

## 凋亡抑制蛋白 livin 在良性及恶性子宫内膜组织中的表达

王光伟, 杨清<sup>△</sup>, 刘晓菲, 王玉

(中国医科大学附属盛京医院妇产科, 辽宁 沈阳 110004)

[摘要] 目的:探讨 livin 蛋白在良性及恶性子宫内膜组织中的表达情况。方法:选取子宫内膜腺癌组织 44 例,子宫内膜不典型增生组织 11 例,子宫内膜单纯性增生组织 9 例、增生期内膜 10 例、分泌期内膜 8 例,利用免疫组化 S-P 法染色及显微图像分析系统检测其中 livin 蛋白的表达。结果:livin 在子宫内膜癌中的表达强度明显高于子宫内膜不典型增生及良性子宫内膜( $P < 0.05$ ),livin 的表达在子宫内膜癌不同组织学分级中有显著性差异( $P < 0.05$ ),在不同分期中无明显差异,且与淋巴转移情况无关。结论:livin 可能与肿瘤的的分化有关,可作为反映子宫内膜癌生物学行为的指标,有望成为子宫内膜癌的肿瘤标记物。

[关键词] livin;子宫内膜癌;凋亡抑制蛋白

[中图分类号] R737.31 [文献标识码] A [文章编号] 0258-4646(2007)02-0179-02

### Expression of livin in benign and malignant endometrial diseases

WANG Guang-wei, YANG Qing<sup>△</sup>, LIU Xiao-fei, WANG Yu

(Department of Obstetrics and Gynecology, Shengjing Hospital, China Medical University, Shenyang 110004, China)

[Abstract] Objective: To study the expression of livin in benign and malignant endometrial diseases. Methods: The expressions of livin protein in tissues from 44 cases of endometrial adenocarcinoma, 9 simple endometrial hyperplasia, 11 endometrial atypical hyperplasia, and 18 normal endometrium were detected by using S-P method and image analysis system. Results: The expressions of livin in endometrial adenocarcinoma were significantly higher than those in simple endometrial hyperplasia and endometrial atypical hyperplasia. There was significant difference in the expression of livin between endometrial adenocarcinomas of different histological grades, but no significant difference was found between endometrial adenocarcinomas of different clinical stages. The expression of livin was not correlated with lymph node metastasis. Conclusion: Livin could be considered as a potential tumor marker and an indicator of the biological behavior of endometrial carcinoma. It may be also an important factor in the immunotherapy of endometrial carcinoma.

[Key words] livin; endometrial carcinoma; inhibitor of apoptosis protein

凋亡抑制蛋白 (inhibitor of apoptosis protein, IAPs) 最初发现于昆虫的杆状病毒中。近年随着对 IAPs 研究的深入,发现其广泛存在于各种组织中,具有调节受体介导的信号转导、调节细胞周期、抑制凋亡蛋白酶(caspase)活性等作用。livin 是最新发现的一个 IAPs 家族的新成员,2000 年, KASOF<sup>[1]</sup>、LIN<sup>[2]</sup>和 VUCIC<sup>[3]</sup>率领各自的实验小组采用同样的方法,依据 IAPs 同源序列,用含有 BIR 序列的 EST 克隆几乎同时在人 cDNA 文库中发现了 livin 这一新的基因。已发现 livin 在多种肿瘤细胞中表达,与肿瘤发生关系密切,可能作为诱导肿瘤凋亡治疗的新靶点。

目前, livin 在人正常子宫内膜、子宫内膜不典型增生及子宫内膜腺癌组织中的表达情况尚不清楚,我们采用免疫组织化学法检测良性及恶性子宫内膜

组织中 livin 的表达情况,以探讨 livin 与子宫内膜癌发生发展的关系。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料

1.1.1 研究对象:2003 年 1 月至 2006 年 4 月在我院接受妇科手术治疗的患者子宫内膜标本 82 例,均经病理学诊断证实。其中子宫内膜癌 44 例,子宫内膜非典型增生 9 例,良性子宫内膜 29 例(子宫内膜单纯性增生 11 例,增生期内膜 10 例,分泌期内膜 8 例)。所有患者术前均未接受过放疗、化疗或激素治疗。子宫内膜癌根据世界卫生组织(WHO)/国际妇产科联盟(FIGO)手术病理分期标准进行分期, I 期 22 例, II 期 8 例, III 期 14 例;组织学分级,高分化(G1)12 例,中分化(G2)19 例,低分化(G3)13 例;组织类型均为子宫内膜样腺癌。

1.1.2 试剂:一抗为兔抗人 livin 单克隆抗体购于 Chemcon 公司, SP 即用型试剂盒、辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠 IgG 均购自北京中杉金桥生物技术有

[基金项目] 辽宁省自然科学基金资助项目(20032064)

[作者简介] 王光伟(1981-),男,硕士。

<sup>△</sup>Corresponding Author's E-mail: yangq@cmu2h.com

限公司。

### 1.2 免疫组织化学检测

取上述组织标本经 10% 甲醛固定,石蜡包埋,4 μm 厚度连续切取 4 张切片制片,1 张切片经 HE 染色再次经病理诊断证实,3 张切片进行免疫组化染色。采用 SP 法,滴加一抗(工作效为 1 : 100)并以 PBS 液置换一抗作为阴性对照。用已知阳性的黑色素瘤组织切片作 livin 的阳性对照。每张切片于 × 400 光镜下随机选取 4 个视野。采用 Metamorph/DP10/ BX41 显微图像分析系统,对其中一个具有代表意义阳性结果的视野的棕黄色颗粒进行标记,以此标准自动检测所有视野的阳性结果,以参数积分光密度(IOD)代表蛋白颗粒密度。

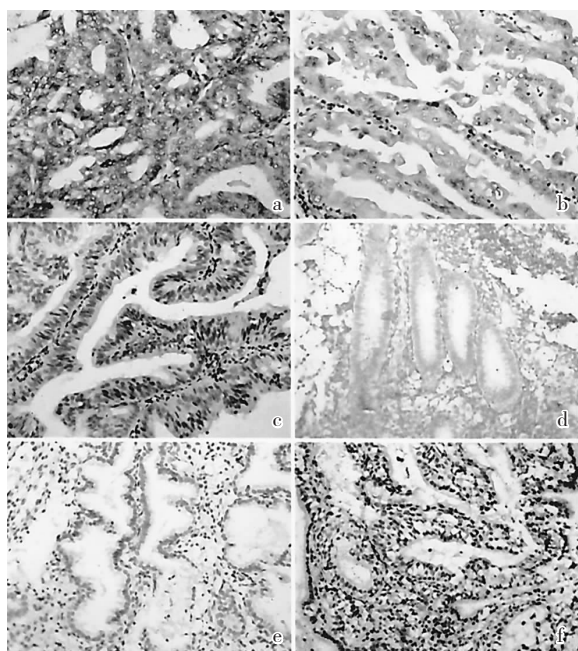
### 1.3 统计学分析

实验数据用  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 SPSS 11.5 软件,应用方差分析 *t* 检验进行统计学分析。

## 2 结果

livin 在胞质内表达,显微镜下阳性细胞可见胞质呈棕黄色,细胞核无染色(图 1)。良性子宫内膜组织中 livin 几乎不表达,子宫内膜不典型增生组织中 livin 少量表达,子宫内膜癌组织中 livin 表达较高。

livin 在子宫内膜癌中的表达强度明显高于子宫内膜不典型增生及良性子宫内膜 ( $P < 0.05$ ),见表



a: 子宫内膜腺癌(G3);b: 子宫内膜腺癌(G2);c: 子宫内膜不典型增生; d: 子宫内膜单纯性增生;e: 分泌期子宫内膜;f: 增生期子宫内膜

图 1 livin 在良恶性子宫内膜腺上皮组织中的表达 × 400

Fig.1 Expression of livin in benign and malignant endometrial epithelium × 400

1。livin 的表达在子宫内膜癌不同组织学分级中有显著性差异,在不同分期中无明显差异,且与淋巴转移情况无关。

表 1 livin 在良恶性子宫内膜组织中的表达

Tab.1 Expression of livin in benign and malignant endometrial diseases

分组	n	livin(IOD)
子宫内膜癌	44	206.22 ± 93.82 <sup>1)</sup>
G1	12	140.40 ± 44.49 <sup>2)</sup>
G2	19	177.39 ± 51.99
G3	13	309.11 ± 92.50
子宫内膜不典型增生	9	83.49 ± 29.58
良性子宫内膜	29	57.42 ± 25.43
单纯性增生子宫内膜	11	68.80 ± 28.41
增生期子宫内膜	10	50.66 ± 22.97
分泌期子宫内膜	8	50.21 ± 20.65

注:1)与良性子宫内膜组比较  $P < 0.01$ ;2)与 G2、G3 组比较

$P < 0.01$

## 3 讨论

livin 基因位于人染色体 20q13.3,全长 4.6 kb,包含 7 个外显子,基因转录产物 mRNA 长 1.4 kb,这与 livin 全长 cDNA 大小相一致。与 IAPs 家族其它成员一样,livin 含有高度保守的约 70 个氨基酸的杆状病毒 IAP 重复序列结构域(结合和抑制死亡蛋白酶的关键部位)和羧基末端环指结构(RING),在胚胎组织中存在,而在除胎盘外的大多数终末分化组织中低表达或不表达<sup>[1-4]</sup>。研究表明,livin 在许多肿瘤组织中高表达,包括黑色素瘤(MeWO, A375, G G361, SK-Mel29)、淋巴瘤(Ramos, Raji)、大肠癌(HT29, HT29MTX)、前列腺癌(PC3, DU145)、白血病(K562, HL60, Jurkat, MOLT4)及头颈部肉瘤(Hela)等<sup>[1,3,4]</sup>。

肿瘤的发生是细胞增殖与细胞凋亡失衡所致,受细胞内外多种因素控制。凋亡抑制蛋白过度表达引起凋亡不足与肿瘤发生密切相关。癌细胞在某些凋亡因素存在时发生凋亡耐受是临床上肿瘤化疗耐药、放疗不敏感等现象的重要原因。抑制 IAPs 家族成员蛋白表达、诱导肿瘤细胞发生凋亡,是目前肿瘤凋亡治疗的一个较有希望的研究方向。子宫内膜癌是女性生殖道最常见的恶性肿瘤,但其发病机制并不清楚,人正常子宫内膜随激素水平发生周期性变化,这种严密的控制系统在子宫内膜不典型增生和子宫内膜癌中被打乱,并发生一系列变化最终导

(下转第 190 页)