维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253-3626(2006)03-0388-03

Survivin的表达与卵巢癌细胞凋亡的关系

舒 文[1],胡丽娜[2]

(1. 重庆医科大学附属第二医院妇产科,重庆 400010;2. 四川大学华西第二医院,四川成都 610041)

【摘 要】目的:探讨卵巢癌凋亡抑制基因 Survivin 的表达、细胞凋亡关系及临床意义。方法:用末端脱氧核糖核酸转移酶介导的 TUNEL 法和免疫组织化学技术检测 50 例卵巢癌组织原位凋亡(AI)、Survivin 的表达。结果:50 例卵巢癌组织中 Survivin 阳性表达率 72%(36/50),其表达与 AI 相关。Survivin 阴性表达组的 5 年生存率显著高于阳性表达组($P<0.05$);Cox 模型多因素分析表明,高 AI(≥1.7%)患者累积生存率较高($P<0.05$)。结论:凋亡抑制基因 Survivin 的异常表达与卵巢癌细胞凋亡抑制及不良预后密切有关。

【关键词】卵巢癌;Survivin;细胞凋亡

【中国图书分类法分类号】R735 【文献标识码】A 【收稿日期】2005-11-23

Survivin expression in ovarian cancer and its association with tumor cellular apoptosis

SHU Wen, et al

(*Department of Obstetrics and Gynecology, the Second Affilated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate clinical significance of survivin expression, cellular apoptosis in ovarian cancer. *Method*: The apoptosis in sit ovarian cancer were identified by the terminal deoxynucleotidy transfer mediated dUTP-biotin nick end labeling (TUNEL) and survivin expression was detected by immunohistologic staining in 50 cases of ovarian cancer. *Result*: Survivin was expressed in 36 of 50 ovarian cancer (72%). The correlation was found between survivin expression, cellular apoptosis. The 5 year survival rate in the group of survivin-negative cases was significant higher than in the group of survivin-positive cases ($P<0.05$). In Cox regression analysis, survivin expression and cellular apoptosis index (AI) were indpendent risk factors for prognosis. *Conclusion*: Survivin, a inhibitor gene of apoptosis, expression abnormal correlated with apoptosis inhibition, poor prognosis in ovarian cancer.

【Key words】Ovarian cancer; Survivin; Apoptosis

近年来研究提示,肿瘤的发展转移与细胞的增殖凋亡失控及血管形成有关[1,2]。Survivin 是新近发现的凋亡抑制蛋白(IAP),具有不同于 IAP 家族其它成员的独特结构和性质,不但能够抑制肿瘤细胞的凋亡,还参与肿瘤血管的形成。本研究探讨了 Survivin 的表达与卵巢癌细胞凋亡的关系及临床意义。

1 材料和方法

1.1 研究对象

收集我院 1996 年 3 月至 1998 年 4 月手术切除的卵巢癌标本 50 例,均经病理检查证实。术前均未作放疗、化疗、免疫治疗等抗肿瘤治疗。其中浆液性囊腺癌 39 例,黏液性囊腺癌 11 例。根据 FIGO 分期,Ⅰ~Ⅱ期 15 例,Ⅲ~Ⅳ期 35 例;病理分级:G_1~G_2 级 21 例,G_3 级 29 例。中位年龄为 49 岁(20~69 岁)。用 20 例正常卵巢组织标本作为对照。

1.2 试剂

兔抗人 Survivin 多克隆抗体购自武汉博士德生物工程公司。细胞凋亡原位检测试剂盒购于 Boehringer Mannheim 公司。即用型 SP 试剂盒及 DAB 显色试剂盒购于北京中山生物有限公司。

1.3 方法

常规石蜡切片按试剂盒说明书分别行 SP 免疫组化染色和 TUNEL 染色,并用 PBS 代替一抗作阴性对照。阳性对照由北京中山生物有限公司提供。

1.4 结果判定

采用双盲法观察结果。Survivin 阳性物质定位于细胞浆,

作者介绍:舒 文(1968-),女,主治医师,硕士,主要研究方向:妇科肿瘤治疗。

维普资讯 http://www.cqvip.com

呈棕黄色颗粒状，在普通光镜下观察，按5%以下细胞浆中出现棕黄色颗粒为阴性，余下为阳性。TUNEL染色以细胞核呈棕黄色为阳性细胞。每张切片随机选择5个高倍视野（400×），计数1000个癌细胞中阳性癌细胞数，凋亡指数（apoptotic index, AI）= 阳性癌细胞数/1000×100%。

1.5 统计分析

应用SPSS 10.0统计软件，采用 t 检验、χ^2 检验。Kaplan-meier法绘制生存曲线及Log-rank检验。Cox比例风险模型做预后多因素分析。

2 结 果

2.1 卵巢癌的原位细胞凋亡

TUNEL染色阳性物质定位于细胞核，呈棕黄色，近核膜处着色较深，核中央着色较浅，或核质均匀染色，核固缩则染色质呈块状聚集。卵巢癌50例的AI值平均为1.67%±1.25%（0.4%~11.2%）。

2.2 卵巢癌中Survivin的表达

免疫组化染色结果显示，卵巢癌50例中Survivin表达阳性36例（36/50，72%），正常卵巢组织20例中Survivin的表达阳性1例（1/20，5%），两组比较差异有极显著性（$P<0.01$）。

2.3 卵巢癌Survivin表达与细胞凋亡之间的关系

Survivin阳性表达组的AI值（1.36±1.12）%，与阴性组AI值（2.16±1.02）%，相比，差异有极显著性（$P<0.01$）。这表明Survivin的异常表达与细胞凋亡密切相关。

2.4 临床病理特征与Survivin表达及AI间的关系

Survivin基因的表达及AI值与患者的病理类型无关（$P>0.05$），而与临床分期密切相关（$P<0.05$），见表1。

表1 临床病理特征与Survivin表达、MVD及AI之间的关系

临床病理特征	例数	Survivin阳性表达例数(%)	AI(%)
正常组织	20	1（5.00）	
卵巢癌	50	36（72.00）	
病理类型			
浆液性囊腺癌	39	28（71.79）	1.68±0.91
黏液性囊腺癌	11	8（72.73）	1.74±0.64
临床分期			
Ⅰ~Ⅱ期	15	8（53.33）	1.75±1.24
Ⅲ~Ⅳ期	35	28（80.0）	1.38±1.16
病理分级			
Ⅰ~Ⅱ级	21	14（66.67）	1.89±0.99*
Ⅲ级	29	22（75.86）	1.46±1.02

2.5 Survivin表达及AI与预后的关系

本组患者5年生存率为42.00%。Survivin表达阴性组和阳性组的5年生存率分别为51.34%、29.00%（$P<0.05$），Survivin表达阳性组的累积生存率低于阴性组（$P<0.05$）。50例卵巢癌组织中，AI的均数分别为1.67%±1.25%，以AI=1.7%为界值，分为高表达和低表达两组，观察AI对患者预后的影响，发现高AI（≥1.7%）患者的预后较好，累积生存率较高（$P<0.05$）。Cox模型结果表明，独立的预后因素为Survivin的表达（$P<0.05$）及AI（$P<0.05$）。

3 讨 论

Survivin含有一个杆状病毒凋亡抑制蛋白重复序列（BIR）分子，能够直接抑制Caspase-3和Caspase-7的活性并可与CDK4、P34cdc2相互作用来阻止细胞凋亡[3,4]。研究表明，Survivin的组织分布具有明显的细胞选择性，它表达于胚胎和发育的胎儿组织。但在成年终末分化组织中表达很低，甚至根本不表达。但仍有研究者发现SurvivinmRNA在月经周期各阶段都有不同程度的转录，但在增生期内膜明显低于分泌期内膜[5]。Grabowski[6]等在对食管磷状细胞癌的研究中发现Survivin基因蛋白的表达与该肿瘤的恶性行为有关，可作为评估预后的指标，本研究结果显示，正常卵巢癌组织中Survivin基因蛋白表达阳性率为5%，而恶性卵巢上皮性肿瘤中Survivin基因蛋白表达阳性率为72%，而且随着卵巢癌的临床分期和组织学类型的升高而增加，但与病理类型无关。杨锦芝[7]研究结果显示，Survivin基因在上皮性卵巢癌组织中的表达明显高于正常卵巢组织，而且随着卵巢癌的组织学分级和临床分期的升高而增高，但与卵巢癌的病理类型无关。Zaffaroni[8]同样发现survivin表达与卵巢癌组织学类型之间无显著差异。本研究结果与其相似，提示Survivin基因在卵巢癌的发生发展过程中起了重要作用。

Survivin的过表达允许细胞通过G_2/M期检查点而获得恶性增殖潜能。史惠蓉[9]研究发现卵巢癌组织中Survivin表达增强，且与细胞增殖密切相关。因此，Survivin的异常表达可能导致了卵巢癌发展转移过程中凋亡易感性的下降，出现凋亡抑制。Takai在研究患者预后与survivin表达之间的关系

维普资讯 http://www.cqvip.com

中发现，无瘤生存者 survivin 着色阳性细胞百分数为(27.7 ± 24.8)，带瘤生存者为(51.1 ± 21.5)，死亡患者为(80.7 ± 8.7)。提示 survivin 表达率越高，患者的预后越差[10]，同时表明卵巢癌组织中 survivin 的表达与临床分期、组织学分级、临床预后显著相关，提示 survivin 有望成为判断预后的有价值的标记物。但是 Ferrandina G[11]研究了 110 例原发性卵巢癌病人，发现免疫组织化学染色检测 survivn 的表达并不能有助于判断预后，因此，survivin 在临床中的角色和意义仍需大量的研究。本文研究了 Survivin 及 AI 与预后的关系，结果显示 Survivin 表达阳性患者的 AI 明显低于 Survivin 表达阴性患者的 AI；AI 不但与临床分期有关，而且高凋亡指数(AI≥1.7%)患者的预后好于低凋亡指数患者 (AI<1.7%，$P<0.05$)。提示 survivin 有可能成为卵巢癌的一项重要预后预测因素和治疗靶点。目前已有研究表明[12]脂质体介导转染 survivin 反义寡核苷酸可以有效降低细胞内 survivin 基因的表达，抑制卵巢癌细胞生长。

癌细胞可能通过表达 Survivin 来抑制多种因素所诱导的细胞凋亡，使细胞处于不稳定状态。同时，Survivin 也具有调节血管形成作用，其通过抗凋亡特性保护肿瘤血管内皮细胞的生长增殖，为癌细胞的生长转移创造条件，从而影响癌细胞的生物学行为和患者的预后。本研究提示，Survivin 的异常表达与卵巢癌细胞凋亡抑制密切相关。

参 考 文 献

[1] Garewal H, Bernstein H, Bernstein C, et al. Reduced bile acid-induced apoptosis in "normal" colorectal mucosa: a potential biological marker for cancer risk [J]. Cancer Res, 1996; 56: 1480-1438.

[2] Nanashima A, Ito M, Sekine I, et al. Significant of factors in liver metastatic tumors originating from colorectal cancers[J]. Dig Dis Sci, 1998;43:2634-2640.

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

[4] Suzuki A, Ito T, Kawano H, et al. Survivin initiates procaspase3/p21 complex formation as a result of interaction with Cdk4 to resist Fas-mediated cell death[J]. Oncogene, 2000;19:1346-1353.

[5] Konno R, Yamakawa H, Utsunomiya H, et al. Expression of Survivin and Bcl-2 in the normal human endometrium [J]. Mol Hum Reprod, 2000;6(6):529.

[6] Grabowski P, Kuhnel T, Muhr-Wilkenshoff F, et al. Prognostic value of nuclear surviving expression in oesophageal squamous cell carcinoma [J]. Br J Cancer, 2003;88(1):115-119.

[7] 杨锦芝，赵冬梅. 凋亡抑制基因 Survivin 在上皮性卵巢癌中的表达及其意义[J].滨州医学院学报, 2003,26(4):243-244.

[8] Zaffaroni N, Pennati M, Colella G, et a1. Expression of theanti-apo ptotic gene survivin correlates with taxol resistance inhuman ovarian cancer [J]. Cell Mol Life Sci, 2002;59(8):1406-1412.

[9] 史惠蓉，兰 莉，乔玉环，等. 卵巢癌组织中 Survivin 和 PCNA 的表达[J]. 郑州大学学报(医学版),2004;39(4):552-554.

[10] Takai N, Miyazaki T, Nishida M, et a1. Expression of survivin is associated with malignant potential in epithelial ovarian carcinoma [J]. Int J Mol Med, 2002;10(2):211.

[11] Ferrandina G, Legge F, Martinelli E, et al. Survivin expression in ovarian cancer and its correlation with clinico-pathological, surgical and apoptosis-related parameters [J]. Br J Cancer, 2005 ;92(2):271-277.

[12] Ma X, Wang S, Zhou J, et al. Induction of apoptosis in human ovarian epithelial cancer cells by antisurvivin oligonucleotides [J]. Oncol Rep, 2005;14(1):275-279.

(上接第 357 页)

[7] Starkman BG, Cravero JD, Delcarlo M, et al. IGF-I stimulation of proteoglycan synthesis by chondrocytes requires activation of the PI 3-kinase pathway but not ERK MAPK[J]. Biochem J, 2005;389(Pt 3):723-729.

[8] Fukumoto T, Sperling JW, Sanyal A, et al. Combined effects of insulin-like growth factor-1 and transforming growth factor-beta1 on periosteal mesenchymal cells during chondrogenesis in vitro [J]. Osteoarthritis Cartilage, 2003;11(1):55-64.

[9] Madry H, Kaul G, Cucchiarini M, et al. Enhanced repair of articular cartilage defects in vivo by transplanted chondrocytes overexpressing insulin-like growth factor I (IGF-I) [J]. Gene Ther, 2005;12(5):1171-1179.

[10] Sachs AB. Cell cycle-dependent translation initiation: IRES elements prevail[J]. Cell JT - Cell, 2000;101(3):243-245.

[11] Pinstaff J K, Chappell SA. Internal initiation of translation of five dendritically localized neuronal mRNAs [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2001; 98(5):2770-2775.

[12] Kramer M, Stumbe JF, Grimm G, et al. Dendritic polyamines: simple access to new materials with defined treelike structures for application in nonviral gene delivery [J]. Chembiochem JT- Chembiochem: a European journal of chemical biology, 2004; 5(8): 1081-1087.