

基础研究

DOI: 10.3969/j.issn.0253-3626.2012.02.005

Survivin、MMP-2 在乳腺癌中的表达及其相关性研究

宫惠琳¹, 张锁平², 张冠军¹, 董炜疆³

(1. 西安交通大学医学院第一附属医院病理科, 西安 710061; 2. 陕西扶风县人民医院病理科, 宝鸡 722200;

3. 西安交通大学医学院解剖学系, 西安 710061)

【摘要】目的:通过检测 Survivin 和基质金属蛋白酶 2(Matrix metalloproteinase 2, MMP-2)在乳腺癌组织中的表达,研究两者的相关性及其在乳腺癌发生发展中的意义。方法:用免疫组织化学 S-P 法检测 114 例乳腺癌中 Survivin、MMP-2 的表达,分析其相关性及二者与乳腺癌临床分期、病理组织学分级、腋窝淋巴结转移、5 年生存率的关系。结果:Survivin、MMP-2 在乳腺癌中的阳性表达率分别为 71.05% 和 75.40%, 显著高于两者在正常乳腺中的表达率,且二者表达呈正相关($P < 0.05$); 均与乳腺癌临床分期、病理组织学分级、腋窝淋巴结转移、5 年生存率密切相关($P < 0.05$)。结论:Survivin、MMP-2 基因表达与乳腺癌的发生发展密切相关,联合检测有助于乳腺癌预后的判断。

【关键词】乳腺癌; Survivin; 基质金属蛋白酶 2

【中国图书分类法分类号】R737

【文献标志码】A

【收稿日期】2011-11-03

Expression of Survivin and MMP-2 in breast carcinoma and their correlation

GONG Huilin¹, ZHANG Suoping², ZHANG Guanjin¹, DONG Weijiang³

(1. Department of Pathology, the First Affiliated Hospital, Medical School of Xi'an Jiaotong University;

2. Department of Pathology, Fufeng People's Hospital in Shanxi Province;

3. Department of Anatomy, Medical School of Xi'an Jiaotong University)

【Abstract】Objective: To discuss the relationship between and significance of the expressions of Survivin and MMP-2 in carcinogenesis and progression of breast carcinoma through detection and investigation. Methods: The expressions of Survivin and MMP-2 in 114 cases breast carcinoma tissues were detected by immunohistochemistry SP method. The relationship between Survivin and MMP-2 was analyzed, and their correlations with clinical stage, tumor grade of differentiation, axillary lymph node metastasis, and 5-year disease-free survival were also studied. Results: The positive expression rates of Survivin and MMP-2 in breast carcinoma were 71.05% (81/114) and 75.40% (84/114), respectively, which were significantly higher than those in normal breast tissue. Survivin expression had a positive correlation with MMP-2. Both Survivin and MMP-2 were correlated with the clinical stage, pathology grade, axillary lymph nodes metastasis, and 5-year disease-free survival ($P < 0.05$). Conclusion: The expressions of Survivin and MMP-2 are significantly correlated with the occurrence and development of breast carcinoma. Detection of these two expressions may be valuable for evaluating the prognosis of breast carcinoma.

【Key words】breast carcinoma; Survivin; matrix metalloproteinase 2 (MMP-2)

乳腺癌是危害女性健康最常见的恶性肿瘤之一,近年来其发病率呈明显上升且年轻化的趋势,已跃居城市女性恶性肿瘤的首位^[1]。乳腺癌的形成和发展是一个多基因参与并经过多步骤的复杂生理过程,其中凋亡抑制基因起着非常重要的作用, Survivin 是一种结构独特的哺乳类凋亡抑制基因,具有抑制细胞凋亡和调节细胞周期的双重功能,与肿瘤的发生发展密切相关^[2]。基质金属蛋白酶 2(Matrix metalloproteinase 2, MMP-2)是金属蛋白酶家族中与肿瘤关系最为密切的因子之

一,是一种由肿瘤细胞和间质细胞分泌的蛋白水解酶,能特异性降解基底膜的主要成分—IV 型胶原,在肿瘤的新生血管形成、肿瘤细胞的浸润和转移灶的形成过程中均起重要作用^[3]。本文通过检测乳腺癌中 Survivin、MMP-2 的表达,研究两者相关性及其在乳腺癌发生发展中的意义。

1 材料与方法

1.1 实验材料

收集西安交通大学医学院第一附属医院 2004-2005 年间经病理确诊、行手术切除,且有 5 年以上完整随访资料的乳腺浸润性导管癌 114 例,患者均为女性,年龄 28~81 岁,平

作者介绍:宫惠琳(1972-),女,副主任医师,硕士,

研究方向:肿瘤病理学。

通信作者:董炜疆,男,副教授, Email: dongwj@mail.xjtu.edu.cn。

基金项目:陕西省自然科学基金资助项目(编号:2009JM4002)。

表 1 Survivin、MMP-2 在乳腺癌及乳腺正常组织中的表达

Tab.1 Expressions of Survivin and MMP-2 in breast carcinoma and normal breast tissue

组织学 类型	例数	Survivin						MMP-2					
		-	+	++	+++	总阳性例数	总阳性率	-	+	++	+++	总阳性例数	总阳性率
乳腺癌	114	33	9	37	35	81	71.05 %	28	11	41	34	86	75.40%
正常乳腺	40	38	2	0	0	2	5.00%	36	2	2	0	4	10.00%

均年龄 50.5 岁。根据 TNM 国际分期法进行临床分期: I 期和 II 期 64 例、III 期和 IV 期 50 例。采用 Bloom-Richardson 半定量组织学分级法进行病理分级: I 级 12 例, II 级 44 例, III 级 58 例; 其中伴有淋巴结转移者 62 例。另选 40 例癌周正常乳腺组织作为对照。

1.2 方法

所有标本均经 10% 福尔马林固定, 常规取材, 石蜡包埋制片, HE 染色, 光镜观察, 并作免疫组化染色。免疫组化采用 SP 二步法, 兔抗人 Survivin 多克隆抗体、小鼠抗人 MMP-2 单克隆抗体均购自福州迈新公司, 1:80 倍稀释, DAB 显色、苏木素复染。用已知的中等程度阳性片作为阳性对照, 以 PBS 取代第一抗体作为阴性对照。

1.3 免疫组化结果判定

Survivin、MMP-2 免疫组化阳性产物呈棕黄褐色颗粒状, 定位于细胞浆。采用双评分半定量分析, 根据阳性细胞百分率及显色深浅计分, 高倍镜下 (400×) 随机取 4 个视野, 计算阳性细胞数平均数, 阳性细胞平均数为 0 计为 0 分, ≤25% 记为 1 分, 26%~50% 记为 2 分, 51%~75% 记为 3 分, ≥76% 记为 4 分。显色强度为无着色记为 0 分, 淡黄色记为 1 分, 棕黄色记为 2 分, 棕褐色记为 3 分。2 种分数相加后综合判定, 0~1 分为 (-), 2~3 分为 (+), 4~5 分为 (++) , 6~7 分为 (+++)。

1.4 统计学处理

应用 SPSS10.0 统计软件对数据进行统计分析; 采用 χ^2 检验和 Spearman 等级相关分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 Survivin、MMP-2 在乳腺癌及乳腺正常组织中的表达及其相关性 (表 1、2)。

表 1 示 Survivin、MMP-2 在乳腺癌中的表达率分别为 71.05% 和 75.40% (见图 1、2), 明显高于正常乳腺组织中的 5.00% ($P < 0.005$) 和 10.00% ($P < 0.005$), 差异有统计学意义。表 2 显示, Survivin 在 MMP-2(+) 组中的表达率为 80.23% (69/86), 在 MMP-2(-) 组的表达率为 42.86% (12/28), 两者相比差异有统计学意义 ($\chi^2 = 14.35, r = 0.324, P < 0.005$), 呈正性相关。

表 2 Survivin 与 MMP-2 基因表达之间的关系

Tab.2 Relationship between the expressions of Survivin and MMP-2

	Survivin (+)	Survivin (-)
MMP-2 (+)	69	17
MMP-2 (-)	12	16

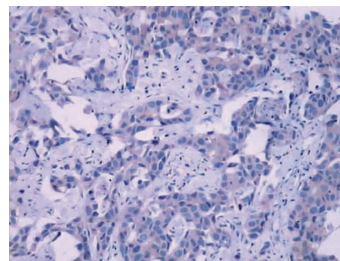


图 1 乳腺癌细胞浆 Survivin 表达阳性 (SP, 100 ×)

Fig.1 Positive expression of cytoplasmic Survivin in breast carcinoma (SP, 100 ×)

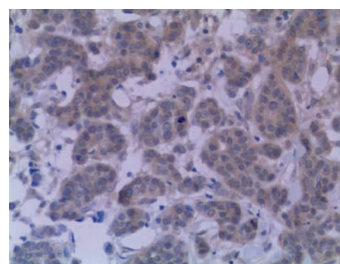


图 2 乳腺癌细胞浆 MMP-2 表达阳性 (SP, 200 ×)

Fig.2 Positive expression of cytoplasmic MMP-2 in breast carcinoma (SP, 200 ×)

2.2 Survivin、MMP-2 表达与临床病理特征的关系

由表 3 可见 Survivin、MMP-2 阳性表达与乳腺癌临床分期、病理组织学分级、腋窝淋巴结转移及 5 年生存率相关, 差别有统计学意义 ($P < 0.05$)。随着乳腺癌临床分期、病理分级增高, 腋窝淋巴结转移, 生存期小于 5 年, Survivin、MMP-2 表达增强。

3 讨 论

乳腺癌的发生、发展是一个多基因参与、多步骤、多阶段的复杂过程, 其中细胞凋亡起着负调控作用, 如果细胞凋亡受到抑制, 可使细胞躲过程序性死亡而异常增殖, 导致肿瘤发生^[9], 而侵袭转移是关系到恶性肿瘤预后的最本质的生物学特征。近年来的研究表明, 多种生物学指标与乳腺癌发生、发展以及手术后的复发转移、预后有关, 其中 Survivin、MMP-2 是参与肿瘤细胞凋亡、侵袭转移过程的最重要的因子之一, 因此本实验采用免疫组化方法检测了 Survivin、MMP-2 在乳腺癌组织中的表达, 并探讨了二者与乳腺癌临床病理因素的关系及二者相关性。

Survivin 是迄今发现最强的凋亡抑制因子, 不仅抑制细胞凋亡, 还参与细胞周期的调控和新生血管形成。研究显

表 3 Survivin、MMP-2 表达与乳腺癌临床病理特征的关系

Tab.3 Relationship between the expressions of Survivin, MMP-2 and clinical pathological features in breast carcinoma

临床病理指标		例数	Survivin			MMP-2		
			阳性数	阳性率 (%)	组内比较	阳性数	阳性率 (%)	组内比较
临床分期	I/II 期	64	39	60.93	$\chi^2=7.26$	38	59.38	$\chi^2=11.39$
	III/IV 期	50	42	84.00	$P<0.05$	44	88.00	$P<0.005$
病理分级	I/II 级	56	31	55.36	$\chi^2=13.18$	35	62.50	$\chi^2=9.94$
	III 级	58	50	86.21	$P<0.005$	51	87.93	$P<0.005$
淋巴结转移	有	62	54	87.10	$\chi^2=17.01$	52	83.87	$\chi^2=5.22$
	无	52	27	51.92	$P<0.005$	34	65.38	$P<0.05$
生存期	<5 年	42	39	92.86	$\chi^2=5.37$	38	90.48	$\chi^2=8.12$
	≥5 年	72	42	58.33	$P<0.005$	48	66.67	$P<0.005$

示 Survivin 的高表达能抑制多种途径如 caspase、P53、Fas 等诱导的细胞凋亡^[5];Survivin 在调节细胞有丝分裂中也有重要作用^[6],如微管的聚合、卵裂沟的形成和胞质的分裂,Survivin 在癌细胞中过度表达可促进其跳过细胞周期的 G₂/M 期检查点,完成异常有丝分裂而促进癌细胞增殖,使肿瘤逃避凋亡^[6]。另外,Survivin 还与肿瘤血管形成有关,Wu Y 等人研究发现 Survivin 表达异常增高可促进 VEGF 诱导的血管内皮细胞增殖和毛细血管网形成,由此带来的丰富血供可促进肿瘤细胞的生长和转移^[7]。本研究显示 Survivin 在乳腺癌中阳性表达率为 71.05%,显著高于正常乳腺组织,且与乳腺癌临床分期、病理组织学分级、淋巴结转移及 5 年生存率有关,提示 Survivin 基因表达与乳腺癌的发生、进展关系密切,Survivin 基因在乳腺癌组织中的过度表达可能抑制了异常突变细胞的凋亡,从而扰乱了细胞生长和凋亡途径,促使细胞逃离生长监控,导致了肿瘤的发生和演进。

同多数肿瘤一样,乳腺癌的浸润转移也是影响患者生存和预后的重要因素,而浸润转移首先需要突破细胞外基质及基底膜屏障^[8]。基质金属蛋白酶(Matrix metalloproteinase,MMPs)是降解细胞外基质的主要家族之一。它们在肿瘤浸润转移中扮演着重要角色,通过降解细胞外基质中的大分子物质(如胶原、层黏连蛋白等)破坏阻挡癌细胞浸润的物理屏障。其中 MMP-2 是 MMPs 家族中分布最广的成员,是肿瘤实现侵袭转移的重要蛋白水解酶之一,因其主要反应底物为细胞外基质中的 IV 型胶原故又称之为 IV 型胶原酶。MMP-2 由肿瘤细胞和间质细胞以酶原形式分泌,经水解后激活,能特异性地降解基底膜的主要成分——IV 型胶原,还可降解 V、VI、X 型胶原、FN 和明胶^[9]。MMP-2 还可以调节细胞间的粘附力,促使肿瘤细胞在血管内聚集及穿出血管形成转移灶^[10],并且能通过刺激血管内皮细胞 DNA 的合成、促进多种血管生长调节因子的释放,参与肿瘤内新生血管生成^[11];此外 MMP-2 还能刺激肿瘤细胞分泌各类生长因子而增强有丝分裂^[12],通过诱导肿瘤细胞产生凋亡耐受、免疫逃逸而导致肿瘤发生和进展^[13]。当细胞恶变时常有 MMP-2 的升高,在多种恶性肿瘤细胞中均发现 MMP-2 表达的增高,在部分肿瘤中还发现随着肿瘤恶性程度的增高,MMP-2 的表达也增高,且与肿瘤的浸润和转移相关^[14]。本研究显示 MMP-2 在乳腺癌中的表达显著高于正常乳腺组织,且与乳腺癌 TNM 临床分期、组织学分

级、腋窝淋巴结转移及 5 年生存率相关($P<0.05$),提示 MMP-2 在乳腺癌的侵袭转移中起着重要作用,可作为判定乳腺癌侵袭性及预后的一个敏感指标。

鉴于 Survivin 和 MMP-2 两者都与乳腺癌发展及预后关系密切,进而探讨了两者的相关性,结果显示二者成正相关,推测两者可能通过协同抑制肿瘤细胞凋亡,调节肿瘤细胞分裂,基质浸润,微血管生成等多重途径,共同促进了乳腺癌的侵袭和转移,从而为揭示乳腺癌的发生发展、浸润转移机制提供了新线索,在未来可以期待通过联合检测 Survivin、MMP-2 判断乳腺癌的侵袭、转移和预后情况,并成为乳腺癌的重要诊断指标和治疗靶点。

参 考 文 献

- [1] 刘春富,董琦,纪艳超,等.乳腺癌组织中 Survivin 表达及其与预后的关系[J].临床与实验病理学杂志,2009,25(3):267-269.
- [2] Liu C F,Dong Q,ji Y C,et al.Expression of survivin in breast cancer and its correlation to prognosis[J].J Clin Exp Pathol,2009,25(3):267-269.
- [3] Mita A C,Mita M M,Nawrocki ST,et al.Survivin:key regulator of mitosis and apoptosis and novel target for cancer therapeutics[J].Clin Cancer Res,2008,14(16):5000-5005.
- [4] Minard M E,Ellis L M,Gallick G E.Tiam 1 regulates cell adhesion,migration and apoptosis in colon tumor cells[J].Clin Exp Metastasis,2006,23(5-6):301-313.
- [5] Melet A,Song K,Bucur O,et al.Apoptotic pathways in tumor progression and therapy[J].Adv Exp Med Biol,2008,615:47-79.
- [6] Hermann B,Susanne H,Andreas B. Immunohistochemical expression of survivin and [gamma]-H2AX in vulvar intraepithelial neoplasia and low-stage squamous cell carcinoma[J].International Journal of Gynecological Pathology,2011,30(6):583-590.
- [7] Vader G,Medema R H,Lens S M,et al.The chromosomal passenger complex:guiding Aurora-B through mitosis[J].J Cell Biol,2006,173(6):833-837.
- [8] Wu Y,Wang G,Wei J,et al.Surviving protein expression positively correlated with proliferative activity of cancer cells in bladder cancer[J].Indian J Med Sci,2005,59(6):235-242.
- [9] Mcsherry E A,Donatello S,Hopkins A M,et al.Molecular basis of

invasion in breast cancer[J].Cell Mol Sci,2007,64(24):3201-3218.

[9] Bhuvarahamurthy V,Kristiansen G O,Johannsen M,et al.In situ gene expression and localization of metalloproteinases MMP1,MMP2,MMP3,MMP9,and their inhibitors TIMP1 and TIMP2 in human renal cell carcinoma[J].Oncol Rep,2006,15(5):1379-1384.

[10] Temma T,Sano K,Kuge Y,et al.Development of a radiolabeled probe for detecting membrane type-1 matrix metalloproteinase on malignant tumors[J].Biol Pharm Bull,2009,32(7):1272-1277.

[11] Giannopoulos G,Pavlikis K,Parasi A,et al.The expression of matrix metalloproteinases-2 and-9 and their tissue inhibitor 2 in pancreatic ductal and ampullary carcinoma and their relation to angiogenesis

and clinicopathological parameters[J].Anticancer Res,2008,28(3B):1875-1881.

[12] Overall C M,Dean R A.Degradomics:systems biology of the protease web.Pleiotropic roles of MMPs in cancer[J].Cancer Metastasis Rev,2006,25(1):69-75.

[13] Olszyhski K,Zimowska M.Structure and function of matrix metalloproteinases[J].Postepy Biochem,2009,55(1):76-84.

[14] Sun J,Hemler M E.Regulation of MMP-1 and MMP-2 production through CD147/extracellular matrix metalloproteinase inducer interactions[J].Cancer Res,2001,61(5):2276-2281.

(责任编辑:冉明会)

(上接第 100 页)

后患者左上下肢肌力恢复至 4 级。

2 讨论

脑血管支架术后由于斑块脱落、血管狭窄解除后的血流量增加,出现脑栓塞、脑高灌注综合征等并发症出现较普遍,但精神行为异常者则未见报道。本例患者在行支架置入术后出现躁动、话多等精神行为异常表现,神经科查体及肝肾功能、电解质、头颅 CT 等检查均未见明显异常,考虑精神异常与以下因素有关:

(1)患者对手术性质、手术风险了解不够,以及患者对手术本身的恐惧,引起术后精神异常表现。本患者为老年人,术前多次表示出对手术顾虑大,担心手术是否顺利,继而出现精神紧张、恐惧及抑郁表现。事实上,在外科手术后出现精神异常的病例并不鲜见,Sveinsson^[1]曾报道 100 例行心脏手术后的患者,其中 6 例出现谵妄、精神极度兴奋状态,3 例出现轻度意识障碍;2011 年李小艳等^[2]报道了 4 例 65 岁以上老年患者外科手术后出现精神异常,表现为烦躁不安,对陪护人员指令不能理解,认为老年和术前精神紧张是发生术后精神障碍的重要因素。本例患者年龄较大,且术前焦虑,反复询问医生手术安全及并发症情况,系精神异常发作的重要因素。

(2)术后因为肢体制动,使得患者进食、大小便均在床上,因为不习惯而在主观上进食较少,引起轻度脱水等情况,同时患肢的制动往往导致患者腰酸背痛,周身不适,排尿困难,烦躁不安,难以入眠而痛苦不堪,而老年患者这一情况更甚,明显加重了精神负担。

(3)造影剂反应。岳炫烽等^[3]曾报道 3 例脑血管造影术后碘海醇致急性精神障碍病例,患者于术后 6 h 出现烦躁不安,胡言乱语,神经系统查体、电解质、肾功能、血气分析及头颅 CT 均未见异常,予以对症治疗 5 d 后患者症状消失。考虑与碘海醇对大脑皮层的神经毒性有关。本例患者术后 4 h 出现精神症状,肝肾功能、电解质及头颅 CT 均无异常,予以对症治疗症状很快消失,不排除碘海醇所致。

(4)患者曾因病态窦房结综合征行心脏起搏器植入术,本次心电图示一度房室传导阻滞,完全性右束支传导阻滞。

有相关文献证实:心脏功能较差的患者术后发生精神障碍的几率显著提高,这是因为此类病人心脏供血较差,术后血流动力学不稳定,气体交换功能不良,加重了脑缺氧^[4]。

(5)患者性格急躁,平时易怒。该患者对要求其患肢制动极度反感,这类容易激动、急躁、不耐烦的反应即为 A 型性格。A 型性格既参与了脑血管疾病的发病机制^[5],亦会使机体处于超强的应激状态,往往会使患者强化自己疾病的严重性,因此患者本次出现精神异常与性格本身有密不可分的关系。

对于老年患者的支架植入,应该认真做好术前心理疏通工作,同时严格评估心脑功能,才能较好的预防此类并发症的出现。

参 考 文 献

[1] Sveinsson I S.Postoperative psychosis after heart surgery[J].The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery,1975,70(4):717-726.

[2] 李小艳,宋剑乔,严火柴.老年患者术后认知功能障碍 4 例临床分析[J].全科医学临床与教育,2011,9(1):61-62.

Li X Y,Song J Q,Yan H R.Postoperative cognitive dysfunction in elderly patients:clinical analysis of 4 cases[J].Clinical Education of General Practice,2011,9(1):61-62.

[3] 岳炫烽,李自然,席刚明.碘海醇致急性精神障碍三例[J].中华精神科杂志,2007,40(1):14.

Yue X Y,Li Z R,Xi G M.Three cases of acute mental disorder induced by Iohexol[J].Chinese Journal of Psychiatry,2007,40(1):14.

[4] 王欣,廖崇先.心脏手术后精神障碍的临床分析[J].中华精神科杂志,1997,30(2):46-47.

Wang X,Liao C X.A clinical analysis of mental disorder after heart surgery[J].Chinese Journal of Psychiatry,1997,30(2):46-47.

[5] 王征,门晓彬.A 型性格对心脑血管疾病的影响[J].社区医学杂志,2006,4(7):26-27.

Wang Z,Men X B.The influence of type A personality for cardiovascular and cerebrovascular diseases[J].Journal of Community Medicine,2006,4(7):26-27.

(责任编辑:关蕴良)