

survivin、cyclinb1 在人脑胶质瘤的表达及意义

宋小兵,袁先厚,江普查,文志华

The Expression and Significance of Survivin and Cyclin b1 in Human Glioma

SONG Xiao-bing, YUAN Xian-hou, JIANG Pu-cha, WEN Zhi-hua

Department of Neurosurgery, Zhongnan Hospital, Wuhan University, Wuhan 430071, China

Abstract: Objective To explore the expression of survivin gene in human gliomas and the relationship between its expression and cyclin b1. **Methods** Expression of survivin and cyclin b1 were assessed by immunohistochemistry in 41 glioma tissues and 10 normal brain tissues. **Results** Survivin was expressed in 25 (61.0%) (25/41) in gliomas, and not expressed in 10 normal brain tissues. There was a significant difference between low grade (~ grade) and high grade (~ grade) of gliomas ($P < 0.05$). There also was a strong correlation between survivin expression and cyclin b1, ($r_s = 0.836, P < 0.01$). **Conclusion** The abnormal expression of survivin plays an important role in the development of glioma. Probably survivin associated with cyclin b1 acts as specific G₂/M transition promotion in the course of mitosis of glioma cell.

Keywords: Glioma; survivin; cyclin b1

摘要:目的 探讨 survivin 基因在人脑胶质瘤中的表达及其与 cyclinb1 蛋白表达的相关性。方法 采用免疫组织化学 SABC 法检测 survivin、cyclinb1 表达蛋白在 41 例胶质瘤 10 例正常脑组织中的表达。结果 survivin 基因表达蛋白在正常脑组织中无表达;41 例胶质瘤中 25 例呈阳性表达,占 61.0%。 ~ 级和 ~ 级间的表达有显著性差异 ($P < 0.05$)。胶质瘤组织 survivin 蛋白的表达与 cyclinb1 蛋白表达密切相关 ($r_s = 0.836, P < 0.01$)。结论 survivin 蛋白异常表达在胶质瘤的发生中起重要作用,它可能与 cyclinb1 共同在胶质瘤细胞有丝分裂的 G₂/M 期中起特殊促进作用。

关键词: 胶质瘤; survivin; cyclinb1

中图分类号: R739.41 文献标识码: A 文章编号: 1000-8578(2004)04-0201-02

0 引言

最近, survivin 被发现为凋亡抑制家族(IAP)的新成员,在胚胎组织和多种肿瘤中表达,而不存在于正常成人组织中,这一特点为肿瘤的诊断和治疗提供了新的价值^[1]。 survivin 在细胞周期 G₂/M 期表达,蛋白中含有一个杆状病毒抑制凋亡蛋白重复序列 BIR 分子,能抑制 caspase 的活性,在 COOH 端有一个由 40 个氨基酸组成的螺旋结构,能与细胞分裂微管结合,抑制细胞凋亡^[2,3],本文着重探讨凋亡抑制基因 survivin 表达蛋白在胶质瘤组织中的表达及其与另一 G₂/M 期高表达因子 cyclinb1 的相关性。

1 材料和方法

1.1 材料 收集武汉大学中南医院 1998 ~ 2001 年手术切除的 41 例胶质瘤标本。其中男 24 例,女 17 例,患者年龄 11 ~ 73 岁,平均 34.4 岁。根据 1993 年确定、修改的 WHO 神经系统肿瘤分类标准,对所有肿瘤进行组织学分类和分级后,划分为低度恶性(~ 级)21 例,高度恶性(~ 级)20 例,其中星形

细胞瘤 17 例,少突胶质细胞瘤 7 例,胶质母细胞瘤 10 例,室管膜瘤 7 例。另 10 例作为对照的脑组织,亦取我院颅脑损伤行内减压术的患者。

1.2 免疫组化染色 survivin 多克隆抗体、SABC 试剂盒购自武汉博士德公司; cyclinb1 单克隆抗体购自福州迈新公司,实验操作按试剂盒说明书进行。

1.3 观察测定方法 survivin 阳性表现为肿瘤细胞胞浆呈黄色、棕黄色,见图 1 ~ 3; cyclinb1 阳性表现为细胞胞浆或/和胞核呈黄色、棕黄色,见图 4、5。随机选择 5 ~ 10 个高倍视野,计算 1000 个瘤细胞中阳性染色细胞数,计算阳性细胞所占百分比: <10% (-), 10% ~ 30% 为 (+), 30% ~ 60% 为 (++) , >60% 为 (+++)。

1.4 统计学分析 卡方检验分析、Spearman 等级相关分析, $P < 0.05$ 认为有显著差异。运用 SPSS11.0 统计软件进行分析。

2 结果

2.1 survivin 在正常脑组织中无表达,41 例胶质瘤中,25 例表达阳性,占 61.0%,病理分级 ~ 级与 ~ 级阳性率差异有显著性 ($P < 0.05$); cyclinb1 在正常组织有 2 例表达,在胶质瘤 ~ 级与 ~ 级阳性率分别差异有显著性 ($P < 0.05$),见表 1。

收稿日期: 2003-04-09; 修回日期: 2003-07-23

作者单位: 430071 武汉大学中南医院神经外科

表 1 survivin 和 cyclinb1 在胶质瘤的表达

	survivin 表达		2	P	cyclinb1 表达		2	P
	(-)	(+)			(-)	(+)		
正常组织	10	0			8	2	7.74	<0.01 ^a
低恶性(I~II)	12	9	5.94	<0.05	10	11	5.03	<0.05 ^b
高恶性(~)	4	16			3	17		

a: 比(+);b: 比

2.2 胶质瘤组织中 survivin 蛋白表达与 cyclinb1 蛋白表达密切相关 ($r_s = 0.836$, $P < 0.01$), 见表 2。

表 2 survivin 和 cyclinb1 在胶质瘤表达的相关关系

	survivin				合计
	(-)	(+)	(++)	(+++)	
cyclinb1 (-)	12	1	0	0	13
(+)	3	5	1	0	9
(++)	1	3	5	2	11
(+++)	0	1	1	6	8
合 计	16	10	7	8	41

Spearman 等级相关分析 $r_s = 0.836$, $P < 0.01$

3 讨论

survivin 基因是 Altieri^[1]等在研究效应细胞蛋白酶受体-1 (EPR-1) 时发现的凋亡抑制基因, 定位于染色体 (17q25) 上, 组织分布特征具有明显的细胞选择性, 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、生殖腺除外), 而在大多数肿瘤组织内有 survivin 的表达^[1]。本实验结果也证实 survivin 在正常脑组织中未见表达, 而在大多数胶质瘤中得到表达。

survivin 直接作用凋亡途径下游的 caspase-3 和 caspase-7, 抑制它们的活性, 从而阻挡细胞凋亡的过程。另外, 还发现它参与肿瘤血管形成和对细胞周期 G₂/M 的调控。survivin 表达具有细胞周期依赖性, 只在细胞周期的 G₂/M 期表达, 半衰期仅 30 分钟, 在 G₁ 期快速下降^[4]。学者发现 survivin 与有丝分裂密切相关, 它参与微管的形成、卵裂沟的形成和胞质分裂等事件, 它的过度表达, 可克服凋亡关卡, 导致细胞的异常增殖^[3,5]。本实验表明, survivin 在胶质瘤低恶性与高恶性组别中有显著性意义, 提示它在胶质瘤恶变过程中起重要作用。

cyclinb1 是细胞周期 G₂/M 限制点的主要调控元件, 在部分恶性肿瘤中呈过度表达, 在恶性细胞进入 S 和 G₂ 期时, cyclinb1 和 p34^{cdc2} 过表达并积累, 结合形成过多 MPF (成熟促进因子), 引发核内重要蛋白结构的改变, 使遗传不稳定性固定在增殖的细

胞中^[6]。本实验研究发现 cyclinb1 的表达与胶质瘤的分级有统计学意义 ($P < 0.01$), 表明 cyclinb1 可作为反映胶质瘤增殖能力的指标。

实验同时研究了 survivin 与 cyclinb1 表达的相关性, 发现二者密切相关 ($r_s = 0.836$), 提示二者可能协同在 G₂/M 期起转化促进作用, 协同促进肿瘤细胞的恶性进展。至于其机理, O'Connor 认为, survivin 在有丝分裂结构上与周期蛋白依赖激酶 p34^{cdc2} 相连, 被 cyclinb1-p34^{cdc2} 在其 Thr³⁴ 上磷酸化, 而协同发挥抗凋亡作用^[7]。

总之, survivin 与 cyclinb1 在 G₂/M 期高度表达, 提示二者在 G₂/M 期可能通过一定机制协同促进肿瘤细胞的进展。对该领域的深入研究, 有望通过调节 survivin 的表达来阻碍肿瘤细胞的增殖, 达到治疗肿瘤的目的。

(本文图见封 2)

参考文献:

- [1] Adida C, Crott y PL, McGrath J, et al. Developmentally regulated expression of the novel cancer anti-apoptosis gene survivin in human and mouse differentiation [J]. American journal of pathology, 1998, 152 (1): 43-49.
- [2] Hanser HP, Bardrotton P, yronolakis G, et al. A giant tubulin conjugating enzyme related to Apatosis inhibitors [J]. J Cell Biol, 1998, 141 (06): 1415-1422.
- [3] Li F, Ambrosini G, Chu EY, et al. Control of apoptosis and mitotic spindle checkpoint by survivin [J]. Nature, 1998, 396 (6711): 580-584.
- [4] Zhao J, Tenev T, Martins LM, et al. The ubiquitin-proteasome pathway regulates survivin degradation in a cell cycle-dependent manner [J]. Journal of cell science, 2000, 113 Pt 23: 4363-4371.
- [5] Uren AG, Wong L, Pakusch M, et al. Survivin and the inner centromere protein INCENP shows similar cell cycle localization and gene knockout phenotype [J]. Current Biology, 2000, 10 (21): 1319-1328.
- [6] Aunter T, Pines J. Cyclins and Cancer: Cyclin D and CDK inhibitors come and go [J]. Cell, 1994, 79 (4): 573-582.
- [7] O'Connor DS, Grossman D, Plescia J, et al. Regulation of apoptosis at cell division by p34^{cdc2} phosphorylation of survivin [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2000, 97 (24): 13103-13107.

[编辑校对: 周永红]

survivin、cyclin b1 在人脑胶质瘤的表达及意义

(正文见 201 页)

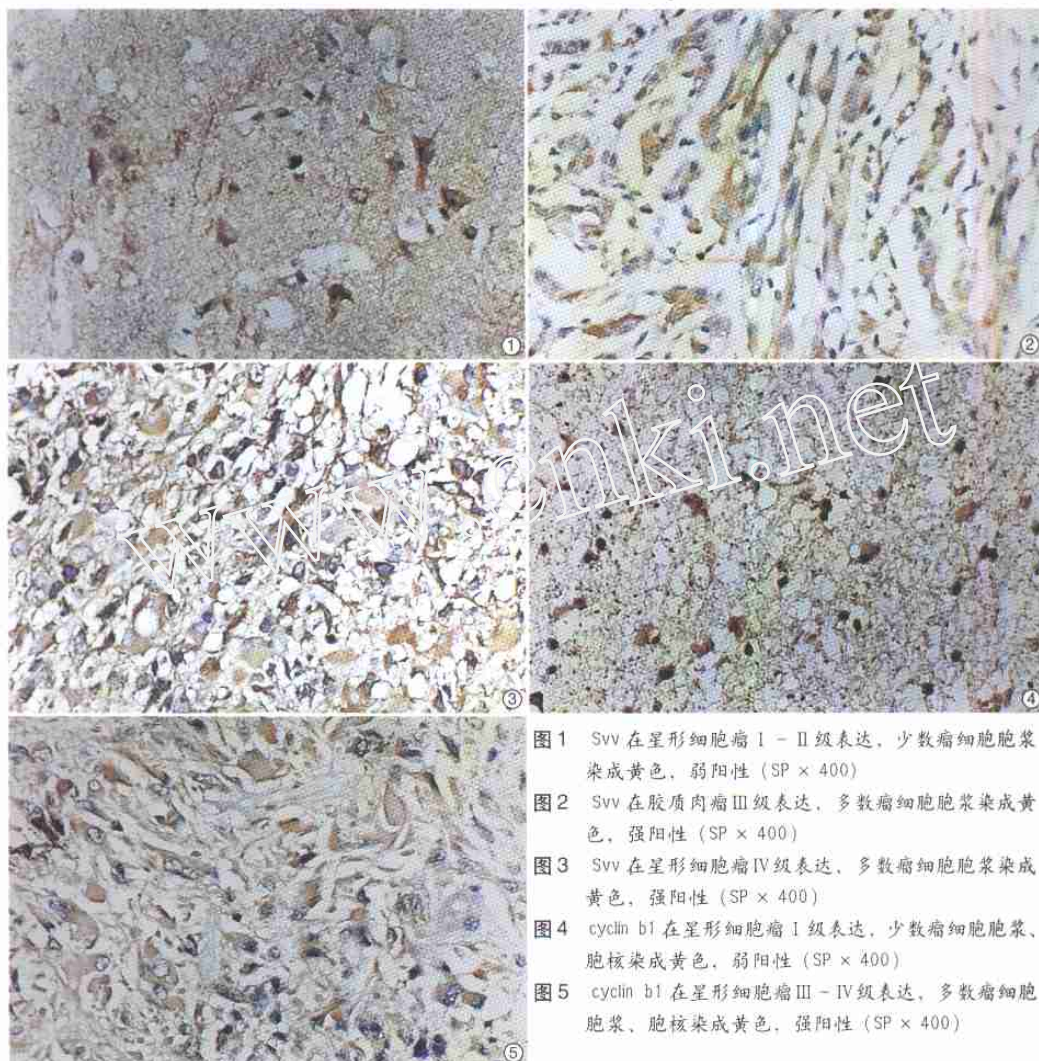


图1 SvV 在星形细胞瘤 I - II 级表达, 少数瘤细胞胞浆染成黄色, 弱阳性 (SP × 400)
 图2 SvV 在胶质肉瘤 III 级表达, 多数瘤细胞胞浆染成黄色, 强阳性 (SP × 400)
 图3 SvV 在星形细胞瘤 IV 级表达, 多数瘤细胞胞浆染成黄色, 强阳性 (SP × 400)
 图4 cyclin b1 在星形细胞瘤 I 级表达, 少数瘤细胞胞浆、胞核染成黄色, 弱阳性 (SP × 400)
 图5 cyclin b1 在星形细胞瘤 III - IV 级表达, 多数瘤细胞胞浆、胞核染成黄色, 强阳性 (SP × 400)

丁酸钠诱导卵巢癌 3AO 细胞凋亡的研究

(正文见 189 页)

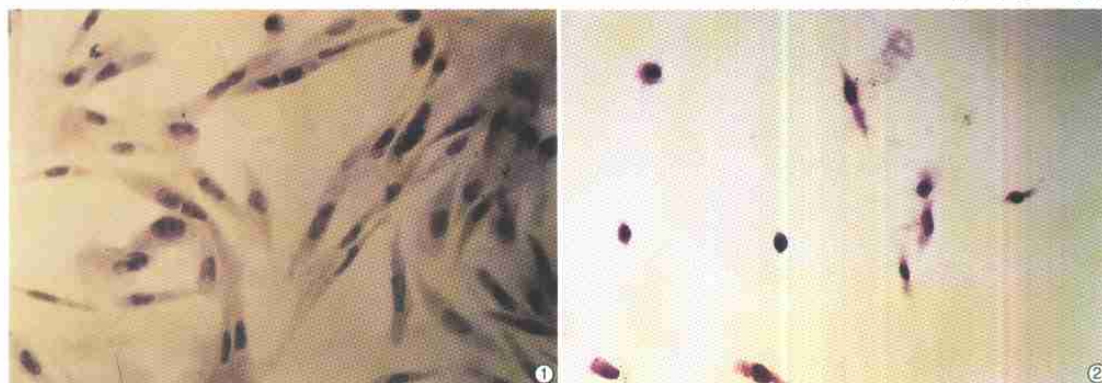


图1 对照组: 细胞长梭形或多边形, 细胞形态饱满, 胞浆丰富, 偏蓝, 胞核居于细胞中央, 细胞呈丛状排列, 生长旺盛 (HE × 200)
 图2 4mmol/L 丁酸钠作用 72 小时, 细胞散在, 可见凋亡细胞, 胞体皱缩呈圆形或卵圆形。胞浆皱缩, 嗜酸性增加。核染色质浓集呈紫蓝色致密的球状 (HE × 200)