

## · 论著 ·

## 存活素、微小染色体维持蛋白 2 在乳腺癌中的表达及其临床意义

栗东海 刘明

【摘要】 目的 检测存活素(survivin)、微小染色体维持蛋白 2(MCM2)在乳腺癌组织中的表达,探讨其在乳腺癌发生过程中的临床意义。方法 应用免疫组织化学 SP 法检测内蒙古医科大学附属医院 2003 年 1 月至 2007 年 6 月收治的 60 例乳腺癌(全部为浸润性导管癌)及 40 例乳腺纤维腺瘤组织中 Survivin 与 MCM2 的表达情况,数据分析采用  $\chi^2$  检验及 Spearman 等级相关分析。结果 Survivin 在乳腺癌组织中的阳性表达率高于乳腺纤维腺瘤组织,两者差异有统计学意义(12.50% vs 71.67%;  $\chi^2 = 33.661, P=0.000$ )。Survivin 蛋白的表达与乳腺癌组织学分级有关( $\chi^2 = 9.941, P=0.007$ )。MCM2 蛋白在乳腺癌组织中的阳性表达率高于乳腺纤维腺瘤,两者差异有统计学意义(10.00% vs 58.33%;  $\chi^2 = 23.567, P=0.000$ )。MCM2 蛋白的表达与肿瘤直径、组织学分级、临床分期及腋窝淋巴结转移有关( $\chi^2 = 4.239, 9.307, 5.126, 6.655; P<0.05$ )。Survivin 与 MCM2 在乳腺癌组织中的表达呈正相关( $r=0.294, P=0.023$ )。结论 Survivin 和 MCM2 可能与乳腺癌的发生、发展有一定的关系,其表达情况对乳腺癌的诊断及预后判断有一定的临床意义。

【关键词】 乳腺肿瘤; 免疫组织化学; 存活素; 微小染色体维持蛋白 2

【中图分类号】 R737.9

【文献标志码】 A

Expressions of survivin and minichromosome maintenance protein 2 in breast carcinoma and their clinical significance LI Dong-hai, LIU Ming. Department of Surgical Oncology, Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical College, Huhhot 010050, China

Corresponding author: LIU Ming, Email: liumingfy@yahoo.cn

【Abstract】 Objective To study the expressions of survivin and minichromosome maintenance protein 2 (MCM2) in breast cancer tissue, and explore their clinical significance in the development of breast cancer. Methods The expressions of survivin and MCM2 were detected using immunohistochemical staining SP method in 60 cases of breast cancer (the pathologic type was infiltrating ductal carcinoma) and 40 cases of breast fibroadenoma treated in Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical College from January 2003 to January 2007.  $\chi^2$  test and Spearman rank correlation analysis were used for data analysis. Results The positive expression rate of survivin in breast cancer tissue was significantly higher than that in the fibroadenoma (12.50% vs 71.67%;  $\chi^2 = 33.661, P=0.000$ ). The survivin expression showed a significant correlation with the different histological grade of breast cancer (10.00% vs 58.33%;  $\chi^2 = 9.941, P=0.007$ ). The positive expression rate of MCM2 in breast cancer tissue was significantly higher than that in the fibroadenoma ( $\chi^2 = 23.567, P=0.000$ ). The expression of MCM2 showed a significant correlation with tumor diameter, histological grade, clinical stage, axillary lymph node metastasis ( $\chi^2 = 4.239, 9.307, 5.126, 6.655; P<0.05$ ). The expressions of survivin and MCM2 in breast cancer were positively correlated ( $r=0.294, P=0.023$ ). Conclusion The expressions of survivin and MCM2 might be related to the development of breast cancer, which might be helpful in the diagnosis and prognosis of breast cancer.

【Key words】 Breast neoplasms; Immunohistochemistry; Survivin; Minichromosome maintenance protein 2

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-0807.2013.04.004

作者单位:010050 呼和浩特,内蒙古医科大学附属医院肿瘤外科

通信作者:刘明,Email: liumingfy@yahoo.cn

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一,其发病率和病死率在西方国家较高,目前已成为美国女性第二大癌症死因<sup>[1]</sup>。中国乳腺癌的发病率也逐年增加,并且发病年龄趋于年轻。恶性肿瘤的

一个主要特征就是细胞的无限增殖,其产生可能与细胞增殖、凋亡调控机制紊乱有关。存活素(survivin)是凋亡抑制蛋白家族中的一员<sup>[2]</sup>,不仅能够抑制半胱天冬酶(caspase)的活性从而抑制细胞的程序性死亡,同时也能通过部分抑制 Bax 和 Fas 的活性,进而调节细胞的有丝分裂<sup>[3]</sup>。微小染色体维持蛋白 2(minichromosome maintenance protein 2, MCM2)是细胞增殖标记物,在标记肿瘤细胞增殖时优于传统的肿瘤标志物 Ki-67,并且与许多恶性肿瘤的预后相关<sup>[4-6]</sup>。综上所述,survivin 与 MCM2 的异常表达与乳腺癌的发生发展可能有一定关系,不过具体机制仍在探索中。本研究通过免疫组织化学方法检测两者在乳腺癌及乳腺纤维腺瘤中的表达,进而探讨它们在乳腺癌的临床诊断及治疗中的临床意义。

## 1 资料和方法

### 1.1 病例入组

收集内蒙古医科大学附属医院 2003 年 1 月至 2007 年 6 月手术切除并已病理确诊的乳腺癌 60 例(均为浸润性导管癌)作为实验组,患者均为女性,年龄 35~71 岁(平均年龄 47.8 岁)。依据组织学分级、临床分期以及腋窝淋巴结转移进行分组分析。乳腺癌患者手术前未经过新辅助化疗及内分泌治疗。另选择年龄 35~55 岁之间(平均年龄 46.1 岁)的乳腺纤维腺瘤 40 例作为对照组。两组患者年龄差异无统计学意义( $t=1.558, P=0.122$ )。全部标本切片,厚度 4~5  $\mu\text{m}$ /张,分别进行 HE 染色和 survivin、MCM2 的免疫组织化学检测。

### 1.2 研究试剂

即用型兔抗人存活蛋白免疫组织化学多克隆抗体、免疫组织化学染色 SP 试剂盒、二氨基联苯胺(DAB)显色试剂盒、一抗稀释液均购自福州迈新生物技术开发有限公司,纯化兔抗人 MCM2 多克隆抗体购自美国 Proteintech Group 有限公司。

### 1.3 免疫组织化学

应用免疫组织化学 SP 法,操作过程按试剂盒说明书进行。survivin 多抗为工作液;MCM2 多抗为浓缩液,经不同浓度配比的预实验测得最佳反应浓度为 1:150;采用已知的阳性片(由试剂公司提供)作阳性对照,PBS 代替一抗作阴性对照,以排除假阳性结果。

### 1.4 结果判断

survivin 蛋白阳性判断标准为细胞质出现棕

黄色或黄褐色颗粒为阳性细胞(图 1、2)。结果判定参照许良中等<sup>[7]</sup>的免疫组织化学评分标准进行,0 分为阴性,1~12 分为阳性。

MCM2 阳性表达定性标准是细胞核内出现棕黄色颗粒(图 3、4),结果判定参照许良中等<sup>[7]</sup>的免疫组织化学评分标准进行。0 分代表阴性,1~3 分代表阳性。

### 1.5 统计分析

采用 SPSS 13.0 统计软件进行统计分析。计数资料采用  $\chi^2$  检验,相关性分析采用 Spearman 等级相关分析, $P<0.05$  为差异具有统计学意义。

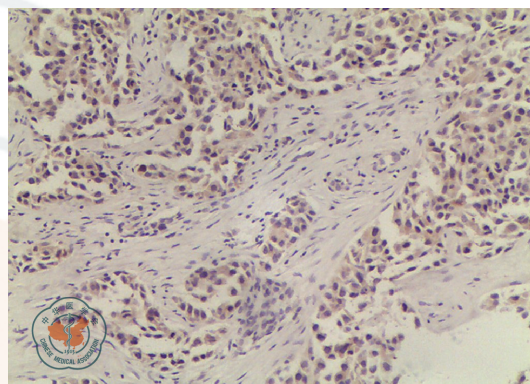


图 1 乳腺癌组织中 survivin 的表达(SP  $\times 100$ )

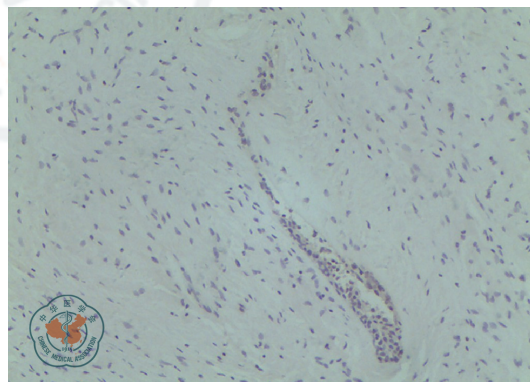


图 2 乳腺纤维腺瘤组织中 survivin 的表达(SP  $\times 100$ )

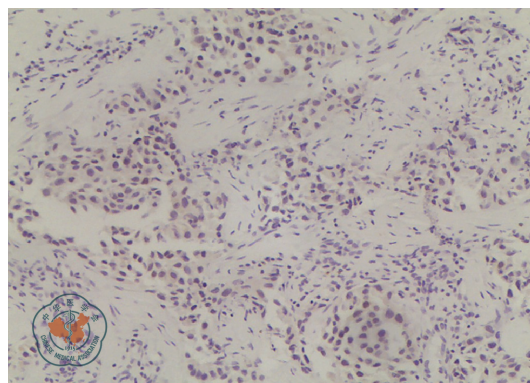


图 3 乳腺癌组织中 MCM2 的表达(SP  $\times 100$ )

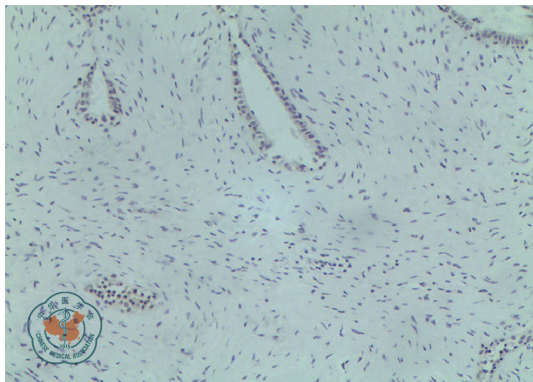


图 4 乳腺纤维腺瘤组织中 MCM2 的表达(SP ×100)

2 结果

2.1 survivin 蛋白表达

survivin 蛋白在乳腺癌组织中的阳性表达率为 71.67% (43/60), 明显高于乳腺纤维腺瘤组, 差异有统计学意义( $\chi^2=33.661, P=0.000$ , 表 1)。

表 1 survivin 在乳腺纤维腺瘤与乳腺癌中的表达

组别	例数	survivin 表达		阳性率(%)	$\chi^2$ 值	P 值
		阴性	阳性			
乳腺纤维腺瘤	40	35	5	12.50	33.661	0.000
乳腺癌	60	17	43	71.67		

2.2 MCM2 蛋白表达

MCM2 蛋白在乳腺癌组织中的阳性表达率为 58.33% (35/60), 明显高于乳腺纤维腺瘤组, 差异

有统计学意义( $\chi^2=23.567, P=0.000$ , 表 2)。

表 2 MCM2 蛋白在乳腺纤维腺瘤与乳腺癌中的表达

组别	例数	MCM2 蛋白表达		阳性率(%)	$\chi^2$ 值	P 值
		阴性	阳性			
乳腺纤维腺瘤	40	36	4	10.00	23.567	0.000
乳腺癌	60	25	35	58.33		

2.3 临床病理学特征与 survivin、MCM2 表达的相关性

乳腺癌组织中 survivin 和 MCM2 的表达与乳腺癌的组织学分级有关, 差异有统计学意义( $\chi^2=9.941, P=0.007$ ;  $\chi^2=6.665, P=0.010$ , 表 3), 此外 MCM2 的表达与乳腺癌瘤体直径、临床分期以及腋窝淋巴结转移有关, 差异有统计学意义( $\chi^2=4.239, P=0.040$ ;  $\chi^2=5.126, P=0.024$ ,  $\chi^2=6.655, P=0.010$ , 表 3)。并且 survivin 与 MCM2 在乳腺癌组织中的表达呈正相关( $r=0.294, P=0.023$ , 表 4)。

3 讨论

乳腺癌的发生与细胞的增殖和凋亡密切相关, survivin 正是通过其凋亡抑制作用参与乳腺癌的发生过程。研究发现大部分乳腺癌组织中 survivin 蛋白的表达高于正常乳腺组织和乳腺纤维腺瘤<sup>[8]</sup>。因此, 细胞增殖与凋亡的异常可能在乳腺癌的发生发展过程中起着重要作用。

表 3 乳腺癌组织中 survivin 和 MCM2 的表达与临床病理特征的关系

临床病理特征	例数	survivin 表达(例)		$\chi^2$ 值	P 值	MCM2 表达(例)		$\chi^2$ 值	P 值
		+	-			+	-		
年龄									
≤50 岁	26	21	5	1.872	0.171	14	12	0.380	0.538
>50 岁	34	22	12			21	13		
肿瘤直径									
≤2 cm	39	25	14	3.140	0.076	19	20	4.239	0.040
>2 cm	21	18	3			16	5		
组织学分级									
I	15	6	9	9.941	0.007	5	10	9.307	0.010
II	26	21	5			14	12		
III	19	16	3			16	3		
临床分期									
I ~ II	38	25	13	1.763	0.184	18	20	5.126	0.024
III	22	18	4			17	5		
腋窝淋巴结转移									
有	46	34	12	0.131	0.718	31	15	6.655	0.010
无	14	9	5			4	10		



表 4 survivin 与 MCM2 在乳腺癌组织中表达的相关性

survivin 表达	例数	MCM2 表达(例)		<i>r</i> 值	<i>P</i> 值
		-	+		
-	17	11	6	0.294	0.023
+	43	14	29		

survivin 在人类恶性肿瘤中都有高表达,而在大多数正常成人组织中检测不出来<sup>[9]</sup>。虽然在人类一些有增殖潜能的正常组织或细胞中有 survivin 的表达,但是它们的表达量通常很低,在被检测组织中阳性表达细胞不超过 5%<sup>[10]</sup>。研究表明,survivin 在癌细胞中的表达与癌症的进展、细胞对药物及辐射的抵抗力、不良预后以及低生存率有关<sup>[11]</sup>。因此,survivin 有可能在无毒性药物对正常组织诱导的情况下,成为一个重要的癌症治疗靶点。survivin 的表达与乳腺癌的化疗耐药、内分泌治疗耐药、放射治疗抵抗均有关<sup>[12]</sup>,针对 survivin 的靶向治疗可能会对 survivin 高表达的肿瘤组织产生较大的影响。伦增军等<sup>[13]</sup>研究发现,乳腺癌组织中 survivin 的阳性表达率为 71.8%,其表达随着癌组织分化程度降低、淋巴结转移数目增加、临床分期进展而增强。本研究显示 survivin 在 60 例乳腺癌组织中的阳性率为 71.67% (43/60),并且其在不同的乳腺癌组织学分级中的表达差异有统计学意义。survivin 蛋白有可能与乳腺癌的发生、发展有关,其表达水平有望成为乳腺癌组织分化、诊断及预后判断的参考指标。

目前,MCM2 蛋白已用于许多人类肿瘤增殖活动的评估。对肿瘤组织中的 MCM2 蛋白表达的免疫组织化学检测,可用于对乳腺癌、胃癌、膀胱癌等多种恶性肿瘤患者的预后进行评估<sup>[5,14]</sup>。Gonzalez 等<sup>[5]</sup>对 MCM2 在乳腺癌组织中的表达情况进行研究,结果显示 MCM2 蛋白在乳腺癌组织及乳腺正常组织中的表达情况较增殖标志物 Ki67 更为明显,差异有统计学意义。Shetty 等<sup>[15]</sup>采用免疫组织化学方法对 18 例乳腺正常组织及 120 例乳腺癌组织进行研究,并结合临床病理参数分析。结果发现 MCM2 与 Ki67 的表达与肿瘤分级的增加有关;MCM2 与 Ki67 比值的降低,可能预示着细胞进入活跃的增殖状态;MCM2、Ki67 以及 MCM2/Ki67 的比值在统计学上与诺丁汉预后指数显著相关;MCM2 与 MCM2/Ki67 的比值两者高度相关,MCM2 可以作为一个重要且独立的

诺丁汉预后指数的预测因子。尽管该研究显示 MCM2 蛋白可以提供乳腺癌预后的信息,但是研究也发现它在低分化肿瘤组织中的高水平表达削弱了其作为预后因子的作用。本实验通过对 60 例乳腺癌组织及 40 例乳腺纤维腺瘤组织中 MCM2 蛋白的表达情况研究发现,MCM2 蛋白表达的阳性率在癌组织中为 58.33% (35/60)而在纤维腺瘤组织中为 10.00% (4/40),两者差异有统计学意义( $P<0.05$ );进一步研究了 MCM2 蛋白在乳腺癌组织中的表达与乳腺癌患者临床病理因素的关系,发现 MCM2 与乳腺癌的肿瘤直径、组织学分级、临床分期及腋窝淋巴结有无转移有关。Gonzalez 等<sup>[5]</sup>的研究结果与本实验基本一致的。因此,MCM2 蛋白有可能成为乳腺癌患者新的诊断及预后判断的参考指标。

本研究通过对乳腺癌组织中 survivin 和 MCM2 表达的检测,发现两者在乳腺癌组织中的表达呈正相关。这一结果提示,癌细胞由于受到 survivin 的调控,产生细胞凋亡抑制。与此同时,笔者推测 survivin 和 MCM2 之间可能还有协同作用,两者共同促进癌细胞的增殖,但具体作用机制尚无定论,有待进一步研究。

综上所述,乳腺癌组织中 survivin 和 MCM2 的表达情况可能与乳腺癌的发生、发展有一定的关系,对乳腺癌的诊断及预后判断有一定的临床意义。

## 参考文献

- [1] Jemal A, Siegel R, Xu J, et al. Cancer statistics, 2010[J]. CA Cancer J Clin, 2010, 60(5):277-300.
- [2] Kelly RJ, Lopez-Chavez A, Citrin D, et al. Impacting tumor cell-fate by targeting the inhibitor of apoptosis protein survivin [J]. Mol Cancer, 2011, 10:35.
- [3] Liu BB, Wang WH. Survivin and pancreatic cancer [J]. World J Clin Oncol, 2011, 2(3): 164-168.
- [4] Dudderidge TJ, Stoeber K, Loddo M, et al. Mcm2, Geminin, and Ki67 define proliferative state and are prognostic markers in renal cell carcinoma [J]. Clin Cancer Res, 2005, 11(7): 2510-2517.
- [5] Gonzalez MA, Pinder SE, Callagy G, et al. Minichromosome maintenance protein 2 is a strong independent prognostic marker in breast cancer [J]. J Clin Oncol, 2003, 21(23):4306-4313.
- [6] Tachibana KE, Gonzalez MA, Coleman N. Cell-cycle-dependent regulation of DNA replication and its relevance to cancer pathology[J]. J Pathol, 2005, 205(2):123-129.
- [7] 许良中,杨文涛. 免疫组织化学反应结果的判断标准[J].

- 中国癌症杂志, 1996, 6(4): 229-231.
- [8] Adamkov M, Halasova E, Kajo K, et al. Survivin: a promising biomarker in breast carcinoma[J]. Neoplasma, 2010, 57(6): 572-577.
- [9] Athanassiadou AM, Patsouris E, Tsipis A, et al. The significance of Survivin and Nectin-4 expression in the prognosis of breast carcinoma[J]. Folia Histochem Cytobiol, 2011, 49(1): 26-33.
- [10] Spaulding B, Pan D, Ghadersohi A, et al. Characterization of the 12C4 survivin monoclonal antibody and insight into the expression of survivin in human adult tissues [J]. Histopathology, 2006, 49(6): 622-633.
- [11] Li F, Ling X. Survivin study: an update of “what is the next wave”? [J]. J Cell Physiol, 2006, 208(3): 476-486.
- [12] Jha K, Shukla M, Pandey M. Survivin expression and targeting in breast cancer[J]. Surg Oncol, 2012, 21(2): 125-131.
- [13] 伦增军, 黄勇, 王静, 等. 乳腺癌组织中 survivin 和增殖细胞核抗原的表达及其临床意义[J/CD]. 中华乳腺病杂志: 电子版, 2009, 3(3): 301-308.
- [14] Tokuyasu N, Shomori K, Nishihara K, et al. Minichromosome maintenance 2 (MCM2) immunoreactivity in stage III human gastric carcinoma: clinicopathological significance[J]. Gastric Cancer, 2008, 11(1): 37-46.
- [15] Shetty A, Loddo M, Fanshawe T, et al. DNA replication licensing and cell cycle kinetics of normal and neoplastic breast [J]. Br J Cancer, 2005, 93(11): 1295-1300.
- (收稿日期: 2013-01-06)  
(本文编辑: 刘军兰)

栗东海, 刘明. 存活素、微小染色体维持蛋白 2 在乳腺癌中的表达及其临床意义[J/CD]. 中华乳腺病杂志: 电子版, 2013, 7(4): 254-258.

