维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号：0253-3626(2006)01-0035-03

生存素在膀胱癌中的表达与癌细胞增殖和肿瘤复发关系的研究

何卫阳，苟　欣，肖明朝，李云祥

（重庆医科大学附属第一医院泌尿外科，重庆　400016）

【摘　要】目的：探讨新的凋亡抑制基因生存素（survivin）在膀胱移行细胞癌（bladder trantional cell cancer, BTCC）中的表达和 ki67 基因表达的相关性，及其与肿瘤复发的关系。方法：应用免疫组织化学链霉素抗生物素蛋白－过氧化酶连接法（SP），检测 survivin 和 ki67 在 58 例 BTCC 中的表达，另取 10 例癌旁正常组织做对照，同时进行随访，随访时间为 11~48 月，平均为 29 月，观察肿瘤复发情况。结果：survivin 基因在 BTCC 中呈高表达，58 例 BTCC 中 41 例表达阳性，占 70.7%；而 10 例癌旁正常组织均无 survivin 的表达。survivin 表达阳性和阴性病例中，ki67 阳性表达分别为 68.3%（28/43）和 35.5%（6/17），两者比较差异有显著性。膀胱癌Ⅰ－Ⅱ级病例的 Survivin 表达阴性病例首次复发时间为 29 ± 15 个月，而 Survivin 阳性者为 11 ± 9 个月，两者相比差异有显著性（$P<0.001$）。结论：抑癌基因 survivin 在 BTCC 中的表达不仅与 BTCC 的病理分级和临床分期呈正相关，而且与膀胱癌细胞的增殖密切相关。在同一级别膀胱肿瘤中，survivin 表达阳性的膀胱肿瘤更倾向于复发。

【关键词】膀胱肿瘤；免疫组织化学；survivin；ki67；复发

【中国图书分类法分类号】R737.14　　【文献标识码】A　　【收稿日期】2005－08－09

Expression of survivin in bladder transitional cell cancer and its relationship with proliferation of cancer cells and recurrence of cancer

HE Weiyang, et al

(*Department of Urology, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To study the expression of a novel inhibitor gene of apoptosis, survivin, in bladder transitional cell cancer, and its relationship with the expression of ki67 genes and recurence of bladder cancer. *Methods*: Using streptavidin-biotin peroxidase (SP) method, we examined the expression of survivin and ki67 proteins in 10 normal bladder tissues and 58 bladder transitional cell cancer tissues and followed up all of the cases, the time of follow-up survey was 11 to 48 months, with the average of 29 months. *Results*: Survivin was expressed in 41 out of 58 (70.7%) cases of BTCC. In contrast, normal bladder epithelium did not express survivin. Overexpression of survivin was related to the tumor grade and clinical stage.The expression of survivin were strongly corelated with ki67 expression. The recurrence time of grade Ⅰ－Ⅱ bladder cancer in which expression of survivin was positive was 11 ± 9 months, while the recurrence time was 29 ± 15 months for negative expression of survivin in the of bladder cancer. *Conclusion*: Apoptosis inhibition gene survivin may participate in the onset and progression of bladder transitional cell cancer. High expression of survivin is correlated with hyperplasia and recurrence of bladder tranditional cell cancer.

【Key words】Bladder neoplasm; Immunohistochemistry; Survivin; ki67; Recurrence

survivin是一种 1997 年发现的凋亡抑制基因，它能通过多种途径抑制细胞凋亡，促进转化突变的细胞增殖。survivin 主要分布于胚胎及未成熟的组织，在成人终末分化的组织中一般不表达，而选择地表达于多种肿瘤组织中[1]。本研究着重探讨 survivin的表达和癌细胞增殖及其与肿瘤复发的关系。

1　材料和方法

1.1　一般资料

标本取自我院 1995～2000 年病理检查证实的 BTCC，共 58 例，患者年龄 48～84 岁，男 46 例，女 12 例，另取正常膀

作者介绍：何卫阳（1973－　），男，硕士，医师，
主要研究方向：膀胱肿瘤诊治。

基金项目：重庆市卫生局资助项目（编号：04-2-130）。

维普资讯 http://www.cqvip.com

胱组织 10 例作为对照。肿瘤的病理分级根据世界卫生组织（WTO）分类标准：G1 级 20 例，G2 级 20 例，G3 级 18 例。临床分期根据国际抗癌协会（UICC）标准：T0-T1 为浅表型，T2-T4 为浸润型。

1.2　实验方法

采用链霉素抗生素蛋白－过氧化酶连接（SP）免疫组织化学方法。鼠抗人 survivin 单克隆抗体（survivin Ab-2）购自美国 Neomarkers 公司。鼠抗人 Ki67 抗体（MIB-1）及 SP 试剂盒均购自福州迈新生物技术开发公司。实验步骤按照试剂盒说明进行。以 Hela 细胞涂片作 survivin 的阳性对照，以扁桃腺切片作 ki67 的阳性对照，用磷酸缓冲液（PBS）代替一抗作阴性对照。

1.3　结果判断

survivin 的阳性表达定位于肿瘤细胞的胞浆中，为弥漫的浅黄色或棕黄色，阳性细胞 >10% 判为阳性病例，ki67 的阳性表达位于肿瘤细胞胞核中，胞核被染成棕褐色，阳性细胞 >5% 判为阳性病例。

1.4　统计方法

χ^2 检验。

2　结　果

2.1　BTCC 中 Survivin 基因的表达

survivin 基因表达阳性染色主要定位于肿瘤细胞胞浆中，为胞浆弥漫性淡黄色或棕黄色。见图 1。10 例癌旁正常膀胱移行上皮均未见 survivin 基因的表达。而 58 例 BTCC 中有 41 例 survivin 基因表达阳性，占 70.7%。

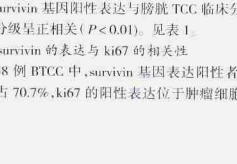


图 1　Survivin 在膀胱移行细胞癌中的阳性表达（SP×200）。胞浆细胞呈淡黄色。

2.2　BTCC 中 survivin 基因表达与临床病理

survivin 基因阳性表达与膀胱 TCC 临床分期及病理分级呈正相关（$P<0.01$）。见表 1。

2.3　survivin 的表达与 ki67 的相关性

58 例 BTCC 中，survivin 基因表达阳性者为 41 例，占 70.7%，ki67 的阳性表达位于肿瘤细胞胞核中，胞核被染成棕褐色，见图 2。ki67 表达阳性者为 34 例，占 55.2%。41 例 survivin 表达阳性病例中，ki67 表达 28 例，占 68.3%；17 例 survivin 表达阴性病例中，ki67 表达 6 例，占 35.5%，两者比较，其差异有显著性。见表 2。

表 1　BTCC 患者临床病理与 survivin 基因表达的相关性

类别	总例数	survivin 基因阳性表达 例数	百分率(%)	χ^2	P
正常膀胱移行上皮	10	0	0/10*		
膀胱癌	58	41	70.7		
临床分期					
Ta-T1（浅表型）	21	8	38.1	16.74	<0.005
T2-T4（浸润型）	37	33	91.6		
病理分级					
G1-G2	40	24	60	7.12	<0.01
G3	18	17	17/18*		

*例数少于 20，不计算百分率。

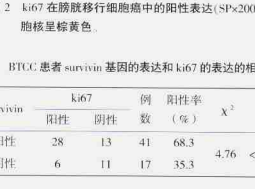


图 2　ki67 在膀胱移行细胞癌中的阳性表达（SP×200）。胞核呈棕黄色。

表 2　BTCC 患者 survivin 基因的表达和 ki67 的表达的相关性

survivin	ki67 阳性	ki67 阴性	例数	阳性率（%）	χ^2	P
阳性	28	13	41	68.3	4.76	<0.05
阴性	6	11	17	35.3		

2.4　survivin 的表达与膀胱肿瘤复发的关系

在随后的随访中我们发现，同一级别的膀胱肿瘤中（Ⅰ－Ⅱ级），survivin 表达阳性病例中，其复发时间为 11 ± 9 月，而 survivin 表达阴性病例中，其复发时间为 26 ± 15，两者比较，差异有显著

维普资讯 http://www.cqvip.com

性（$P<0.05$）。见表 3。

表 3 BTCC 患者 survivin 基因的表达和膀胱肿瘤复发的相关性

survivin	总例数	复发时间(月)	χ^2	P
阳性	23	26 ± 15	5.86	<0.05
阴性	14	11 ± 9		

3 讨 论

survivin 是一种凋亡抑制蛋白（inhibitor of apoptosis protein IAP）其调控功能在于直接抑制了半胱氨酸蛋白酶 caspase-3 和 caspase-7 的活性[2]，这一功能主要是通过在细胞内与纺锤体微管的聚合与解聚来实现的。survivin 在正常组织中一般不表达，但却选择性地表达于多种肿瘤组织。研究发现，BTCC 组织中有 70.7%的病例 survivin 表达阳性，而 10 例癌旁正常组织中均无 survivin 阳性表达，这与 Swana 等所检测的结果基本相符[3]。survivin 通过多种途径抑制细胞凋亡，促进细胞增殖，被认为是细胞增殖和细胞死亡的界面分子，BTCC 中 survivin 基因的异常表达可能促进细胞逃离生长监控，使细胞生存延长，转化突变的细胞积累而导致肿瘤的形成。在对 BTCC 组织 survivin 基因表达分析时发现，临床分期越晚、组织分化恶性度越高，survivin 基因表达的阳性率越高，从而表明 survivin 基因的高表达可能预示肿瘤有较高的侵袭性和不良预后。

ki67 是与增殖细胞相关的核抗原，仅分布于细胞核内，其功能被认为与细胞的有丝分裂密切相关。研究发现，ki67 具有重要的核功能，对细胞的增殖不可或缺。

本实验同时对 58 例 BTCCsurvivin 和 ki67 的表达的相关性进行了分析，结果显示在 BTCC 中可见强弱不等的 survivin 表达，其阳性率为 70.7%（41/58），survivin 表达阳性病例中，ki67 阳性为 68.3%（28/41），在 survivin 表达阴性病例中，ki67 的阳性为 35.5%（6/17），两者比较，其差异有显著性（$P<0.05$）。提示 survivin 的表达不仅与肿瘤的病理分期和临床分级有关，而且 survivin 的表达也与恶性肿瘤细胞的增殖密切相关。这与 Kawasaki[4]的研究结果一致。以前曾有研究提示细胞的增殖增加反过来可能因为缺乏营养竞争生长因子及氧饥饿而诱导细胞凋亡。本实验研究结果表明，在 BTCC 的发生发展中可能同时存在高增殖和低凋亡的现象。

在随访中我们发现，同一级别的膀胱肿瘤中（Ⅰ-Ⅱ级），survivin 表达阳性病例与 survivin 表达阴性病例中，其复发时间差异有显著性（$P<0.05$）。从而提示 survivin 的表达与膀胱肿瘤的复发密切相关。这与 Swana 等所检测的结果基本相符[3]。

survivin 在膀胱肿瘤中的高表达不仅抑制了癌细胞的凋亡，同时还促进了细胞的增殖，所以它在 BTCC 的发生发展中具有重要作用。同时，survivin 在膀胱肿瘤中的高表达与膀胱肿瘤细胞的增殖和膀胱肿瘤的复发有关。由于表达的特异性，应用反义 survivin 核苷酸或针对 survivin 的小干扰 RNA 对膀胱移行细胞癌的治疗和预防其复发提供了一个崭新的前景[5]。同时，由于免疫组化检测 survivin 简单易行，survivin 也可作为一个潜在的预测膀胱肿瘤复发的指标。

参 考 文 献

[1] Li F, Ackeermann EJ, Bennett CF, et al. Pleiotropic cell division defects and apoptosis induced by interference with Survivin function [J]. Nat Cell Biol, 1999;1(8): 461-466

[2] Shin S, Sung BJ, Cho YS, et al. An anti-apoptotic protein human Survivin is a direct inhibitor of caspase-3 and -7[J]. Biochemistry, 2001; 40:1117-1123.

[3] Swana HS, Grossman D, Anthony JN, et al. Tumor content of the antiapoptosis molecule Survivin and recurrence of bladder cancer [J]. N Engl J Med, 1999; 341:452-453.

[4] Kawasaki H, Toyoda M, Shinohara H, et al. Expression of Survivin correlates with apoptosis, proliferation, and angiogenesis during human colorectal tumor genesis [J]. Cancer, 2001;71: 2026-2032.

[5] Fuesssl S, Kueppers B,Ning S, et al. Systematic in vitro evaluation of survivin directed antisense oligodeoxynucleotides in bladder cancer cells [J]. Jurology, 2004;171 (6, Part 1 of 2) : 2471-2476.