

眼睑基底细胞癌中 Survivin 和 CyclinB1 的表达

贾 君, 付汛安, 张端莲

作者单位: (430014) 中国湖北省武汉市中心医院眼科
作者简介: 贾君, 硕士, 主治医师, 研究方向: 眼表的基础研究。
通讯作者: 贾君. 25851790@qq. com
收稿日期: 2011-06-10 修回日期: 2011-09-23

Expressions and clinical significance of survivin and cyclinB1 in basal cell carcinoma of eyelid

Jun Jia, Xun-An Fu, Duan-Lian Zhang

Department of Ophthalmology, Wuhan Central Hospital, Wuhan 430014, Hubei Province, China

Correspondence to: Jun Jia. Department of Ophthalmology, Wuhan Central Hospital, Wuhan 430014, Hubei Province, China. 25851790@qq. com

Received: 2011-06-10 Accepted: 2011-09-23

Abstract

• AIM: To discuss the expressions and clinical significance of survivin and cyclinB1 in basal cell carcinoma (BCC).

• METHODS: Twenty surgical excision and biopsy of eyelid BCC samples were collected from the department of pathology of Wuhan Central Hospital and Zhongnan Hospital of Wuhan University in 2002-2009, and also 5 normal tissues around the cancer were acted as controls. All samples were fixed in 40g/L formaldehyde, with routine HE staining, observed under light microscope, and were finally diagnosed by pathological examination. Immunohistochemistry method and image analysis technique were used to detect the expression of survivin and cyclinB1 in the eyelid BCC and cancer adjacent tissues, and the expression of survivin and cyclinB1 in cytoplasm and karyon of each group were quantitatively analyzed by HPIAS-2000 High Definition Colour Pathology Image and Character Report Management System.

• RESULTS: Survivin and cyclinB1 were highly expressed in eyelid BCC tissues, while lowly expressed in cancer adjacent tissues. The average optical density and positive area rate of survivin and cyclinB1 between eyelid BCC and cancer adjacent tissues showed significant difference by one-way ANOVA.

• CONCLUSION: The abnormal expression of survivin and cyclinB1 in eyelid BCC might play an important role during the genesis and development of eyelid BCC.

• KEYWORDS: eyelid; basal cell carcinoma; survivin; cyclinB1; immunohistochemistry

Jia J, Fu XA, Zhang DL. Expressions and clinical significance of survivin and cyclinB1 in basal cell carcinoma of eyelid. *Guoji Yanke Zazhi* (Int J Ophthalmol) 2011;11(11):1893-1895

摘要

目的: 探讨眼睑基底细胞癌(basal cell carcinoma, BCC)组织中 Survivin 和 CyclinB1 的表达。

方法: 收集武汉市中心医院和武汉大学中南医院病理科 2002/2009 年手术切除及活检的眼睑 BCC 标本共 20 例, 另取癌周围正常组织 5 例作对照。所有标本均经 40g/L 甲醛固定, 常规 HE 染色, 光镜观察确诊。采用 HPIAS-2000 高清晰度彩色病理图文报告管理系统对 Survivin 和 CyclinB1 在细胞浆或胞核的表达进行定量分析。

结果: 眼睑 BCC 组织中 Survivin 和 CyclinB1 呈高表达, 癌旁组织中 Survivin 和 CyclinB1 呈低表达。两种组织中 Survivin 和 CyclinB1 的平均光密度及阳性面积率的差异有显著性意义 ($P < 0.05$)。

结论: Survivin 和 CyclinB1 的异常表达对眼睑 BCC 的发生、发展起重要作用。

关键词: 眼睑; 基底细胞癌; Survivin; CyclinB1; 免疫组织化学
DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-5123. 2011. 11. 007

贾君, 付汛安, 张端莲. 眼睑基底细胞癌中 Survivin 和 CyclinB1 的表达. 国际眼科杂志 2011;11(11):1893-1895

0 引言

眼睑基底细胞癌(basal cell carcinoma, BCC)是最常见的眼睑恶性肿瘤, 约占眼睑恶性上皮性肿瘤的 85% ~ 95%^[1]。研究显示, 多种癌基因的异常表达在眼睑 BCC 的发生发展过程中有重要作用, 研究癌相关基因抗原在 BCC 发生、发展及转移机制中的作用, 对于揭示 BCC 的生物学行为及探索有效的防治方法有重要意义。

1 材料和方法

1.1 材料 收集武汉市中心医院和武汉大学中南医院病理科 2002/2009 年手术切除及活检的 BCC 标本共 20 例, 另取癌周围正常组织 5 例作对照, 所有标本均经 40g/L 甲醛固定。主要试剂: 即用型鼠抗人 Survivin 和 CyclinB1 单克隆抗体(北京中山生物技术有限公司); 超敏即用型 S-P 通用型免疫组织化学试剂盒(福州迈新生物有限公司)。DAB 显色试剂盒及多聚赖氨酸(北京中山生物技术有限公司)。主要仪器: YWY781 型医用微波炉(250W, 50Hz, 浙江临安电子器材厂生产); 家用高压锅。

1.2 方法 常规取材、固定、脱水、透明、切片, 进行 HE 染色。然后免疫组织化学 S-P 法检测 Survivin 和 CyclinB1 抗原, 主要步骤: (1) 4 μ m 组织切片常规脱蜡至水后, 0.01mmol/L PBS (pH = 7.4) 漂洗 3 \times 3min; (2) 抗原修复(柠檬酸缓冲液微波抗原修复法), 室温自然冷却后, 0.01mmol/L PBS (pH = 7.4) 漂洗 5 \times 3min; (3) 滴加 30mL/L

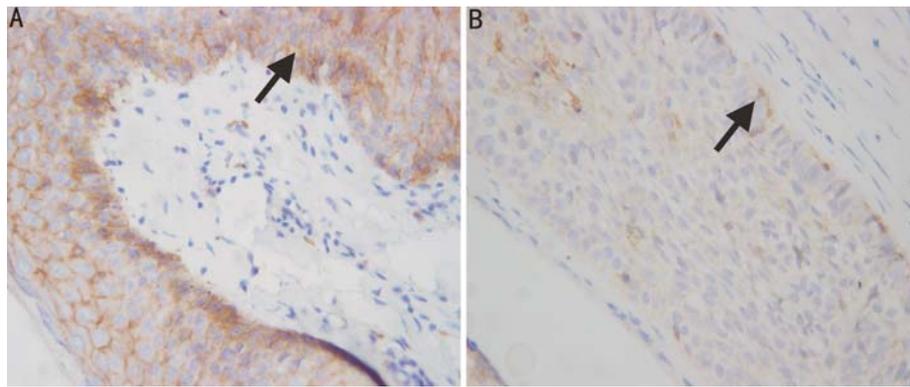


图1 眼睑中 Survivin 的表达 (SP ×400) A:基底细胞癌;B:癌旁组织。

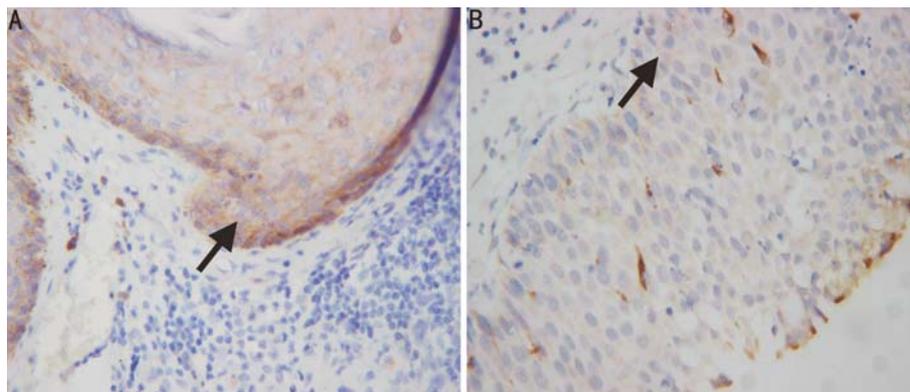


图2 眼睑中 CyclinB1 的表达 (SP ×400) A:基底细胞癌;B:癌旁组织。

过氧化氢,37℃湿盒孵育 10min 以抑制内源性过氧化物酶活性,0.01mmol/L PBS (pH = 7.4) 漂洗 3 × 3min; (4) 正常羊血清 37℃湿盒孵育 10min 以减少非特异性背景; (5) 甩去多余血清,分别滴加一抗,4℃孵育过夜,0.01mmol/L PBS (pH = 7.4) 漂洗 3 × 5min; (6) 滴加生物素标记的二抗 37℃湿盒孵育 10min,0.01mmol/L PBS (pH = 7.4) 漂洗 3 × 3min; (7) 滴加链霉素抗生物素蛋白-过氧化物复合物 37℃湿盒孵育 10min,0.01mmol/L PBS (pH = 7.4) 漂洗 3 × 3min; (8) 滴加新鲜配置的 DAB 显色液显色,光镜下控制反应时间(约 3 ~ 5min),自来水冲洗终止反应; (9) 苏木素复染,流水冲洗,10mL/L 盐酸乙醇分色数秒,流水冲洗,1mL/L 氨水返蓝; (10) 梯度乙醇脱水,二甲苯透明,中性树胶封片并镜检; (11) 用 PBS 代替一抗作为阴性对照。Survivin 和 CyclinB1 抗原以细胞浆或细胞核出现棕黄色颗粒为阳性反应。阴性对照除细胞核染成蓝色外,细胞浆或胞核内无棕黄色反应物。采用 HPIAS-2000 高清晰度彩色病理图文报告管理系统(同济千屏影像公司)对细胞浆或胞核的 Survivin 和 CyclinB1 表达进行定量分析,每张切片随机选取 5 个完整而不重叠的高倍镜视野(×400),测定每个视野下 Survivin 和 CyclinB1 阳性反应的平均光密度、阳性反应面积和所有细胞总面积,计算阳性面积率。以每例 5 个视野的平均光密度、阳性面积率的平均值作为该例的测量值(阳性面积率 = 单位面积中阳性反应的总面积/单位面积中细胞的总面积 × 100%)。

统计学分析:数据以均数 ± 标准差表示,用 SPSS 11.5 软件对各组免疫组织化学反应阳性颗粒的平均光密度、阳性面积率做单因素方差分析,检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 眼睑 BCC 形态学

瘤体由基底样细胞组成,细胞核

大,呈圆形或椭圆形,胞浆为嗜碱性,可见少量核分裂相。瘤体周边细胞呈栅栏状排列,肿瘤周围结缔组织增生,有较多纤维母细胞,产生胶原纤维包绕在瘤体周围。

2.2 眼睑 BCC 中 Survivin 的表达 眼睑 BCC 组织中可见癌细胞胞浆内棕黄色颗粒较多,Survivin 表达呈阳性(图 1A);癌旁组织的细胞浆内可见极少量的棕黄色颗粒,Survivin 表达呈阴性(图 1B)。眼睑 BCC 中 Survivin 表达的平均光密度为 0.3853 ± 0.0254 ,癌旁组织中为 0.0246 ± 0.0029 ;眼睑 BCC 中 Survivin 表达的阳性面积率为 0.3520 ± 0.0263 ;癌旁组织中为 0.0305 ± 0.0021 (表 1)。经单因素方差分析,眼睑 BCC 与癌旁组织之间,Survivin 的平均光密度及阳性面积率有显著性差异($P < 0.01$)。

2.3 眼睑 BCC 中 CyclinB1 的表达 眼睑 BCC 组织中可见癌细胞胞浆内棕黄色颗粒较多,CyclinB1 表达呈阳性(图 2A);癌旁组织的细胞胞浆内可见极少量的棕黄色颗粒,CyclinB1 表达呈阴性(图 2B)。眼睑 BCC 中 CyclinB1 表达的平均光密度为 0.2970 ± 0.0351 ,癌旁组织中为 0.0851 ± 0.0052 ;眼睑 BCC 中 CyclinB1 表达的阳性面积率为 0.3057 ± 0.0364 ;癌旁组织中为 0.1084 ± 0.0107 (表 2)。经单因素方差分析,眼睑 BCC 与癌旁组织之间,CyclinB1 的平均光密度及阳性面积率有显著性差异($P < 0.05$)。

3 讨论

BCC 是眼睑最常见恶性肿瘤,常发生于长期暴露于阳光下的中年以上的人群,男性略多,好发于下睑及内眦,病变位置表浅,BCC 是生长缓慢的肿瘤,病程一般较长,最长可达 20a。BCC 一般只局部侵袭,很少转移,但若不及时治疗,肿瘤可侵犯眼轮匝肌、睑板和眶骨,并可能经眼眶向颅内侵犯。近年来随着人口的高龄化,BCC 有逐渐增多的趋势^[2-4]。

表1 基底细胞癌与癌旁组织 Survivin 表达的平均光密度和阳性面积率 $\bar{x} \pm s$

组别	n(例)	平均光密度	阳性面积率
基底细胞癌	20	0.3853 ± 0.0254	0.3520 ± 0.0263
癌旁组织	5	0.0246 ± 0.0029	0.0305 ± 0.0021

表2 基底细胞癌与癌旁组织 CyclinB1 表达的平均光密度和阳性面积率 $\bar{x} \pm s$

组别	n(例)	平均光密度	阳性面积率
基底细胞癌	20	0.2970 ± 0.0351	0.3057 ± 0.0364
癌旁组织	5	0.0851 ± 0.0052	0.1084 ± 0.0107

Survivin 是凋亡抑制蛋白家族的新成员,具有肿瘤特异性,只表达于肿瘤和胚胎组织,且与肿瘤细胞的分化增殖及浸润转移密切相关。现已发现, Survivin 在所有常见恶性肿瘤中表达。如乳腺癌、胃癌、肾癌、黑色素瘤、肠癌、神经母细胞瘤和卵巢癌等,而在正常组中无表达。它的这一特性,使得靶向 Survivin 的免疫治疗和基因治疗能够促进肿瘤细胞的凋亡,抑制其增殖,正常组织却不受损伤和影响。Survivin 可以作为抗肿瘤免疫治疗的一个广泛适用的靶基因^[5-8]。实验采用免疫组织化学方法观察了 Survivin 在眼睑 BCC 组织和癌旁组织中的表达,实验表明眼睑 BCC 与癌旁组织之间 Survivin 的平均光密度及阳性面积率有显著性差异($P < 0.01$), Survivin 做为新的抗凋亡基因与肿瘤细胞的增殖和血管生成密切相关。

肿瘤的基本特征是细胞的失控性生长,肿瘤细胞丧失了正常的细胞调节机制,使细胞周期启动、运行及停止发生异常,而表现为细胞增殖过快、过多,最终导致肿瘤的发生、发展,因此有学者提出肿瘤本身就是一类细胞周期性疾病。近年来的研究表明, CyclinB1 在许多肿瘤中异常表达(如过表达、定位改变等),呈现出癌基因的特性, CyclinB1 的异常表达可影响细胞周期的进程,促进细胞的增殖,造成细胞周期的调控紊乱,其与肿瘤发生发展、预后、诊断、治疗的关系受到广泛关注。Cyclin B1 作为调控细胞增殖的指标,在癌前病变研究中的应用日渐增多。由于 CyclinB1 在许多肿瘤中呈过表达,过表达的 CyclinB1 干预 G₂/M 调控,促进细胞的异常分裂增殖,过表达的 CyclinB1 可用于判断组织学分级、浸润情况及肿块大小,有助于判断患者的预后,也许调节细胞周期是今后抗肿瘤治疗的新策略。大多数的抗癌药物引起 DNA 链断裂,最终诱导细胞周期的阻滞或细胞死亡,但许多抗癌药物的抗癌作用机制还不明了。CyclinB1 表达降低引起 G₂ 期阻滞,在一些抗癌药物的作用机制中起重要作用,但抗癌药

物如何引起 CyclinB1 的改变,从而影响细胞周期,甚至出现凋亡,详细的作用机制目前并不清楚。总之,目前认为 CyclinB1 的异常表达与多种肿瘤的发生、发展相关,是一个很好的肿瘤标志物,对肿瘤的恶性生物学行为及肿瘤的预后有意义。深入研究 CyclinB1 不仅有助于揭示肿瘤的发生机制,并可为肿瘤的防治提供一个新的视点。

本研究应用免疫组织化学法测定 CyclinB1 在眼睑 BCC 组织和癌旁组织中的表达,表明眼睑 BCC 与癌旁组织之间 CyclinB1 的平均光密度及阳性面积率有显著性差异($P < 0.01$),因而 CyclinB1 有可能作为肿瘤进展标记物来评估患者肿瘤进展的危险性,以及为早期临床诊断提供新的依据,并提示其可能在癌进程中起一定作用,但仍待于进一步从细胞水平和分子水平上进行更为深入的研究。

Survivin 与 CyclinB1 在 G₂/M 期高度表达,提示二者在 G₂/M 期可能通过一定机制协同促进肿瘤细胞的发展。对于该领域的研究分析,有望通过调节 Survivin 的表达来阻碍肿瘤细胞的增殖,达到治疗肿瘤的目的。目前,关于 Survivin 和 CyclinB1 在肿瘤中的研究已经取得了一定的进展,但是还有不少方面需要进一步深入地研究。如 Survivin 和 CyclinB1 与肿瘤发生发展及其临床预后的相关性, Survivin 和 CyclinB1 在细胞浆和细胞核中的表达受到何种调节,以及 Survivin 和 CyclinB1 在肿瘤靶向治疗中的作用等都需要我们去探究。

参考文献

- 1 李凤鸣. 中华眼科学. 北京: 人民卫生出版社 2005: 880-881
- 2 Allali J, D'Hermies F, Renard G. Basal cell carcinomas of the eyelids. *Ophthalmologica* 2005; 219(2): 57-71
- 3 Dazard JE, Gal H, Amariglio N, et al. Genomewide comparison of human keratinocyte and squamous cell carcinoma response to UVB irradiation; implication for skin and epithelial cancer. *Oncogene* 2003; 22(4): 2993-3006
- 4 Montironi R, Mazzucchelli R, Stramazzotti D, et al. Basal cell hyperplasia and basal cell carcinoma of the prostate: a comprehensive review and discussion of a case with c-erbB-2 expression. *J Clin Pathol* 2005; 58(3): 290-296
- 5 Taubert H, Kappler M, Bache M, et al. Elevated expression of survivin splice variants predicts a poor outcome for soft tissue sarcomas patients. *Oncogene* 2005; 24(33): 5258-5261
- 6 Trieb K, Lehner R, Stulnig T, et al. Survivin expression in human osteosarcoma is a marker for survival. *Eur J Surg Oncol* 2003; 29(4): 379-382
- 7 Vischioni B, Pvan der Valk, Span SW, et al. Nuclear localization of survivin is a positive prognostic factor for survival in advanced nonsmall cell lung cancer. *Ann Oncol* 2004; 15(11): 1654-1660
- 8 Plescia J, Salz W, Xia F, et al. Rational design of shepherdin, a novel anticancer agent. *Cancer Cell* 2005; 7(5): 457-468