

• 研究报告 •

survivin 和增殖细胞核抗原在鼻腔鼻窦内翻性
乳头状瘤中的表达及临床意义彭丽娜¹ 单春光² 冯志星¹ 杨莉晖³

【摘要】 目的: 研究 survivin 和增殖细胞核抗原(PCNA) 在鼻腔鼻窦内翻性乳头状瘤(SNIP) 的发生、增殖、复发和恶变过程中的表达及意义。方法: 选取 10 例正常鼻黏膜组织(NM 组)、45 例 SNIP 患者(SNIP 组) 及 9 例 SNIP 恶变患者(SNIP 恶变组) 为研究对象, 用免疫组织化学 PV 法分别进行 survivin 和 PCNA 的检测。结果: survivin 和 PCNA 在 NM 组、SNIP 组、SNIP 恶变组中的表达均逐次增强, 差异有统计学意义(均 $P < 0.05$)。但在 SNIP 中 survivin 和 PCNA 的表达差异无统计学意义($r = 0.135, P > 0.05$)。结论: survivin 和 PCNA 与 SNIP 的发病及恶变有关。

【关键词】 鼻腔鼻窦内翻性乳头状瘤; survivin; 增殖细胞核抗原

【中图分类号】 R739.6 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1001-1781(2013)05-0264-03

Expression and significance of survivin and PCNA
in sinonasal inverted papillomaPENG Lina¹ SHAN Chunguang² FENG Zhixing¹ YANG Lihui³

(¹Department of Otolaryngology, the Central Hospital of Handan, Handan, 056000, China; ²Department of Otolaryngology, the Second Affiliated Hospital of Hebei Medical University; ³Department of Otolaryngology, the Central Hospital of Shijiazhuang)

Corresponding author: SHAN Chunguang, E-mail: shanchunguang@163.com

Abstract Objective: To explore the expression and significance of survivin and proliferating cell nuclear antigen (PCNA) on the occurrence, proliferation, recurrence and carcinogenesis of the sinonasal inverted papilloma (SNIP).

Method: Immunohistochemical method was used to detect the expression of survivin and PCNA in 10 cases of nasal cavity mucosal (NM), 45 cases of SNIP and 9 cases of canceration SNIP. **Result:** The positive expression of survivin and PCNA increased gradually in NM, SNIP and canceration PCNA group, and there were significant difference between the three groups. But there was no correlation between survivin and PCNA in the tissue of SNIP ($r = 0.135, P > 0.05$). **Conclusion:** Survivin and PCNA are involved in the growth and carcinogenesis of SNIP.

Key words sinonasal inverted papilloma; survivin; proliferating cell nuclear antigen

鼻腔鼻窦内翻性乳头状瘤(sinonasal inverted papilloma, SNIP) 是一种起源于鼻腔鼻窦黏膜上皮的良性肿瘤, 易复发及恶变, 故多数学者认为它是一种良性的真性肿瘤。早期诊断、及时彻底切除病变可以提高治愈率, 所以从根本上认识它显得尤为重要。

肿瘤的发生是因为细胞增殖和凋亡失衡的结果。survivin 基因是凋亡抑制蛋白(inhibitor of apoptosis protein, IAP) 家族新成员, 它通过抑制效应 caspase-3 和 caspase-7 分子来抑制细胞凋亡途径。增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA) 是细胞增殖 DNA 复制所必需的调节蛋白,

是反映细胞增殖的主要生物学指标之一, 其合成和表达与细胞增殖状态密切相关。本文采用免疫组织化学 PV 方法, 检测 45 例 SNIP 组织标本、10 例正常鼻黏膜组织(nasal cavity mucosae, NM) 及 9 例 SNIP 恶变组织中 survivin 和 PCNA 蛋白的表达情况, 应用统计学进行分析, 探讨其在 SNIP 中的表达情况及在 SNIP 的发生、增殖、恶变过程中所起的作用。

1 资料与方法

1.1 标本来源

选取 2005 - 2012 年邯郸市中心医院耳鼻咽喉科收治的 SNIP 患者, 行鼻内镜手术切除, 临床资料及随访记录完整, 复习原苏木精-伊红染色病理切片证实的 45 例可评价患者, 为 SNIP 组。将 SNIP 组根据不同病理分级分为无不典型增生组(20 例)、有不典型增生组(16 例) 及恶变组(9 例)。所

¹邯郸市中心医院耳鼻咽喉科(河北邯郸, 056000)

²河北医科大学第二医院耳鼻咽喉科

³石家庄市中心医院耳鼻咽喉科

通信作者: 单春光, E-mail: shanchunguang@163.com

有标本术前均未接受放化疗。NM 组选取鼻中隔偏曲且对侧下鼻甲代偿肥大影响通气,在邯郸市中心医院耳鼻咽喉科行下鼻甲部分切除术的 10 例患者。

1.2 试剂与方法

survivin 兔抗人多克隆抗体购自北京中杉生物技术公司,PCNA 鼠抗人单克隆抗体及 PV6002 二抗(葡聚糖-过氧化物酶复合物)购于福州迈新生物技术开发有限公司。所有蜡块切片,厚度 5 μm。免疫组织化学染色采用 PV 法,操作按照试剂盒说明书进行,以 PBS 代替一抗作为阴性对照,以武汉博士德公司提供的乳腺癌阳性切片作为阳性对照。

1.3 结果判定

survivin 蛋白表达在细胞质内,少数在细胞质和细胞核都有表达,以出现棕黄色或棕褐色颗粒为阳性,在 400 倍显微镜下至少计数 5 个随机视野,取平均值,计算每例标本的阳性细胞率,阳性细胞率<10%者计为阴性表达(-),阳性细胞率10%~<30%为低表达(+),阳性细胞率30%~<60%为中等表达(++),阳性细胞率≥60%为高表达(+++)。

PCNA 蛋白的表达定位于细胞核,以出现棕黄或棕褐色颗粒为阳性,根据阳性细胞数判断结果。无阳性细胞或阳性细胞数<10%为阴性(-);阳性细胞数10%~<25%为(+),阳性细胞数在25%~50%为(++),阳性细胞数>50%为(+++)。

1.4 统计学分析

等级资料采用 Kruskal-Wallis 秩和检验进行多组分析,并采用 wilcoxon 秩和检验进行两两比较。两变量相关性采用 Spearman 相关性分析。所有数据用 SPSS 13.0 软件进行处理,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。其中进行多组样本两两比较时,为避免犯 I 型错误,应重新规定检验水准。

2 结果

survivin 在 NM 组、SNIP 组及 SNIP 恶变组中的表达差异有统计学意义($\chi^2=12.286, P<0.01$,表 1)。survivin 在 SNIP 组不同病理分级中的表达差异有统计学意义($\chi^2=16.950, P<0.01$,表 2)。survivin 在各组间两两比较的秩和检验结果见表 3。PCNA 在 NM 组、SNIP 组及 SNIP 恶变组中的表达差异有统计学意义($\chi^2=30.0503, P<0.01$,表 4)。PCNA 在 SNIP 组不同病理分级中的表达差异有统计学意义($\chi^2=16.823, P<0.01$,表 5)。PCNA 在各组间两两比较的秩和检验结果见表 6。SNIP 组中 survivin 和 PCNA 的表达差异无统计学意义($r=0.135, P>0.05$)。

表 1 survivin 在 NM 组、SNIP 组及 SNIP 恶变组中的表达例

组别	例数	-	+	++	+++	平均秩次
NM 组	10	10	0	0	0	22.50
SNIP 组	45	31	8	5	1	32.29
SNIP 恶变组	9	3	2	3	1	47.80

表 2 survivin 在 SNIP 组不同病理分级中的表达例

组别	例数	-	+	++	+++	平均秩次
无不典型增生组	20	20	0	0	0	16.00
有不典型增生组	16	8	6	2	0	26.56
恶变组	9	3	2	3	1	32.22

表 3 survivin 在各组间两两比较的秩和检验结果

	U 值	W 值	Z 值	P
无不典型增生组与有不典型增生组	80	290	-3.515	<0.05
无不典型增生组与恶变组	30	240	-3.999	<0.01
有不典型增生组与恶变组	49	185	-1.392	>0.05

表 4 PCNA 在 NM 组、SNIP 组及 SNIP 恶变组中的表达例

组别	例数	-	+	++	+++	平均秩次
NM 组	10	8	2	0	0	8.00
SNIP 组	45	2	13	19	11	34.33
SNIP 恶变组	9	0	0	3	6	52.80

表 5 PCNA 在 SNIP 组不同病理分级中的表达例

组别	例数	-	+	++	+++	平均秩次
无不典型增生组	20	2	10	7	1	15.40
有不典型增生组	16	0	3	9	4	25.75
恶变组	9	0	0	3	6	35.00

表 6 PCNA 在各组间两两比较的秩和检验结果

	U 值	W 值	Z 值	P
无不典型增生组与有不典型增生组	81.5	291.5	-2.69	<0.05
无不典型增生组与恶变组	16.5	226.5	-3.64	<0.01
有不典型增生组与恶变组	37.5	173.5	-2.15	>0.05

3 讨论

3.1 survivin 与 SNIP

IAP 是一组细胞内蛋白,它们能通过各种刺激的诱导而抑制细胞凋亡。survivin 是 IAP 家族中的新成员,在许多胚胎细胞组织和大多数人类恶性肿瘤中表达,然而在正常成熟的人体组织中不表达或低表达。研究发现,在多种肿瘤中 survivin 的表达增加与肿瘤侵袭能力的增加和患者生存时间的缩短相关联^[1-3],提示由 survivin 所抑制的细胞凋亡在人类肿瘤的发展和预后中起重要作用,这也是我们研究肿瘤防治的关键点。梁锦辉等^[4]报道 survivin、Bcl-2 在 SNIP 及 SNIP 恶变者中高表达,在 NM 中无表达,可以预见 survivin 有望成为 SNIP 及 SNIP 恶变者基因治疗的靶点。

本实验结果显示,survivin 在 NM 组全部表达为阴性,在 SNIP 组、SNIP 恶变组中的阳性表达率逐步升高,差异有统计学意义。说明 survivin 在肿瘤组织中的表达具有特异性。另外,在 SNIP 无不典型增生组中,survivin 全部阴性表达;在 SNIP 有不典型增生组、恶变组中,survivin 的阳性表达率较高,经两两比较后, $P < 0.05$,说明 survivin 蛋白阳性表达与不典型增生及恶变显著相关;survivin 在 SNIP 的病理分级中具有重要作用,它与 SNIP 的病理分级呈正相关。

我们认为 survivin 的表达水平随着肿瘤的发展进程而升高,与分化程度有关,可能它的存在代表着细胞生物学转化的中间环节;survivin 过度表达提示组织学尚正常的组织存在癌变的可能,因此具有早期诊断的价值。survivin 在肿瘤组织中的特异性表达,使其靶向治疗具有良好的应用前景。

3.2 PCNA 与 SNIP

PCNA 是一种与细胞增殖周期有关的基因,其在增殖细胞中的含量变化有明显的周期性,在静止细胞中含量很少,在 G₁ 晚期开始增加,S 期达到高峰,G₂ 期和 M 期明显下降。这种变化与细胞内 DNA 复制的时相变化一致,说明其表达程度与细胞增殖周期关系密切,因此作为评价细胞增殖活性的指标之一。肿瘤细胞增殖活性的增加可能导致多克隆亚群的产生并有助于其中的某些亚群获得浸润、转移能力。在包括子宫内膜癌、口腔鳞状细胞癌等许多恶性肿瘤中,增殖活性与肿瘤转移潜能、复发均有显著相关性^[5]。矿南珍等^[6]发现 PCNA 阳性表达率在膀胱癌组织中随病理分级和临床分期的增加而升高,提示其表达是膀胱癌发生及病变加重的重要因素之一。

本实验结果显示,PCNA 在 NM 组、SNIP 组及 SNIP 恶变组中的阳性表达率逐步升高,经 Kruskal-Wallis 检验后,证明这 3 组中 PCNA 的表达差异有统计学意义。此外,PCNA 在无不典型增生组、有不典型增生组及恶变组中的表达也是逐步增高的。

PCNA 阳性率越高则肿瘤细胞增生越活跃,恶变的可能性越大。因此我们认为 PCNA 可以提示 SNIP 病理组织分化的程度,并提示细胞增殖与 SNIP 的发生有关,可以作为反映肿瘤增殖活性和预后的可靠指标。

3.3 SNIP 中 survivin 的表达与 PCNA 的关系

在机体内,细胞凋亡与增殖之间的动态平衡是维持机体稳态的重要方式,两者失衡将导致基因变异的积累。增殖活跃和凋亡减弱是肿瘤发生、发展的重要原因。Sui 等^[7]研究卵巢癌组织中 survivin 的表达时发现其表达与 PCNA 的表达呈正相关。赵于天等^[8]研究发现,survivin 蛋白的表达与鼻咽癌细胞 PCNA 的表达呈明显相关,提示 survivin 不仅参与凋亡的调控,还促进了细胞增殖。但本实验结果显示,虽然 survivin 和 PCNA 在 SNIP 中的表达均增加,但经统计学分析后两者无明显相关性($P > 0.05$),其原因可能与 PCNA 阳性表达率过高、本研究样本量较小需进一步扩大样本量有关。

本研究提示,survivin 和 PCNA 的表达可作为判断 SNIP 发展及预后的参考指标,并为 SNIP 是否伴有不典型增生提供有效证据,且二者可能是 SNIP 恶变早期阶段的重要事件,可以作为 SNIP 癌变的标记物。

参考文献

- [1] 潘晓李,任基浩. 凋亡相关蛋白 survivin 及 Caspase-3 在儿童复发性呼吸道乳头状瘤组织中的表达及其相关性研究 [J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志,2011,25 (3): 130-131.
- [2] TANAKA K, IWAMOTO S. Expression of survivin and its relationship to loss of apoptosis in breast carcinomas [J]. Clin Cancer Res, 2000, 6: 127-133.
- [3] LIN L J, ZHENG C Q, JIN Y, et al. Expression of survivin protein in human colorectal carcinogenesis [J]. World Gastroenterol, 2003, 9: 974-977.
- [4] 梁锦辉, 张剑. 鼻腔鼻窦内翻性乳头状瘤中 survivin 及 Bcl-2 的表达 [J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2009, 23(20): 933-935.
- [5] WEIGEL M T, KRAMER J, SCHEM C, et al. Differential expression of MMP-2, MMP-9 and PCNA in endometriosis and endometrial carcinoma [J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2012, 160: 74-78.
- [6] 矿南珍, 傅颖媛. VEGF、PCNA 及 survivin 与膀胱癌病理分级、临床分期的关系 [J]. 重庆医学, 2012, 41 (7): 651-653.
- [7] SUI L, DONG Y, OHNO M, et al. Survivin expression and its correlation with cell proliferation and prognosis in epithelial ovarian tumors [J]. Int J Oncol, 2002, 21: 15-20.
- [8] 赵于天, 周乐源. survivin 和 PCNA 蛋白在鼻咽癌组织中的表达及与预后的关系 [J]. 中国现代医药杂志, 2008, 10(1): 18-22.

(收稿日期: 2012-10-26)