

Survivin 在口腔扁平苔藓癌变过程中的表达

尚君兰 李爱霞 毛兰萍 刘沛 刘晓锦 孙明磊

(郑州大学第一附属医院口腔科 郑州 450052)

[摘要] 目的 探讨凋亡抑制因子 Survivin 在口腔扁平苔藓(OLP)、口腔鳞状细胞癌(OSCC)中的表达及意义。方法 采用免疫组织化学 SP 法检测 40 例糜烂型 OLP 组织、40 例 OSCC 组织以及 26 例正常口腔黏膜组织中 Survivin 蛋白的表达,并分析其意义。结果 Survivin 蛋白在正常口腔黏膜、糜烂型 OLP 及 OSCC 中的表达率分别为 4%、30%、55%,三组相比,差异均有统计学意义($P<0.05$)。OSCC 中 Survivin 表达与组织分化程度无显著相关关系。结论 Survivin 在 OLP 和 OSCC 中高表达,在 OLP 向 OSCC 转变的发生发展中可能起着重要作用。

[关键词] 口腔扁平苔藓; 口腔鳞状细胞癌; Survivin

[中图分类号] Q 51 **[文献标志码]** A **[doi]** 10.3969/j.issn.1673-5749.2011.04.010

The expression of Survivin in oral lichen planus and oral squamous cell carcinoma Shang Junlan, Li Aixia, Mao Lanping, Liu Pei, Liu Xiaojin, Sun Minglei. (Dept. of Stomatology, The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China)

[Abstract] **Objective** To study the expression and clinical significance of survivin, a novel member of inhibitor of apoptosis protein family, in oral lichen planus(OLP) and oral squamous cell carcinoma(OSCC). **Methods** Streptavidin-peroxidase immunohistochemical technique was used to detect the expression of survivin protein in 40 cases of OSCC, 40 cases of OLP tissues and 26 cases of normal oral mucosa, and its dependability was analyzed. **Results** The positive expression of survivin was detected in 22 cases of OSCC tissues(55%), in 12 cases of OLP tissues(30%), and in 1 case of normal oral mucosa(4%). The positive rates of survivin expression were significantly higher in OSCC and OLP than the normal oral mucosa($P<0.05$). **Conclusion** Survivin gene maybe one of the important factors in the development and progress of OSCC and OLP. Survivin may has relationship with the process of OLP transform to OSCC.

[Key words] oral lichen planus; oral squamous cell carcinoma; Survivin

口腔扁平苔藓(oral lichen planus, OLP)在成人中发病率为 1%~2%, 癌变率为 2%~3%, 世界卫生组织将其定义为癌前状态。口腔鳞状细胞癌(oral squamous cell carcinoma, OSCC)是上皮源性肿瘤, 上皮源性肿瘤的发生大多数经历一个“正常细胞→癌前病变→癌”的动态过程^[1]。

Survivin 是凋亡抑制蛋白家族的新成员, 其高表达促使肿瘤细胞增殖、逃避凋亡, 参与了细胞的有丝分裂过程, 具有抑制细胞凋亡和调节细胞增殖的双重作用^[2]。Kim 等^[3]研究表明: Survivin 是一种肿瘤特异性标志物, 在胚胎组织中表达, 在成熟的终末分化组织中不表达, 而在人类大多数恶性肿瘤中高表达, 肿瘤组织中 Survivin 呈过

度表达的患者往往预后不佳。本研究应用免疫组织化学方法检测 Survivin 在正常口腔黏膜、OLP 以及 OSCC 中的表达, 探讨其在 OLP 及 OSCC 发生、发展中的关系和意义。

1 材料和方法

1.1 临床资料

所有标本均选自郑州大学第一附属医院病理科 1998—2007 年存档的蜡块和口腔科活检或手术切取的组织, 经 10% 福尔马林固定, 石蜡包埋。40 例糜烂型 OLP, 在充血基础上发生糜烂, 因其易恶变, 且糜烂多发生在黏膜表浅的角化层和颗粒层, 病理变化主要发生在较深的棘细胞层和基底细胞层及上皮基底膜区, 故不影响基因的表达, 其中伴有异常增生 23 例; 40 例 OSCC, 其中 Ⅰ级 13 例, Ⅱ级 14 例, Ⅲ级 13 例, 其中 13 例为 OLP

[收稿日期] 2010-09-21; [修回日期] 2011-02-14

[作者简介] 尚君兰(1964—), 女, 河南人, 副主任医师, 学士

[通讯作者] 孙明磊, Tel: 0371-66862252

癌变。以上标本均经 2 位病理科资深专家双盲法阅片取得一致结果。OLP 以及 OSCC 诊断标准为依照《口腔组织病理学》第四版及 1999 年世界卫生组织肿瘤国际分类——口腔黏膜癌及癌前病变的组织学分类标准。选取 26 例门诊黏液腺囊肿切除的边缘正常黏膜组织作为实验对照组。石蜡切片均为 4 μm 连续切片。

1.2 方法

标本经体积分数为 10% 的甲醛溶液固定，常规石蜡切片，采用免疫组织化学 SP 法。通用型 SP 试剂盒、兔抗人 Survivin 多克隆抗体试剂盒均购自北京中杉金桥生物技术有限公司；DAB 显色剂染色。在显微镜下观察记录结果。均以已知阳性切片作为阳性对照，用 PBS 代替一抗作为阴性对照。采用免疫组化 SP 法，步骤如下：切片脱蜡至水，PBS 洗 3 次。微波抗原修复 10 min，室温下冷却，0.5% H₂O₂ 37 °C 室温孵育 30 min，PBS 洗 3 次。正常羊血清 37 °C 室温孵育 30 min。加一抗，用 2% PBS 稀释至 1:50，置湿盒内，4 °C 冰箱孵育 12 h；PBS 洗 3 次。第二抗体孵育 45 min，PBS 洗 3 次。SP37 °C 室温孵育 30 min，PBS 洗 3

次。二氨基联苯胺和 H₂O₂ 孵育，苏木素复染 15~30 s。显微镜下观察结果，酒精梯度脱水，二甲苯透明，中性树胶封片。

1.3 结果判定

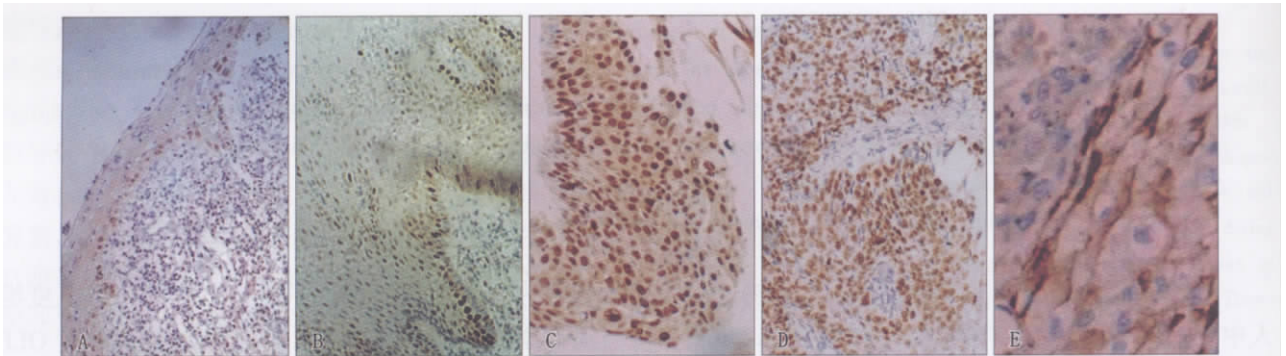
Survivin 表达的判断以胞核(部分胞浆棕黄染色)中染成棕黄色为阳性。根据阳性细胞百分率判断：没有或仅有弱的染色或阳性细胞率<10% 的标本记为(-)；阳性细胞 10%~25% 记为(+); 阳性细胞 25%~50% 记为(++); 阳性细胞>50% 记为(+++)。

1.4 数据分析

Survivin 在正常口腔黏膜、OLP 和 OSCC 中表达的差异性采用 χ^2 检验。采用 SPSS 10.0 统计软件进行统计学处理。计量资料均以均数±标准差表示，如果符合正态分布且方差齐，则采用单因素方差分析，两组之间比较采用 *t* 检验，计数资料用秩和检验。

2 结果

Survivin 的阳性染色定位于胞核，部分胞浆棕黄染色，呈深浅不一的黄色到棕黄色颗粒(图1)。



A: 正常黏膜 SP ×200; B: 糜烂型 OLP SP ×200; C: OSCC I 级 SP ×200; D: OSCC II 级 SP ×200; E: OSCC III 级 SP ×400.

图 1 Survivin 的免疫组化染色

Fig 1 The immunohistochemical view of Survivin

Survivin 蛋白在各组织中的表达情况及阳性率具体见表 1。

表 1 Survivin 的表达

Tab 1 Expression of Survivin

组别	Survivin 的表达/例				阳性率/%
	-	+	++	+++	
正常对照组	25	0	1	0	4.00
糜烂型 OLP	28	4	5	3	30.00
OSCC	18	6	11	5	55.00
OSCC 级	8	1	2	2	38.46
OSCC 级	4	4	4	2	71.43
OSCC 级	6	1	5	1	53.85

Survivin 蛋白在正常口腔黏膜中仅有 1 例阳性表达，占 4%。40 例糜烂型 OLP 组织中 12 例为阳性表达，占 30%，40 例 OSCC 组织中 22 例为阳性表达，占 55%。Survivin 蛋白在 OSCC 及糜烂型 OLP 组织中的表达与正常口腔黏膜组织相比，差异均有统计学意义($P < 0.05$)，Survivin 在 13 例癌变的 OLP 中均呈高表达，结果见表 1。以上各组做两两比较发现：正常对照组与 OSCC 相比，阳性细胞计数差异有统计学意义($\chi^2 = 26.456$, $P = 0.000 < 0.05$)；正常对照组与糜烂型 OLP 相比，阳性细胞计数差异有统计学意义($\chi^2 = 6.941$, $P =$

0.017<0.05)；糜烂型 OLP 与 OSCC 相比，阳性细胞计数差异均有统计学意义($\chi^2=6.487$, $P=0.008<0.05$)。但 OSCC 级与糜烂型 OLP 相比，差异无统计学意义($\chi^2=1.020$, $P=0.315>0.05$)。

3 讨论

OLP 是一种原因不明的慢性非感染性疾病，临床表现为网状、环状、条纹状及斑片状等，WHO 已将其定义为癌前状态。OLP 癌变后多为高分化鳞状细胞癌，虽然其癌变率相对较低，但对其癌前性质应给以足够重视。本研究选取的 40 例 OSCC 中有 13 例为 OLP 癌变而来。

近年来研究表明：肿瘤的发生往往是由于细胞增殖与死亡的速度平衡失调所造成的，其中恶性肿瘤的发生发展与细胞凋亡、增殖调节失控尤为密切。OSCC 是头颈部最常见的恶性肿瘤，其发生、发展是多因素、多环节作用的结果。OSCC 的发生是多步骤的渐进过程，其变化过程通常为正常口腔黏膜上皮→癌前病变→异型增生→早期 OSCC→晚期 OSCC。肿瘤发生的早期，细胞凋亡异常，将导致细胞生长周期延长，有利于变异基因的积累，常使细胞逃逸正常的监控机制，从而有助于肿瘤的发生。

Survivin 是近年来发现的一种新型凋亡抑制因子，位于染色体 17q25，是目前发现的唯一与细胞周期密切相关的凋亡抑制蛋白家族中的新成员，其过度表达与恶性肿瘤细胞的增殖活性有关^[4]。Survivin 表达于胚胎、胎儿组织，但不表达或极低表达于终末分化的成人组织中(除胸腺、生殖腺外)，而在绝大多数恶性肿瘤组织中均有表达，如胃癌、肺癌、肝癌、乳腺癌、神经母细胞瘤、食管癌、直肠癌、子宫癌、卵巢癌、胰腺癌、黑色素瘤、软组织肉瘤、白血病中等^[5]。亦有研究发现，Survivin 可极低表达于某些人体分化成熟的组织细胞^[6]中，如胃肠道黏膜上皮细胞，本实验中正常口腔黏膜组织也发现存在极低的表达情况。

各种研究表明，Survivin 是一种重要肿瘤分子标志物，其表达与肿瘤的发生、发展、预后不良等密切相关。近年来，Survivin 在口腔癌中的研究亦有相关报道。Khan 等^[7]检测了 29 例 OSCC 和 16 例癌前病变中 Survivin 和 p53 的表达，发现 OSCC 中 Survivin 阳性率为 72%，癌前病变率为 44%，

p53 与 Survivin 在 OSCC 和癌前病变的共阳性率为 28% 和 18%，推断 p53 与 Survivin 在癌变早期起一定作用。籍丽莉^[8]研究显示，OSCC 中 Survivin 阳性表达率为 88.89%，且随临床病理分级的增加而增加，并在淋巴结转移患者中的阳性表达率高于无转移者，并推断 Survivin 可作为 OSCC 的早期诊断指标。但 Survivin 在 OLP 中的研究少见报道。本研究显示，Survivin 在正常口腔黏膜中表达率极低为 4%，在糜烂型 OLP 的表达率为 30%，而在 OSCC 中表达率为 50%，表明随细胞生物学行为的变化，Survivin 的表达是逐级增高的。在 OSCC 级中的表达率为 38.46%，级中的表达率为 71.43%，提示 survivin 基因的表达可能是口腔癌发生的早期事件之一。本研究发现在 OSCC 级中的表达率为 53.85%，低于 OSCC 级中的表达率，可能与样本数较少有关，还有待于进一步研究。

4 参考文献

- [1] Squarize CH, Molinolo AA, Amornphimoltham P, et al. Dysregulated molecular networks in head and neck carcinogenesis[J]. *Oral Oncol*, 2009, 45(4/5): 324-334.
- [2] Qi G, Kudo Y, Ando T, et al. Nuclear survivin expression is correlated with malignant behaviors of head and neck cancer together with aurora-B[J]. *Oral Oncol*, 2010, 46(4): 263-270.
- [3] Kim YH, Kim SM, Kim YK, et al. Evaluation of survivin as a prognostic marker in oral squamous cell carcinoma[J]. *J Oral Pathol Med*, 2010, 39(5): 368-375.
- [4] Porebska I, Sobanska E, Kosacka M, et al. Apoptotic regulators: P53 and survivin expression in Non-small cell lung cancer[J]. *Cancer Genomics Proteomics*, 2010, 7(6): 331-335.
- [5] Pennati M, Folini M, Zaffaroni N. Targeting survivin in cancer therapy: Fulfilled promises and open questions[J]. *Carcinogenesis*, 2007, 28(6): 1133-1139.
- [6] Fukuda S, Pelus LM. Survivin, a cancer target with an emerging role in normal adult tissues[J]. *Mol Cancer Ther*, 2006, 5(5): 1087-1098.
- [7] Khan Z, Tiwari RP, Mulherkar R. Detection of survivin and p53 in human oral cancer: Correlation with clinicopathologic findings[J]. *Head Neck*, 2009, 31(8): 1039-1048.
- [8] 籍丽莉. survivin 在口腔鳞状细胞癌中的表达及其与 bcl-2, P53, bax 表达之间的关系[J]. *现代口腔医学杂志*, 2007, 21(4): 410-413.

(本文编辑 李彩)