

· 论著 ·

存活素在尖锐湿疣皮损中的表达

陈国菊¹, 马黎¹, 张杏平¹, 邹桂华², 马玲¹, 周华¹

(1. 深圳宝安妇幼保健院皮肤科, 广东 深圳 518133; 2. 深圳宝安人民医院病理科, 广东 深圳 518133)

[摘要] 目的:探讨凋亡抑制基因存活素在男性包皮尖锐湿疣组织中的表达。方法:采用免疫组化染色法检测 30 例男性包皮尖锐湿疣皮损组织及 30 例正常男性包皮组织中存活素表达水平。结果:尖锐湿疣组中存活素蛋白表达水平显著高于对照组 ($P < 0.01$), 两组表达阳性率差异有统计学意义。结论:存活素在尖锐湿疣组织中呈高表达状态, 可能在尖锐湿疣的发病中起重要作用。

[关键词] 存活素; 尖锐湿疣; 表达

[中图分类号] R752.5*3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-8468(2010)02-0100-03

Expression Level of Survivin in Condyloma Acuminatum

CHEN Guo-ju, MA Li, ZHANG Xing-ping, ZOU Gui-hua, MA Ling, ZHOU Hua

(Department of Dermatology, Bao'an Maternal and Child Health Care Hospital, Shenzhen, Guangdong 518133, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the expression of Survivin in the skin lesion of male condyloma acuminatum patients. **Methods:** The expression levels of Survivin were measured by immunohistochemistry in 30 cases of condyloma acuminatum and 30 cases of normal foreskin lesions. **Results:** Higher expression level of Survivin was detected in condyloma acuminatum lesions, compared to that in normal lesions by immunohistochemical study ($P < 0.01$). There was a statistical significance in the expression level of Survivin between the two groups. **Conclusion:** Survivin was strongly expressed in condyloma acuminatum lesions. It may play an important role in the pathogenesis of condyloma acuminatum.

[Key Words] Survivin; Condyloma acuminatum; Expression

尖锐湿疣 (Condyloma Acuminatum, CA) 是一种常见的性传播疾病, 多由人类乳头瘤病毒 (Human Papillomavirus, HPV) 6、11、16、18 型引起, CA 不易一次性彻底治愈, 其反复发作的机制目前尚不完全清楚, 与机体免疫、表皮持续增殖等多种因素相关。存活素是一种凋亡抑制分子, 在细胞的凋亡和有丝分裂的调控中具有重要的作用, 研究表明存活素与胚胎发育和肿瘤的发生发展有着密切的关系, 针对存活素进行干预是肿瘤治疗研究中的热点之一^[1]。存活素是否参与 CA 的发生及其在临床转归中的作用目前尚不清楚, 为此, 我们于 2008 年 4 月~2009 年 9 月检测了我院皮肤科门诊包皮 CA 组织中生存素的表达情况, 以期为

进一步研究奠定基础。

1 资料与方法

1.1 资料

1.1.1 标本来源及处理 30 例男性包皮 CA 患者, 均为我院皮肤科门诊病人, 所有患者均为初发未经治疗者, 临床皮疹表现典型, 醋酸白试验阳性, 二氧化碳激光治疗前用手术刀切取 CA 患者的皮损保存。30 例正常对照来自泌尿外科包皮环切术的正常皮肤。两组皮肤组织均经组织病理证实。所有组织标本均被分成两份, 一份经多聚甲醛固定, 石蜡包埋, 用于免疫组化用检测, 另一份进行 PCR 检查。

1.1.2 试剂 PCR 临床检测试剂盒购自中山达安基因诊断中心; 免疫组化 LSAB 检测试剂盒购

基金项目: 广东深圳宝安科技计划项目 (2007132)

自北京中山生物试剂公司,存活素为福州迈新生物有限公司产品,为兔抗人多克隆抗体。

1.2 方法

1.2.1 HPV 测定 按 PCR 临床检测试剂盒说明书进行操作。

1.2.2 存活素的测定 免疫组化采用柠檬酸钠缓冲液微波热修复,LSAB 法,按照产品使用说明书推荐的方法进行,抗体工作浓度存活素 1:80。PBS 代替一抗作阴性对照。

1.2.3 结果判定标准

HPV-DNA 的 PCR 产物电泳结果于紫外灯下观察,相应部位出现橘红色条带即为 HPV 阳性。免疫组化切片在光镜下观察存活素染色阳性信号为淡黄色、棕黄色或棕褐色颗粒,主要定位于细胞,在光镜下放大倍数(400×)进行测量,每例一张切片,按等距抽样原则随机摄取 5 个视野,输入计算机作为测定现场。严格设定阳性标准;形态完整,结构清晰,免疫组化结果存活素以胞浆内出现棕黄色或棕褐色颗粒为阳性。细胞阳性率≤5% 为(-),6%~25% 为(+),26%~50% 为(++),>50% 为(+++)。

1.3 统计学处理

应用统计软件 SPSS 13.0 进行统计分析, $P < 0.05$ 表示有统计学意义;采用描述性统计分析,计数资料以频数和百分数表示,组别比较采用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 皮肤组织中 HPV 感染的确认

30 例正常人皮肤组织中 HPV-DNA 均为阴性,而 30 例 CA 皮损中均可检测出 HPV-DNA。HPV6/11 阳性率在 CA 组为 83.33% (25/30),HPV16/18 阳性率在 CA 组中为 16.66% (5/30),与正常人组比较差异有统计学意义 ($\chi^2 = 26.667, P < 0.01$)。

2.2 存活素在尖锐湿疣及正常皮肤组织中的表达

存活素的表达情况为胞浆型,在 CA 皮损中表现为灶状或弥漫性分布于表皮各层(图 1,2),在少数正常皮肤组织基底层细胞中呈散在低表达状态(图 3,4)。阳性率在 CA 为 63.33% (19/

30)、正常包皮组织 11.11% (3/30),CA 组与正常皮肤组相比,存活素阳性率的差异有统计学意义 ($\chi^2 = 5.963, P = 0.015$) (表 1)。

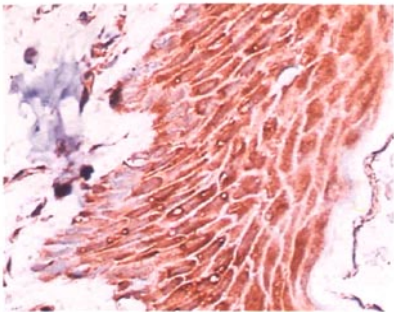


图 1 存活素在尖锐湿疣中呈强阳性表达 (LSAB 法,200×)

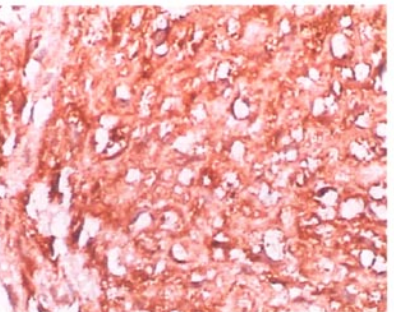


图 2 存活素在尖锐湿疣中呈强阳性表达 (LSAB 法,400×)

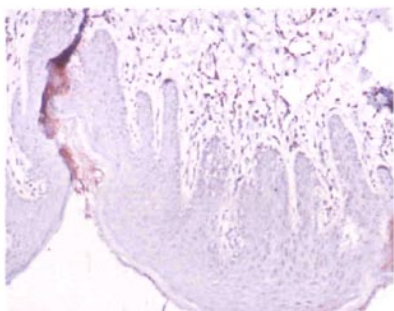


图 3 存活素在正常包皮组织呈低表达 (LSAB 法,200×)

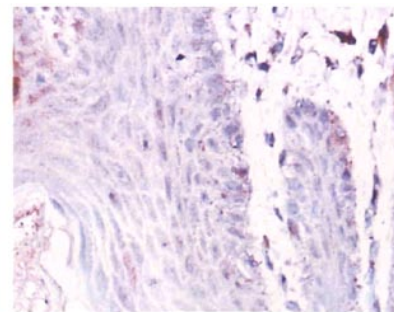


图 4 存活素在正常包皮组织呈低表达 (LSAB 法,400×)

表 1 尖锐湿疣及正常皮肤组织中存活素蛋白的表达

组别	总例数	表达存活素的病例数				阳性率 (%)
		-	+	++	+++	
尖锐湿疣	30	11	6	10	3	63.33
正常包皮组织	30	27	3	0	0	11.11

3 讨论

CA 是 HPV 感染引起的皮肤黏膜增生性疾病,是发病率较高的一种性传播疾病,该病治疗方法多但复发率高,给患者的生理和心理带来极大的痛苦^[2]。CA 的发病、复发和临床转归与众多因素有关,尤其是与 HPV 感染的角质形成细胞的增殖和凋亡密切相关。存活素是近年来发现的凋亡抑制蛋白家族的重要成员之一,是迄今发现的最强的凋亡抑制因子,可拮抗由 Fas, Bax, 半胱天冬酶 -3、-7、-9 诱导的细胞凋亡,并可通过参与细胞有丝分裂和胞质分离的调节,促进细胞分裂而进一步抑制细胞凋亡^[1]。存活素广泛表达于人的胚胎组织和各种肿瘤组织中,在成人正常的子宫内膜、肾上腺髓质、睾丸、甲状腺及胎盘中也有部分或低表达。众多研究显示存活素在恶性肿瘤中往往呈高表达状态,伴随明显的凋亡抑制,且与细胞增殖和血管生成呈正相关;而在正常组织中则呈低表达状态或无表达^[3-5]。由于存活素在抑制凋亡和调控细胞分裂中具有重要作用,其在皮肤良性和恶性增生性疾病中的作用逐渐引起关注^[6]。多项研究显示,存活素普遍表达于皮肤恶性肿瘤和良性增生性皮肤病中,而在正常皮肤中无表达,这一特点使其成为各种增生性皮肤病治疗的理想靶点。

本实验结果显示,存活素在 CA 中的表达率为 63.33%,与林云等^[7]的报道相似,明显高于其在正常皮肤中的表达,呈正相关关系,可能是 CA 生长快、易反复发作的重要原因之一。王雷,杨励等^[8]在细胞水平采用反义寡核苷酸对角质形成细胞的存活素表达进行干预可以达到明显的促进

细胞凋亡,抑制细胞增生的目的,结合我们的实验结果推测存活素将有可能成为 CA 生物治疗的一个新靶点,为减少 CA 的复发、降低 HPV 感染所致的肿瘤发生率提供新的治疗途径。

致谢: 特别感谢深圳宝安人民医院病理科汪春福、温寿高老师和深圳宝安西乡人民医院门急诊张军群老师对本研究的帮助。

[参考文献]

[1] Mita AC, Mita MM, Nawrocki ST, et al. Survivin: key regulator of mitosis and apoptosis and novel target for cancer therapeutics[J]. Clin cancer Res, 2008, 14(16): 5000-5005.

[2] 马黎, 吴铁强. 光动力疗法在皮肤疣治疗中的应用进展[J]. 岭南皮肤性病科杂志, 2009, 16(1): 68-71.

[3] Nasr MR, El-Zammar O. Comparison of pHH3, Ki-67, and survivin immunoreactivity in benign and malignant melanocytic lesions[J]. Am J Dermatopathol, 2008, 30(2): 117-122.

[4] Kim J, McNiff JM. Nuclear expression of survivin portends a poor prognosis in Merkel cell condyloma acuminatum carcinoma[J]. Mod Pathol, 2008, 21(6): 764-769.

[5] Piras F, Murtas D, Minerba L, et al. Nuclear survivin is associated with disease recurrence and poor survival in patients with cutaneous malignant melanoma[J]. Histopathology, 2007, 50(7): 835-842.

[6] Dallaglio K, Palazzo E, Marconi A, et al. Endogenous survivin modulates survival and proliferation in UVB-treated human keratinocytes[J]. Exp Dermatol, 2009, 18(5): 464-471.

[7] 林云, 涂来庭, 陈善娟, 等. 尖锐湿疣组织中人乳头状瘤病毒感染与生存素和增殖细胞核抗原的表达[J]. 中华皮肤科杂志, 2006, 39: 269-271.

[8] 王雷, 杨励, 吕雅洁, 等. 存活素反义寡核苷酸对角质形成细胞增殖和凋亡的影响[J]. 中国皮肤性病学杂志, 2008, 22: 135-137.

[收稿日期] 2010-02-24
[修回日期] 2010-03-10