

• 临床检验研究 •

P16 和 survivin 蛋白在脑胶质瘤中的表达及其临床意义

屈洪艳¹, 蔡 润¹, 朱正鹏²

(湖北医药学院附属东风医院: 1. 神经外科, 2. 病理科, 湖北十堰 442008)

摘 要:目的 探讨 P16 和 survivin 在人脑胶质瘤组织中的表达及临床意义。方法 按 Kernohan 四级分类法将 96 例胶质瘤分为Ⅰ级 26 例、Ⅱ级 32 例、Ⅲ级 28 例和Ⅳ级 10 例, 另外 12 例正常脑组织作为对照组, 采用免疫组化 S-P 法检测 P16 和 survivin 的表达情况。结果 在正常对照组和胶质瘤组中 P16、survivin 阳性表达率分别为 91.7%、0% 和 53.1%、58.3%, 两者比较差异均具有统计学意义($P<0.05$)。Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ级脑胶质瘤中 P16 蛋白的阳性表达率分别为 80.8%、59.4%、32.1%、20.0%, 而 survivin 的阳性表达率分别为 38.4%、53.1%、75.0% 和 80.0%, 各组间差异均具有统计学意义($P<0.05$)。Ⅲ、Ⅳ级脑胶质瘤的 P16 阳性表达率明显低于Ⅰ、Ⅱ级而 survivin 的阳性表达率明显高于Ⅰ、Ⅱ级($P<0.05$)。P16 蛋白表达与 survivin 蛋白表达呈负相关($r=-0.415, P<0.05$)。结论 P16 蛋白的表达缺失和 survivin 蛋白的过度表达与脑胶质瘤恶性程度相关, 它们在其发生、发展中可能起协同作用。

关键词: 肿瘤, 神经上皮; 基因, 16; 免疫组织化学
DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.04.016 文献标识码: A 文章编号: 1673-4130(2011)04-0466-02

The expression and their clinical significance of P16 and survivin protein in gliomas
Qu Hongyan, Cai Run, Zhu Zheng peng
(Department of Neurosurgery, The Affiliated People's Hospital, Hu Bei Province Medicine University, Shiyan Hubei 442008, China)

Abstract: Objective Explore P16 and survivin in the brain tissue of gliomas expression and clinical significance. **Methods** According to Kernohan level 4 classification, 96 patients with glioma were divided into Ⅰ level 26 cases, Ⅱ level 32 cases, Ⅲ level 28 cases and Ⅳ level 10 cases, and 12 cases of normal brain tissue as control group, using immunohistochemistry S-P method to detect P16 and survivin expression. **Results** In normal controls and glioma group, P16、survivin positive expression rates were 91.7%, 0% and 53.1%, 58.3%, both comparative difference was statistically significant ($P<0.05$). Ⅰ, Ⅱ, Ⅲ, Ⅳ level glioma P16 protein in the positive expression rates respectively were 80.8%, 59.4%, 32.1% and 20.0%, but survivin positive expression rates respectively are 38.4%, 53.1%, 75.0% and 80.0%, both comparative difference was statistically significant ($P<0.05$). Ⅲ, Ⅳ level of gliomas P16 positive expression rates were obviously lower than that of Ⅰ and Ⅱ, but survivin positive expression rate was obviously higher than that of Ⅰ and Ⅱ ($P<0.05$). P16 protein expression was negatively correlated with survivin protein ($r=-0.415, P<0.05$). **Conclusion** P16 protein expression flaw and excessive survivin protein expression is closely related to malignant glioma degree, they may play the occurrence and development of synergistic action.

Key words: neoplasms, neuroepithelial; genes, 16; immunohistochemistry

脑胶质瘤具有发病率高、恶性程度高、治疗效果差的特点, 其发病机制研究一直是神经外科领域研究的热点和难点。P16 是一种抑癌基因, 它的失活与许多的肿瘤的发生、发展相关^[1-2]; survivin 是新近发现的一种的抗凋亡因子, 在人类各种肿瘤组织中广泛表达, 具有调节细胞有丝分裂和抑制细胞凋亡的双重作用^[3]。本文应用免疫组织化学方法检测 96 例脑胶质瘤组织 P16 和 survivin 蛋白的表达情况, 并探讨它们与胶质瘤组织学分级之间的关系。

1 资料与方法

1.1 研究对象 96 例脑胶质瘤组织选自湖北医学院附属东风医院神经外科 2003 年 1 月至 2006 年 12 月手术切除标本的存档蜡块。患者年龄 21~65 岁, 平均(40.2±16.2)岁。病程最长为 10 年, 最短为 3 个月, 平均为(2.1±0.7)年。全部病例术前均行 CT 或 MRI 检查, 为原发性胶质瘤, 术前未行放疗或化疗, 术后病理学证实为脑胶质瘤。按 Kernohan 四级分类法分为: 胶质瘤Ⅰ级组 26 例, Ⅱ级组 32 例, Ⅲ级组 28, Ⅳ级组 10 例。所有标本常规石蜡连续切片, 行 HE 染色和免疫组化染色。HE 染色的切片由临床病理学医师进行病理学观察核实诊断。正常对照组 12 例脑组织标本为同期收治的急性颅脑损

伤患者颅内减压切除的脑组织, 并经病理证实为正常脑组织。

1.2 试剂及检测方法 鼠抗人 P16 单克隆抗体为美国 Santa-Cruz 公司产品, 鼠抗人 survivin 单克隆抗体为美国 Neomarker 公司产品, 免疫组化 S-P 试剂盒购于武汉博士德生物工程公司。试验步骤按试剂盒说明书进行。已知阳性切片为阳性对照, 用 PBS 缓冲液代替一抗作阴性对照。

1.3 结果判定标准 P16 的阳性结果判定: 阳性细胞为细胞核及细胞质呈黄色或棕黄色着色, 呈现粗细不等、深浅不一的颗粒状; survivin 阳性结果判定: 阳性染色主要定位于细胞胞浆中, 呈粗细不一的棕黄色颗粒。按阳性细胞数量及染色强度分为 3 级: 表达弱阳性+, 即阳性细胞数小于 10%; 表达中度阳性++, 即阳性细胞数大于 10% 而小于 50%; 表达强阳性+++ , 即阳性细胞数为 50% 以上; 染色强度与背景无明显差异者为阴性。

1.4 统计学处理 计数资料用率表示, 率的比较用 χ^2 检验和 spearman 等级相关分析, 采用 SPSS 11.5 软件进行统计学处理, 以 $P<0.05$ 为检验水准。

2 结 果

2.1 P16 和 survivin 在不同脑组织中的表达 在正常对照组

和胶质瘤组中 P16、survivin 阳性表达率分别为 91.7%、0%和 53.1%、58.3%，两者比较差异均具有统计学意义($P<0.05$)。

表 1 P16 和 survivin 在不同脑组织中的表达

组织	n	P16	Survivin
		阳性[n(%)]	阳性[n(%)]
正常脑组织	12	11(91.7%)	0(0.0%)
脑胶质瘤组织	96	51(53.1%)	56(58.3%)

2.2 P16 和 survivin 蛋白与脑胶质瘤病理分级的关系 I、II、III、IV 级脑胶质瘤中 P16 蛋白的阳性表达率分别为 80.8%、59.4%、32.1%、20.0%，而 survivin 的阳性表达率分别为 38.4%、53.1%、75.0% 和 80.0%，各组间差异均具有统计学意义($P<0.05$)，III、IV 级脑胶质瘤的 P16 阳性表达率明显低于 I、II 级而 survivin 的阳性表达率明显高于 I、II 级($P<0.05$)。

表 2 不同级别脑胶质瘤中的 P16 和 survivin 蛋白表达

病理分级	n	P16	Survivin
		阳性[n(%)]	阳性[n(%)]
I 级	26	21(80.8)	10(38.4)
II 级	32	19(59.4)	17(53.1)
III 级	28	9(32.1)	21(75.0)
IV 级	10	2(20.0)	8(80.0)

2.3 P16 和 survivin 蛋白在脑胶质瘤中表达的相关性 经统计学相关分析显示，P16 和 survivin 蛋白在脑胶质瘤中表达呈负相关($r=-0.415, P<0.05$)，P16 随恶性程度增加而表达降低，而 survivin 蛋白表达则随脑胶质瘤的恶性程度增加而表达增加。

3 讨 论

P16 蛋白是抑癌基因 P16 基因编码的负性调控细胞周期的蛋白。P16 基因又称多瘤抑制基因，位于人类染色体 9p21，由 3 个外显子和 2 个内含子组成。Kamb 等^[4]首次报道脑胶质瘤细胞株中存在 82% 的 P16 基因丢失，随后 Walker 等^[5]研究发现恶性程度较高的原发性脑胶质瘤易发生 P16 基因的表达丢失。P16 基因突变和蛋白丢失之间存在明显相关，P16 基因缺失主要发生在高级别胶质瘤，在低级别胶质瘤缺失率低。本资料中胶质瘤 I 级、II 级、III 级、IV 级之间 P16 蛋白表达阳性率均存在显著性差异，而且显示 P16 蛋白表达随着肿瘤恶性程度的增强呈下降趋势，其表达水平与分级呈负相关，随着病理分级的升高，P16 蛋白在胶质瘤中的表达水平愈来愈低，表明在胶质瘤的恶性过程中，P16 蛋白的缺失起一定的作用，P16 蛋白表达异常可能是影响胶质瘤发生、发展的重要因素之一。因此，P16 蛋白的表达在一定程度上能弥补病理分级的不足，更准确地反映肿瘤的恶性程度。

survivin 基因编码的蛋白是凋亡抑制蛋白(inhibitor of apoptosis, IAP)家族中的新成员，又称存活素；该基因全长 14.7 kb，位于染色体 17q25，由 3 个内含子和 4 个外显子组成，编码含 142 个氨基酸的蛋白质^[6]。survivin 具有抑制细胞凋亡和调

节细胞有丝分裂的双重功能，是联系细胞周期和细胞凋亡的重要因子。研究表明 survivin 可通过抑制凋亡通路下游的 Caspase-3 和 Caspase-7 以及通过 caspase 非依赖途径发挥其抗凋亡作用^[7]。近年来人们对 survivin 在脑胶质瘤的表达也进行了较深入的研究。笔者以往的研究表明，survivin 蛋白的表达与肿瘤的临床病理分期和分级具有相关关系^[8]。本组资料亦显示，在正常脑组织中 survivin 蛋白不表达，而在人脑胶质瘤中 survivin 的阳性表达率为 58.3%，与对照组比较，具有统计学意义。脑胶质瘤中 I 级、II 级、III 级、IV 级 survivin 蛋白的阳性表达率分别为 38.4%、53.1%、75.0% 和 80.0%，各级之间的差异均具有统计学意义($P<0.05$)，从这里可看出 survivin 蛋白的阳性表达率随肿瘤的恶性程度增高而呈现逐渐升高的趋势。说明组织学分级越差，survivin 阳性表达率越高，表明该基因的过度表达在脑胶质瘤的发生、发展中起着较为重要的作用，并与肿瘤的组织病理学分级及良恶性程度有关。

另根据相关分析结果显示，P16 和 survivin 蛋白在脑胶质瘤组织的表达呈显著性负相关，提示 P16 蛋白表达缺失和 survivin 过度表达在脑胶质瘤的发生、发展中可能起了协同作用。p16 基因的抑癌机制主要是通过与 CDK4 结合形成 CDK4/p16 复合物，使 CDK4 失活从而抑制细胞的过度增殖。Survivin 基因的抑凋亡机制之一是与 CDK4/p16 复合物竞争 CDK4，由于 survivin 与 CDK4 的结合力强于 P16，故使 P16 蛋白游离而过度表达，CDK4 被活化，促使细胞从 G 期向 S 期转化，造成大量细胞无限制生长，导致癌变的发生、发展。可能是因为 survivin 基因作用出现的同时，P16 蛋白作用丧失，这种双重作用进一步增强了细胞的过度增殖，故两者可表现出类似协同的相关作用。因此，同时检测两者的表达有助于进一步了解脑胶质瘤的生物学特点，在判断人脑胶质瘤恶性程度、分级或分类中具有重要的临床意义。

参考文献

[1] 宋印利,孙淑娟. HER2 与 p16 在子宫内膜癌中的表达及临床意义[J]. 中国医师进修杂志, 2008, 31(5): 15-17.

[2] 陈俊华,赵美芳,李雪芬,等. 胰腺癌肿瘤标志物的研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2009, 30(2): 141-146.

[3] 李金贵,胡自力. 存活素基因与肿瘤的研究现状[J]. 国际检验医学杂志, 2007, 28(5): 462-464.

[4] Kamb A, Gruis NA, Weaver-Feldhaus J, et al. A cell cycle regulator potentially involved in genesis of many tumor types[J]. Science, 1994, 264(24): 436.

[5] Walker DG, Duan W, Popvic EA, et al. Homozygous deletions of the multiple tumor suppressor gene 1 in the progression of human astrocytomas[J]. Cancer Res, 1995, 55(6): 20.

[6] Liu T, Brouha B, Grossman D. Rapid induction of mitochondrial events and caspase-independent apoptosis in Survivin-targeted melanoma cells[J]. Oncogene, 2004, 23(1): 39-48.

[7] Wheatley SP, McNeish IA. Survivin: a protein with dual roles in mitosis and apoptosis[J]. Int Rev Cytol, 2005, 247(7): 35-88.

[8] 屈洪艳,彭翔,蔡润. 人脑胶质瘤中凋亡相关基因 survivin 的表达及意义[J]. 中国医师进修杂志, 2008, 31(11): 50-51.