

# survivin 和 NF- Bp65 在结直肠癌的表达及临床病理意义

牛彦锋, 杨 鹏, 王国斌, 卢晓明

Expression of survivin and NF- Bp65 Proteins in Colorectal Cancer

NIU Yan-feng, YANG Peng, WANG Guo-bin, LU Xiao-ming

Department of General Surgery, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, China

**Abstract: Objective** To study the expression of apoptosis inhibitor factors survivin and nuclear factor kappa Bp65 in colorectal cancer and its relationship with clinical pathologic features. **Methods** The expression of survivin and NF- Bp65 in 72 cases with CRC were examined by immunohistochemical technique. The corresponding cancerous adjacent tissue and normal colonic tissue (12 cases) were reserved as a control group. **Results** The expression of survivin was 55.6% in CRC tissue, no expression found in the control group. The difference was significant between the two groups ( $P < 0.001$ ). NF- Bp65 detected was 62.5% in CRC tissue, much higher than that of the control group ( $P < 0.001$ ). The positive rate of NF- Bp65 was much related to local lymph node metastasis, histological differentiation grade and distant metastasis ( $P < 0.05$ ). survivin expression positively correlated with NF- Bp65 ( $r_s = 0.451$ ,  $P < 0.01$ ). **Conclusion** survivin and NF- Bp65 may play an essential role in colorectal carcinogenesis and may be valuable for diagnosis, evaluation of malignancy extent and prognosis.

**Keywords:** survivin; NF- Bp65; Colorectal neoplasms; Immunohistochemistry

**摘要:**目的 研究凋亡抑制因子 survivin 和核因子 NF- Bp65 在 CRC 组织的表达及其与临床病理指标的关系,以探讨其在 CRC 发生、发展中的作用。方法 采用免疫组化 SP 法检测 72 例 CRC 中 survivin 和 NF- Bp65 蛋白的表达情况,以相应癌旁组织、正常结肠组织(12 例)作对照。结果 survivin 蛋白在 CRC 组织阳性表达率 55.6%,在对照组不表达,二者比较差异有显著性( $P < 0.001$ )。NF- Bp65 蛋白在 CRC 组织的阳性表达率 62.5%,显著高于对照组( $P < 0.001$ );NF- Bp65 表达与淋巴结转移、组织学类型和远处转移的临床病理指标明显相关( $P < 0.05$ )。survivin 和 NF- Bp65 的表达呈显著正相关( $r_s = 0.451$ ,  $P < 0.01$ )。结论 survivin 和 NF- Bp65 在 CRC 的发生发展中起重要作用,检测其表达对 CRC 的诊断、恶性程度及判断预后有一定价值。

**关键词:** survivin; NF- Bp65; 结直肠肿瘤; 免疫组织化学

中图分类号: R735.3 文献标识码: A 文章编号: 1000-8578(2004)11-0691-03

## 0 引言

随着恶性肿瘤发病机制研究的深入,细胞增殖及凋亡失衡在肿瘤发生发展中的作用日益受到关注。survivin 是近年发现的凋亡抑制蛋白家族(inhibitor of apoptosis proteins, IAPs)的新成员,核因子 NF- B 也是一种重要的转录因子,在肿瘤细胞抗凋亡机制中起着重要作用。目前 survivin 和 NF- Bp65 在结直肠癌(colorectal cancer, CRC)发病方面研究尚少。本研究通过检测 survivin 及 NF- Bp65 在结直肠癌组织的表达情况,探讨其在结直肠癌发生过程中的作用,现将结果报告如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 资料

收集我科 2002 年 8 月~2003 年 3 月间病理证实的存档蜡块 72 例,男性 51 例,女性 21 例,平均 49.9 岁。术前均未接受放、化疗。高分化腺癌 22 例,中分化腺癌 36 例,低分化腺癌 9 例,另外黏液细胞癌、印戒细胞癌和未分化癌共 5 例归低分化组。Dukes 分期:A 期 7 例,B 期 27 例,C 期 32 例,D 期 6 例。取相应癌旁组织和良性病变的正常结肠组织 12 例为对照。

### 1.2 方法

survivin 鼠抗人单克隆抗体购自深圳精美生物公司,兔抗人 NF- Bp65 单克隆抗体为 Santa Cruz 公司,S-P 免疫组化试剂盒购自福州迈新生物技术公司。全部标本 4% 多聚甲醛固定,石蜡包埋,4  $\mu$ m

收稿日期:2004-03-11; 修回日期:2004-04-22

作者单位:430022 武汉,华中科技大学同济医学院附属协和医院普外科

连续切片,S-P 法按说明操作。PBS 代替一抗为阴性对照,已知阳性片为阳性对照。

### 1.3 结果判定标准

survivin 蛋白染色阳性信号呈棕黄色颗粒,主要位于胞浆。染色强度明显高于背景为阳性表达,阳性细胞数 <10% 为(+),10% ~ 60% 之间为(++), >60% 为(+++),染色强度与背景无明显差别为阴性。NF- Bp65 蛋白染色阳性信号呈棕黄色颗粒,位于胞浆和/或胞核。染色强度与背景无明显差别为(-),阳性细胞数 <30% 为(+),30% ~ 60% 为(++),>60% 为(+++)。

### 1.4 统计学处理

采用 spss 12.0 统计软件包进行卡方检验和 spearman 等级相关分析。

## 2 结果

### 2.1 survivin 蛋白的表达

survivin 蛋白在 CRC 中阳性表达率为 55.6%, 26 例呈(+),10 例呈(++),4 例呈(+++);癌旁组织和正常结肠组织(12 例)均无表达,CRC 组明显高于非癌组的表达( $P < 0.001$ )。survivin 蛋白表达与性别、肿瘤大小、肿瘤部位和组织学类型均无明显关系( $P > 0.05$ )。在淋巴结转移阳性组、远处转移阳性组和 Dukes 分期 C/D 组中,survivin 蛋白阳性表达率依次为 60.6%、66.7% 及 61.9%,均高于相应对照组,但差异无显著性( $P > 0.05$ )。见表 1。

### 2.2 NF- Bp65 蛋白的表达

NF- Bp65 蛋白在 CRC 中的阳性表达率为 62.5%,26 例(+),15 例(++),4 例(+++);癌旁组织阳性表达率 12.5%,7 例(+),2 例(++);12 例正常组织 1 例阳性。CRC 组与非癌组的 NF- Bp65 蛋白的阳性表达率差异有极显著性( $P < 0.001$ )。NF- Bp65 蛋白表达与性别、肿瘤大小、肿瘤部位和 Dukes 分期均无明显关系( $P > 0.05$ )。在 CRC 中,NF- Bp65 蛋白表达与淋巴结转移、组织学类型和远处转移的临床病理特征明显相关( $P < 0.05$ ),见表 1。

### 2.3 CRC 中 survivin 和 NF- Bp65 蛋白表达的关系

在 CRC 中 survivin 蛋白表达与 NF- Bp65 蛋白表达显著正相关( $r_s = 0.451$ ,  $P < 0.01$ ),见表 2。

## 3 讨论

细胞凋亡调控的异常可促使肿瘤的发生,并且凋亡的触发可能是 1 个级联式基因表达的结果,许多基因参与这一过程已经得到一致认可。survivin

表 1 survivin、NF Bp65 蛋白与 CRC 患者临床病理参数的关系

临床参数	survivin 阳性表达			NF- Bp65 阳性表达		
	例数	%	P	例数	%	P
性别						
男	30/51	58.8	>0.05	32/51	62.7	>0.05
女	10/21	47.6		12/21	57.1	
肿瘤大小						
5 cm	17/28	60.7	>0.05	21/28	75.0	>0.05
<5 cm	23/44	52.3		23/44	52.3	
肿瘤部位						
结肠	18/33	54.5	>0.05	20/33	60.6	>0.05
直肠	22/39	56.4		24/39	61.5	
组织学类型						
高分化	9/22	40.9	>0.05	8/22	36.4	<0.05
中分化	21/36	58.3		23/36	63.9	
低分化	10/14	71.4		13/14	92.9	
淋巴结转移						
阳性	20/33	60.6	>0.05	25/33	75.8	<0.05
阴性	20/39	51.3		20/39	51.3	
远处转移						
有	4/6	66.7	>0.05	6/6	100.0	<0.05
无	36/66	54.5		38/66	57.6	
Dukes 分期						
A/B 期	14/30	46.7	>0.05	15/30	50.0	>0.05
C/D 期	26/42	61.9		29/42	69.0	

表 2 CRC 患者 survivin 与 NF Bp65 蛋白表达的关系

观察指标	例数	蛋白表达			
		-	+	++	+++
survivin	72	27	26	15	4
NF- Bp65	72	32	26	10	4

为近年发现的凋亡抑制因子,基因全长 15kb,4 个外显子和 3 个内含子,编码 142 个氨基酸组成的胞浆蛋白,survivin 含有一个杆状病毒凋亡抑制蛋白重复序列(baculovirusinhibitiona poptosis proteinre peat, BIR)分子,BIR 中含有对抑制凋亡起重要作用的氨基酸残基 Trp<sup>67</sup>、Prp<sup>33</sup>和 Cys<sup>84</sup>,survivin 通过这些残基与 caspase3 和 caspase7 结合,抑制 caspases 活性。survivin 与细胞分裂增殖有关,能抑制 Fas、Bax 及 Caspase7 诱导的细胞凋亡<sup>[1,2]</sup>。

本研究结果显示,CRC 中 survivin 蛋白阳性表达率 55.6%,而相应癌旁组织和正常组织均无表达。survivin 表达与肿瘤大小、部位和组织学类型无关,随着淋巴结转移、远处转移的发生和 Dukes 分期增加,survivin 阳性表达率也增高,但差异无显著性( $P > 0.05$ )。这与 Lin 等<sup>[3]</sup>研究结果相近,survivin 在结直肠腺瘤高度发育异常组和腺癌组阳性表达率为 56.7%、63.2%,推测 survivin 是结直肠腺瘤癌变过

程的早期重要事件。Rodel 等<sup>[4]</sup>对放疗敏感性不同的结直肠癌细胞株体外照射前后 survivin mRNA 量比较,发现低度敏感细胞 survivin 可被射线诱导表达且与细胞放疗敏感性逆相关,因此可作为 CRC 放疗敏感性的预测因子。

细胞核因子 B(nuclear factor- $\kappa$ B)是首先在 B 淋巴细胞中发现的核转录因子,目前已分离和克隆出 5 个哺乳动物类 NF- $\kappa$ B 家族,分别为 NF- $\kappa$ B1、NF- $\kappa$ B2、p65 (RelA)、RelB 和 c-Rel,静止期细胞中主要是 p65、p50 与 NF- $\kappa$ B 的抑制分子 I $\kappa$ B 形成三聚体以非活化形式存在细胞质,当诱导因子作用时,I $\kappa$ B 磷酸化失活,NF- $\kappa$ B 活化,进入胞核与某些基因增强子的 GGGRNNYYCC 元件结合,启动或调节早期反应基因的转录,参与炎症反应、细胞增殖和细胞凋亡。

本试验显示,CRC 中 NF- $\kappa$ Bp65 阳性率 62.5%,阳性反应主要位于胞浆,活化后部分进入胞核者表现为核着色,表明 NF- $\kappa$ B 活化与 CRC 的形成密切相关,推测 NF- $\kappa$ B 活化后进入核内启动相关癌基因的转录,导致肿瘤的发生,癌旁及正常组织中可出现 NF- $\kappa$ Bp65 微弱表达(10/84),可能反映 NF- $\kappa$ B 处于不断激活和失活的有序调控中,是细胞调节正常生理功能、维持生死平衡所必需。NF- $\kappa$ B 表达与组织学类型、淋巴结转移及远处转移密切相关( $P < 0.05$ ),可能是 NF- $\kappa$ B 上调其他抗凋亡基因及癌基因表达,增加肿瘤细胞的增殖、抗凋亡及侵袭力。

Yu 等<sup>[5]</sup>通过对结直肠腺瘤、腺癌组织中凋亡指数(AI)和 NF- $\kappa$ B 等的检测,发现 NF- $\kappa$ B 表达与 AI 逆相关,与 bcl-2、bcl-x 和 K $\kappa$ 67 呈正相关,认为 NF-

B 在结直肠腺瘤癌变中起重要作用。Maihofner 等<sup>[6]</sup>试验证实 NF- $\kappa$ B 促进 CRC 中 COX-2 基因的转录,而 COX-2 能增强细胞抗凋亡作用,提出可通过 NF- $\kappa$ B 抑制剂来干预 CRC 的发生进展。

本研究发现 CRC 中 survivin 蛋白与 NF- $\kappa$ B 蛋白表达间存在显著的正相关,推测 NF- $\kappa$ B 也能上调 survivin 基因的表达,共同发挥抑制凋亡作用,但具体机制尚需进一步证实。但 survivin 和 NF- $\kappa$ B 与恶性肿瘤发生发展密切相关已经被越来越多研究所证实,这为进一步提高 CRC 远期疗效提供新的思路。

#### 参考文献:

- [1] Ambrosini G, Adida C, Sirugo G, et al. Induction of apoptosis and inhibition of cell proliferation by survivin gene transfer [J]. *J Biol Chem*, 1998, 273 (18): 11177-11182.
- [2] Li F, Ambrosini G, Chu E Y, et al. Control of apoptosis and mitotic spindle checkpoint by survivin [J]. *Nature*, 1998, 396 (6711): 580-584.
- [3] Lin L J, Zhen G C Q, Jin Y, et al. Expression of survivin protein in human colorectal carcinoma [J]. *World J Gastroenterol*, 2003, 9 (5): 974-977.
- [4] Rodel C, Haas J, Groth A, et al. Spontaneous and radiation-induced apoptosis in colorectal carcinoma cell lines with different intrinsic radiosensitivities: survivin as a radioresistance factor [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2003, 55 (5): 1341-1347.
- [5] Yu H G, Yu L L, Yan G Y, et al. Increased expression of RelA/nuclear factor- $\kappa$ B protein correlates with colorectal tumorigenesis [J]. *Oncology*, 2003, 65 (1): 37-45.
- [6] Maihofner C, Charalambous M P, Bhabra U, et al. Expression of cyclooxygenase-2 parallels expression of interleukin-1 $\beta$ , interleukin-6 and NF- $\kappa$ B in human colorectal cancer [J]. *Carcinogenesis*, 2003, 24 (4): 665-671.

[编辑:贺文;校对:刘红武]