doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.18.007

XIAP 及 survivin 在原发性肝细胞癌组织中的表达及其相关性研究 *

杨德华[1] 郭晓东[2△] 余灵祥[2] 周艳贤[2] 杨 美[2] 熊 璐[2] 李志伟[2]

（1 成都市公共卫生临床医疗中心 四川 成都 610066；2 解放军第 302 医院 北京 100039）

摘要 目的：探讨 X 连锁凋亡抑制蛋白（XIAP）和 survivin 在原发性肝细胞癌中的表达及两者的相关性。**方法：**选取本院收治的 60 例原发性肝细胞癌患者，应用免疫组织化学染色的方法对肝癌组织及癌旁组织中的 XIAP 及 survivin 的表达进行检测。**结果：**经比较，肝癌组织中 XAIP 及 survivin 的阳性率均显著高于癌旁组织，差异有统计学意义。XIAP 和 survivin 的表达强度与肿瘤的大小无关，但随肿瘤的分化程度的降低而升高，且不同分化程度之间差异有统计学意义；XIAP 和 survivin 存在正相关关系。**结论：**XIAP 与 Survivin 在肿瘤组织中的高表达在促进肿瘤发生、增殖、转移以及耐药，并且能够降低肿瘤的分化程度，增加肝癌的恶性程度。此外，两者可能存在协同作用，但两者的相关性及作用机制仍需进一步探讨。

关键词：原发性肝细胞癌；X 连锁凋亡抑制蛋白；survivin；相关性

中图分类号：R735.7；R365 **文献标识码：**A **文章编号：**1673-6273（2014）18-3426-03

Study on the Expression and Crrelation of XIAP and Survivin in Primary Hepatocellular Carcinoma (HCC)*

YANG De-hua[1], GUO Xiao-dong[2△], YU Ling-xiang[2], ZHOU Yan-xian[2], YANG Mei[2], XIONG Lu[2], LI Zhi-wei[2]

(1 Public Health Clinical Center of Chengdu, Sichuan, Chengdu, 610066, China; 2 302 Hospital of PLA, Beijing, 100039, China)

ABSTRACT Objective: To explore the expression and correlation of XIAP and survivin in primary hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods:** 60 patients with HCC treated in our hospital were selected, and the expression of XIAP and survivin in HCC tissues and adjacent mucosa were detected by immunohistochemistry staining. **Results:** Comparatively, the positive rate of XAIP and survivin in HCC tissues were significantly higher than that of adjacent mucosa, the difference was statistically significant. The expression intensity of XIAP and survivin had nothing to do with the tumor size, but it expressed highly with the decrease of differentiation degree of tumor, and the differences between different differentiation degree were statistically significant; positive correlation existed between XIAP and survivin. **Conclusion:** High expression of XIAP and survivin in tumor tissues can promote the incidence, proliferation, metastasis and drug resistance of tumor, as well as reduce the tumor differentiation degree, increase the malignant grade of liver cancer. In addition, there are possible synergies between XIAP and survivin, but their correlation and mechanism needs further exploration.

Key words: Primary hepatocellular carcinoma; X-linked apoptosis inhibiting protein; Survivin; Correlation

Chinese Library Classification(CLC): R735.7; R365 Document code: A

Article ID: 1673-6273(2014)18-3426-03

前言

原发性肝细胞癌是危害人类健康的主要疾病之一，由于中国人口乙型肝炎、酒精性肝炎、以及肝硬化的发病率均较高，在这些高危因素的影响下，原发性肝癌成为在中国的发病率极高的恶性肿瘤之一，其发病率占恶性肿瘤的第三位[1-3]。因此，研究肝癌发生机制，对于肿瘤的治疗尤其重要。有研究证明，XIAP 和 survivin 的表达与肝癌的发生发展均有关系[4]。但是对于在肝癌中均 XIAP 和 survivin 的相关性，却鲜有报道[5]。为进一步阐明 XIAP 和 survivin 在原发性肝细胞癌中的表达及其相关性，本研究分析了我院收治的 60 例原发性肝癌患者的临床资料，并将结果报道如下：

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取本院 2011 年 5 月～2012 年 3 月收治的 60 例原发性肝癌患者，并排除其他恶性肿瘤的病例，其中男 32 例，女 28 例，年龄 40～75 岁，平均（62.4± 3.8）岁。巨块型 35 例，结节型 25 例，无其他组织及淋巴结转移，手术切去肿瘤病灶及周围小部分癌旁组织，均经病理学检查证实为原发性肝细胞癌，其中低分化组：13 例；中分化组：29 例；高分化组：18 例。大肿瘤（>5cm）：29 例；小肿瘤（<5cm）：31 例。

1.2 检查方法

应用免疫组织化学染色的方法对肝癌组织及癌旁组织中

* 基金项目：四川省中医药管理局课题（2010-39）

作者简介：杨德华(1967-)，男，博士，副主任医师，主要研究方向：儿科疾病临床与科研等研究

△通讯作者：郭晓东，E-mail: gxd302@163.com

（收稿日期：2013-11-15 接受日期：2013-12-05）

的 XIAP 及 survivin 进行检测：将手术取得的癌组织进行常规的固定、石蜡包埋和切片，将处理好的石蜡切片进行烤片、脱蜡及水化进行高压加热法抗原修复，将切片置于 0.3%Triton X-100 中室温浸泡 25 min，进行细胞打孔；洗涤后进行正常的血清封闭，孵育时间 20 min，不洗，直接加入一抗 20 μL，4℃过夜，洗涤后加入生物素标记的二抗 20 μL，37℃孵育 20 min，洗涤后加入 SABC 液 20 μL，37℃孵育 20 min，进行室温 DAB 显色，洗涤后采用苏木精复染，乙醇脱水，二甲苯透明，封片后镜下观察。

1.3 XIAP 及 survivin 细胞内表达程度评分

着色程度：无色素改变：0 分；浅黄色颗粒：1 分；黄色颗粒：2 分，棕黄色颗粒：3 分；深棕色颗粒：4 分。着色部分所占细胞比例：不着色：0 分；<1/4：1 分；1/4～1/2 之间：2 分；1/2～3/4 之间：3 分；>3/4:4 分，总分＝着色程度评分× 着色比例评分。≤ 1 分为阴性；≥ 2 分为阳性。

1.4 统计学方法

用 SPSS 13.0 对研究结果进行统计学分析，对计数资料进行 x^2 检验，认为 P<0.05 有统计学意义；应用 Spearman 相关性计算，分析 XIAP 和 survivin 表达强度的相关性，认为相关系数 rs> 0 为正相关 。

2 结果

2.1 肝癌组织与癌旁组织中 XIAP 和 survivin 的阳性率比较

经比较，肝癌组织中 XAIP 的阳性率达 85.00%，显著高于癌旁组织（13.33%），差异有统计学意义；肝癌组织中 survivin 的阳性率达 81.67%，显著高于癌旁组织（6.67%），差异有统计学意义（P<0.05）。详情见表 1。

表 1 肝癌组织与癌旁组织中 XIAP 和 survivin 的阳性率比较

Table 1 Comparison of the positive rate of XIAP and survivin in HCC tissues and adjacent mucosa

	Total	HCC tissues		Adjacent mucosa	
		Cases	Positive rate(%)	Cases	Positive rate(%)
XIAP	60	51	85.00*	8	13.33
survivin	60	49	81.67*	4	6.67

注：与癌旁组织比较，*P<0.05。

Note: Compared with adjacent mucosa, *P<0.05.

2.2 不同分化程度的癌组织中的 XIAP 及 survivin 评分

经比较，XIAP 和 survivin 的表达强度随肿瘤的分化程度的降低而升高，并且低、中、高三者的 XIAP 评分之间差异有统计学意义（P<0.05），但 XIAP 和 survivin 的表达强度与肿瘤的大小无关，差异无统计学意义（P>0.05）；Spearman 秩和相关分析结果显示：XIAP 和 survivin 的相关系数 rs>0，两者表达成正相关。

表 2 不同分化程度的癌组织中的 XIAP 及 survivin 评分（$\bar{x}\pm s$）

Table 2 Grading of XIAP and survivin in HCC tissues of different differentiation degrees ($\bar{x}\pm s$)

	Differentiation degree of HCC				Tumor size		
	Low	Medium	High	P	＞5cm	＜5cm	P
Cases	13	29	18		29	31	
XIAP	13.12± 3.41	9.04± 2.79	3.45± 2.56	<0.05	10.34± 4.13	9.95± 3.84	>0.05
survivin	13.23± 2.67	11.00± 3.24	5.45± 2.13		11.01± 3.89	10.96± 3.45	

3 讨论

X 连锁凋亡抑制蛋白 (X-linked inhibitor of apoptosis protein,XIAP) 与存活素（Survivin）是人类凋亡抑制蛋白家族（IAPs）的主要成员，能够直接或间接的作用于 caspase，调节细胞的程序化死亡，抑制细胞程序化死亡。研究表明，正常细胞在受到内、外各类因素的作用时，可通过自身调节恢复正常，但部分细胞可因无法适应而出现坏死、凋亡，除此之外，还有部分细胞可发生基因突变获得永生性，这类细胞的不死性是肿瘤生长增殖、浸润转移的基础[6]。

正常情况下，XIAP 在除肝脏等其他脏器中表现为广泛低表达，而 Survivin 分化成熟的组织细胞中几乎不表达，但在肿瘤组织中 XIAP 与 Survivin 的表达均显著增加。本研究结果显示，肝癌组织中 XAIP 及 survivin 的阳性率均显著高于癌旁组织，可见，肿瘤组织中的 XIAP 与 survivin 表现为异常的高表达状态。XIAP 可直接作用于 caspase 的局部结构域，抑制其活性；还可以阻止 caspase 与受体结合，凋亡信号的传导受阻，阻止细胞程序化死亡[7-10]。存活子（Survivin）具有最强抗凋亡作用。研究表明，Survivin 是一类周期依赖性蛋白酶，它能选择性地于细胞分裂时的 G2/M 期表达，能够使胞质中的部分 caspase 的灭活，抑制 G2/M 时期诱导的细胞凋亡，促进 DNA 复制，加快肿瘤细胞的有丝分裂，促进肿瘤细胞的增殖[11-14]。

肿瘤的分化程度即代表肿瘤的成熟度，肿瘤细胞越成熟，其分化程度越高，恶性程度越低。而对于分化程度低的肿瘤细胞，异型性大，容易发生去分化和变异，导致治疗困难，容易产生耐药性，预后较差差[15-17]。本研究表明，XIAP 与 survivin 在肝癌细胞中的表达强度随肿瘤分化强度的降低而增高。说明 XIAP 与 survivin 的高表达可增加肝癌的恶性程度。此外，在本研

究中,XIAP 与 survivin 的表达性质存在正相关性,它们表达的一致性提示二者在抗肿瘤凋亡作用中存在协同作用[18-20]。由于 XIAP 与 survivin 的表达可抑制化疗药物和放疗对癌细胞的凋亡诱导作用,与原发性肝癌的耐药性密切相关。因此,提示我们在肝癌的靶向治疗中,应当同时抑制此二者的表达,否则难以取得理想的治疗效果,减轻肿瘤的耐药性。

综上所述,XIAP 与 Survivin 在肿瘤组织中的高表达在促进肿瘤发生、增殖、转移以及耐药,并且能够降低肿瘤的分化程度,增加肝癌的恶性程度。此外,两者可能存在协同作用,但两者的相关性及作用机制仍需进一步探讨

参 考 文 献(References)

[1] Slotta-Huspenina J, Berg D, Bauer K, et al. Evidence of prognostic relevant expression profiles of heat-shock proteins and glucose-regulated proteins in oesophageal adenocarcinomas [J]. PLoS One, 2012,7(7):41420

[2] Guo Xiao-dong, Xiong Lu, Zou L, et al. L1 cell adhesion molecule overexpression in hepatocellular carcinoma associates with advanced tumor progression and poor patient survival[J]. Diagn Pathol, 2012,7: 96

[3] Guo Xiao-dong, Xiong Lu, Zou L, et al. Upregulation of Bone orphogenetic Protein 4 is Associated with Poor Prognosis in Patients with Hepatocellular Carcinoma [J]. Pathology& Oncology Research, 2012,18(3): 635-640

[4] Welz PS, Wullaert A, Vlantis K, et al. FADD prevents RIP3-mediated epithelial cell necrosis and chronic intestinal inflammation[J]. Nature, 2011, 477(7364): 330-334

[5] 郭晓东,张璇,刘树红,等. miRNA-125 在肝癌中表达变化的研究[J]. 现代生物医学进展,2013,13(07):1253-1255
Guo Xiao-dong, Zhang Xuan, Liu Shu-hong, et al. Expression of miRNA-125 in Hepatocellular Carcinoma [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2013, 13(07): 1253-1255

[6] 郭晓东,熊璐,张红萍,等. miRNA-181 在肝癌中表达变化的研究[J]. 现代生物医学进展,2013, 13(05): 869-871
Guo Xiao-dong, Xiong Lu, Zhang Hong-ping, et al. Expression of miRNA-181 in Hepatocellular Carcinoma [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2013, 13(05): 869-871

[7] 郭晓东,杨敏亮,周艳贤,等. miR-221 在肝癌干细胞亚群中的差异表达[J]. 现代生物医学进展,2013,13(03):465-467+563
Guo Xiao-dong, Yang Min-liang, Zhou Yan-xian, et al. Differential Expression of miR-221 in Subpopulations of Cancer Stem Cells Derived from Hepatocellular Carcinoma [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2013,13(03):465-467+563

[8] Jopling CL, Yi M, Lancaste AM, et al. Modulation of hepatitis C virus RNA abundance by a liver-specific MicroRNA[J]. Science, 2005, 309 (5740):1577-1581

[9] Yu R, Deedigan L, Albarenque SM, et al. Delivery of sTRAIL variants by MSCs in combination with cytotoxic drug treatment leads to p53-independent enhanced antitumor effects [J]. Cell Death Dis, 2013,4:503

[10] Sun PH, Zhu LM, Qiao MM, et al. The XAF1 tumor suppressor induces autophagic cell death via upregulation of Beclin-1 and inhibition of Akt pathway[J]. Cancer Lett, 2011,28,310(2):170-180

[11] Stegh AH, Brennan C, Mahoney JA, et al. Glioma oncoprotein Bcl2L12 inhibits the p53 tumor suppressor [J]. Genes Dev, 2010,24 (19):2194-2120

[12] Soengas M S, Alarcon R M, Yoshida H, et al. Apaf-1 and caspase-9 in p53-dependent apoptosis and tumor inhibition [J]. Science,1999, 284(5411):156-159

[13] Soengas MS, Capodieci P, Polsky D, et al. Inactivation of the apoptosis effector Apaf-1 in malignant melanoma [J]. Nature, 2001, 409(6817):207-211

[14] Schimmer A D, Welsh K, Pinilla C, et al. Small-molecule antagonists of apoptosis suppressor XIAP exhibit broad antitumor activity [J]. Cancer Cell, 2004, 5(1): 25-35

[15] Johnson C R, Jarvis W D. Caspase-9 regulation: an update [J]. Apoptosis, 2004, 9(4): 423-427

[16] Cotter T G. Apoptosis and cancer: the genesis of a research field[J]. Nat Rev Cancer, 2009, 9(7): 501-507

[17] Hyman BT, Yuan J. Apoptotic and non-apoptotic roles of caspases in neuronal physiology and pathophysiology [J]. Nat Rev Neurosci, 2012, 13(6): 395-406

[18] Bratton S B, Cohen G M. Death receptors leave a caspase footprint that Smacs of XIAP[J]. Cell Death Differ, 2003, 10(1): 4-6

[19] Pettigrew C A, Cotter T G. Deregulation of cell death (apoptosis): implications for tumor development [J]. Discov Med, 2009, 8(41): 61-63

[20] Susin SA, Lorenzo HK, Zamzami N, et al. Molecular characterization of mitochondrial apoptosis-inducing factor [J]. Nature, 1999, 397 (6718): 441-446