

# 细胞凋亡抑制蛋白 Livin 和 Survivin 检测在胃癌诊断中的价值

杨少蓉, 马国卫(湖北省天门市第一人民医院普外科 2 区 431700)

**【摘要】 目的** 探讨细胞凋亡抑制蛋白 Livin 和 Survivin 检测在胃癌诊断中的作用。**方法** 选择 170 例天门市第一人民医院手术或内镜活检标本作为研究对象, 其中胃癌组织标本 45 例, 萎缩性胃炎 37 例, 浅表性胃炎 29 例, 异型增生胃黏膜 33 例, 26 例正常胃部组织。比较各组组织中 Livin、Survivin 表达阳性率, 并分析胃癌组织中 Livin 与 Survivin 表达的相关性。**结果** 胃癌组织 Livin、Survivin 阳性率显著高于其他组织, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 其中萎缩性胃炎、异型增生胃黏膜 Livin 阳性率显著高于正常组织, 萎缩性胃炎、浅表性胃炎、异型增生胃黏膜 Survivin 阳性率显著高于正常组织, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。Livin 阳性表达与组织分化程度和 TNM 分期有关 ( $P < 0.05$ ); Survivin 阳性表达与组织浸润程度和 TNM 分期有关 ( $P < 0.05$ )。Livin 阳性率为 57.78%, Survivin 阳性率为 64.44%, 二者均为阳性 21 例, 二者表达无明显相关性 ( $\chi^2 = 1.076, P > 0.05$ )。**结论** 细胞凋亡抑制蛋白 Livin 和 Survivin 在胃癌组织中表达显著上升, 两种蛋白因子检测可作为胃癌辅助诊断的指标之一。

**【关键词】** 细胞凋亡抑制蛋白; 胃癌; 诊断; Livin; Survivin

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2015.03.027 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2015)03-0355-03

**Diagnosis value of apoptosis inhibition protein Livin and Survivin in gastric cancer** YANG Shao-rong, MA Guo-wei (Second Department of General Surgery, Tianmen First People's Hospital, Tianmen, Hubei 431700, China)

**【Abstract】 Objective** To explore the diagnosis value of apoptosis inhibition protein Livin and Survivin in gastric cancer. **Methods** Totally 170 cases of operation or endoscopic biopsy specimens in our hospital were selected as the object, including 45 cases of gastric cancer tissues, 37 cases of atrophic gastritis, 29 cases of superficial gastritis, 33 cases of gastric mucosa dysplasia, 26 cases of normal gastric tissue. Compared the expression positive rate of Livin, Survivin of each group, and analysed the relationship between the Livin and Survivin in gastric cancer. **Results** The positive rate of Livin and Survivin of gastric carcinoma tissues was significantly higher than other groups ( $P < 0.05$ ); wherein the atrophic gastritis, gastric mucosa dysplasia, Livin positive rate was significantly higher than that of normal tissue, atrophic gastritis, superficial gastritis with dysplasia of gastric mucosa, positive rate of Survivin was significantly higher than that in normal tissue ( $P < 0.05$ ). The positive expression of Livin related with tissue differentiation, TNM stage ( $P < 0.05$ ); the positive expression of Survivin related with the degree of tissue infiltration, TNM stage ( $P < 0.05$ ). The positive rate of Livin was 57.78%, the positive rate of Survivin was 64.44%, both were positive in 21 cases, the expression had no obvious correlation ( $\chi^2 = 1.076, P < 0.05$ ). **Conclusion** Apoptosis inhibition protein Livin and Survivin expression in gastric cancer tissue increased significantly, two kinds of genetic testing can be used as one of indexes of gastric cancer screening.

**【Key words】** apoptosis inhibition of protein; gastric neoplasm; diagnosis; Livin; Survivin

胃癌是常见消化道恶性肿瘤, 调查显示, 全球每年新发胃癌患者约 50 万人, 其中我国占 40% 以上<sup>[1]</sup>。由于我国胃癌发病率高, 且胃癌早期症状不明显, 检出率较低, 大多数患者一旦确诊即为中、晚期。现代细胞生物学和分子生物学证实, 肿瘤的形成与细胞凋亡调控异常有关<sup>[2]</sup>。目前研究较多的 Bax、Bcl-2 等均为作用于上游级联反应的蛋白, 而关于直接作用于级联反应的蛋白目前报道较少。Livin 是最新发现的一种细胞凋亡抑制蛋白, 在肿瘤组织中呈高表达, 它可能是通过刺激 Caspas 蛋白来发挥抗凋亡作用。Survivin 是已知作用较强的细胞凋亡抑制蛋白, 与肿瘤的发生和发展有密切关系。本研究通过检测细胞凋亡抑制蛋白 Caspas 和 Survivin 在胃癌组织中的表达, 探讨二者在胃癌诊断中的作用, 现报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选择 170 例来自 2012 年 3 月至 2014 年 3 月

在本院手术或内镜活检标本, 男 97 例, 女 73 例, 年龄 22~67 岁, 平均(45.6±13.2)岁。其中胃癌组织标本 45 例, 萎缩性胃炎 37 例, 浅表性胃炎 29 例, 异型增生胃黏膜 33 例, 26 例正常胃部组织。胃癌患者在病理检查前均未进行放射或化学治疗。

## 1.2 方法

**1.2.1 试剂与仪器** 采用免疫组化 SP 法对 Livin、Survivin 进行检测, Livin 多克隆抗体购至美国 Imgenex 公司, 鼠抗人 Survivin 单克隆抗体购至北京中山生物技术有限公司, 免疫组化试剂盒由上海泽迈生物技术有限公司提供。

**1.2.2 实验步骤**<sup>[3]</sup> (1) 烤片, 68℃ 20 min。(2) 常规二甲苯脱蜡, 梯度乙醇脱水。(3) 灭活内源性过氧化物酶: 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 37℃ 孵育 10 min, 磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗 3×5 min。(4) 抗原修复: 在枸橼酸缓冲液(pH6.0)中煮沸(95℃, 15~20 min), 自然冷却 20 min 以上, 再用冷水冲洗, 加快冷却至室温, PBS

冲洗3×5 min。(5)正常羊血清工作液封闭,37℃10 min。(6)滴加一抗4℃冰箱孵育过夜,PBS冲洗3×5 min(用PBS缓冲液代替一抗作为阴性对照)。(7)滴加辣根过氧化物酶标记的链霉素卵白素工作液,37℃孵育30 min,PBS冲洗3×5 min。(8)DAB/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>反应染色,自来水充分冲洗后,苏木素复染,常规脱水,透明,干燥,封片。

**1.3 判定标准<sup>[4]</sup>** 按照染色强度进行评分,0分无染色;1分轻微染色;2分中度染色;3分强染色。按照染色面积评分,0分无染色;1分细胞染色面积少于25%;2分细胞染色面积25%~50%;3分细胞染色面积大于50%。综合两种标准结果,采用两种判定结果的乘积,参考标准:0分为-;1~2分为+;3~4分为++;5~6分为+++。按照半定量判定,≥++作为阳性结果;-、+作为阴性结果。

**1.4 统计学处理** 所有研究数据均采用SPSS17.0统计学软件进行统计分析,组间率的比较采用 $\chi^2$ 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

**2 结 果**

**2.1 各组 Livin、Survivin 表达情况** 见表1。胃癌组织 Livin、Survivin 阳性率显著高于其他组织,组间相比差异有统计学意义( $P<0.05$ );其中萎缩性胃炎、异型增生胃黏膜 Livin 阳性率显著高于正常组织,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),萎

缩性胃炎、浅表性胃炎、异型增生胃黏膜 Survivin 阳性率显著高于正常组织,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

**表 1 各组 Livin、Survivin 表达情况[n(%)]**

组别	n	Livin 阳性	Survivin 阳性
胃癌组织	45	26(57.78)* $\Delta$ $\blacktriangle$ $\#$	29(64.44)* $\Delta$ $\blacktriangle$ $\#$
萎缩性胃炎	37	5(13.51)*	3(8.11)*
浅表性胃炎	29	0(0.00)	2(6.89)*
异型增生胃黏膜	33	4(12.12)*	3(9.09)*
正常组织	26	0(0.00)	0(0.00)

注:与正常组织相比,\* $P<0.05$ ;与萎缩性胃炎相比, $\Delta$  $P<0.05$ ;与浅表性胃炎相比, $\blacktriangle$  $P<0.05$ ;与异型增生胃黏膜相比, $\#$  $P<0.05$ 。

**2.2 胃癌组织 Livin、Survivin 表达与临床指标的关系** 见表2。Livin 阳性表达与组织分化程度和 TNM 分期有关( $P<0.05$ ),组织分化程度越高,Livin 阳性表达率越高,Ⅲ~Ⅳ期胃癌 Livin 阳性表达率显著高于Ⅰ~Ⅱ期。Survivin 阳性表达与组织浸润程度和 TNM 分期有关( $P<0.05$ ),T1~T2 期胃癌 Survivin 阳性表达率显著高于 T3~T4 期,Ⅲ~Ⅳ期胃癌 Survivin 阳性表达率显著高于Ⅰ~Ⅱ期。

**表 2 胃癌组织 Livin、Survivin 表达与临床指标的关系[n(%)]**

指标	n	Livin 阳性	$\chi^2$	P	Survivin 阳性	$\chi^2$	P	
性别	男	31	18(58.06)	0.017	0.895	19(61.29)	2.303	0.129
	女	14	8(57.14)			10(71.43)		
年龄(岁)	≥45	27	16(59.26)	0.279	0.597	18(66.67)	0.670	0.413
	<45	18	10(55.56)			11(61.11)		
组织分化	高、中分化	19	6(31.58)	41.414	0.000	17(89.47)	1.047	0.306
	低、未分化	26	20(76.92)			22(84.61)		
浸润程度	T1~T2	17	10(58.82)	0.058	0.810	13(76.47)	8.425	0.004
	T3~T4	28	16(57.14)			16(57.14)		
淋巴转移	有	30	16(53.33)	3.707	0.054	19(63.33)	0.245	0.620
	无	15	10(66.67)			10(66.67)		
TNM 分期	Ⅰ~Ⅱ	24	10(41.67)	24.618	0.000	11(45.83)	35.322	0.000
	Ⅲ~Ⅳ	21	16(76.19)			18(85.71)		

**2.3 胃癌组织 Livin 与 Survivin 表达相关性分析** 见表3。在胃癌检测样本中,Livin 阳性率为 57.78%,Survivin 阳性率为 64.44%,二者均为阳性为 21 例,二者表达无明显相关性( $\chi^2=1.076,P>0.05$ )。

**表 3 胃癌组织 Livin 与 Survivin 表达相关性分析**

Livin 表达	n	Survivin 表达	
		阳性	阴性
阳性	26	21	5
阴性	19	8	11

**3 讨 论**

Survivin 蛋白因子是 20 世纪末发现的细胞凋亡抑制因

子,它主要在肿瘤组织和胚胎中表达。肿瘤细胞存在分化、增殖和凋亡异常,Survivin 在肿瘤细胞呈高表达<sup>[5]</sup>。吕元景等<sup>[6]</sup>研究发现,Survivin 在肿瘤组织中表达是一个渐进的过程,随着细胞的恶化,Survivin 蛋白逐渐上升。Livin 最初从人类胚胎中获得,属于 IAP 家族成员。研究发现,Livin 抑制细胞凋亡的主要途径是通过拮抗死亡受体<sup>[7]</sup>。陈力等<sup>[8]</sup>研究发现,Livin 抑制凋亡的作用要强于 Survivin。因此也有学者认为,Livin 是迄今为止发现作用最强的凋亡抑制因子。由于这两种因子主要存在于胚胎组织中,在其他组织表达明显下调甚至不表达;特别是两种蛋白均在肿瘤组织中高表达,因此有研究者提出,两种蛋白免疫组化检测可以作为肿瘤诊断的指标之一。黄玉钿等<sup>[9]</sup>研究发现,Livin 与 Survivin 在乳腺癌组织中阳性表达率分别为 57.8%和 64.0%,而正常组织无表达,因此该研

究认为凋亡抑制因子 Livin 和 Survivin 可能在乳腺癌的发生和发展中起重要作用。但是关于胃癌组织中两种因子的表达目前还少见相关报道,因此本研究通过分析胃癌组织中 Livin 和 Survivin 的阳性表达率,以探讨其在胃癌诊断中的作用。

本研究胃癌组织中 Livin 和 Survivin 表达阳性率显著高于其他组织,萎缩性胃炎、浅表性胃炎、异型增生胃黏膜 Survivin 阳性率高于正常组织。由于 Survivin 的表达是一个渐进过程,因此推测非肿瘤性胃部疾病,如胃炎、增生性胃黏膜等可能是胃癌的癌前病变,这与王华和王志红<sup>[10]</sup>报道的结论一致。因此在临床中遇到诸如上述胃部疾病的患者应及时治疗,避免疾病进一步恶化导致肿瘤发生。Crnkovic-Mertens 等<sup>[11]</sup>报道称 Livin 与肿瘤的预后呈正相关,本研究也发现 Livin 阳性表达与组织分化程度和 TNM 分期有关;Survivin 阳性表达与组织浸润程度和 TNM 分期有关,这提示可以将 Livin 和 Survivin 检测作为患者疗效、预后的评估指标之一,这也是接下来研究的主要方向。

综上所述,胃癌组织中 Livin 和 Survivin 表达显著上升,因此通过两种蛋白检测可以对胃癌进行早期诊断,同时也为进一步研发胃癌治疗药物提供了新的作用靶点。

参考文献

[1] Gwon DI, Ko GY, Sung KB, et al. Clinical outcomes after percutaneous biliary interventions in patients with malignant biliary obstruction caused by metastatic gastric cancer[J]. Acta Radiol, 2012, 53(4): 422-429.

[2] 颜红柱, 钟南哲, 李维卿, 等. ATP2A2 通过钙离子浓度变化参与肿瘤发生机制的研究进展[J]. 第二军医大学学报, 2013, 34(11): 1248-1252.

[3] 官兵, 周晓军. 淋巴瘤病理诊断常用免疫组化抗体的选择策略[J]. 临床与实验病理学杂志, 2011, 27(1): 1-9.

[4] Hall BA, Webber NP. Atypical intradermal smooth muscle neoplasms (formerly cutaneous leiomyosarcomas): Case series, immunohistochemical profile and review of the literature[J]. Appl Immunohistochem Mol Morphol, 2013, 21(2): 132-138.

[5] Riolo MT, Cooper ZA, Holloway MP, et al. Histone deacetylase 6 (HDAC6) deacetylates Survivin for its nuclear export in breast cancer[J]. J Biol Chem, 2012, 287(14): 10885-10893.

[6] 吕元景, 苗素生, 刘伟松, 等. 重组 Survivin 腺病毒的构建与鉴定[J]. 中华肿瘤杂志, 2011, 33(1): 13-17.

[7] Yang DX, Zhang J. Suppression of Livin gene expression by siRNA leads to growth inhibition and apoptosis induction in human bladder cancer T24 cells[J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2010, 74(5): 1039-1044.

[8] 陈力, 李凡, 任国胜. 靶向 Livin 的 RNA 干扰对食管癌 Eca-109 细胞凋亡相关蛋白 Caspase-3 和 Caspase-9 表达的影响[J]. 重庆医科大学学报, 2011, 36(3): 298-302.

[9] 黄玉钊, 谭云山, 曾海英. 乳腺癌组织 Livin 和 PTEN 表达与肿瘤血管生成的相关性[J]. 中国免疫学杂志, 2012, 28(10): 886-889.

[10] 王华, 王志红. Survivin 表达在早期胃癌及癌前组织中的研究和临床意义[J]. 中华全科医学, 2011, 9(6): 957-959.

[11] Crnkovic-Mertens I, Bulkescher J, Mensger C, et al. Isolation of peptides blocking the function of anti-apoptotic Livin protein[J]. Cell Mol Life Sci, 2010, 67(11): 1895-1905.

(收稿日期: 2014-08-28 修回日期: 2014-10-05)

(上接第 354 页)

系统稳定性更高,更适合于微量降解检验材料。

参考文献

[1] Lehmann U, Kreipe H. Real-time PCR analysis of DNA and RNA extracted from formalin-fixed and paraffin-embedded biopsies[J]. Methods, 2001, 25(4): 409-418.

[2] Zsikla V, Baumann M, Cathomas G. Effect of buffered formalin on amplification of DNA from paraffin wax embedded small biopsies using real-time PCR[J]. J Clin Pathol, 2004, 57(6): 654-656.

[3] 吴微微, 郝宏蕾, 林锦锋, 等. 3 种国产化试剂盒与 Identifiler™ 试剂盒检验结果比较[J]. 中国法医学杂志, 2011, 26(1): 45-47.

[4] 阙庭志, 严品华, 林源, 等. Identifiler™ 系统在亲子鉴定中的应用评估[J]. 法医学杂志, 2009, 25(3): 184-186.

[5] 张素华, 张喆人, 孙宽, 等. Investigator HDplex 试剂盒在华东汉族人群中的法医学应用价值[J]. 法医学杂志,

2012, 28(5): 351-354.

[6] 柳燕, 李莉, 赵珍敏, 等. 甲醛固定石蜡包埋组织 STR 分型检测[J]. 法医学杂志, 2009, 25(5): 337-340.

[7] 袁丽, 鲁涤, 毋丽娜. 石蜡包埋人体组织 STR 检验的探讨[J]. 法律与医学杂志, 2006, 13(1): 50-52.

[8] 党华伟, 毛炯, 王惠, 等. 疑难生物检材法医 DNA 检验的现状与进展[J]. 法医学杂志, 2012, 28(1): 52-54.

[9] 林旭, 王建文, 尹雅莎, 等. 运用 Identifiler 试剂盒对硅珠法提取石蜡包埋组织 DNA 质量的评估[J]. 南京医科大学学报: 自然科学版, 2012, 32(4): 577-581.

[10] 张越, 陈阳, 杨元立, 等. 多重置换扩增在病理切片 DNA 分型中的应用[J]. 法医学杂志, 2013, 29(1): 17-20.

[11] 方建新, 李成涛, 肖立. 13 个 STR 位点在人消化系统肿瘤组织中的变异分析[J]. 法医学杂志, 2007, 23(4): 280-282.

(收稿日期: 2014-08-28 修回日期: 2014-10-26)