

文章编号:1005-6947(2007)01-0087-03

· 简要论著 ·

# XIAP 和 bcl-2 在乳腺癌中的表达及其意义

张颖超<sup>1</sup>, 王禹<sup>1</sup>, 姜洋<sup>2</sup>

(1. 吉林大学第二医院 基本外科, 长春 吉林 130041; 2. 吉林大学中日联谊医院 基本外科, 长春 吉林 130000)

**摘要:**为探讨 XIAP 和 bcl-2 在乳腺癌中的表达及其与细胞凋亡和增殖的关系, 笔者采用免疫组化 SP 法检测 60 例乳腺癌中的 XIAP, bcl-2 和增殖细胞核抗原 (PCNA) 的表达, 并用 TUNEL 法测定凋亡指数。结果示 XIAP 在患者的年龄、肿瘤大小、组织学分级、淋巴结转移等指标各组间差异无显著性 (均  $P > 0.05$ ), 但患者的生存期  $\geq 3$  年者 XIAP 的表达率显低于  $< 3$  年者 ( $P < 0.05$ )。bcl-2 在乳腺癌 I 级, II 级与 III 级相比较差异有显著性 ( $P < 0.05$ )。XIAP 与细胞凋亡和增殖有关; 而 bcl-2 仅与细胞凋亡有关。提示 XIAP 与乳腺癌患者的生存期有关, 可作为独立的评估预后的因素; 其表达与 bcl-2 表达之间无关, 提示两者是通过不同途径发挥各自的生物学作用。

[中国普通外科杂志, 2007, 16(1): 87-89]

**关键词:** 乳腺肿瘤; 免疫组织化学; TUNEL 法; 凋亡指数; XIAP; bcl-2

**中图分类号:** R737.9      **文献标识码:** B

XIAP 作为新发现的一种凋亡抑制因子, 在人类多种肿瘤中都有表达。本研究通过免疫组织化学染色 (免疫组化) SP 法检测 60 例乳腺癌 XIAP 和 bcl-2 的表达, 探讨两者在乳腺癌组织中的表达情况及它们之间的关系。

## 1 材料和方法

### 1.1 标本及其相关资料

收集本院 2000—2005 年乳腺癌术后的标本 60 例, 经 10% 中性福尔马林固定, 常规石蜡包埋, 4  $\mu\text{m}$  厚连续切片, 备作免疫组化和原位末端标记法 (TUNEL) 检测之用。所有病例均为女性, 年龄 31 ~ 65 (平均 48.6) 岁。均经 HE 切片证实诊断。按世界卫生组织 (WTO) 所采用的 Scarff-Bloom-Richardson (SBR) 标准, 由高年资病理医生对病例进行分级: I 级 17 例, II 级 23 例, III 级 20 例。按国际抗癌联盟的 TNM 期法分期: I 期 15 例, II 期 23 例, III 期 22 例。患者术前均未行化疗或放疗。60 例中, 54 例有随访结果, 随访时间  $\geq 3$  年。

### 1.2 试剂和方法

羊抗人 XIAP, bcl-2 购自美国 Santa Cruz 公司; SP 试剂盒购于福州迈新试剂公司; TUNEL 检测试剂盒购自德国宝灵曼公司。免疫组化采用柠檬酸钠缓冲液微波热修复, SP 法。用 DAB/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 显色, 苏木精衬染, 用已知的胃癌阳性片作为阳性对照, 用磷酸盐缓冲液 (PBS) 代替一抗作为阴性对照。TUNEL 检测按说明书操作。

### 1.3 免疫组化结果判断

每例随机观察 5 个高倍视野 ( $\times 400$ ), 每高倍视野计数 100 个瘤细胞。采用半定量积分法, 将染色强度分为 3 级: 无着色 1 分, 浅着色 2 分, 棕黄色 3 分。按阳性瘤细胞的百分比分 3 级:  $\leq 25\%$  为一级记 1 分, 26% ~ 75% 为二级记 2 分,  $\geq 76\%$  为 3 级记 3 分。每张切片最后的得分为两次评分的乘积 (1 ~ 9 分)。  $\geq 3$  分为阳性,  $< 3$  分为阴性。

### 1.4 凋亡指数 (AI) 和增殖指数 (PI) 的计算

利用 HMIAS-2000 高清晰度彩色图文分析系统, 每张切片选择 10 个高倍视域, 数 1 000 个肿瘤细胞。计数凋亡细胞和 PCNA 染色阳性细胞所占的百分比, 即为凋亡指数 (AI) 和增殖指数 (PI)。AI = 凋亡细胞数 / 瘤细胞总数  $\times 100\%$ , PI = PCNA 阳性细胞数 / 瘤细胞总数  $\times 100\%$ 。

**收稿日期:** 吉林省长春市科技厅资助项目 (06GG164)。

**收稿日期:** 2006-06-28; **修订日期:** 2006-10-23。

**作者简介:** 张颖超, 女, 吉林长春人, 吉林大学第二医院主治医师, 主要从事乳腺肿瘤方面的研究。

**通讯作者:** 王禹 E-mail: wangyu720529@yahoo.com.cn。

## 1.5 统计学处理

用 SAS6.12 统计软件,选择  $\chi^2$  检验、Fisher's 精确概率法和  $t$  检验。

## 2 结果

### 2.1 XIAP, bcl-2 表达与乳腺癌临床病理特征的关系

XIAP 表达位于胞浆(图1),与患者的生存期有关( $P < 0.05$ ) (表1)。bcl-2 阳性染色位于胞浆或胞膜(图2),组织学分级 I, II 级与 III 级相比较有统计学意义(表1)。

### 2.2 XIAP, bcl-2 表达与 AI, PI 的相关性

凋亡细胞分散于癌细胞间,胞体变小与周围癌细胞分离,呈紫蓝色(图3)。XIAP, bcl-2 的表达与 AI, PI 的关系见表2。

### 2.3 XIAP 与 bcl-2 表达的关系

统计学分析表明,两者关系不明显( $P > 0.05$ ) (表3)。

表1 XIAP 和 bcl-2 表达与临床病理特征的关系

病理特征	总例数 (n)	阳性表达	
		XIAP 例数(%)	bcl-2 例数(%)
年龄(岁)			
≤48.6	21	15(71)	12(57)
>48.6	39	25(64)	25(64)
肿瘤直径(cm)			
≤2	27	17(63)	18(67)
>2	33	23(70)	19(58)
淋巴结转移			
有	36	26(72)	24(66)
无	24	14(58)	13(54)
组织学分级			
I	17	11(65)	14(82) <sup>1)</sup>
II	23	16(70)	16(70) <sup>2)</sup>
I,II	20	13(65)	7(35)
临床分期			
I,II	38	25(66)	24(63)
III	22	15(68)	13(59)
生存期(年)			
≥3年	28	13(46) <sup>3)</sup>	19(68)
<3年	26	19(73)	16(62)

注:与 III 级比较,1)  $P < 0.01$ ; 2)  $P < 0.05$ ; 3) 与生存期 > 3 年者比较,  $P < 0.05$

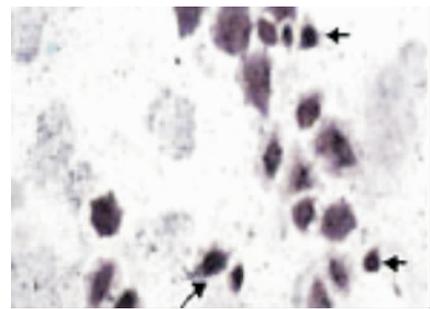
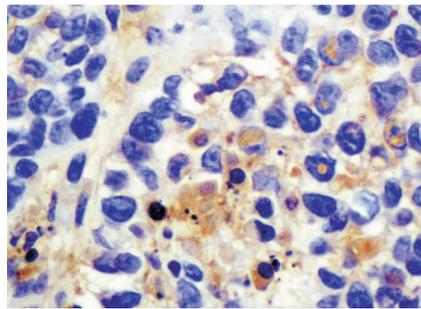
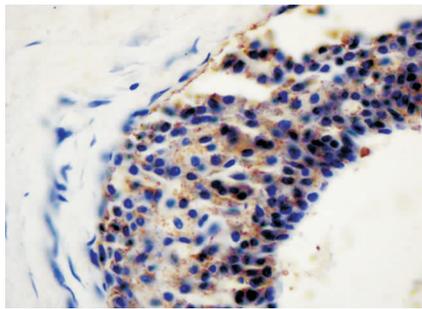


图1 乳腺癌组织 XIAP 蛋白表达 (SP × 400), 阳性表达位于胞浆 图2 bcl-2 在乳腺癌中的表达 (SP × 400), 阳性表达位于胞浆 图3 乳腺癌组织中的细胞凋亡(TUNEL × 600)

表2 XIAP, bcl-2 的表达与 AI, PI 的关系( $\bar{x} \pm s$ ) %

组别	n	AI	PI
XIAP			
阴性	20	10.30 ± 2.19 <sup>1)</sup>	35.01 ± 8.69 <sup>2)</sup>
阳性	40	6.89 ± 2.31	58.06 ± 10.36
bcl-2			
阴性	23	10.56 ± 2.01 <sup>2)</sup>	45.96 ± 12.89
阳性	37	7.09 ± 2.56	51.99 ± 13.36

注:与阳性组比较,1)  $P < 0.05$ , 2)  $P < 0.01$

表3 XIAP 与 bcl-2 表达的关系

指标	bcl-2 阳性例数(%)	bcl-2 阴性例数(%)
XIAP 阳性	26(43)	14(23)
XIAP 阴性	11(18)	9(15)

注:  $P > 0.05$

## 3 讨论

XIAP 是凋亡抑制蛋白(inhibitor of apoptosis protein, IAP)家族的一员<sup>[1]</sup>。研究发现, XIAP 存在于多种正常组织,在多种恶性肿瘤中表达水平明显升高;故认为 XIAP 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<sup>[2-3]</sup>,是 IAP 家族中作用最强的一种。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,参与肿瘤细胞对化疗药物耐药性的产生<sup>[4-5]</sup>。本研究显

示 XIAP 在乳腺癌表达的阳性率为 67%, 与患者的年龄、肿瘤的大小、淋巴结的转移、组织学分级和临床分期无关, 但与生存期有关。随访结果  $\geq 3$  年生存者的 XIAP 阳性率为 46%,  $< 3$  年的病例中阳性率为 73%, 差异有显著性 ( $P < 0.05$ )。

XIAP 阳性组的平均凋亡指数明显低于阴性组, 而 XIAP 阳性组的增殖指数明显高于阴性组。说明 XIAP 不仅参与凋亡的调控, 还促进了细胞增殖。

bcl-2 在乳腺癌的阳性表达, I 级和 II 级明显高于 III 级者 ( $P < 0.01$  和  $P < 0.05$ )。表明了 bcl-2 的表达与肿瘤恶性程度有关, 即随着恶性等级增高, 其阳性率逐渐降低。此结果与文献报道的一致<sup>[6-7]</sup>。bcl-2 阳性组的平均凋亡指数低于 bcl-2 阴性组, 而两组之间的增殖指数无统计学差别。说明 bcl-2 有促凋亡作用而不影响细胞增殖。

XIAP 表达与 bcl-2 表达无关 ( $P > 0.05$ )。说明在抑制细胞凋亡的过程中, 它们通过不同途径发挥各自的生物学作用。XIAP 直接抑制 caspase-3, 7 和 caspase-9 起作用<sup>[4]</sup>。bcl-2 通过干扰细胞色素 C 的释放而阻断上游 caspase 蛋白酶的激活, 抑制细胞凋亡<sup>[8]</sup>。

#### 参考文献:

- [1] Peter L, Natale R, Katsuyuka 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 U, Krieg T, Caliskan E, *et al.* XIAP expression is an independent prognostic marker in clear-cell renal carcinomas [J]. *Hum Pathol*, 2004, 35(8): 1022-1028.
- [3] Cruslin 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] 高莉, 詹谿洲, 倪灿荣, 等. 乳腺癌中凋亡与细胞增殖及 Rb, bcl-2, c-myc 蛋白表达的关系 [J]. *临床与实验病理学杂志*, 1999, 15(2): 95-98.
- [7] 王禹, 张颖超, 潘玉琢, 等. 应用 RNAi 沉默 STAT3 基因促裸鼠移植瘤细胞凋亡及对 Bax/bcl-2 基因表达的影响 [J]. *中国普通外科杂志*, 2005, 14(4): 273-276.
- [8] Adams JM, Cory S. The bcl-2 protein family: arbiters of cell survival [J]. *Science*, 1998, 281(5381): 1322-1326.

## 本刊启事

最近本刊编辑部得到中国科学院文献情报中心通知, 从 2007 年开始本刊将成为中国科学引文数据库 (CSCD) 来源期刊。

由国家科技部中国科学技术信息研究所主办的中国科技论文统计结果发布会于 2006 年 10 月 27 日在北京国际会议中心举行。

与其同时, 中国科学技术信息研究所出版的 2006 年版《中国科技期刊引证报告》(核心版), 对 1 652 种中国科技论文统计源期刊的引文数据进行了统计分析。本刊总被引用频次为 912; 影响因子为 0.563。分别居 1 652 种统计源期刊的第 246 位和第 348 位。

中国普通外科杂志编辑部

2007 年 1 月 15 日