

文章编号:1005-6947(2005)04-0265-04

· 实验研究 ·

乳腺癌组织中 survivin, p53 蛋白的表达与预后的关系

毛杰¹, 海健¹, 舒衡平², 唐利立¹, 申正堂¹, 邬玉辉¹, 欧慧英¹

(中南大学 1. 湘雅医院 乳腺科, 湖南 长沙 410008; 2 湘雅医学院 病原学系, 湖南 长沙 410078)

摘要:目的 探讨乳腺癌组织中 survivin 基因和 p53 基因的表达与预后的关系。方法 用免疫组化 S-P 法检测 80 例乳腺癌组织中 survivin、p53 的表达, 分析其与腋淋巴结转移和 5 年无病生存率之间的关系。结果 survivin 基因在乳腺癌中阳性表达率为 68.75% (55/80)、p53 基因阳性表达率为 46.25% (37/80), 均与腋淋巴结转移相关 ($P < 0.05$), 与 5 年无病生存率相关 ($P < 0.05$)。survivin 和 p53 表达与肿瘤病理类型、发病年龄、临床分期无明显相关性 ($P > 0.05$); survivin 和 p53 基因表达相关 ($P = 0.0025$)。结论 survivin 和 p53 基因可能在乳腺癌的发生、发展过程中起重要作用, 联合检测能更好地判断乳腺癌的预后。

关键词: 乳腺肿瘤/病理学; 基因, p53; 基因, survivin; 淋巴转移; 预后

中图分类号: R737.9; R730.23

文献标识码: A

Relationship of oncogene survivin, p53 expression in breast cancer and its prognostic significance

MAO Jie¹, HAI Jian¹, SHU Heng-ping², TANG Li-li¹, SHEN ZHENG-tang¹,
WU Yu-hui¹, OU Hui-yin¹

(1. Department of Breast Surgery, Xiangya Hospital of Central South University, Changsha, 410008, China;
2. Department of Parasitology, Xiangya Medical school, Central South University, Changsha, 410078, China)

Abstract: **Objective** To investigate the expression of oncogene survivin, p53 in breast cancer and its prognostic significance. **Methods** The expression of survivin, p53 in breast cancer tissues of 80 cases were detected by immunohistochemistry S-P method, and its correlation with axillary lymph node metastasis and 5-year disease free survival (DFS) was analysed. **Results** In breast cancer tissues, survivin gene positive expression rate was 68.75% (55/80), p53 gene positive expression rate was 46.25% (37/80), and both had a positive correlation with axillary lymph node metastasis but negative correlation to 5 years DFS ($P < 0.05$); survivin and p53 genes expression have no obvious correlation with the pathological type of breast cancer patient age and clinical stage ($P > 0.05$); survivin and p53 genes expression have positive correlation ($P < 0.05$). **Conclusions** survivin and the p53 oncogene may play an important role in the occurrence and progression of breast cancer, and suggests that their combined detection is valuable for better decision-making on the prognosis of breast cancer.

Key words: BREAST NEOPLASMS/pathol; GENE, p53; GENE, survivin; LYMPHATIC METASTASIS; PROGNSIS

CLC number: R737.9; R730.23

Document code: A

乳腺癌是妇女最常见的恶性肿瘤之一。近年

来, 乳腺癌发病率呈明显上升趋势, 在一些大中城市

收稿日期: 2005-01-04; 修订日期: 2005-02-14。

作者简介: 毛杰 (1958-), 男, 湖南长沙人, 中南大学湘雅医院副教授, 主要从事乳腺癌防治方面的研究。

通讯作者: 毛杰 E-mail: maojie1166@sina.com.cn。

已跃居女性恶性肿瘤的首位或第 2 位。流行病学调查表明, 25~35 岁乳腺癌发病大幅增加, 10 年间平均增长速度高达 10.7%; 55~65 岁为第 2 高峰。乳腺癌标志物的检测可反映肿瘤的生物特性

性,对指导治疗、辅助诊断、判断预后均有重要意义,备受临床医师的重视^[1]。survivin 是最新发现的凋亡抑制蛋白(inhibitor of apoptosis protein, IAP)家族新成员,是具有抑制凋亡和调节细胞分裂的双功能蛋白,是迄今发现最强的凋亡抑制因子^[2],其与肿瘤的关系已成为热门研究课题。

1 材料与方法

1.1 一般资料

回顾性分析我院 1997 ~ 1998 年间经病理确诊、行手术切除、且有 5 年以上完整随访资料的 80 例乳腺癌患者的临床病理资料。80 例均为女性,平均年龄(47.68 ± 5.6)岁。根据国际抗癌联盟标准行乳腺癌 TNM 临床分期:I 期 18 例,II 期 49 例,III 期 8 例,IV 期 5 例。除 2 例行单纯乳房切除术,其余患者均行乳腺癌经典根治术或改良根治术。所有标本经 10% 福尔马林液固定,石蜡包埋,切片,

行 HE 染色。

1.2 实验方法

采用 SP 三步法,具体操作按试剂说明书进行。survivin 检测一抗为兔抗人 survivin 单克隆抗体(工作浓度为 1:50);p53 检测一抗为鼠抗人单克隆抗体(工作浓度 1:33),均购自武汉博士德公司。阳性对照为预实验中已知的 survivin 或 p53 表达阳性片,阴性对照用 PBS 代替一抗。免疫组化染色前均经 HE 染色复查病理类型。

1.3 结果判定

survivin 免疫组化阳性产物呈棕黄色~深黄色细颗粒状(图 1),定位于细胞胞浆内,根据阳性细胞所占视野面积的百分比和染色强度分别记:(-)为无明显阳性反应细胞;(+)为阳性细胞的面积 ≥ 25%。p53 染色结果判断标准:以细胞核呈棕色(图 2)为染色阳性,散在或巢状分布,视野内肿瘤细胞阳性率 ≥ 10% 为表达阳性, < 10% 为阴性。

图 1 乳腺癌组织 survivin 免疫组织化学染色,胞浆着色(×200)

图 2 乳腺癌组织 p53 免疫组织化学染色,胞核着色(×200)

1.4 统计学处理

组间率的比较采用 χ^2 检验和 Fisher 确切概率法检验,检验水准 $\alpha = 0.05$ 。 $P < 0.05$ 为具有显著性差异。应用 SPSS11.0 软件对数据资料进行分析。相关性比较采用 Spearman 相关分析。

2 结果

2.1 survivin, p53 蛋白的表达与乳腺癌病理类型、

发病年龄、临床分期的关系

survivin 蛋白阳性率为 68.75% (55/80); p53 蛋白阳性表达率为 46.25% (37/80)。二者在乳腺癌的各种病理类型、发病年龄、临床分期之间的阳性表达率均无统计学差异($P > 0.05$)(附表)。

附表 survivin,p53 蛋白的表达与乳腺癌病理类型、发病年龄、临床分期的关系(%,n)

临床资料	survivin(+)	χ^2	<i>P</i>	p53(+)	χ^2	<i>P</i>
病理类型 [†]						
浸润性非特异性癌	68.97(40/58)			46.55(27/58)		
浸润性特异性癌	70.59(12/17)	0.005	0.946	47.06(8/17)	0.008	0.930
非浸润性癌	60.00(3/5)			40.00(2/5)		
发病年龄						
≤50岁	67.44(29/43)			56.51(20/43)		
>50岁	70.27(26/37)	0.074	0.786	45.95(17/37)	0.003	0.960
临床分期						
I,II期	67.16(45/67)			44.78(30/67)		
III,IV期	76.92(10/13)	0.135	0.713	53.85(7/13)	0.360	0.548

注:† χ^2 及 *P* 值为浸润性非特异性癌与浸润性特异性癌和非浸润性癌相比

2.2 survivin,p53 蛋白表达与腋淋巴结转移的关系

survivin 阳性率在有腋淋巴结转移组为 81.58% (31/38), 在无淋巴结转移组为 57.14% (24/42), ($\chi^2 = 5.545$, *P* = 0.019); p53 阳性率在有腋淋巴结转移组为 63.16% (24/38), 在无淋巴结转移组为 30.95% (13/42), ($\chi^2 = 8.324$, *P* = 0.004)。

2.3 survivin 与 p53 蛋白表达之间的关系

survivin 在 p53 阳性组中的表达率为 89.19% (33/37), 在 p53 阴性组中的表达率为 51.16% (22/43), 两者间差异有统计学意义 ($\chi^2 = 13.385$, *P* = 0.00025)。

2.4 survivin,p53 蛋白表达与 5 年无病生存率的关系

在 80 例随访资料完整的患者中,5 年无病生存率为 81.25% (65/80), 死亡率为 18.75% (15/80)。survivin 阳性表达者的 5 年生存率为 74.55% (41/55), 而 survivin 阴性表达者的 5 年生存率为 96.00% (24/25), 其差别有统计学意义 (*P* = 0.018); p53 阳性表达者的 5 年生存率为 64.86% (24/37), p53 阴性表达者的 5 年生存率为 95.35% (41/43), 差别亦有统计学意义 ($\chi^2 = 12.131$, *P* = 0.0005)。

3 讨论

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。survivin 的组织分布特征与其他凋亡抑制因子有着显著不同,具有明显的细胞选择性,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),而多种肿瘤等增殖细胞中有不同程度表达^[3]。survivin 主要通过 3 种方式直接或间接抑制 Caspase 活性而抗凋亡:(1) survivin 直接结合 Caspase-9;(2) survivin 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) survivin 增强 IAP 家族成员功能,对抗 SMAC 作用^[4]。除了抑制凋亡,survivin 还在细胞分裂过程中起重要作用,特异性作用于 G₂/M 期^[5],所以 survivin 表达具有明显细胞周期性,survivin mRNA 及其蛋白选择性在有丝分裂期增多。Fortugno 等^[6]认为,在有丝分裂细胞中 survivin 存在一个亚细胞池,约 80% 的 survivin 与有丝分裂中期的中心体和微管结合并发挥主要作用。Sato 等^[7]发现胰腺癌 survivin 的表达阳性率为 76.9%,认为在肿瘤发生早期阶段即有 survivin 表达上调,并与凋亡指数明显相关。Kato 等^[8]研究了 51 例食管癌病例,认为 survivin 高表达的食管癌患者平均生存期(9 个月)明显短于 survivin 低表达者(30 个月;*P* = 0.0023),survivin 表达可作为判断预后的一个重要指标。吴万敏等^[9]报道,survivin 表达阴性者术后生存时间均明显高于 survivin 表达阳性者。本组乳腺癌组织阳性表达率为

survivin 是凋亡抑制蛋白(IAP)家族的新成员,

68.75% (55/80), survivin 阴性表达者 5 年生存率为 96.00% (24/25), 明显高于 survivin 阳性表达者的 74.55% ($P < 0.05$), 与文献报道一致^[10], survivin 蛋白的表达与肿瘤病理类型、发病年龄、临床分期无明显相关性 ($P > 0.05$), 与腋淋巴结转移和 5 年无病生存率相关 ($P < 0.05$), 提示 survivin 可能参与肿瘤增殖的发生、发展过程, 但其作用机制有待进一步研究。

p53 基因与乳腺癌的关系已有诸多报道, 用免疫组化方法检测到的是突变型 p53, 已不具备“分子警察”的功能, 多数学者^[11]认为其过度表达者常提示肿瘤恶性程度高, 临床预后差。本研究中 p53 过表达率为 46.25% (37/80), 与文献报道的基本相同^[12], 与肿瘤病理类型、发病年龄、临床分期无明显相关性 ($P > 0.05$); 与腋淋巴结转移和 5 年无病生存率相关 ($P < 0.05$)。

本研究还显示: survivin 表达与 p53 的表达两者之间明显相关 ($P < 0.05$), 且 survivin 在 p53 阳性的乳腺癌表达明显高于 p53 阴性者 ($P < 0.05$), 推测作为一种上游的信号分子, p53 基因的突变可能通过细胞内一条或多条传导通路刺激 survivin 表达, 而促进 survivin 的表达可能是 p53 突变致癌的又一个机制。联合检测乳腺癌组织中 survivin 和 p53 基因表达可以成为选择、评估乳腺癌患者临床治疗方案和预后的参考, 如能对大宗病例进行多指标、多水平的联合检测, 将会大大提高临床预后的预测效果, 成为临床医生更客观地向患者推荐个体化的术后综合治疗方案的参考。

参考文献:

- [1] Mai GF, Zheng H, Luo RC, *et al.* Association of progesterone receptor and HER2 expression with the survival time of patient with breast cancer [J]. *Di-yi Junyi Daxue Xuebao*, 2003, 23 (4): 372 - 374.
- [2] Ambrosini G, Adida C, Altieri DC. A novel anti-apoptosis gene, survivin, expressed in cancer and lymphoma [J]. *Nat Med*, 1997, 3 (8): 917 - 921.
- [3] 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.
- [4] 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.
- [5] 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.
- [6] Fortugno P, Wall NR, Giodini A, *et al.* survivin exists in immunohistochemically distinct subcellular pools and is involved in spindle microtubule function [J]. *J Cell Sci*, 2002, 115 (3): 575 - 585.
- [7] Satoh K, Kaneko K, Hirota M, *et al.* Expression of survivin correlated with cancer cell apoptosis and is involved in the development of human pancreatic duct cell tumors [J]. *Cancer*, 2001, 92 (2): 271 - 278.
- [8] Kato J, Kuwabara Y, Mitani M, *et al.* Expression of survivin in esophageal cancer: correlation with the prognosis and response to chemotherapy [J]. *Int J Cancer*, 2001, 95 (2): 92 - 95.
- [9] 吴万敏, 王小娟, 孟化. survivin 在乳腺癌中的表达及其临床意义 [J]. *中国普通外科杂志*. 2004, 13 (11): 868 - 869.
- [10] Tanaka K, Iwamoto S, Gon G, *et al.* Expression of survivin and its relationship to loss of apoptosis in breast carcinomas [J]. *Clin Cancer Res*. 2000, 6 (1): 127 - 134.
- [11] 厉红元, 吴凯南, 刘胜春. 血管生成对乳腺癌的预后价值及与 p53 表达的关系 [J]. *中国普通外科杂志*, 2003, 12 (5): 341 - 343.
- [12] 赵春临, 吴飞跃. P53、p21 在乳癌中的表达及意义 [J]. *中国普通外科杂志*, 2001, 10 (5): 415 - 418.