.05$). The positive expression levels of XIAP and c-jun in the patients with postoperative survival time less than 1 year were significantly higher than those in the patients with postoperative survival time more than 1 year ($P<0.05$). The positive expression levels (MOD value) of XIAP and c-jun were not correlated with patients' age, sex, tumor diameter or histopathological type ($P<0.05$). **Conclusion** High expression of XIAP and c-jun indicates poor prognosis of patients with lung cancer. XIAP and c-jun expression levels can be used as reference indices for clinical diagnosis and prognosis prediction in patients with lung cancer.

[**Key words**] XIAP; c-jun; lung cancer; tissue microarray; prognosis

Supported by the Project of Science and Technology of Guizhou Province [J(2007)2128]. Corresponding author: Liu Xiaoli, E-mail: liuxiaolimary@126.com

肺癌是人类病死率最高的恶性肿瘤,严重威胁人类的生命和健康。肺癌组织学表现复杂多样,2004年及2011年WHO分类统计结果表明,鳞癌和腺癌占80%以上,且腺癌的发病率近年来有明显上升趋势[1]。由于早期缺乏特征性症状,多数患者就诊时已是肿瘤中晚期。肿瘤的发生、发展与细胞凋亡程序的异常密切相关。凋亡抑制蛋白(inhibitor of apoptosis proteins,IAPs)是一类高度保守的结构上具有同源性的细胞凋亡抑制蛋白,其重要成员XIAP与细胞凋亡及信号转导关系密切[2]。丝裂原激活蛋白激酶(mito-

[基金项目] 贵州省科学技术基金资助项目[黔科合J字(2007)2128]

[通信作者] 刘晓丽,E-mail: liuxiaolimary@126.com

gen activated protein kinase,MAPK)是细胞外信号从细胞表面传导到细胞核内的重要因子,其 c-jun 氨基末端激酶(c-jun N-terminal kinase,JNK)途径 JNK 信号通路位于细胞质,参与多种细胞的增殖、分化与凋亡调节相关环节[3]。本研究选用组织芯片,应用免疫组化 S-P 法检测 XIAP 及 c-jun 蛋白在肺癌组织中的表达情况,探讨其在肺癌发生、发展中的作用,以期对肺癌诊断及预后预测提供相关的理论依据。

1 资料与方法

1.1 材料

标本选用广西桂林泛谱生物技术有限公司生产的 LUC2281 组织芯片及实验芯片各 2 份,标本均分为 4 组:①正常组:正常肺组织 15 例,其中男性 10 例,女性 5 例,年龄 20 ~ 45 岁,平均 30.5 岁;②良性组:良性病变 15 例,其中男性 9 例,女性 6 例,均为炎性假瘤,年龄 25 ~ 65 岁,平均 35.5 岁;③癌旁组:15 例,其中男性 10 例,女性 5 例;④恶性组:肺恶性肿瘤 176 例,其中男性 115 例,女性 61 例,年龄 11 ~ 73 岁,平均 55.4 岁;其中鳞癌组织 105 例,腺癌 71 例;有淋巴结转移 69 例,无淋巴结转移 107 例;临床分期早期(Ⅰ期和Ⅱ期)111 例,临床分期晚期(Ⅲ期和Ⅳ期)65 例。所有病例临床、病理资料完整,按 WHO 标准进行临床 TNM 分期,患者术前未进行过放疗、化疗及其他抗肿瘤治疗。

1.2 免疫组化染色

采用 S-P 法依照说明书进行染色。XIAP、c-jun 抗体购自美国 Santa Cruz 生物技术公司,用 PBS 代替一抗作为阴性对照,已知阳性切片作阳性对照,所用试剂盒、DAB 酶显色试剂盒均购自北京中杉生物制剂有限公司。

1.3 染色结果判断

细胞核/细胞质出现棕色颗粒为阳性信号,按照表达强度分为 4 级:阴性(-),细胞核/细胞质无染色;弱阳性(+),细胞核/细胞质浅黄色;中等强度阳性(++),细胞核/细胞质棕黄色;强阳性(+++),细胞核/细胞质深褐色[4]。

1.4 光学图像分析

用光学显微镜观察实验组织芯片中两种抗体的表达,每张切片随机选择 2 个阳性表达区域,在 400 倍视野下,用 Motic 相机在同一光源、光圈、亮度、色彩饱和度、对比度及关闭白平衡条件下采图,所得图片用美国 MediaCybemetics company Image-ProPlus 图像分析软件 IPP 6.0 进行分析,计算平均光密度值(mean optical density,MOD)。

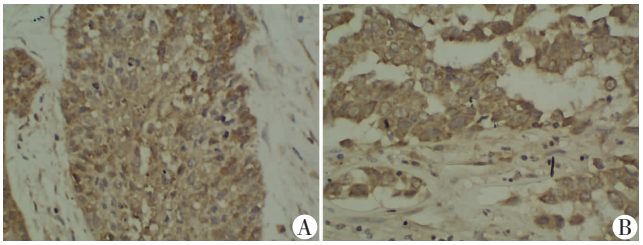
1.5 统计学分析

采用 SPSS 13.0 统计软件,阳性表达率比较采用 χ^2 检验,图像分析结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验和 Spearman 相关性分析。

2 结果

2.1 XIAP 的表达

XIAP 阳性信号定位于细胞质,呈棕黄色(图 1)。XIAP 在正常、良性、癌旁组、恶性组中的阳性表达率分别为 0%(0/15)、13.3%(2/15)、20.0%(3/15)、85.2%(150/176)。XIAP 在恶性组的表达显著高于正常组、良性组、癌旁组($P<0.05$),而在癌旁组、良性组、正常组 3 组间的表达差异均无统计学意义($P>0.05$)。

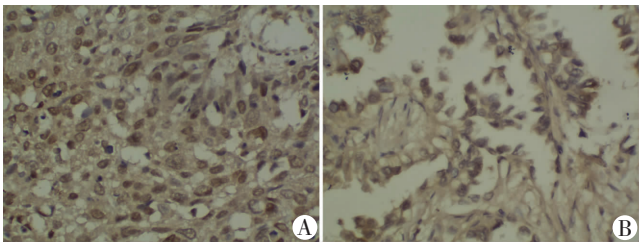


A:肺鳞癌;B 肺腺癌

图 1 XIAP 蛋白在肺癌组织中的表达 (S-P ×400)

2.2 c-jun 的表达

c-jun 蛋白阳性信号定位于细胞核,呈棕黄色(图 2),部分在细胞质。c-jun 在正常、良性、癌旁组、恶性组中的阳性表达率分别为 0%(0/15)、20.0%(3/15)、40.0%(6/15)、74.5%(132/176)。c-jun 在恶性组的表达显著高于正常组、良性组、癌旁组($P<0.05$),而在癌旁组、良性组、正常组 3 组间的表达差异均无统计学意义($P>0.05$)。



A:肺鳞癌;B 肺腺癌

图 2 c-jun 蛋白在肺癌组织中的表达 (S-P ×400)

2.3 肺癌组织 XIAP 的表达与临床病理特征的关系

XIAP 蛋白在肺癌临床分期晚期(Ⅲ期和Ⅳ期)组的阳性表达水平(MOD 值)明显高于临床分期早期(Ⅰ期和Ⅱ期)组($P<0.05$),与患者性别、年龄、肿块直径和病理分型无关($P>0.05$);XIAP 蛋白在有淋巴结转移组的阳性表达水平高于无淋巴结转移组($P<0.05$)。见表 1。

表 1 肺癌组织中 XIAP、c-jun 表达与临床病理特征的关系

临床病理特征	例数	XIAP			c-jun		
		阳性数	MOD	P	阳性数	MOD	P
年龄(岁)							
≤55	95	71	0.224 3 ±0.013 7	0.967	56	0.227 9 ±0.011 3	0.778
>55	81	79	0.224 2 ±0.017 0		76	0.228 5 ±0.013 0	
性别							
男	115	95	0.223 3 ±0.015 0	0.308	82	0.227 3 ±0.013 0	0.607
女	61	55	0.225 9 ±0.016 3		50	0.228 5 ±0.011 7	
肿块直径(cm)							
≤2	103	82	0.224 2 ±0.014 4	0.944	62	0.226 8 ±0.011 3	0.398
>2	73	68	0.224 0 ±0.016 8		70	0.228 6 ±0.013 0	
临床分期							
Ⅰ、Ⅱ期	111	89	0.220 8 ±0.014 0	0.002	81	0.223 9 ±0.008 9	0.001
Ⅲ、Ⅳ期	65	61	0.229 0 ±0.017 2		51	0.230 8 ±0.013 0	
病理分型							
鳞癌	105	94	0.223 5 ±0.015 0	0.422	83	0.227 3 ±0.013 0	0.532
腺癌	71	56	0.225 6 ±0.016 3		49	0.228 6 ±0.011 8	
淋巴结转移							
有	69	52	0.228 4 ±0.016 0	0.002	52	0.230 4 ±0.013 7	0.005
无	107	36	0.220 7 ±0.014 1		36	0.224 5 ±0.009 5	

2.4 肺癌组织 c-jun 的表达与临床病理特征的关系

c-jun 蛋白在肺癌临床分期晚期(Ⅲ期和Ⅳ期)组的阳性表达水平明显高于临床分期早期(Ⅰ期和Ⅱ期)组($P<0.05$);c-jun 蛋白在有淋巴结转移组的阳性表达水平高于无淋巴结转移组($P<0.05$);c-jun 蛋白的阳性表达水平与患者年龄、性别、肿块直径和病理分型无关($P>0.05$)。见表1。

2.5 XIAP、c-jun 在肺癌组织阳性表达的相关性分析

在176例肺癌组织中 XIAP 蛋白的阳性表达水平(MOD值)与 c-jun 蛋白的阳性表达水平(MOD 值)呈正相关($r=0.232$,$P=0.007<0.05$)。

2.6 XIAP、c-jun 的表达与预后的关系

本组肺癌患者有术后完整随访资料的70例,术后生存期小于1年者 XIAP 蛋白的阳性表达率87.5%(35/40),高于生存期超过1年者[66.7%(20/30),$\chi^2=4.42$,$P<0.05$]。术后生存期小于1年者 c-jun 蛋白的阳性表达率80.0%(32/40),明显高于术后生存期超过1年者[53.3%(16/30),$\chi^2=5.66$,$P<0.05$]。

3 讨论

肿瘤发生是一个多步骤的过程,存在着复杂多样的异常基因表达。XIAP 是 IAPs 家族中最有效的内源性 caspases 抑制因子,位于线粒体途径的下游。已有的研究[5-6]显示 XIAP 在多种肿瘤组织中有高表达。c-jun 的作用复杂多样,既能够促进凋亡发生,也能抑制细胞凋亡[7-8]。余东海等[9]检测52例膀胱癌组织 c-jun 蛋白阳性表达率90.38%,其阳性表达与肿瘤分期、分级、预后无明显相关。也有不同观点,Yamit-Hezi 等[10]报道,路易斯肺癌中转染 c-jun 原癌基因时,c-jun 蛋白的过度表达能减少诱发肿瘤及其转移的潜能。

本实验结果显示,XIAP、c-jun 在肺良性组、癌旁组和恶性组中均有不同程度的表达;恶性组中的阳性表达均明显高于良性组($P<0.05$);正常肺组织均未见阳性表达。肺癌组织中 XIAP、c-jun 阳性表达均与患者性别、年龄和肿块大小无关($P>0.05$)。这提示 XIAP、c-jun 阳性表达增加可引起细胞周期异常,导致肿瘤的发生。临床分期晚期患者 XIAP、c-jun 阳性表达强度明显高于临床早期($P<0.05$),有淋巴结转移组 XIAP、c-jun 的阳性表达均高于无淋巴结转移组($P<0.05$),这也表明 XIAP、c-jun 异常高表达可能与肿瘤的高侵袭性及转移有关。XIAP 异常表达可能导致正常肺上皮细胞的分化异常,在肺癌发生过程中可能起着重要作用,这与有关文献报道相符合[11-12]。XIAP 与 c-jun 蛋白在肺癌组织的阳性表达存在着正相关,XIAP、c-jun 在临床Ⅲ~Ⅳ期肺癌组织以强阳性表达为主,在临床Ⅰ~Ⅱ期中的阳性表达强度均低于Ⅲ~Ⅳ期。这也表明 XIAP、c-jun 与肺癌的组织发展过程及恶性程度密切相关。尽管目前尚没有直接的实验证据证实 IAPs 家族为癌基因家族,但许多研究证明,在肿瘤的发生过程中 IAPs 起着十分重要的相关作用[13]。

本实验组70例肺癌患者术后生存期小于1年患者的 XIAP、c-jun 阳性表达率均明显高于生存期超过1年患者,两组间差异均有显著性。这说明 XIAP、c-jun 在肺癌组织中的阳性表达均随着恶性程度的升高而增加,XIAP、c-jun 可能存在共同抑制凋亡的调控作用,其高表达可能使肺癌细胞逃避凋亡机制和生长监控异常增殖,促进肺癌组织发生、发展。

综上所述,XIAP 及 c-jun 蛋白在肺癌组织中的表达水平升高,与肿瘤的发生、凋亡、浸润、转移及生存期有关。XIAP、c-jun 高表达提示患者预后较差,联合检测 XIAP、c-jun 蛋白的表达可作为肺癌临床诊断及预后预测的参考指标。

参考文献:

[1] Travis W D, Brambilla E, Noguchi M, *et al*. International association for the study of lung cancer/american thoracic society/european respiratory society international multidisciplinary classification of lung adenocarcinoma[J]. J Thorac Oncol, 2011, 6(2): 244-285.

[2] Lu M, Lin S C, Huang Y, *et al*. XIAP induces NF-kappaB activation via the BIR1/TAB1 interaction and BIR1 dimerization[J]. Mol Cell, 2007, 26(5): 689-702.

[3] Wang S F, Yen J C, Yin P H, *et al*. Involvement of oxidative stress-activated JNK signaling in the methamphetamine-induced cell death of human SH-SY5Y cells[J]. Toxicology, 2008, 246(2/3): 234-241.

[4] Yakata Y, Nakayama T, Yoshizaki A, *et al*. Expression of p-STAT3 in human gastric carcinoma: significant correlation in tumour invasion and prognosis[J]. Int J Oncol, 2007, 30(2): 437-442.

[5] 寇有为, 王强. XIAP、caspase-3 在胃癌中表达及其相关性[J]. 中国现代医学杂志, 2011, 21(28): 3490-3494.

[6] Shiraki K, Sugimoto K, Yamanaka Y, *et al*. Overexpression of X-linked inhibitor of apoptosis in human hepatocellular carcinoma[J]. Int J Mol Med, 2003, 12(5): 705-708.

[7] Kim B J, Ryu S W, Song B J. JNK- and p38 kinase-mediated phosphorylation of Bax leads to its activation and mitochondrial translocation and to apoptosis of human hepatoma HepG2 cells[J]. J Biol Chem, 2006, 281(30): 21256-21265.

[8] Solovyan V T. Characterization of apoptotic pathway associated with caspase-independent excision of DNA loop domains[J]. Exp Cell Res, 2007, 313(7): 1347-1360.

[9] 余东海, 周四维, 章慧平, 等. CK20 及 Cjun 在膀胱肿瘤的表达和临床意义[J]. 临床泌尿外科杂志, 2005, 20(5): 288-290.

[10] Yamit-Hezi A, Plaksin D, Eisenbach L. c-fos and c-jun overexpression in malignant cells reduces their tumorigenic and metastatic potential, and affects their MHC class I gene expression[J]. Oncogene, 1994, 9(4): 1065-1079.

[11] Abhari B A, Davoodi J. BIR2 domain of XIAP plays a marginal role in inhibition of executioner caspases[J]. Int J Biol Macromol, 2010, 46(3): 337-341.

[12] 来卫东, 胡娜, 顾润国. 凋亡抑制蛋白 XIAP 的研究进展[J]. 山东医学高等专科学校学报, 2010, 32(6): 424-426.

[13] Watanabe S I, Miyata Y, Kanda S, *et al*. Expression of X-linked inhibitor of apoptosis protein in human prostate cancer specimens with and without neo-adjuvant hormonal therapy[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2010, 136(5): 787-793.

(**收稿**:2012-08-31;**修回**:2012-09-26)

(编辑 汪勤俭)