

# stat-3 与 survivin 在乳腺癌的表达及其意义

岳喜成, 李德群

[摘要] 目的: 通过检测信号转导与激活因子 3 (stat-3) 与生存素 (survivin) 在乳腺癌组织中的表达, 探讨它们在乳腺癌发生及发展中的意义。方法: 应用免疫组织化学法, 检测 51 例乳腺癌和 25 例癌旁乳腺组织中 stat-3 和 survivin 表达。结果: stat-3 在乳腺癌中的表达阳性率高于癌旁乳腺组织 ( $P < 0.001$ ); stat-3 表达在淋巴结转移组中高于无淋巴结转移组 ( $P < 0.05$ )。stat-3 表达与患者年龄、肿瘤大小、组织学分级、临床分期、雌孕激素受体和 c-erbB-2 均无明显关系 ( $P > 0.05$ )。survivin 在乳腺癌中的表达高于癌旁乳腺组织 ( $P < 0.001$ ); survivin 表达与患者年龄、肿瘤大小、组织学分级、临床分期、淋巴结转移、雌孕激素受体和 c-erbB-2 均无明显关系 ( $P > 0.05$ )。survivin 表达阳性者 35 例中 stat-3 表达阳性 34 例, 两者表达呈正相关关系 ( $P < 0.05$ )。结论: stat-3、survivin 可能相互协同通过抑制细胞凋亡, 在乳腺癌发生、发展中起重要作用。

[关键词] 乳腺肿瘤; 免疫组织化学; 细胞凋亡; 激活因子 3; 生存素

[中国图书资料分类法分类号] R 737.9; R 392.31 [文献标识码] A

## Expression of stat-3 and survivin in breast carcinoma and its significance

YUE Xi-cheng, LI De-qun

(Department of Surgical Oncology, The First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233004, China)

[Abstract] Objective: To investigate the significance of the expression of stat-3 and survivin in the genesis and development of breast carcinoma. Methods: Immunohistochemistry S-P was utilized to measure the expression of stat-3 and survivin protein in 51 breast carcinoma tissues and 25 adjacent noncarcerous tissues. Results: The expression of stat-3 protein was higher in breast carcinoma tissues than that in the adjacent noncarcerous tissues ( $P < 0.001$ ); the expression of stat-3 protein was higher in the positive lymph node group than in the negative lymph node group ( $P < 0.05$ ). It was not related to the patients' age, size of tumor, pathological grades, clinical stages, ER, PR or cerbB-2 ( $P > 0.05$ ). The expression of survivin protein was higher in breast carcinoma tissues than in the adjacent noncarcerous tissues, and the difference was significant ( $P < 0.001$ ). The expression of survivin protein had no significant correlation with the patients' age, size of tumor, pathological grades, clinical stages, lymph node metastasis, ER, PR or cerbB-2 ( $P > 0.05$ ). Of the 35 cases with positive survivin protein expression, positive stat-3 protein was detected in 34 of them. The expression of survivin and stat-3 had positive correlation in breast carcinoma ( $P < 0.05$ ). Conclusions: stat-3 and survivin may play an important role in the carcinogenesis and progression of breast carcinoma by inhibiting apoptosis.

[Key words] breast neoplasms; immunohistochemistry; apoptosis; stat-3; survivin

乳腺癌的发病因素涉及领域较广, 其中癌基因激活和抑癌基因被抑制, 凋亡信号不能正常启动。

本研究采用免疫组化法检测激活因子 3 (stat-3) 与生存素 (survivin) 在乳腺癌中的表达, 以探讨两者与乳腺癌的发生及发展的关系。

[收稿日期] 2008-08-13

[作者单位] 蚌埠医学院第一附属医院 肿瘤外科, 安徽 蚌埠 233004

[作者简介] 岳喜成 (1972 -), 男, 硕士, 主治医师。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料 标本均取自蚌埠医学院第一附属医院

悸、手颤, 可通过雾化后及时漱口及对症处理完全缓解。笔者认为, 布地奈德和硫酸特布他林联合雾化吸入治疗 AECOPD 是一种安全、简便、经济有效的治疗方法, 值得临床推广使用。

#### [参 考 文 献]

[1] 中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组. 慢性阻塞性肺疾病诊断指南 (2007 年修订版) [J]. 中华结核和呼吸杂志, 2007, 30(1): 7 - 16.

[2] Rabe KF, Hurd S, Anzueto A, et al. Global strategy for the diagnosis, management and prevention of chronic obstructive pulmonary disease: GOLD executive summary [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2007, 9(6): 532 - 555.

[3] 李春华. 普米克令舒和博利康尼联合雾化吸入治疗慢性阻塞性肺病急性加重期的临床观察 [J]. 中国实用医药, 2007, 2(3): 128 - 129.

[4] 沈华浩, 王绍斌. 布地奈德干预对卵白蛋白致敏小鼠抗原激发后气道炎症及气道重塑的影响 [J]. 中华结核和呼吸杂志, 2005, 28(3): 154 - 159.

[5] Mak JC, Nishikawa M, Barnes PJ. Glucocorticosteroids increase beta 2-adrenergic receptor transcription in human lung [J]. Am J Physiol, 1995, 268 (1 Pt 1): L41 - L46.

[6] Baraniuk JN, Ali M, Brody D, et al. Glucocorticoids induce beta 2-adrenergic receptor function in human nasal mucosa [J]. Am J Respir Crit Care Med, 1997, 155(2): 704 - 710.

肿瘤外科 2006 年 12 月至 2007 年 8 月手术患者。乳腺癌 51 例,其中 25 例癌旁乳腺组织(距离肿瘤组织边缘 5 cm 以上)作为对照组。均为女性浸润性导管癌,术前均未接受放、化疗,除 1 例 III B 期患者行乳腺癌根治术外,余均行改良根治术,均有完整的临床和病理资料。年龄 25 ~ 71 岁,病理学分级 I 级 13 例, II 级 26 例, III 级 12 例。临床分期 I 期 8 例, II 期 36 例, III 期 7 例。腋淋巴结转移阳性 29 例,阴性 22 例。ER 阳性 24 例,阴性 27 例。PR 阳性 22 例,阴性 29 例。c-erbB-2 阳性 19 例,阴性 32 例。

1.2 主要试剂 羊抗人 survivin 单克隆抗体和鼠抗人 stat-3 多克隆抗体购自北京中杉金桥生物技术有限公司;免疫组织化学试剂盒购自武汉博士德生物技术有限公司。

1.3 S-P 法染色步骤 采用微波修复抗原,用已知阳性切片作阳性对照,用 PBS 代替一抗进行阴性对照,实验全部操作均按试剂盒说明书进行。

1.4 免疫组织化学结果判定 stat-3 表达主要以细胞质中呈不同染色程度的棕黄色颗粒为阳性,少数位于细胞核(见图 1)。survivin 阳性染色主要位于肿瘤细胞质和细胞核中粗细不一的棕黄色颗粒(见图 2)。每张切片随机观察 10 个高倍视野( $\times 200$ ),每个高倍视野计数 100 个癌细胞,计数阳性细胞百分数。按阳性细胞所占的百分比记分: < 10% 为(-), 10% ~ 25% 为(+), > 25% ~ 50% 为(++), > 50% 为(+++)。

1.5 统计学方法 采用  $\chi^2$  检验、秩和检验和等级相关分析。

## 2 结果

2.1 乳腺癌和癌旁组织 stat-3 与 survivin 表达 在乳腺癌组织与癌旁乳腺组织中, stat-3 与 survivin 蛋白表达阳性率分别为 86.3%、16.0% 和 68.6%、4.0%,两者在乳腺癌组织中的表达均显著高于癌旁乳腺组织( $P < 0.001$ )(见表 1、2)。

2.2 乳腺癌临床病理参数与 stat-3 和 survivin 表达的关系 在有无淋巴结转移病例中, stat-3 阳性表达率分别为 99.6%、72.7%,淋巴结转移组阳性率高于淋巴结阴性组( $P < 0.05$ )。stat-3 的阳性表达率与患者年龄、肿瘤大小、TNM 分期、雌孕激素受体及 c-erbB-2 亦均无统计学意义( $P > 0.05$ )。survivin 阳性表达率与患者年龄、肿瘤大小、TNM 分期、淋巴结转移、雌孕激素受体及 c-erbB-2 均无统计学意义( $P > 0.05$ )(见表 3)。

表 1 乳腺癌与癌旁组织 stat-3 表达比较(n)

组织表达	n	stat-3 表达		$\chi^2$	P
		阴性	阳性		
乳腺癌组织	51	7	44	35.61	<0.001
癌旁组织	25	21	4		
合计	76	28	48		

表 2 乳腺癌与癌旁组织 survivin 表达比较(n)

组织表达	n	survivin 表达		$\chi^2$	P
		阴性	阳性		
乳腺癌组织	51	16	35	28.1	<0.001
癌旁组织	25	24	1		
合计	76	40	36		

表 3 乳腺癌临床病理参数与 stat-3 和 survivin 表达的关系(n)

临床病理参数	n	stat-3 表达				Hc	P	survivin 表达				Hc	P
		-	+	++	+++			-	+	++	+++		
年龄													
<35 岁	8	1	3	2	2			1	2	4	1		
35~50 岁	29	3	14	8	4	0.55	>0.05	9	8	7	5	0.87	>0.05
>50 岁	14	3	5	5	1			6	1	5	2		
组织学分级													
I 级	13	3	2	7	1			4	2	3	4		
II 级	26	2	15	5	4	0.17	>0.05	8	7	9	2	0.80	>0.05
III 级	12	2	5	3	2			4	2	4	2		
TNM 分期													
I 期	8	1	3	2	2			2	1	3	2		
II 期	36	5	17	10	4	0.75	>0.05	12	8	12	4	0.95	>0.05
III 期	7	1	2	3	1			2	2	1	2		
肿瘤大小													
<2 cm	10	4	2	3	1			2	1	5	2		
2~5 cm	33	1	18	11	3	1.52	>0.05	10	9	9	5	2.03	>0.05
>5 cm	8	2	2	1	3			4	1	2	1		
淋巴结转移													
有	29	1	12	12	4	2.16	<0.05	9	7	7	6	0.19	>0.05
无	22	6	10	3	3			7	4	9	2		
雌激素受体													
阳性	24	2	13	6	3	0.18	>0.05	7	8	6	3	0.64	>0.05
阴性	27	5	7	9	4			9	3	10	5		
孕激素受体													
阳性	22	3	10	7	2	0.39	>0.05	9	4	7	2	1.26	>0.05
阴性	29	4	12	8	5			7	7	9	6		
c-erbB-2													
阳性	19	4	8	2	5	0.32	>0.05	6	7	3	3	0.80	>0.05
阴性	32	3	14	13	2			10	4	13	5		

### 2.3 乳腺癌组织 stat-3、survivin 表达的关系 35 例

survivin 表达阳性者中 stat-3 表达阳性 34 例。其中 survivin 与 stat-3 同阴性表达 4 例,两者共表达为 (+) 者 6 例,共表达为 (++) 者 9 例,共表达为 (+++) 者 3 例,表达完全一致的符合率达 43.10% (22/51),呈显著正相关关系 ( $P < 0.05$ ) (见表 4)。

表 4 乳腺癌组织 stat-3 与 survivin 表达的相关性 ( $n$ )

stat-3 表达	survivin 表达				合计	$r_s$	$P$
	-	+	++	+++			
-	4	1	1	1	7	0.326	<0.05
+	8	6	5	3	22		
++	2	3	9	1	15		
+++	2	1	1	3	7		
合计	16	11	16	8	51		

### 3 讨论

**3.1 stat-3 在乳腺癌组织的表达及其意义** Jak/Stat 是肿瘤细胞因子信号传导的重要通路,作为癌基因,在正常生理状态下,其活化时间非常短暂,在许多实体肿瘤和血液肿瘤中 stat-3 被激活<sup>[1,2]</sup>,出现异常的持续性活化,stat-3 激活后扮演的重要角色是抑制凋亡,已经明确 stat-3 蛋白持续高表达可使细胞周期蛋白 D1 (Cyclin D1)、c-myc、血管内皮细胞生长因子 (VEGF)、热应激蛋白 27 (HSP27) 和多种抗凋亡蛋白表达<sup>[3-5]</sup>,包括 Bcl-xL、Mcl-1、Bcl-2 等。这些证据间接提示 stat-3 下游作用对象主要包括细胞增殖和凋亡相关基因,特别是 Bcl-xL 基因不仅具有抗凋亡作用,而且与肿瘤细胞耐药密切相关。因此 stat-3 过度表达可能与乳腺癌预后不良相关。

本研究结果显示,stat-3 在乳腺癌中的表达为 86.3%,在癌旁组织中的表达为 16.0%,差异有统计学意义 ( $P < 0.001$ ),与患者年龄、组织学分级、肿瘤大小、TNM 分期、雌孕激素受体均无明显关系 ( $P > 0.05$ )。程琳等<sup>[6]</sup>应用 Western blot 检测 51 例人乳腺癌组织 stat-3 的表达,也发现乳腺癌组织中 stat-3 平均表达水平高于相应正常乳腺组织,平均为正常乳腺组织的 5.14 倍。表明 stat-3 可能通过激活其下游癌基因,使抑癌基因失活,从而改变了细胞周期进程,促进细胞间的转化,并阻断细胞凋亡,使肿瘤细胞逃避免疫监视抑制凋亡,使肿瘤获得无限增殖能力。

同时显示,在 29 例淋巴结转移病例中有 28 例 stat-3 表达阳性,22 例淋巴结转移阴性组中 16 例 stat-3 表达阳性,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。杨俊波等<sup>[7]</sup>在对食管癌的研究中也发现有相似结果。可能与 stat-3 激活其下游目的基因 Bcl-xL、Cyclin

D1、survivin 相关,并通过诱导 VEGF、血小板源性生长因子 (PDGF) 表达促进肿瘤微血管和微淋巴管生成,增加微淋巴管的通透性,诱发淋巴结转移<sup>[8]</sup>。stat-3 与淋巴结转移的关系也有不同的研究结果,Dien 等<sup>[9]</sup>应用免疫组化对 142 例乳腺癌研究发现,磷酸化 stat-3 与淋巴结转移呈负相关,通过调节磷酸化 stat-3 水平对乳腺癌 MCF-7 细胞对肿瘤细胞侵袭力的影响,发现下调磷酸化 stat-3 与金属蛋白酶组织抑制因子-1 (TIMP-1) 后,肿瘤细胞在基质中的侵袭力增强,并呈剂量依赖性,并因此认为 stat-3 可通过上调 TIMP-1 抑制金属组织蛋白阻止淋巴结和血管转移。因此,stat-3 在乳腺癌淋巴结转移中的确切机制仍需进一步研究。

**3.2 survivin 与乳腺癌的关系** survivin 作为目前发现最强的凋亡抑制因子,被认为是处于细胞增殖与细胞死亡界面的分子,通过内源性及外源性途径最终作用于 caspases 家族抑制细胞凋亡<sup>[10,11]</sup>,其过表达有利于细胞逃离生长监控,从而促进细胞增殖和向恶性转化,因此,survivin 在乳腺癌组织中表达上调,提示它可能参与乳腺癌的发生及发展。

本研究结果显示,survivin 在肿瘤组织中表达阳性率为 68.6%,癌旁组织为 4.0%,接近于 Al-Joudi 等<sup>[12]</sup>研究结果,差异有统计学意义 ( $P < 0.001$ )。其中 1 例癌旁组织 survivin 蛋白阳性,该患者为双原发病灶,考虑可能与取材时癌旁组织或肿瘤多中心起源有关。survivin 在肿瘤组织中表达与患者年龄、组织学类型、肿瘤大小、TNM 分期、淋巴结转移、雌孕激素受体均无明显关系 ( $P > 0.05$ )。相关研究表明<sup>[13,14]</sup>,survivin 阳性表达与患者预后相关,阳性表达患者 5 年生存率低于阴性表达者,且表现为对紫杉醇等耐药。尽管本研究发现 survivin 同目前公认的预后指标 (淋巴结转移、雌孕激素阴性表达、c-erbB-2 阳性表达等) 无正相关 ( $P > 0.05$ ),但肿瘤细胞转移是多基因参与的复杂过程,一般当正常细胞脱离原来组织时即启动凋亡过程,癌细胞由于 survivin 对凋亡的抑制,自原发部位脱落后会继续分裂增殖,形成转移癌。如癌基因同源物 (Akt)、血管生长素-1 (Ang-1)<sup>[15]</sup> 和一些血管生长因子如 VEGF、碱性成纤维生长因子 (bFGF) 也可使 survivin 上调,使内皮细胞免受死亡诱导的刺激,促进肿瘤细胞生长、增殖、肿瘤血管生成及肿瘤转移。survivin 可以增加 SP1 和 c-myc 磷酸化<sup>[16]</sup>,因而提高 SP1 和 c-myc 与人端粒酶逆转录酶 (hTERT) 核心启动子的结合能力,以增加端粒的长度对抗凋亡及放化疗抵抗。c-myc 还可能通过 bFGF 上调 survivin 表达形成放大作用。

3.3 乳腺癌 stat-3/survivin 信号通路的作用 下调 stat-3 和 survivin 表达可以使妊娠小鼠流产<sup>[17]</sup>。Gritsko 等<sup>[18]</sup>用反义核苷酸技术阻断 stat-3 信号通路对培养的乳腺癌细胞系 MDA-MB-435 等,应用微点阵分析发现,stat-3 的表达与 survivin 的表达水平一致降低,但在其他的 IAP 家族包括 X-linked IAP、cellular IAP-1 和 cellular IAP-2 则无明显变化,同时发现对放疗化疗不敏感的高危患者 survivin 水平于 stat-3 升高水平显著相关。本实验研究发现,在 35 例 survivin 表达阳性者中 stat-3 表达阳性 34 例,两者呈显著正相关 ( $P < 0.05$ ),说明 stat-3 参与 survivin 表达的调控,其可能的机制为:(1) stat-3 直接结合在 survivin 启动子区域,上调 survivin 表达。Gritsko 等<sup>[18]</sup>发现 survivin 启动子区域含有多个 stat-3 潜在结合位点,stat-3 能特异性结合在 survivin 启动子上游 -1 174 ~ -1 166 和 -1 095 ~ -1 087 位点,并上调 survivin 表达。(2) 结肠癌中 up-stat-3 和 p-stat-3 表达与 c-myc、Cyclin D1 和 survivin 密切相关<sup>[9]</sup>。因此,在乳腺癌中 stat-3 可能通过上调 c-myc 与 Cyclin D1 等表达间接地促进 survivin 表达,两者共同调节包括 survivin 与其他相关抗凋亡基因的表达,调控细胞的生长、分化,从而抑制肿瘤细胞凋亡。

由于 stat-3 和 survivin 在乳腺癌中表达的特异性,stat-3 激活水平与 survivin 表达与乳腺癌临床分期无关,提示阻断 stat-3/survivin 可以作为临床不同分期的乳腺癌治疗靶点,可以通过抑制信号因子的激活阻断信号通路的某些环节,从而减少 survivin 的表达,或者与直接针对 survivin 及其下游的治疗措施联合治疗,可能会成为乳腺癌的新靶点<sup>[19,20]</sup>。

#### [参 考 文 献]

- [1] Yu H, Jove R. The STATs of cancer—new molecular targets come of age[J]. *Nat Rev Cancer*, 2004, 2(4): 97–105.
- [2] Clevenger CV. Roles and regulation of stat family transcription factors in human breast cancer[J]. *Pathol*, 2004, 165(5): 1449–1460.
- [3] Rocchi P, Beraldi E, Ettinger S, et al. Increased Hsp27 after androgen ablation facilitates androgen-independent progression in prostate cancer via signal transducers and activators of transcription3-mediated suppression of apoptosis[J]. *Cancer Res*, 2005, 65(23): 11083–11093.
- [4] Zhang X, Zhang J, Wei H, et al. STAT3-decoy oligodeoxynucleotide inhibits the growth of human lung cancer via down-regulating its target genes[J]. *Oncol Rep*, 2007, 17(6): 1377–1382.
- [5] Kanda N, Seno H, Konda Y, et al. STAT3 is constitutively activated and supports cell survival in association with survivin expression in gastric cancer cells[J]. *Oncogene*, 2004, 23(28): 4921–4929.
- [6] 程琳, 王杉, 叶颖江, 等. 癌基因 Stat-3 在人乳腺癌发生发展中的作用[J]. *中华普通外科杂志*, 2004, 19(4): 230–232.
- [7] 杨俊波, 毛志福, 蔡享道, 等. Stat-3 在食管鳞状细胞癌中的表达和意义[J]. *消化外科*, 2006, 5(3): 220–222.
- [8] Lassmann S, Schuster I, Walch A, et al. Stat-3 mRNA and protein expression in colorectal cancer; effects on STAT3-inducible targets linked to cell survival and proliferation[J]. *Clin Pathol*, 2007, 60(2): 173–179.
- [9] Dien J, Amin HM, Chiu N, et al. Signal transducers and activators of transcription-3 up-regulates tissue inhibitor of metalloproteinase-1 expression and decreases invasiveness of breast cancer[J]. *Pathol*, 2007, 169(2): 633–642.
- [10] Altieri DC. Validating survivin as a cancer therapeutic target[J]. *Nat Rev Cancer*, 2003, 3(1): 46–54.
- [11] Chandele A, Prasad V, Jagtap JC, et al. Upregulation of survivin in G2/M cells and inhibition of caspase 9 activity enhances resistance in staurosporine-induced apoptosis [J]. *Neoplasia*, 2004, 6(1): 29–40.
- [12] Al-Joudi FS, Iskandar ZA, Hasnan J, et al. Expression of survivin and its clinicopathological correlations in invasive ductal carcinoma of the breast[J]. *Singapore Med*, 2007, 48(7): 607–614.
- [13] Kennedy SM, O'Driscoll L, Purcell R, et al. Prognostic importance of survivin in breast cancer[J]. *Cancer*, 2003, 88(7): 1077–1083.
- [14] Kami K, Doi R, Koizumi M, et al. Downregulation of survivin by siRNA diminishes radioresistance of pancreatic cancer cells[J]. *Surgery*, 2005, 138(2): 299–305.
- [15] Ohashi H, Takagi H, Oh H, et al. Phosphatidylinositol 3-Kinase/Akt regulates angiotensin II-induced inhibition of apoptosis in microvascular endothelial cells by governing survivin expression and suppression of caspase-3 activity [J]. *Circ Res*, 2004, 94(6): 785–793.
- [16] Endoh T, Tsuji N, Asanuma K, et al. survivin enhances telomerase activity via up-regulation of specificity protein 1 and c-myc-mediated human telomerase reverse transcriptase gene transcription[J]. *Exp Cell Res*, 2005, 305(2): 300–311.
- [17] Garcia MG, Tirado-Gonzalez I, Handjiski B, et al. High expression of survivin and down-regulation of Stat-3 characterize the fetomaternal interface in failing murine pregnancies during the implantation period [J]. *Placenta*, 2007, 28(7): 650–657.
- [18] Gritsko T, Williams A, Turkson J, et al. Persistent activation of stat3 signaling induces survivin gene expression and confers resistance to apoptosis in human breast cancer cells [J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12(1): 11–19.
- [19] Duan Z, Bradnar J, Greenburg E, et al. 8-benzyl-4-oxo-8-azabicyclo-oct-2-ene-6,7-dicarboxylic acid (SD-1008), a novel janus kinase 2 inhibitor, increases chemotherapy sensitivity in human ovarian cancer cells [J]. *Mol Pharmacol*, 2007, 72(5): 1137–1145.
- [20] Nam S, Buettner R, Turkson J, et al. Iridin derivatives inhibit Stat3 signaling and induce apoptosis in human cancer cells [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2005, 102(17): 5998–6003.