

文章编号:1005-6947(2006)04-0253-04

· 乳腺外科专题研究 ·

XIAP 和 survivin 联合检测判断乳腺癌预后的研究

东星, 周卫东, 姜莹莹

(沈阳军区第二〇五医院 普通外科, 辽宁 锦州 121001)

摘要:目的 研究乳腺癌组织 X 染色体连锁的凋亡抑制蛋白(XIAP)和 survivin 基因变化规律, 探讨两者预测乳腺癌复发的价值。方法 应用免疫组织化学方法检测 65 例良、恶性乳腺病变组织中 XIAP 和 survivin 的表达, 并比较其阳性表达率的差异。结果 复发乳腺癌(复发组)两指标的阳性率依次为 82.2% 和 85.7%, 无复发乳腺癌组织(无复发组)依次为 54.5% 和 45.5%; 两组的 XIAP 和 survivin 阳性表达率均高于乳腺纤维腺瘤组织的 20% 和 13.3%。复发组 XIAP, survivin 阳性表达明显高于无复发组($P < 0.01$)。复发组 XIAP 表达与组织学分级呈正相关($r = 0.472, P < 0.05$), 与激素受体呈负相关($r = -0.486, P < 0.05$); survivin 表达与组织学分级亦呈正相关($r = 0.532, P < 0.05$); XIAP 表达与 survivin 表达呈正相关($r = 0.447, P < 0.05$)。结论 XIAP 和 survivin 可能在乳腺癌的发生、发展过程中起重要作用。联合检测两指标可能更好地判断乳腺癌的预后。

关键词: 乳腺肿瘤/诊断; 腺癌/诊断; 预后; 凋亡抑制蛋白; Survivin

中图分类号: R737.9; R730.261

文献标识码: A

Study of combined determination of XIAP and survivin for predicting the prognosis of breast carcinoma

DONG Xing, ZHOU Wei-dong, JIANG Ying-ying

(Department of General Surgery, the 205 Hospital of PLA, Liaoning, Jingzhou 121001, China)

Abstract: **Objective** To study the expressions of XIAP and survivin in breast carcinoma tissues and their value in predicting the recurrence of breast carcinoma. **Methods** The expression of XIAP and survivin in 65 benign and 65 malignant breast paraffin-embedded specimens was detected by using immunohistochemical assay and the results were compared. **Results** The positive rate of XIAP and survivin in recurrent breast carcinoma (recurrent group) was 82.2% and 85.7% respectively, and in non-recurrent breast carcinoma tissue (non-recurrent group) was 54.5% and 45.5% respectively, and in both groups were increased significantly as compared with that of benign breast tissues (20.0%, and 13.3% respectively). The positive expression of XIAP and survivin was increased significantly in recurrent group as compared with non-recurrent group ($P < 0.01$). In recurrent group, XIAP expression had a positive correlation with histologic grade ($r = 0.472, P < 0.05$), but negative correlation to estrogen and progesterone receptors ($r = -0.486, P < 0.05$); survivin expression also had a positive correlation with histologic grade ($r = 0.532, P < 0.05$); XIAP and surviving expression had positive correlation ($r = 0.447, P < 0.05$). **Conclusions** XIAP and survivin oncogene may play an important role in the development of breast cancer, and suggests that their combined detection is valuable for better prediction of the prognosis of breast cancer.

Key words: Breast Neoplasms/diag; Adenocarcinoma/diag; Prognosis; XIAP; Survivin

CLC number: R737.9; R730.261

Document code: A

收稿日期:2006-01-11; 修订日期:2006-03-01。

作者简介:东星,男,辽宁阜新人,沈阳军区第二〇五医院主治医师,主要从事乳腺肿瘤方面的研究。

通讯作者:东星 电话:0416-2963191; E-mail:j2728@tom.com。

乳腺癌的复发是指病理证实的乳腺癌经治疗(包括手术、放疗、化疗)后在原发灶附近或远隔器官出现病理性质完全相同的癌组织的现象。XIAP和survivin均为凋亡抑制因子,与乳癌的发生发展有关。笔者用免疫组织化学(免疫组化)法检测乳腺良、恶性病变组织X染色体连锁的凋亡抑制蛋白(XIAP)和survivin的表达,并对比分析两者间的异同,旨在探讨其对预测乳腺癌预后的价值。

1 资料与方法

1.1 标本及其一般资料

50例乳腺癌石蜡包埋组织标本,其中22例无

复发者取自规范治疗后已随访3~5年无复发的乳腺癌患者的原手术切除标本;临床分期12例为IIa期,10例为IIb期;年龄35~72(平均53)岁。另28例复发者标本取自规范治疗后随访3年内出现胸壁复发或锁骨上淋巴结或骨、肺、肝、脑转移的乳腺癌患者的原手术切除标本;临床分期II期19例(5例为IIa期,14例为IIb期),III期9例(4例为IIIa期,5例为IIIb期;年龄36~71(平均54)岁。50例乳腺癌病理组织学及核分级和雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR)检测结果见表1。另以15例乳腺纤维腺瘤石蜡包埋组织标本作为对照组,年龄27~58(平均42)岁。所有患者均为女性。

表1 50例乳腺癌组织学及核分级和ER,PR情况

组别	n	组织学及核分级			激素受体			
		I	II	III	ER(+)PR(+)	ER(+)PR(-)	ER(-)PR(+)	ER(-)PR(-)
无复发	22	11	7	4	9	5	6	2
复发	28	7	11	10	7	5	4	12

1.2 实验方法

XIAP及survivin检测采用免疫组化SABC法。特异性兔抗人XIAP抗体工作浓度为1:100,特异性兔抗人survivin抗体工作浓度为1:50。上述抗体及SABC试剂盒和全部免疫组化染色所用试剂均购自武汉博士德生物工程有限公司。实验操作严格按照说明书进行。

1.3 结果判定

用预实验中已知的XIAP或survivin表达阳性片作阳性对照,用磷酸盐缓冲液(PBS)代替一抗作为阴性对照。细胞膜或细胞浆出现明显的棕黄色颗粒为阳性细胞,无着色或与背景颜色一致的为阴性细胞。随机选择5个高倍视野,计数细胞总数和阳性细胞数,得出阳性细胞百分率。计分:无阳性细胞为0分,阳性细胞百分率1%~25%为1分,26%~49%为2分,≥50%为3分。根据多数细胞的着色强度计算强度得分:无着色为0分,浅棕褐色为1分,棕褐色为2分,深棕褐色为3分。阳性率和强度相加后的结果:0~1分为(-),2分为(+),3~4分为(++),5~6分为(+++)。

1.4 统计学处理

采用SPSS11.0软件对数据资料进行分析。组间率的比较采用 χ^2 检验;采用Spearman行相关分析。检验水准 $\alpha = 0.05$; $P < 0.05$ 为差异具有显著性。

2 结果

2.1 XIAP的表达

XIAP阳性染色位于细胞浆内,细胞核与细胞膜均未见着色。无复发组阳性表达率明显高于乳腺纤维腺瘤组,差异有显著性($\chi^2 = 4.416$, $P = 0.036$)。复发组阳性表达率显著高于乳腺纤维腺瘤组($\chi^2 = 15.779$, $P < 0.001$)。复发组XIAP阳性表达较无复发组显著升高($\chi^2 = 4.468$, $P = 0.035$)(表2)。

2.2 survivin的表达

survivin免疫组化阳性产物呈棕黄色-深黄色细颗粒状,定位于细胞浆内。无复发组和复发组阳性表达率均较乳腺纤维腺瘤组显著增高,差异均有显著性($\chi^2 = 4.199$, $P = 0.04$; $\chi^2 = 21.406$, $P < 0.001$)。复发组阳性表达显著高于无复发组($\chi^2 = 9.177$, $P = 0.002$)(表2)。

表2 各组乳腺病变组织 XIAP 和 survivin 的表达

序号	组别	例数	XIAP				survivin					
			(-)	(+)	(++)	(+++)	阳性率(%)	(-)	(+)	(++)	(+++)	阳性率(%)
I	乳腺纤维腺瘤	15	12	1	2		20.0	13	1	1		13.3
II	无复发	22	10	5	5	2	54.5 ^{1),3)}	12	6	3	1	45.5 ^{4),6)}
III	复发	28	5	4	8	11	82.2 ²⁾	4	7	5	12	85.7 ⁵⁾

注:1)与I比, $P < 0.05$; 2)与I比, $P < 0.01$; 3)与III比, $P < 0.05$; 4)与I比, $P < 0.05$; 5)与I比, $P < 0.01$; 6)与III比, $P < 0.01$ (均指同一指标的组间比较)

2.3 XIAP 和 survivin 与乳腺癌临床病理特征的关系

复发组 XIAP 表达与组织学分级呈正相关,与激素受体呈负相关,与临床分期无相关性;survivin 表

达亦与组织学分级呈正相关,与临床分期和激素受体无相关性。无复发组 XIAP 和 survivin 表达与临床分期、组织学分级及激素受体均无相关性(表3)。

表3 XIAP 和 survivin 的表达与乳腺癌临床病理特征的关系

病理特征	复发组				无复发组			
	XIAP 表达		Survivin 表达		XIAP 表达		survivin 表达	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
临床分期	0.280	>0.05	0.217	>0.05	0.266	>0.05	0.241	>0.05
组织学分级	0.472	<0.05	0.532	<0.05	0.237	>0.05	0.258	>0.05
激素受体	-0.486	<0.05	-0.196	>0.05	0.214	>0.05	0.224	>0.05

2.4 XIAP 与 survivin 表达间的相关性

复发组 XIAP 表达与 survivin 表达呈正相关($r = 0.447$, $P < 0.05$),无复发组 XIAP 与 survivin 表达不具有相关性($r = 0.121$, $P > 0.05$)。

3 讨论

患者以乳腺癌就诊时,一部分已存在亚临床微小转移灶,虽经根治,以后仍可能出现复发或转移。因此根据有关因素判断预后,区分其中容易复发或转移的病例,给予针对性的综合治疗,可望提高治疗效果。最常用的判断预后的指标是临床病理因素,包括肿瘤的大小、淋巴结转移和肿瘤的组织学分级。肿瘤越大,淋巴结转移数目越多,细胞分化程度越低,复发和转移的可能性则越大。本组22例无复发乳腺癌中IIIb期有10例,而复发组28例中,有14例为IIIb期,提示肿瘤大小,淋巴结转移数目判断预后并非适合于所有患者。

XIAP 是 Peter^[1] 等于 1996 年在人的胚胎脑组织细胞中克隆出的凋亡抑制蛋白(inhibitor of apoptosis protein, IAP)家族中作用最强的一员,其基因定位于

Xq24-25,编码区由7个外显子组成,cDNA由2540bp碱基组成;编码含497个氨基酸,分子质量为54kD。此后的研究发现XIAP存在于多种正常组织,而在多种恶性肿瘤中表达水平明显升高,认为它可能在细胞的增殖过程和细胞向恶性转化过程中发挥重要作用^[2-3]。XIAP可直接抑制凋亡起始因子caspase-9以及效应分子caspase-3与caspase-7的活性,抑制细胞对外源性凋亡诱导信号诱导的细胞凋亡,参与肿瘤细胞的异常增殖^[4-5]。本研究结果显示,无复发组和复发组XIAP阳性表达率较乳腺纤维腺瘤组显著增高,推测XIAP的表达升高可能在乳腺癌的发生、发展中起一定作用,且癌组织细胞增殖水平较良性病变组织细胞高。复发组XIAP阳性表达较无复发组显著增高,且该组XIAP表达与组织学分级呈正相关,即肿瘤分化程度越低,XIAP表达越高;与激素受体呈负相关,即受体阴性者,XIAP表达越强。而无复发组XIAP的表达与组织学分级和激素受体均未显示相关性。表明增殖活跃的癌细胞更容易侵袭和转移,XIAP表达强对预测乳腺癌复发和转移具有一定的价值。

survivin 是 IAP 家族的新成员,是具有抑制细胞凋亡和调节细胞分裂的双功能蛋白,是迄今发现的最强的凋亡抑制因子之一。survivin 主要表达于胚胎和发育的胎儿组织,但不见于终末分化的成人组织(胸腺和生殖腺除外),而在多种肿瘤等增殖细胞中有不同程度的表达^[6]。Survivin 主要通过三种方式直接或间接抑制 caspase 活性而抗凋亡:(1)直接结合 caspase-9;(2)封闭辅助性线粒体源性激活因子(second mitochondria-derived activator of caspase, SMAC),保护 IAP 家族成员免受其抑制;(3)增强 IAP 家族成员功能,对抗 SMAC 作用^[7]。除了抑制凋亡,survivin 还在细胞分裂过程中起重要作用,特异性地作用于 G₂/M 期^[8]。所以 survivin 表达具有明显的细胞周期性;survivin mRNA 及其蛋白选择性在有丝分裂期增多。李志红等^[9]发现抗癌药三氧化二砷和阿霉素均能下调人肝癌细胞株 HepG2 中 survivin 表达,且具有时相与浓度依赖性,认为 survivin 表达降低增加了 HepG2 细胞对化疗药物的敏感性,促进对 HepG2 细胞的凋亡诱导作用。毛杰等^[10]研究了 80 例乳腺癌病例,发现 survivin 表达阳性者术后 5 年生存率明显低于 survivin 表达阴性者,认为 survivin 表达可作为判断预后的一个参考指标。本资料无复发组和复发组 survivin 阳性表达率较乳腺纤维腺瘤组显著增高,提示 survivin 可能也参与肿瘤增殖的发生、发展过程,表明癌组织细胞较良性病变组织细胞增殖活跃。复发组 survivin 的阳性表达较无复发组显著增高,且无复发组 survivin 表达与临床分期、组织学分级、激素受体未表现相关,而复发组 survivin 的表达与临床分期和激素受体亦无相关性,但与组织学分级(肿瘤恶性程度)呈正相关。表明 survivin 基因蛋白过表达是相对于临床分期和激素受体测定较为独立的预后指标,对预测乳腺癌治疗后复发和治疗方式的选择具有一定价值。

无复发组 XIAP 与 survivin 的表达间不具有相关性,复发组 XIAP 与 survivin 表达呈正相关,且复发组两指标的表达均与组织学分级(肿瘤恶性程度)呈正相关。故认为 XIAP 和 survivin 强阳性表达和组织

学分级高(恶性程度高、分化低)的乳腺癌患者其复发的可能性更大;XIAP 和 survivin 联合检测将为判断乳腺癌的预后提供一条新的途径。

参考文献:

- [1] Peter L, Natalle R, Katsuyuki T, *et al.* Suppression of apoptosis in mammalian cells by NAPI and a related family of IAP genes [J]. *Nature*, 1996, 379(15):349-353.
- [2] Ramp V, Krieg T, Caliskan E, *et al.* XIAP expression in an independent prognostic marker in clear-cell renal carcinomas [J]. *Hum Pathol*, 2004, 35(8):1022-1028.
- [3] Gruslin A, Qiu Q, Tsang BK. Influence of maternal smoking on trophoblast apoptosis throughout development: possible involvement of XIAP regulation [J]. *Biol Reprod*, 2001, 65(4):1164-1169.
- [4] Yang L, Cao Z, Yan H, *et al.* Coexistence of high levels of apoptotic signaling and inhibitor of apoptosis proteins in human tumor cells: implication for cancer specific therapy [J]. *Cancer Res*, 2003, 63(20):6815-6824.
- [5] Li J, Feng Q, Kim JM, *et al.* Human ovarian cancer and cisplatin resistance possible role of inhibitor of apoptosis proteins [J]. *Endocrinology*, 2001, 142(1):370-380.
- [6] Rohayem J, Diestelkoetter P, Weigle B, *et al.* Antibody response to the tumor associated inhibitor of apoptosis protein survivin in cancer patients [J]. *Cancer Res*, 2000, 60(7):1815-1817.
- [7] Verhagen AM, Ekort PG, Pakusch M, *et al.* Identification of DIABLO a mammalian protein that promotes apoptosis by binding to and antagonizing IAP proteins [J]. *Cell*, 2000, 102(1):43-53.
- [8] Kobayashi K, Hatano M, Otaki M, *et al.* Expression of amurine homologue of the inhibitor of apoptosis protein is related to cell proliferation [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96(4):1457-1462.
- [9] 李志红, 王志明, 穆拉德. 三氧化二砷与阿霉素对人肝癌细胞株 HepG2 中 survivin 表达的影响 [J]. *中国普通外科杂志*, 2005, 14(6):441-447.
- [10] 毛杰, 海健, 舒衡平. 乳腺癌组织中 survivin, p53 蛋白的表达与预后的关系 [J]. *中国普通外科杂志*, 2005, 14(4):265-268.