

# 胃淋巴瘤组织 Survivin 表达与幽门螺杆菌感染的关系

揭旭日, 夏冰

揭旭日, 广西右江民族医学院第一附属医院工作 广西省百色市 533000  
夏冰, 武汉大学中南医院内科, 消化系疾病研究中心, 武汉大学医学院  
过敏与免疫相关疾病重点实验室 湖北省武汉市 430071

项目负责人: 夏冰, 430071, 湖北省武汉市东湖路169号, 武汉大学中南医院内科, bingxia2004@yahoo.com.cn

电话: 027-67812985-2985

收稿日期: 2004-11-23 接受日期: 2004-12-16

## 摘要

**目的:** 探讨 Survivin 基因在胃淋巴瘤中的表达及其与幽门螺杆菌(*H pylori*)感染的关系。

**方法:** 用免疫组化法检测 30 例胃淋巴瘤和 30 例正常胃组织 Survivin 的表达, 同时用碱性品红染色法检测 30 例胃淋巴瘤及 30 例对照组 *H pylori* 感染情况。

**结果:** 30 例胃淋巴瘤中 14 例 Survivin 表达阳性, 而正常胃组织均无表达(46.67% vs 0%,  $P = 0.0002$ )。Survivin 表达与淋巴瘤分化程度、淋巴结转移及预后相关。胃淋巴瘤组织中 *H pylori* 阳性检出率 11 例, 正常胃组织 7 例(36.7% vs 23.33%,  $P = 0.26$ )。胃 MALT 型淋巴瘤 Survivin 阳性表达与 *H pylori* 感染有显著相关性( $r = 0.644$ ,  $P = 0.04$ )。

**结论:** Survivin 基因在胃淋巴瘤中表达上调, 而且与分化程度、淋巴结转移及预后有关。*H pylori* 感染与胃 MALT 型淋巴瘤和 Survivin 表达有关。

揭旭日, 夏冰. 胃淋巴瘤组织 Survivin 表达与幽门螺杆菌感染的关系. 世界华人消化杂志 2005;13(4):557-559

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/557.asp>

## 0 引言

Survivin 是 1997 年由 Ambrosini *et al*<sup>[1]</sup> 用效应细胞蛋白酶受体 cDNA 在人类基因库的杂交筛选中分离出来的, 是凋亡抑制蛋白(inhibitor of apoptosis protein, IAP) 家族的新成员。胃淋巴瘤是淋巴结外恶性淋巴瘤较多见的一类淋巴瘤, 以往报道胃 MALT 淋巴瘤与幽门螺杆菌(*H pylori*)感染相关<sup>[2]</sup>, 但并未明确。我们采用免疫组化法检测 30 例胃淋巴瘤组织 Survivin 表达, 并通过检测 *H pylori* 感染情况, 探讨 Survivin 基因在胃淋巴瘤发病机制中的作用以及与 *H pylori* 感染的关系。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集胃淋巴瘤 30 例, 均为 1998/2003 年右江民族医学院第一附属医院及第二附属医院病理科存档蜡块, 男性 19 例, 女性 11 例, 年龄 38-72 岁, 平均年龄 58 岁, 所有病例诊断前均未治疗。参照欧洲血液病理学会关于原发性胃肠道淋巴瘤的分类标准<sup>[2]</sup> 分类, 并

行白细胞共同抗原(LCA)、CD45RO、CD20、CD3 免疫组化染色, 30 例胃淋巴瘤均为 B 细胞性淋巴瘤, 其中低度恶性胃淋巴瘤 16 例(胃黏膜相关淋巴样组织型(MALT 型)低度恶性淋巴瘤 11 例, 中心细胞性淋巴瘤 2 例, 套细胞性淋巴瘤 3 例), 高度恶性胃淋巴瘤 14 例(MALT 型高度恶性淋巴瘤 7 例, 间变性大细胞性淋巴瘤 4 例, 免疫母细胞性淋巴瘤 3 例)。按照胃肠道恶性淋巴瘤临床分期标准<sup>[2]</sup>, 30 例胃淋巴瘤分期: I 期 12 例, II 期 5 例, III 期 7 例, IV 期 6 例。本组实验中有淋巴结转移者 18 例, 无淋巴结转移者 12 例。此外, 取 30 例胃非恶性肿瘤的正常胃黏膜组织作为对照组。标本均经 40 g/L 甲醛固定, 常规石蜡包埋。

## 1.2 方法

**1.2.1 免疫组化方法检测 Survivin 表达** Elivision 试剂盒购自福州迈新公司, 第一抗体为兔抗人 Survivin 多克隆抗体。主要实验步骤:切片、脱蜡、水化后, 高温高压修复 1 次, 时间 90 s, 滴加 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 消除切片中过氧化物酶对自身阳性的干扰, 滴加一抗, 37℃ 水浴 1 h, 滴加二抗, 37℃ 水浴 30 min, DAB 显色, 苏木精复染, 低度酒精脱水, 干燥, 二甲苯透明封固。用已知的乳腺癌切片作为阳性对照, 用 PBS 替代一抗作为阴性对照。

**1.2.2 碱性品红染色法检测 *H pylori*** 主要实验步骤:切片、脱蜡、水化后, 将切片置入 0.25% 碱性品红液 5 min, 蒸馏水冲洗 1 次, 950 mL/L 乙醇脱水, 最后二甲苯透明和中性树脂胶封固。

**1.2.3 结果判定** 由病理科医师负责结果判定。Survivin 阳性染色在胞质或胞核均有表达, 其中主要在胞质中表达, 为淡黄至黄棕色颗粒。Survivin 染色结果按阳性细胞所占百分率分为:阳性率<10%, 为阴性(-);10-24%, 为弱阳性(+);25-50%, 为阳性(++);>50%, 为强阳性(+++)。用碱性品红染色法检测出的 *H pylori* 呈红色, 凡胃组织切片中找到 *H pylori*, 则认为 *H pylori* 检测阳性。

**统计学处理** 运用 SPSS11.5 统计软件进行数据处理, 率的比较用  $\chi^2$  检验或精确概率法检验, 等级相关分析用 Spearman 方法检验,  $P < 0.05$  为差异有显著性。

## 2 结果

**2.1 Survivin 表达** 30 例胃淋巴瘤中, 14 例 Survivin 表达阳性(图 1), 30 例正常对照标本均无阳性表达(46.7% vs 0%,  $P = 0.0002 < 0.01$ ,  $A = 36.03$ , 95% CI:1.995-650.56)。低度恶性组 Survivin 表达 2 例, 而高度恶性组中表达 12 例(12.5% vs 85.71%,  $P = 0.0008 < 0.01$ ,  $A = 42$ , 95% CI:5.112-345.103)。临床分期:III+VI 期 13 例, Survivin 表达阳性 10 例;

I + II期 17例, Survivin 表达阳性 4例, III + VI期与 I + II期患者阳性率差异有显著性 ( $76.9\% \text{ vs } 25.5\%$ ,  $P = 0.009 < 0.01$ ,  $A = 10.833$ , 95% CI: 1.96–59.83). 淋巴结转移情况: 有淋巴结转移者 18例, Survivin 表达阳性 12例; 无淋巴结转移者 12例, Survivin 表达阳性 2例 ( $66.7\% \text{ vs } 16.67\%$ ,  $P = 0.011 < 0.05$ ,  $A = 10$ , 95% CI: 1.641–60.921). 胃 MALT 淋巴瘤组与非 MALT 淋巴瘤组 Survivin 表达无显著性差别 ( $38.89\% \text{ vs } 58.33\%$ ,  $P = 0.457$ ).

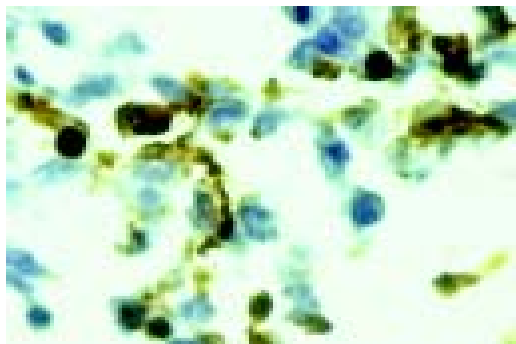


图1 胃淋巴瘤 Survivin 表达, Elivision  $\times 400$ .

**2.2 *H pylori* 检测** 30例胃淋巴瘤中 *H pylori* 检测阳性 (图2) 共 11例, 对照组阳性 7例, 两组对比差异无显著性 ( $36.7\% \text{ vs } 23.33\%$ ,  $P = 0.26$ ,  $A = 1.902$ , 95% CI: 0.617–5.863). 胃 MALT 淋巴瘤组 18例, *H pylori* 检出 10例; 非 MALT 淋巴瘤组 12例, *H pylori* 检出 1例, 两组 *H pylori* 感染率对比有显著性差别 ( $55.6\% \text{ vs } 8.3\%$ ,  $P = 0.018 < 0.05$ ,  $A = 13.75$ , 95% CI: 1.45–130.24).

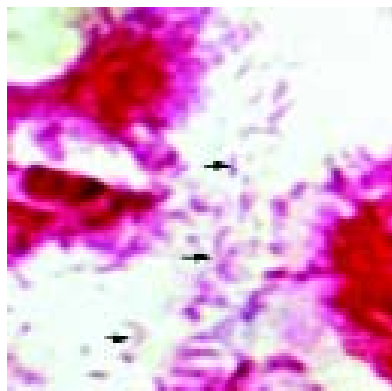


图2 胃淋巴瘤 *H pylori* 感染 (箭头指向为 *H pylori*), 碱性品红染色  $\times 400$ .

**2.3 Survivin 表达与 *H pylori* 的关系** 30例胃淋巴瘤同时出现 Survivin 表达及 *H pylori* 感染者 8例 (其中 MALT 型占有 7例), 同时阴性者 13例, 胃淋巴瘤 Survivin 表达与 *H pylori* 感染有显著相关性 ( $r = 0.404$ ,  $P = 0.027 < 0.05$ ). 胃 MALT 淋巴瘤同时出现 Survivin 表达及 *H pylori* 感染者 7例, 非胃 MALT 淋巴瘤同时出现者只有 1例, 胃 MALT 型淋巴瘤 Survivin 阳性表达与 *H pylori* 感染有显著相关性 ( $r = 0.691$ ,  $P = 0.001 < 0.01$ ).

### 3 讨论

人体细胞凋亡抑制蛋白 (human inhibitor of apoptosis protein, hIAP) 是抑制细胞凋亡的重要成分, 其作用大于 Bcl-2 家族<sup>[3]</sup>, 在肿瘤的发病机制中起重要作用. Survivin 是 hIAP 家族的新成员, 由 42 个氨基酸构成, 含有一个 N 末端的杆状病毒凋亡抑制蛋白重复序列区. 近来认为 Survivin 基因的抗凋亡功能在于直接抑制了半胱氨酸蛋白酶 caspase-3 和 caspase-7 的活性. Survivin 只是在胚胎组织中表达, 成人分化组织则表达下降或不表达. 在人体各种肿瘤中, Survivin 在肿瘤的阳性表达率为 34.5–92%, 而且 Survivin 阳性表达已提示肿瘤预后不良<sup>[4–8]</sup>. 我们的研究发现, 胃 B 细胞淋巴瘤组织中 Survivin 基因表达阳性率为 46.67%, 而正常胃黏膜组织中未见表达, 说明 Survivin 基因在胃淋巴瘤组织中表达上调, 这与 Ambrosini *et al*<sup>[1]</sup>, Li *et al*<sup>[9]</sup> 对淋巴瘤 Survivin 阳性表达率的检测结果一致. 本实验 Survivin 的表达上调提示 Survivin 基因可能通过抑制胃淋巴瘤细胞凋亡, 对胃淋巴瘤的发生发展起重要作用. 此外, 我们的实验显示高度恶性胃淋巴瘤 Survivin 基因表达明显高于低度恶性胃淋巴瘤, 这一结果与 Mazur *et al*<sup>[10]</sup> 一致, 同时 Survivin 基因表达与胃淋巴瘤组织的分化程度、临床分期及淋巴结转移有明显相关性, 说明 Survivin 基因的表达预示胃淋巴瘤有较高的侵袭性和预后不良. 因此, 检测 Survivin 基因表达对胃淋巴瘤的临床分型以及预后判断具有一定的价值.

我们检测胃淋巴瘤组织 *H pylori* 感染率, 30例胃淋巴瘤的总检出率为 36.67%, 其中 MALT 型占 55.56%, 这与许良中<sup>[2]</sup>的研究试验结果 (58%) 相接近, 而胃 MALT 型淋巴瘤组与非 MALT 型组 *H pylori* 感染率对比, 差异有显著性, 这一结果与 Yin *et al*<sup>[11]</sup> 报道的相符, 说明 *H pylori* 感染与胃 MALT 型淋巴瘤的发生、发展有密切联系, 此结果为指导胃 MALT 型淋巴瘤抗 *H pylori* 治疗提供了一定的理论依据. 我们的研究还发现, 胃 MALT 型淋巴瘤 Survivin 的表达与 *H pylori* 感染呈显著相关, 提示 *H pylori* 感染除了在胃 MALT 型淋巴瘤的发病可能起到促进的作用以外, 同时也可能进一步抑制了胃淋巴瘤细胞的凋亡过程. Mera<sup>[12]</sup> 的研究发现, 凡 Survivin 表达阳性且 *H pylori* 检测阳性的胃 MALT 型患者, 给予 *H pylori* 根治性治疗以后, 胃淋巴瘤并未获得满意的治疗效果, 而 Survivin 阴性但 *H pylori* 阳性的胃 MALT 型淋巴瘤, 单纯给予 *H pylori* 根治性治疗后取得满意的疗效, 说明 *H pylori* 感染也可能只是 MALT 型胃淋巴瘤的诱因或启动因素, Survivin 表达及其通路对胃淋巴瘤的发生与发展起到重要作用. 我们的研究显示正常组无 Survivin 表达, 但 *H pylori* 感染率达 23.33%, 进一步提示 Survivin 与淋巴瘤有密切关系, 而 *H pylori* 仅是伴随关系, 对肿瘤起到促进作用. 我们还发现, 非 MALT 型胃淋巴瘤与 *H pylori* 感染的关系不大, 这与目前国内外的报道的结果一致 (Burkitt 淋巴瘤除外<sup>[13–15]</sup>). 总

之, 我们的研究提示 Survivin 在胃淋巴瘤组织表达上调, 而且与分化程度、淋巴结转移及预后有关. 胃 MALT 淋巴瘤 Survivin 表达与组织 *H. pylori* 感染有关, 其作用尚待进一步研究.

#### 4 参考文献

- 1 Ambrosini G, Adida C, Altieri DC. A novel anti-apoptosis gene, Survivin, expressed in cancer and lymphoma. *Nat Med* 1997;3:917-921
- 2 许良中. 现代恶性淋巴瘤病理学. 第1版. 上海: 上海科学技术文献出版社. 2002:204-208
- 3 LaCasse EC, Baird S, Korneluk RG, MacKenzie AE. The inhibitors of apoptosis (IAPs) and their emerging role in cancer. *Oncogene* 1998;17:3247-3259
- 4 Adida C, Haioun C, Gaulard P, Lepage E, Morel P, Briere J, Dombret H, Reyes F, Diebold J, Gisselbrecht C, Salles G, Altieri DC, Molina TJ. Prognostic significance of survivin expression in diffuse large B-cell lymphomas. *Blood* 2000;96:1921-1925
- 5 Kato J, Kuwabara Y, Mitani M, Shinoda N, Sato A, Toyama T, Mitsui A, Nishiwaki T, Moriyama S, Kudo J, Fujii Y. Expression of Survivin in esophageal cancer: correlation with the prognosis and response to chemotherapy. *Int J Cancer* 2001;95:92-95
- 6 Sarela AI, Macadam RC, Farmery SM, Markham AF, Guillou PJ. Expression of the antiapoptosis gene, Survivin, predicts death from recurrent colorectal carcinoma. *Gut* 2000;46:645-650
- 7 Sarela AI, Scott N, Ramsdale J, Markham AF, Guillou PJ. Immunohistochemical detection of the anti-apoptosis protein, Survivin, predicts survival after curative resection of stage II colorectal carcinomas. *Ann Surg Oncol* 2001;8:305-310
- 8 Tanaka K, Iwamoto S, Gon G, Nohara T, Iwamoto M, Tanigawa N. Expression of Survivin and its relationship to loss of apoptosis in breast carcinomas. *Clin Cancer Res* 2000;6:127-134
- 9 Li HL, Sun BZ, Feng Q, Shang ZC. Expression of Survivin and caspase-3 in non-Hodgkin's lymphoma and their clinical significance. *Ai Zheng* 2004;23:40-43
- 10 Mazur G, Halon A, Wrobel T, Urbaniak J, Kuliczowski K, Wozniak M. Survivin expression in lymph nodes, affected by lymphoma and reactive hyperplasia. *Rocz Akad Med Bialymst* 2004;49(Suppl 1):76-78
- 11 Yin HF, Li T, Zhang Y. Proliferation and apoptosis in primary gastrointestinal B-cell non-hodgkin's lymphoma and its association with *Helicobacter Pylori*. *Beijing Daxue Xuebao* 2004;36:348-352
- 12 Mera K. Anti-apoptosis gene "Survivin" in gastric MALT lymphoma patients (pts): Correlation with therapeutic response after eradication for *Helicobacter pylori* (*H. pylori*). *Proc Am Soc Clin Oncol* 2003;22:865
- 13 Ziarkiewicz-Wroblewska B, Gornicka B, Suleiman W, Koperski L, Muszniski J, Ehrmann-Josko A, Wasiutynski A. Sporadic Burkitt's lymphoma (BL) with stomach involvement associated with *Helicobacter pylori* infection-case report and literature review. *Wiad Lek* 2004;57:183-187
- 14 Shannon C, Vickers C, Field A, Ward R. Burkitt's lymphoma associated with *Helicobacter pylori*. *J Gastroenterol Hepatol* 2000;15:99-103
- 15 Moschovi M, Menegas D, Stefanaki K, Constantinidou CV, Tzortzatou-Stathopoulou F. Primary gastric Burkitt lymphoma in childhood: associated with *Helicobacter pylori*? *Med Pediatr Oncol* 2003;41:444-447

编辑 张海宁