

# Correlation Between Expressions of Survivin and P53 Proteins and Relapse of Transitional Cell Carcinoma of Bladder

## Survivin 和 P53 蛋白表达与膀胱移行细胞癌复发的关系

CHEN Wen<sup>1</sup>, ZHENG Shan<sup>2</sup>, XIAO Ze-jun<sup>3</sup>, LIU Xiu-yun<sup>2</sup>,  
DI Xue-bing<sup>1</sup>, XU Nin-zhi<sup>4</sup>, FANG Jian<sup>1</sup>, CHENG Shu-jun<sup>1</sup>,  
GAO Yan-ning<sup>1</sup>

陈 汶<sup>1</sup>/郑 闪<sup>2</sup>/肖泽均<sup>3</sup>/刘秀云<sup>2</sup>/  
邸雪冰<sup>1</sup>/徐宁志<sup>4</sup>/方 健<sup>1</sup>/程书钧<sup>1</sup>/  
高燕宁<sup>1</sup>

(1. Cancer Institute (Hospital), 2. Department of pathology;  
3. Department of urinary surgery; 4. Lab of molecular cell biology,  
Peking Union Medical College & Chinese Academy of Medical  
Science, Beijing 100021, China)

(1. 中国协和医科大学/中国医学科学院肿瘤医院  
医院肿瘤研究所 北京 100021; 2. 病理科;  
3. 泌尿外科; 4. 分子细胞生物学研究室)

**【摘要】**背景与目的：分析膀胱移行细胞癌肿瘤组织中 Survivin 和 P53 蛋白的表达情况，并探讨它们与肿瘤复发的关系。材料与方法：应用免疫组织化学方法检测 75 例膀胱移行细胞癌石蜡包埋肿瘤组织中 Survivin 和 P53 蛋白的表达。并按照患者临床病理级别分层，使用 Mantel-Haenszel 等统计学方法分析上述两种蛋白的表达与膀胱癌复发的相对危险度及显著性水平。结果：膀胱癌组织 Survivin 蛋白在胞浆、胞核检出率和 P53 蛋白的阳性检出率分别为 76.0%、30.7% 和 53.33%；Survivin(胞浆)与 P53 并联使用阳性检出率为 84.0%。以 Survivin 蛋白的胞浆、胞核的表达和 P53 蛋白表达、以及二者并联使用预测膀胱癌复发的灵敏度分别为 87.50%、37.50%、71.88% 和 96.88%；特异度分别为 32.56%、74.42%、61.90% 和 25.58%。使用四格表检验，Survivin 蛋白胞浆检出 OR = 3.38, 95%CI(0.99 ~ 11.52), P = 0.044；P53:OR = 3.91, P = 0.005；Survivin 和 P53 并联:OR = 10.66, P = 0.0087。按照病理分级分层，P53:OR = 3.41, P = 0.016；P53 和 Survivin 蛋白联合应用 OR = 8.86, P = 0.022。结论：肿瘤组织中 P53 蛋白的过度表达提示膀胱移行细胞癌复发风险较高，但是仍需要和其他生物学指标联合应用。

**【关键词】** Survivin；P53；膀胱肿瘤；移行细胞癌；复发

中图分类号：R734

文献标识码：A

文章编号：1004-616X(2006)06-0447-003

**【ABSTRACT】** BACKGROUND & AIM: To explore the correlation between up-regulated expressions of Survivin and P53 proteins in the tumor tissues and relapse of transitional cell carcinoma (TCC) of the bladder. MATERIALS AND METHODS: Survivin and P53 proteins in the paraffin-embedded tumor tissues derived from 75 cases of TCC were examined by immunohistochemical staining. The expressions of the two proteins and the pathological grading were assessed, using Mantel-Haenszel analysis to calculate the odds ratios and significance level for difference of the indicators between the relapse and non-relapse groups of the TCC patients. RESULTS: The positive staining rates of Survivin in cytoplasm, Survivin in nuclei, P53, and cytoplasmic Survivin plus P53 were 76.0%, 30.67%, 53.33% and 84.0%, respectively. The sensitivity for predicting the relapse were 87.50%, 37.50%, 71.88% and 96.88%, respectively. The specificities were 32.56%, 74.42%, 61.90% and 25.58%, respectively. The relative risks for the relapse were as following, Survivin (cytoplasm): OR = 3.38, 95%CI (0.99 - 11.52), P = 0.044; P53: OR = 3.91, 95%CI (1.46 - 10.45), P = 0.005; Survivin plus P53: OR = 10.66, P = 0.0087. The odds ratios by pathological grading classification were, P53: OR = 3.41, P = 0.016; P53 plus Survivin: OR = 8.86, P = 0.022. CONCLUSION: Over-expression of P53 protein in the tumor tissues might suggest a high risk for recurrence of bladder TCC, whereas the association between overexpression of Survivin and relapse of TCC was not demonstrated.

**【KEY WORDS】** survivin; P53; bladder cancer; transitional cell carcinoma; relapse

收稿日期：2005-12-06；修订日期：2006-06-02

基金项目：首都医学发展科研基金项目(2002-2014)，国家自然科学基金项目(39370291)北京市自然科学基金项目(7012027)资助

作者简介：陈 汶(1972-)，男，重庆人，硕士，助理研究员，研究方向：肿瘤流行病学。电话：010-87788411；传真：010-67713648；Email: chenwen-1999@sohu.com。

\* Correspondence to: GAO Yan-ning, E-mail: yngao@pubem.cicams.ac.cn

移行细胞癌(Transitional cell carcinoma, TCC)是膀胱癌的主要组织病理学类型,目前临床上采用的分级、分期方法尚不能准确预测膀胱癌的生物学行为,我们用免疫组化法检测膀胱 TCC 患者肿瘤组织中的 Survivin 和 P53 蛋白,以探讨其表达与膀胱 TCC 复发的关系。

## 1 材料与方法

### 1.1 病例和研究材料

选择 1996 年 7 月至 2000 年 7 月中国协和医科大学肿瘤医院泌尿外科手术治疗的原发性膀胱 TCC 患者 75 例,与病人签订知情同意后,建立前瞻性研究队列。所有患者术后均采用膀胱内灌注治疗,PT3 期患者术后联合系统化腔镜治疗。1996 年 10 月至 2005 年 10 月通过门诊复查、电话询问和信件等方式随访研究对象,获得病人信息。调患者肿瘤的组织切片,以是否复发将研究对象划分为研究组和对照组。

### 1.2 组织学诊断和免疫组织化学染色

将石蜡包埋的肿瘤组织切片,HE 染色,由组织病理学医生复阅确认诊断。按照 1997 年世界卫生组织(WHO)标准作病理分级,采用 1997 年国际抗癌联盟(UICC)标准作临床分期。采用免疫组化 SP 法检测 Survivin 和 P53 蛋白的表达。Survivin 多克隆抗体为美国 Santa Cruz 公司产品(1:75 稀释);P53 蛋白单克隆抗体 Do-7 为美国 Maxin Biotech 公司产品(1:50 稀释);SP 试剂盒为福州迈新公司产品。步骤按试剂盒说明书进行。阴性对照为 PBS 代替特异性第一抗体,阳性对照为乳腺癌组织。将研究样品重新排序,采用盲法分组。

**1.3 统计学方法** 采用 SPSS 11.0 SAS 软件作数据处理。计算 Survivin 和 P53 蛋白阳性表达以及两者联合使用筛检复发膀胱癌病例的灵敏度和特异度。使用 Mantel-Haenszel 多个四格表联合检验考察 Survivin 和 P53 蛋白表达与膀胱癌复发的关系。

## 2 结果

### 2.1 研究队列的基本情况

本次随访队列中肿瘤复发病例数 32 例,未复发为

43 例。复发组男:女为 9.67:1,其对照组男:女为 3.78:1。平均年龄:复发组 60.78 岁,对照组为 55.14 岁。病理分级情况为:I 级 23 例、II 级 34 例、III 级 18 例。临床分期情况为:PTa 期 33 例、PT1 期 22 例、PT2 期 13 例、PT3a 期 5 例、PT3b 期 2 例,其随访前五年累积复发率分别为:10.7%、24%、29.3%、30.8%和 38.5%。

### 2.2 Survivin 和 P53 蛋白表达与肿瘤复发的关系

Survivin 阳性为胞浆或胞核棕黄色染色,P53 阳性为胞核棕黄色染色(图 1)。Survivin 蛋白胞浆和胞核阳性率检出率分别为 76.0%和 30.7%,P53 蛋白阳性率检出为 53.3%。以研究指标预测膀胱癌复发的灵敏度:Survivin 蛋白胞浆和胞核检出率分别为 87.50%和 37.58%,P53 蛋白为 71.88%;其特异度则分别为 32.56%、74.42%和 61.90%。

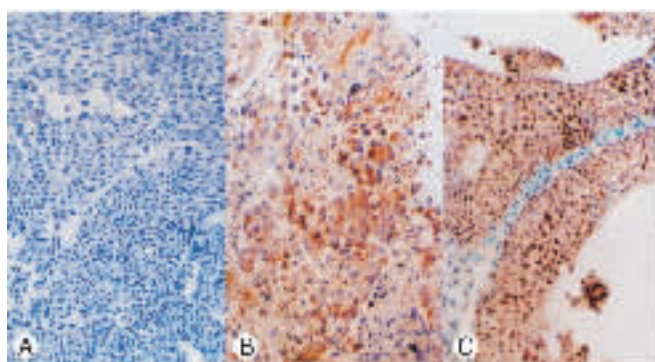


图 1 Survivin 和 P53 蛋白在膀胱移行细胞癌组织中的表达(免疫组化:A 对照,B Survivin 阳性 SP 法, $\times 200$ ,C P53 阳性 SP 法, $\times 200$ )  
Figure 1 Expression of Survivin and P53 proteins on tissue of bladder cancer (immunohistochemistry: A Normal, B Survivin<sup>+</sup> SP, C P53<sup>+</sup> SP  $\times 200$ )

Survivin 蛋白在复发和未复发组病人样品分布情况为:胞浆检出 OR = 3.38, 95%CI(0.99 ~ 11.52),  $P = 0.044$ ;胞核检出 OR = 1.75, 95%CI(0.65 ~ 4.70),  $P > 0.05$ 。P53 蛋白在复发和未复发组的表达差异显著 OR = 3.91, 95%CI (1.46 ~ 10.45),  $P = 0.005$  (表 1)。

### 2.3 以病理分级分层考察 Survivin 和 P53 蛋白表达与肿瘤复发的关系

Survivin 蛋白表达阳性率(胞浆或胞核)随病理分级(分为 I 和 II + III 两组)而升高,但是按照病理级别分层

表 1 Survivin 蛋白和 P53 蛋白与肿瘤复发的关系

Table 1 The relation between Survivin & P53 protein and relapsed bladder cancer

Group	Survivin				P53 <sup>c</sup>		Combination of P53 & Survivin (cytoplasm) <sup>d</sup>	
	cytoplasm <sup>a</sup>		cell nucleus <sup>b</sup>		-	+	-	+
	-	+	-	+	-	+	-	+
Unrelapsed	14	29	32	11	26	17	11	32
Relapsed	4	28	20	12	9	23	1	31
Total	18	57	52	23	35	40	12	63

<sup>a</sup> OR = 3.38, 95%CI (0.99 ~ 11.52),  $P = 0.044$ ; <sup>b</sup> OR = 1.75, 95%CI (0.65 ~ 4.70),  $P = 0.27$ ; <sup>c</sup> OR = 3.91, 95%CI (1.46 ~ 10.45),  $P = 0.005$ ; <sup>d</sup> OR = 10.66, 95%CI (1.30 ~ 87.53),  $P = 0.0087$

可以发现, 阳性组与阴性组相比差异无统计学意义 ( $P > 0.1$ )。P53 蛋白阳性组的复发比例随病理级别升高而升高, 复发率分别为 37.5% 和 62.5%。Mantel-Haenszel

多个四格表联合检验 结果见表 2。

### 2.4 Survivin 和 P53 蛋白检测联合使用与肿瘤复发的关系

表 2 不同病理分级分层下 Survivin 和 P53 蛋白表达与肿瘤复发的关系

Table 2 The relation of Survivin & P53 and relapsed bladder cancer by pathology diagnosis

Pathology diagnosis	Group	Survivin (Cytoplasm) <sup>a</sup>		Survivin (Cell nucleus) <sup>b</sup>		P53 <sup>c</sup>	
		- (%)	+ (%)	- (%)	+ (%)	- (%)	+ (%)
I	Unrelapsed	8	9	14	3	12	5
	Relapsed	1 (11.1)	5 (35.7)	4 (22.2)	2 (40.0)	3 (20.0)	3 (37.5)
	Total	9	14	18	5	15	8
II + III	Unrelapsed	6	20	18	8	14	12
	Relapsed	3 (33.3)	23 (53.5)	16 (47.1)	10 (55.6)	6 (30.0)	20 (62.5)

<sup>a</sup> OR = 2.84, 95% CI (0.81 ~ 10.00),  $P = 0.10$ ; <sup>b</sup> OR = 1.57, 95% CI (0.57 ~ 4.31),  $P = 0.38$ ; <sup>c</sup> OR = 3.41, 95% CI (1.24 ~ 9.34),  $P = 0.016$

将 Survivin(胞浆) 和 P53 蛋白表达两项指标并联使用 (Survivin 和 P53 任一阳性即为阳性) 阳性检出率为 84.0% (表 1); 灵敏度和特异度分别为 96.88% 和 25.58%。多个四格表联合检验结果为: OR = 8.86, 95% CI (1.04 ~ 75.20),  $P = 0.022$  (表 3)。

表 3 不同病理分级分层 Survivin 胞浆表达和 P53 蛋白表达与肿瘤复发的关系

Table 3 The relation of coupling of Survivin on cytoplasm & P53 and relapsed bladder cancer by pathology diagnosis

Pathology diagnosis	Group	Combination of P53 & Survivin (cytoplasm)	
		- (%)	+ (%)
I	Unrelapsed	7	10
	Relapsed	0 (0.0)	6 (37.5)
II + III	Unrelapsed	4	22
	Relapsed	1 (20.0)	25 (53.2)

OR = 8.86, 95% CI (1.04 ~ 75.20),  $P = 0.022$

步分析验证。

p53 基因是一个经典的抑癌基因, 在本研究结果显示, 膀胱癌肿瘤组织中 P53 蛋白阳性比阴性的患者具有更高的复发风险。调整混杂因素后, 此随访研究队列的肿瘤复发率在 P53 蛋白阳性组和阴性组之间仍然存在显著性差异, 提示 P53 蛋白的异常表达与膀胱 TCC 复发有密切关系。

Survivin 蛋白 (胞浆检出) 和 P53 蛋白单独预测膀胱癌复发灵敏度为 87.50% 和 71.88%, 特异度分别为 32.56% 和 61.90%。并联两者后的灵敏度和特异度分别为 96.88% 和 25.58%。虽然影响了特异度, 但可以大大提高筛查灵敏度。以上分析结果可以看出, P53 蛋白对预测膀胱癌复发存在一定的指导意义, 然而单独应用于临床仍然存在不足。膀胱癌是多阶段发生、多基因协同作用的结果, 因此将多个相关肿瘤标志物, 例如: p27Kip1、细胞周期蛋白 D3 等<sup>[5]</sup> 联合检测具有实际应用意义。

### 3 讨论

Survivin 是近年来发现的凋亡蛋白抑制因子家族的一个新成员, 具有抑制细胞凋亡和调节细胞有丝分裂的双重作用。这一基因特异地表达于胚胎发育期, 成人正常组织则不表达; 然而在多种人类肿瘤 (如膀胱癌、肺癌, 等) 中已经检查出 Survivin 的表达产物。有文献报道其过度表达的肿瘤更具侵袭性和复发转移能力<sup>[1,2]</sup>。而 Smith 以及 Sharp 等人曾报道, 尿液 Survivin 蛋白检测在诊断膀胱癌中敏感性为 100%, 特异性为 95%<sup>[3,4]</sup>。我们的研究发现 Survivin 蛋白不仅在细胞胞浆表达, 还存在胞核的表达。在膀胱癌移行细胞组织中, Survivin 蛋白胞浆阳性率为 76.0%, 胞核阳性率为 30.7%。这与国内某些文献报道 Survivin 在膀胱癌组织中的阳性率有较大差别<sup>[4]</sup>, 其原因可能与研究样本量和实验设计与方法有关。其次, 调整病理分级前胞浆阳性组病人复发率显著性高于阴性组 [OR = 3.38, 95% CI: (0.99 - 11.52)]; 然而, 调整病理分级这一混杂因素后两者之间没有显著意义, 提示 Survivin 可能不是膀胱癌复发敏感指标。当然, 这有待多中心临床研究或者更加灵敏的定量研究进一

### 参考文献:

- [1] Chiou Sk, Jones Mk, Tarnawski AS. Survivin anti-apoptosis protein: its biological roles and implications for cancer and beyond [J]. *Med Sci Monit*, 2003, 9 (4): P125 - 29.
- [2] Swana HS, Grossman D, Anthony JN, et al. Tumor content of the antiapoptosis molecule Survivin and recurrence of bladder cancer [J]. *N Engl J Med*, 1999, 341 (6): 452 - 453.
- [3] Smith SD, Wheeler MA, Plescia J, et al. urine detection of surviving and diagnosis of bladder cancer [J]. *JAMA*, 2001, 285(3): 324 - 328.
- [4] 陈必成, 吴秀玲, 张方毅, 等. Survivin 在膀胱移行细胞癌中的表达及意义 [J]. *浙江医学*, 2002, 24(6): 324 - 326.
- [5] Lopez-Beltran A, Luque RJ, Alvarez-Kindelan J, et al. Prognostic factors in stage T1 grade 3 bladder cancer survival: the role of G1-S modulators (p53, p21Waf1, p27kip1, Cyclin D1, and Cyclin D3) and proliferation index (ki67-MIB1) [J]. *Eur Urol*, 2004, 45(5): 606 - 612.

