

# Survivin 及 Bcl-2 在鼻腔鼻窦鳞状细胞癌中的表达及意义

梁锦辉<sup>1</sup> 罗海林<sup>1</sup> 龙芳<sup>1</sup> 李莉<sup>1</sup> 黄河浪<sup>1</sup> 黄梅<sup>1</sup> 张翔<sup>1</sup> 毛谓东<sup>2</sup>

**[摘要]** 目的:探讨凋亡相关蛋白 Survivin 及 Bcl-2 在鼻腔鼻窦鳞状细胞癌(SNSCC)中的表达及临床意义。方法:采用免疫组织化学 Envision 二步法检测 35 例 SNSCC 及 20 例正常下鼻甲黏膜标本中 Survivin 和 Bcl-2 的表达。结果:Survivin 在 SNSCC 组织中的表达为 88.6%,在正常下鼻甲黏膜组织无表达,二者差异有统计学意义( $P<0.01$ )。Bcl-2 在 SNSCC 组织中的表达为 71.4%,明显高于正常下鼻甲黏膜组织的表达 25%( $P<0.01$ )。Survivin 与 Bcl-2 的表达呈正相关( $P<0.01$ )。肿瘤的分级程度越高,Survivin 和 Bcl-2 的表达水平越低。结论:Survivin、Bcl-2 与 SNSCC 的发生、发展有关,Survivin 可能会成为 SNSCC 基因治疗的靶点。

**[关键词]** 鼻腔;鼻窦;癌;鳞状细胞;Survivin;Bcl-2

doi:10.13201/j.issn.1001-1781.2016.07.005

**[中图分类号]** R739.62 **[文献标志码]** A

## Expression and significance of Survivin and Bcl-2 in nasal squamous cell carcinoma

LIANG Jinhui<sup>1</sup> LUO Hailin<sup>1</sup> LONG Fang<sup>1</sup> LI Li<sup>1</sup> HUANG Helang<sup>1</sup>  
HUANG Mei<sup>1</sup> ZHANG Xiang<sup>1</sup> MAO Weidong<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery, Hanzhong Central Hospital, Hanzhong, 723000, China; <sup>2</sup>Department of Pathology, Hanzhong Central Hospital)

Corresponding author: LIANG Jinhui, E-mail: 6895210@qq.com

**Abstract Objective:** To investigate the expression and its clinical significance of Survivin and Bcl-2 in nasal squamous cell carcinoma (SNSCC). **Method:** The immunohistochemical Envision two step method was used to measure the expression of Survivin and Bcl-2 in 35 cases of SNSCC, 20 cases of normal inferior concha tissues. **Result:** The expression of Survivin in SNSCC was 88.6%, significantly higher than the normal inferior turbinate mucosal tissue expression of 0% ( $P<0.01$ ). The expression of Bcl-2 in SNSCC was 71.4%, significantly higher than the normal inferior turbinate mucosal tissue expression of 25% ( $P<0.01$ ). Expression of Bcl-2 was significantly higher in SNSCC than in normal tissue. The expression of Survivin was positively correlated with Bcl-2 expression ( $P<0.01$ ). The higher the grade of tumor, the lower expressions of Survivin and Bcl-2. **Conclusion:** Survivin and Bcl-2 may play an promoting role in the development and progression process of SNSCC. Survivin may become a target spot of SNSCC gene therapy.

**Key words** nasal cavity; paranasal sinuses; carcinoma, squamous cell; Survivin; Bcl-2

<sup>1</sup> 汉中市中心医院耳鼻咽喉头颈外科(陕西汉中, 723000)

<sup>2</sup> 汉中市中心医院病理科

通信作者:梁锦辉, E-mail: 6895210@qq.com

synthase (iNOS) [J]. Clin Epigenetics, 2012, 4: 3-3.  
[16] KWON N H, KIM J S, LEE J Y, et al. DNA methylation and the expression of IL-4 and IFN-gamma promoter genes in patients with bronchial asthma [J]. J Clin Immunol, 2008, 28: 139-146.  
[17] SOFER T, BACCARELLI A, CANTONE L, et al. Exposure to airborne particulate matter is associated with methylation pattern in the asthma pathway [J]. Epigenomics, 2013, 5: 147-154.  
[18] TARANTINI L, BONZINI M, APOSTOLI P, et al. Effects of particulate matter on genomic DNA methylation content and iNOS promoter methylation [J]. Environ Health Perspect, 2009, 117: 217-222.  
[19] YANO S, GHOSH P, KUSABA H, et al. Effect of

promoter methylation on the regulation of IFN-gamma gene during in vitro differentiation of human peripheral blood T cells into a Th2 population [J]. J Immunol, 2003, 171: 2510-2516.  
[20] JONES B, CHEN J. Inhibition of IFN-gamma transcription by site-specific methylation during T helper cell development [J]. EMBO J, 2006, 25: 2443-2452.  
[21] GORELIK G, RICHARDSON B. Key role of ERK pathway signaling in lupus [J]. Autoimmunity, 2010, 43: 17-22.  
[22] TEIXEIRO E, DANIELS M A. ERK and cell death: ERK location and T cell selection [J]. FEBS, 2010, 277: 30-38.

(收稿日期: 2015-12-10)

鼻腔鼻窦鳞状细胞癌(sinonasal squamous cell carcinoma, SNSCC)在临床上较为常见,在鼻腔鼻窦恶性肿瘤中占 70%~80%<sup>[1]</sup>,其发生发展具有多阶段、多因素的特征,在肿瘤发展过程中,涉及凋亡调节机制紊乱、癌基因活化等诸多因素。Survivin 是目前发现凋亡抑制蛋白(inhibitor of apoptosis protein, IAP)家族中最强的一员。Survivin 在人类大多数肿瘤组织中广泛表达,而在正常组织中不表达或低表达<sup>[2]</sup>。诸多研究表明 Survivin 与很多肿瘤的发生发展和预后相关,被认为是一些肿瘤的预后因素,并且能够作为癌症治疗的一个靶点<sup>[3]</sup>。Bcl-2 是研究非常深入的凋亡抑制蛋白,与细胞凋亡密切相关。关于 Survivin 在 SNSCC 相关性的表达国内很少报道,其与 Bcl-2 在 SNSCC 发生中的相互关系尚不明确。因此本研究采用免疫组织化学 Envision 二步法检测 35 例 SNSCC 及 20 例下鼻甲黏膜组织中 Survivin、Bcl-2 的表达,观察其表达变化,并探讨其临床意义。

1 资料与方法

1.1 组织标本来源

选取我院 2009—2015 年有完整临床病理资料,经病理检查证实为 SNSCC 者 35 例,其中男 21 例,女 14 例;年龄 40~76 岁,平均 59.3 岁;其中高分化 11 例,中分化 16 例,低分化 8 例。另取 20 例鼻中隔偏曲患者下鼻甲黏膜组织为对照组,其中男 13 例,女 7 例;年龄 19~60 岁,平均 43.7 岁。

1.2 试剂

本研究所选用的兔抗人 Survivin 多克隆抗体、鼠抗人 Bcl-2 单克隆抗体、DAB 显色剂以及 Envision 两步法免疫组织化学试剂盒购于北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.3 实验方法

所有标本常规甲醛固定,石蜡包埋,切片,厚度 3~4 μm。采用免疫组织化学 Envision 二步法,切片二甲苯脱蜡、梯度乙醇脱水,枸橼酸热修复抗原,内源性过氧化物酶阻断剂孵育 10 min。标本依次加入一抗(多抗 Survivin)孵育 30 min,一抗浓度 1:100。磷酸盐缓冲液代替一抗作为阴性对照。滴加 Envision™ 孵育 30 min,然后 DAB 显色,复染、脱水、透明和封片,在显微镜下观察标本结果。

1.4 结果判定

每例标本于 400 倍显微镜视野下,随机选取 5 个视野,每个视野计数 100 个细胞,计算 5 个视野阳性细胞的平均百分数。表达阴性(-):阳性细胞数<10%;表达弱阳性(+):阳性细胞数<30%;表达中度阳性(++):阳性细胞数为 30%~60%;表达强阳性(+++):阳性细胞数>60%,染色呈深棕黄色。

1.5 统计学处理

所有资料采用 SPSS13.0 软件进行统计学分

析,率的比较采用  $\chi^2$  检验。相关性用 Spearman 秩相关分析。 $P<0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

Survivin 蛋白在 SNSCC 组中的表达率为 88.6%(图 1~2),在对照组中无表达(图 3)。SNSCC 组与对照组的表达差异有统计学意义( $P<0.01$ )。在不同病理分级的 SNSCC 组织中,肿瘤的分级程度越高,Survivin 蛋白表达水平越低,但差异无统计学意义( $P>0.05$ ),见表 1。Bcl-2 蛋白主要定位于肿瘤细胞质中(图 4),在 SNSCC 组中的表达率为 71.4%,对照组中的表达率为 25%(图 5),SNSCC 与正常下鼻甲黏膜中的表达差异有统计学意义( $P<0.01$ )。不同病理分级的 SNSCC 组织中,肿瘤的分级程度越高,Bcl-2 蛋白表达水平越低,二者差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见表 1。

表 1 Survivin 与 Bcl-2 蛋白的表达情况 例

组别	例数	Survivin 蛋白表达				Bcl-2 蛋白表达			
		-	+	++	+++	-	+	++	+++
SNSCC 组	35	4 <sup>1)</sup>	9 <sup>1)</sup>	11 <sup>1)</sup>	11 <sup>1)</sup>	10 <sup>1)</sup>	8 <sup>1)</sup>	9 <sup>1)</sup>	8 <sup>1)</sup>
高分化	10	2	6	1	1	7	2	1	0
中分化	16	2	2	7	5	3	5	7	1
低分化	9	0	1	3	5	0	1	1	7
对照组	20	20	0	0	0	15	5	0	0

与对照组比较,<sup>1)</sup> $P<0.01$ 。

SNSCC 组中 Bcl-2 表达阳性的 25 例患者中 Survivin 阳性表达率为 100%,10 例不表达 Bcl-2 的患者中 Survivin 阳性表达为 6 例,两者比较差异有统计学意义( $P<0.01$ ),表明 Survivin 表达与 Bcl-2 表达呈正相关。

3 讨论

Survivin 由 Ambrosini 等(1997)采用效应细胞蛋白酶受体-1 的 cDNA 在人类基因组文库中通过杂交筛选分离出,定位于 17q25,是目前 IAP 家族成员中最小的一个,具有抗凋亡和调节有丝分裂的双重功能<sup>[4]</sup>。很多研究表明 Survivin 是 IAP 家族中抗凋亡能力最强的蛋白质<sup>[5]</sup>。细胞凋亡与细胞增殖之间的动态平衡维持机体稳态,二者失衡可能会导致肿瘤发生。Survivin 是在细胞循环 G<sub>2</sub>/M 期表达的一种分子量为 16.5 kDa 的蛋白质。IAP 家族首次于杆状病毒中发现,它们可以抑制病毒感染所造成的宿主细胞死亡。IAP 家族的所有成员均具有杆状病毒 IAP 重复区序列(Baculoviral IAP repeat),是一个锌结合的折叠区域<sup>[6]</sup>。这个特征性的结构是其抗凋亡作用中非常关键的结构。Survivin 在正常组织中不表达或低表达,而在肿瘤组织中广泛表达,如肺癌、乳腺癌、结肠癌、前列腺癌、胰腺癌、晚期淋巴瘤、成神经纤维瘤和胃癌等<sup>[7]</sup>。

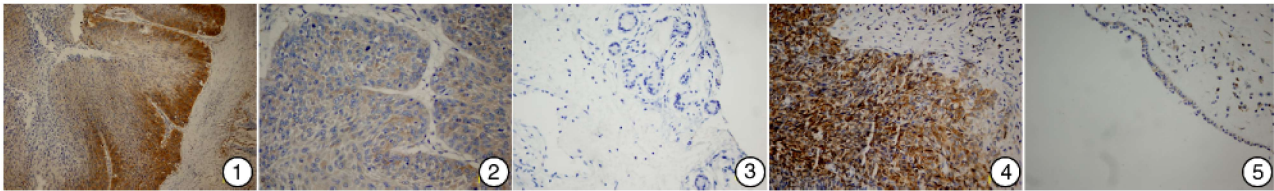


图 1 Survivin 在 SNSCC 胞质中表达呈强阳性 Envision 法 $\times 100$ ; 图 2 Survivin 在 SNSCC 胞质中表达呈阳性 Envision 法 $\times 400$ ; 图 3 正常下鼻甲黏膜组织中 Survivin 无表达 Envision 法 $\times 400$ ; 图 4 鼻腔鼻窦鳞状细胞癌的胞质中 Bcl-2 表达呈强阳性 Envision $\times 400$ ; 图 5 正常下鼻甲黏膜细胞中 Bcl-2 呈弱阳性表达 Envision $\times 400$ 。

Survivin 在肿瘤组织中可能处于失控的表达状态<sup>[8]</sup>,这一现象反映了肿瘤在进展中普遍存在的凋亡抑制作用。目前 Survivin 抗凋亡的确切机制尚不清楚,有的学者提出 Survivin 通过直接作用于细胞凋亡途径中的终末效应酶 Caspase-3 和 Caspase-7 而对细胞凋亡起调节作用,并且参与细胞周期调控以及肿瘤血管的生成<sup>[9]</sup>。

本研究通过免疫组织化学方法检测 Survivin 在 35 例 SNSCC 中阳性表达率达到 88.6%,20 例正常下鼻甲黏膜均未见表达,证实了 Survivin 在肿瘤组织中的表达具有特异性。由此说明 Survivin 参与 SNSCC 的发生且促进肿瘤的发展。Survivin 在肿瘤中表达的特异性,使得 Survivin 有可能成为肿瘤基因治疗的新靶点<sup>[10]</sup>。在 35 例 SNSCC 组织中,随着组织分化程度的降低,Survivin 的阳性表达率增多,但差异无统计学意义。

Bcl-2 作为细胞凋亡的抑制剂参与调节细胞的死亡,抑制各种生理和病理因素导致的细胞凋亡,在肿瘤的形成过程中有重要作用<sup>[11]</sup>。本研究显示 SNSCC 中 Bcl-2 表达的阳性率为 71.4%,正常下鼻甲黏膜中阳性率为 25%,两者之间差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),随着 SNSCC 的分化程度降低,Bcl-2 的阳性表达率随之增高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。表明抑制肿瘤凋亡的 Bcl-2 参与了 SNSCC 的发生发展。

Survivin 和 Bcl-2 在 SNSCC 中的表达是否相关,笔者未见国内外相关文献报道。本研究中两者的表达呈明显正相关。Survivin 与 Bcl-2 均为凋亡抑制蛋白,但两者的抑制凋亡机制不同。Bcl-2 通过干扰细胞色素 C 从线粒体释放而抑制细胞凋亡<sup>[12]</sup>。在 SNSCC 中 Survivin 和 Bcl-2 这两条不同的抗凋亡机制可能起协同作用,产生更强大的抗凋亡作用,促进 SNSCC 的发生。

综上所述,凋亡抑制基因 Survivin、Bcl-2 在 SNSCC 的发生、发展中起着协同作用。Survivin 在 SNSCC 组织中高表达而在正常下鼻甲组织中不表达的特点,为 SNSCC 基因治疗提供了理论依据。

## 参考文献

- [1] MAHALINGAPPA Y B, KHALIL H S. Sinonasal malignancy: presentation and outcomes[J]. J Laryngol Otol, 2014, 128: 654-657.
- [2] ALTIERI D C. Targeting survivin in cancer[J]. Cancer Lett, 2013, 332: 225-228.
- [3] DALLAGLIO K, PETRACHI T, MARCONI A, et al. Expression of nuclear survivin in normal skin and squamous cell carcinoma: a possible role in tumour invasion[J]. Br J Cancer, 2014, 110: 199-207.
- [4] NECOCHEA-CAMPION R D, CHEN C S, MIR-SHAHIDI S, et al. Clinico-pathologic relevance of Survivin splice variant expression in cancer[J]. Cancer Lett, 2013, 339: 167-174.
- [5] RÖDEL F, SPRENGER T, KAINA B, et al. Survivin as a prognostic/predictive marker and molecular target in cancer therapy[J]. Curr Med Chem, 2012, 19: 3679-3688.
- [6] BOIDOT R, VÉGRAN F, LIZARD-NACOL S. Transcriptional regulation of the survivin gene[J]. Mol Biol Rep, 2014, 41: 233-240.
- [7] CHEUNG C H, HUANG C C, TSAI F Y, et al. Survivin-biology and potential as a therapeutic target in oncology[J]. Onco Targets Ther, 2013, 6: 1453-1462.
- [8] KANWAR R K, CHEUNG C H, CHANG J Y, et al. Recent advances in anti-survivin treatments for cancer [J]. Curr Med Chem, 2010, 17: 1509-1515.
- [9] SHIN S, SUNG B J, CHO Y S, et al. An anti-apoptotic protein human survivin is a direct inhibitor of caspase-3 and caspase-7 [J]. Biochemistry, 2001, 40: 1117-1123.
- [10] CHEUNG C H, HUANG C C, TSAI F Y, et al. Survivin -biology and potential as a therapeutic target in oncology[J]. Onco Targets Ther, 2013, 6: 1453-1462.
- [11] LINDSAY J, ESPOSTI M D, GILMORE A P. Bcl-2 proteins and mitochondria-specificity in membrane targeting for death[J]. Biochim Biophys Acta, 2011, 1813: 532-539.
- [12] AUTRET A, MARTIN S J. Emerging role for members of the Bcl-2 family in mitochondrial morphogenesis[J]. Mol Cell, 2009, 36: 355-363.

(收稿日期: 2016-01-03)