

文章编号:1005-6947(2005)08-0614-04

· 简要论著 ·

胆囊癌中 survivin 的表达及其与 CD44v6 和 nm23 基因表达的关系

沈汉斌, 郑启昌

(华中科技大学同济医学院附属协和医院 腹腔镜中心, 湖北 武汉 430022)

摘要:为探讨胆囊癌中 survivin, CD44v6, nm23 基因表达的关系及其临床意义, 笔者采用免疫组织化学技术检测 39 例胆囊癌及其癌旁组织、12 例胆囊腺瘤性息肉组织标本中 survivin, CD44v6 和 nm23 的表达, 分析它们与临床特征之间的关系。结果显示: 胆囊癌中 26 例 survivin 表达阳性, 阳性率为 66.7%; 22 例 CD44v6 表达阳性, 阳性率为 56.4%; 15 例 nm23 表达阳性, 阳性率为 38.5%。胆囊癌组织 survivin 和 CD44v6 的表达阳性率高于癌旁组织及胆囊腺瘤性息肉组织 ($P < 0.05$)。CD44v6 和 nm23 的表达与胆囊癌肿瘤转移有关 ($P < 0.05$)。胆囊癌中 survivin, CD44v6 蛋白表达均上调, 提示它们共同参与胆囊癌发生和发展; survivin 与 CD44v6 和 nm23 有协同表达关系。

关键词: 胆囊肿瘤/病理学; 基因表达

中图分类号: R735.8; Q343.1 **文献标识码:** B

胆道恶性肿瘤包括胆囊癌、肝外胆管癌和壶腹部癌, 其中胆囊癌约占 2/3^[1]。胆囊癌并非少见, 患病率占消化道肿瘤的第 6 位^[2]。胆囊癌的患病率近年来有上升趋势, 达到 2~4/10 万。胆囊癌早期症状不明显, 诊断时多数已属晚期, 往往失去手术时机。患者预后极差。据报道, 5 年生存率 AJCC I 期为 60%, II, III 期分别仅为 5% 和 1%^[3]。胆囊癌的生物学行为凶险, 了解其发生、发展的分子生物学机制显得更为重要。笔者对 39 例胆囊癌及其癌旁组织、12 例胆囊腺瘤性息肉组织进行 survivin, CD44v6, nm23 (non-metastatic 23 rd) 检测, 研究其表达与胆囊癌发生、发展的关系。

1 材料与方 法

1.1 病例及分组

1.1.1 胆囊癌组 选取 1996~2001 年我院手术治疗的原发性胆囊癌标本 39 例及其癌旁组织。其

中女 26 例, 男 13 例; 年龄 37~80 (平均 59.8) 岁。临床病理分期按 Nevin 法: I 期 1 例, II 期 2 例, III 期 4 例, IV 期 7 例, V 期 25 例。有淋巴结或远处转移 31 例, 无转移 8 例。所有患者术前均未行放疗及化疗。35 例术后获随访, 随访大于 3 年。

1.1.2 对照组 以胆囊腺瘤性息肉组织为对照, 均取自同期本院手术切除病理证实的 12 例, 男 4 例, 女 8 例; 年龄 34~75 (平均 56.7) 岁。

1.2 检测方法及项目

1.2.1 免疫组织化学 (免疫组化) 检测方法 采用链霉抗生物素蛋白-过氧化物酶 (SP) 免疫组化法。兔抗人 survivin 单克隆抗体、鼠抗人 CD44v6 单克隆抗体、nm23 单克隆抗体及 SP 试剂盒购自福州迈新公司; DAB 显色液购自武汉博士德公司。将已知阳性的肝癌切片作为阳性对照, 用磷酸盐缓冲液 (PBS) 代替一抗作为阴性对照。实验步骤按试剂盒说明书进行。所有标本用 10% 甲醛固定, 石蜡包埋; 每蜡块行 4 μ m 厚连续切片 3 张。先脱蜡至水, 后微波抗原修复; 置 3% 过氧化氢孵育 15 min, PBS 冲洗 5 min \times 3 次, 阻断内源性过氧化物酶活性。封闭非特异性抗原, 孵育后显色复染, 常规封片。

1.2.2 结果判定 survivin 染色以胞浆中染成棕

收稿日期: 2004-12-21; 修订日期: 2005-07-04。

作者简介: 沈汉斌 (1966-), 男, 湖北随州人, 华中科技大学同济医学院附属协和医院 (现在解放军第四七七医院) 主治医师, 主要从事肝胆及微创方面的研究。

通讯作者: 沈汉斌 电话: 13627250648 (手机); E-mail: shbsqj@yahoo.com.cn。

黄色为阳性,切片根据阳性细胞百分率分为:阴性(-)为无或仅有弱的染色,阳性细胞率 $<10\%$;阳性(+)为大于 10% 的细胞呈阳性染色。对于不均一染色的切片,只考虑其主要染色区域。CD44v6为细胞膜或细胞质表达,主要位于细胞膜,出现黄色或棕黄色者为阳性细胞;在胆囊腺瘤性息肉中呈灶性分布,而在胆囊癌中呈弥漫性分布,阳性细胞数 $\geq 30\%$ 者为阳性(+)。nm23基因蛋白表达表现为胞浆型,随机选择5个视野,计算1000个细胞。根据着色细胞数量分布:阴性(-)为着色细胞 $<30\%$;阳性(+)为着色细胞 $\geq 30\%$ 。

1.3 统计学处理

采用SPSS10.0统计软件。根据数据性质采用

χ^2 检验及 Fish's 精确概率法。

2 结果

2.1 survivin, CD44v6, nm23 在原发性胆囊癌中的表达

胆囊癌组织 survivin 和 CD44v6 的表达阳性率显著高于癌旁组织及胆囊腺瘤性息肉组织($P < 0.01$);胆囊癌组织 nm23 表达阳性率低于癌旁组织及胆囊腺瘤性息肉组织($P < 0.05$)。相关性检验表明:survivin 与 CD44v6 之间有关($\chi^2 = 5.21, P < 0.05$),survivin 与 nm23 之间有关($\chi^2 = 4.39, P < 0.05$),nm23 与 CD44v6 之间有关($\chi^2 = 5.27, P < 0.05$)(表1)。

表1 survivin, CD44v6, nm23 在胆囊癌、癌旁组织及胆囊腺瘤性息肉组织中的表达(n)

组别 (组织类型)	n	survivin			CD44v6			nm23		
		阳性	阴性	阳性率(%)	阳性	阴性	阳性率(%)	阳性	阴性	阳性率(%)
胆囊癌组织	39	26	13	66.7	22	17	56.4	15	24	38.5
胆囊癌旁组织	39	0	39	0	9	30	23.8	25	14	64.1
胆囊腺瘤性息肉组织	12	0	12	0	2	10	16.7	9	3	75.0

2.2 survivin 的表达与胆囊癌临床病理的关系

survivin 基因的表达与患者的性别、年龄、有无胆囊结石、病理分型、Nevin 分期、预后及是否转移

均无关,各特征的两组之间差异无显著性(均为 $P > 0.05$,表2)。

表2 survivin 的表达与胆囊癌临床病理的关系

临床病理	例数	阳性例数	阴性例数	阳性率(%)	χ^2	P
性别						
男	13	7	6	53.8	0.707	>0.05
女	26	19	7	73.1		
年龄(岁)						
≥ 59.8	21	15	6	71.4	0.116	>0.05
< 59.8	18	11	7	61.1		
胆囊结石						
有	20	12	8	60.0	0.333	>0.05
无	19	14	5	73.7		
病理分型						
腺癌	32	21	11	65.6	0.022	>0.05
未分化	7	5	2	71.4		
Nevin 分期						
I~III	7	4	3	57.1	0.022	>0.05
IV~V	32	22	10	68.8		
转移						
有	31	23	8	74.2	2.379	>0.05
无	8	3	5	37.5		
生存时间(年)						
≥ 3	6	3	3	50.0	1.894	>0.05
< 3	29	23	6	79.3		

2.3 CD44v6 和 nm23 的表达与胆囊癌临床病理的关系

CD44v6 和 nm23 基因的表达与患者的病理分型、Nevin 分期无关 ($P > 0.05$)。有转移者 CD44v6 的阴性率远高于无转移者,差异有显著性

($P < 0.05$);有转移者 nm23 的阳性率远低于无转移者,差异亦具显著性($P < 0.05$)。生存时间 ≥ 3 年者 CD44v6 表达率远低于 < 3 年者 ($P < 0.05$),而 nm23 的表达率则远高于 < 3 年者 ($P < 0.05$) (表 3)。

表 3 CD44v6 与 nm23 的表达与胆囊癌临床病理特征的关系

临床病理	例数	CD44v6 表达					nm23 表达				
		阳性	阴性	阳性率(%)	χ^2	P 值	阳性	阴性	阳性率(%)	χ^2	P 值
病理分型											
腺癌	32	17	15	53.1	0.215	>0.05	12	20	37.5	0.027	>0.05
未分化	7	5	2	71.4			3	4	42.9		
Nevin 分期											
I~III	7	2	5	28.6	1.486	>0.05	5	2	71.4	3.134	>0.05
IV~V	32	20	12	62.5			10	22	31.3		
转移											
有	31	21	10	67.7	5.805	<0.05	9	22	29.0	3.901	<0.05
无	8	1	7	12.5			6	2	75.0		
生存时间(年)											
≥ 3	6	1	5	16.7	4.445	<0.05	5	1	83.3	4.027	<0.05
< 3	29	21	8	72.4			10	19	34.5		

图 1 胆囊癌组织 survivin 的表达(阳性表达主要分布于胞浆)(SP $\times 400$)

图 2 胆囊癌组织 CD44v6 的表达(阳性表达主要分布于胞膜胞浆)(SP $\times 400$)

图 3 胆囊癌组织 nm23 的表达(阳性表达主要分布于胞浆)(SP $\times 400$)

3 讨论

survivin 是凋亡抑制蛋白(inhibitor of apoptosis proteins, IAP)家族的新成员,在正常成人组织中几乎未检测到其基因的表达^[4]。在大多数肿瘤组织内有 survivin 的表达。这种重新表达的机制目前尚不明确^[5]。survivin 具有周期依赖性表达及抗凋亡作用。本组胆囊癌组织 survivin 有高表达其阳性率

为 66.7%。这一表达水平较正常胆囊组织明显增高,表明其与胆囊癌发生发展有密切关系,可能是参与抑制恶性肿瘤细胞凋亡过程中的关键因素。分析 survivin 表达与临床特征的关系显示,肿瘤内 survivin 的表达与宿主性别、年龄、Nevin 分期均无关。

CD44 家族属黏附分子,作为主要的跨膜透明质酸受体,是癌细胞获得浸润转移能力的决定因

素之一。CD44 拼接变异体 (CD44 splice variants, CD44v) 表达,特别是 v6 表达与多种肿瘤包括胃癌、肝癌及结肠癌等侵袭表型的形成有关;其表达强度与肿瘤手术预后有关。本研究 CD44v6 表达阳性率在胆囊癌组织中显著高于胆囊腺瘤性息肉和癌旁组织,提示 CD44v6 的表达与胆囊癌的发生有关。在有淋巴结转移的胆囊癌中,CD44v6 阳性表达率明显高于无淋巴结转移组,表明 CD44v6 表达与胆囊癌的恶性生长和临床进展之间有关;提示在胆囊癌细胞的增殖、分化和转移过程中 CD44v6 发挥着重要作用。未发现组织学分型和临床分期与 CD44v6 的联系。

nm23 基因是非转移性肿瘤转移抑制基因, nm23 基因是一个多功能基因,具有控制细胞分化与细胞发育功能,与恶性肿瘤转移关系密切,其表达水平与多种肿瘤细胞的转移潜能呈负相关。本实验结果表明, nm23 的表达率在有淋巴结转移的胆囊癌组织中明显低于无转移组,说明 nm23 与胆囊癌的转移有关。另外, survivin, CD44v6 表达和 nm23 基因的趋势检验表明, survivin, CD44v6 的过度表达和 nm23 表达减少和缺失之间的协同作用,

可以促进肿瘤转移。基于此,临床工作中可考虑采用 survivin, CD44v6 和 nm23 作为胆囊癌早期诊断、浸润转移的估计和预后判断的参考指标。

参考文献:

- [1] Groen PC, Gores GJ, LaRussw NF, *et al.* Biliary tract cancers [J]. *N Engl J Med*, 1999, 341(9): 1368 - 1378.
- [2] Endo K, Ashida K, Miyake N, *et al.* E-Cadherin gene mutations human intrahepatic cholangiocarcinoma [J]. *J Pathol*, 2001, 193(2): 310 - 317.
- [3] Joo YE, Park CS, Kim HS, *et al.* Prognostic significance of E-cad-herin/catenin expression in gastric cancer [J]. *J Korean Med Sci*, 2000, 15(3): 655 - 666.
- [4] Ambrosini G, Adida C, Altieri DC. A novel anti-apoptosis gene, survivin, expressed in cancer and lymphoma [J]. *Nat Med*, 1997, 3(4): 917 - 921.
- [5] Adida C, Crotty PL, Mograth J, *et al.* Developmentally regulated expression of the novel cancer anti-apoptosis gene surviving in human and mouse differentiation [J]. *Am J Pathol*, 1998, 152(1): 43 - 49.

《临床医院感染学》(修订版)征订启事

为迎接“医院管理年”和准备医院分级评审,由卫生部殷大奎、于宗河、王羽等领导主审,中南大学湘雅医院医院感染控制中心(全国医院感染监控管理培训基地)徐秀华教授主编的《临床医院感染学》修订版(1998年初版)将于2005年7月正式出版发行。修订版增加了以下内容:1. 新出现传染病的发生背景与影响及其感染控制,如 SARS、艾滋病、猴痘、克雅病、尼派病毒感染等;2. 潜在威胁的生物武器,如可能产生生物恐怖的传染病(炭疽、鼠疫、天花、霍乱等)及其感染控制;3. 新的研究进展,如全身炎症反应综合征和脓毒血症、医院感染控制计划评价与成本-效益分析、美容手术后感染、试管婴儿术相关感染等;4. 新的知识,如部分医院感染的特殊情况判断、WHO 和美国 CDC 指南等;5 新的医院感染管理法律法规知识,如《传染病防治法》、《医疗废物管理条例》及配套文件、《抗菌药物临床应用指导原则》、《医务人员预防艾滋病职业感染指导原则》、《内镜清洗消毒技术操作规范》、《医疗机构口腔诊疗器械消毒技术规范》等。

本书包括理论与实践两部分,不仅可作为医院感染管理专职人员实践工作的工具书,也是临床各科感染性疾病诊断治疗的参考书,适合各级各类临床医师及护理、检验人员阅读。本书由湖南科学技术出版社出版发行,售价定为148元/本,加寄15%邮汇费,合计170元/本(订购2本以上者,邮汇费酌减为10%)。

联系地址与联系人:长沙市湘雅路87号中南大学湘雅医院医院感染控制中心(全国医院感染监控管理培训基地),邮编410008,联系人:龚瑞娥、王曼平、吕一欣,电话:0731-4327429,传真:0731-4327237。