

Survivin 蛋白和 Fas 蛋白在原发性翼状胬肉中的表达及其相关性研究

金玲¹, 许向前², 杨清秀¹, 张宏¹, 曹端荣¹, 李柏军¹

作者单位:¹(518101) 中国广东省深圳市宝安区人民医院眼科
深圳市第八人民医院;²(518116) 中国广东省深圳市龙岗中心
医院皮肤科 深圳市第九人民医院

作者简介:金玲, 毕业于暨南大学, 博士, 副主任医师, 研究方向: 眼表疾病与角膜移植。

通讯作者:金玲. 13728950376@126.com

收稿日期:2012-03-30 修回日期:2012-07-16

Research of expression and correlation of Survivin and Fas in primary pterygium

Ling Jin¹, Xiang-Qian Xu², Qing-Xiu Yang¹, Hong Zhang¹, Duan-Rong Cao¹, Bai-Jun Li¹

¹Department of Ophthalmology, People's Hospital of Bao'an District, Shenzhen 518101, Guangdong Province, China; ²Department of Dermatology, Central Hospital of Longgang District, Shenzhen 518116, Guangdong Province, China

Correspondence to: Ling Jin. Department of Ophthalmology, People's Hospital of Bao'an District, Shenzhen 518101, Guangdong Province, China. 13728950376@126.com

Received:2012-03-30 Accepted:2012-07-16

Abstract

• **AIM:** To investigate the expression and relationship of Survivin and Fas in primary pterygium.

• **METHODS:** SP immunohistochemistry was used to detect the expression of Survivin protein and Fas protein in primary pterygium of 40 cases and normal conjunctiva of 20 cases. All data were analyzed by SPSS 11.5.

• **RESULTS:** The positive expression of Survivin in pterygium (37.5%) was higher than that in normal conjunctiva tissues (10.0%, $P < 0.05$). The positive expression of Fas in primary pterygium was significantly higher (75.0%) than that in normal conjunctiva tissues (15.0%, $P < 0.05$). There was a positive correlation between the expression rate of Survivin and Fas in primary pterygium ($P < 0.01$) and there was consistency between the expression strength of Survivin and Fas in primary pterygium ($P > 0.05$).

• **CONCLUSION:** It indicated that Survivin may play an important role in the pathway of development of primary pterygium. There was a close correlation between the expression of Survivin and Fas in primary pterygium. It also indicated that Survivin and Fas may commonly participate in the occurrence and development of primary pterygium.

• **KEYWORDS:** Fas; Survivin; pterygium; immunohisto-

chemistry

Citation: Jin L, Xu XQ, Yang QX, et al. Research of expression and correlation of Survivin and Fas in primary pterygium. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2012;12(8):1543-1545

摘要

目的: 探讨凋亡相关因子 Survivin 蛋白和 Fas 蛋白在原发性翼状胬肉组织的表达情况及其相互关系。

方法: 应用 SP 免疫组化法检测 40 例原发性翼状胬肉组织及 20 例正常结膜组织中 Survivin, Fas 蛋白的表达情况。所有数据应用 SPSS 11.5 统计软件进行分析。

结果: Survivin 在原发性翼状胬肉组织中的表达阳性率 (37.5%) 高于正常结膜组织表达阳性率 (10.0%), 两者之间有显著差异性 ($P < 0.05$)。Fas 在原发性翼状胬肉组织中的表达阳性率 (75.0%) 高于正常结膜组织表达阳性率 (15.0%), 两者之间有显著差异性 ($P < 0.05$); 且 Survivin 和 Fas 两者的阳性表达率呈明显的正相关 ($P < 0.01$), 表达强度具有一致性 ($P > 0.05$)。

结论: Survivin 可能与原发性翼状胬肉的发生密切相关; Survivin 与 Fas 在原发性翼状胬肉组织中的表达关系密切, 提示两者可能共同参与翼状胬肉的发生和发展。

关键词: Fas 蛋白; Survivin 蛋白; 翼状胬肉; 免疫组织化学
DOI:10.3969/j.issn.1672-5123.2012.08.35

引用: 金玲, 许向前, 杨清秀, 等. Survivin 蛋白和 Fas 蛋白在原发性翼状胬肉中的表达及其相关性研究. *国际眼科杂志* 2012; 12(8):1543-1545

0 引言

近年来研究表明,翼状胬肉的发生及复发是一个极其复杂的多基因调控异常的过程, 不仅与细胞异常增殖有关, 而且与细胞凋亡也有密切关系^[1]。Survivin 是凋亡蛋白抑制家族 (inhibitor of apoptosis proteins, IAPs) 中的新成员, 是作用最强的凋亡抑制因子^[2]。Fas 介导细胞凋亡信号传导而被称为细胞凋亡基因或死亡受体基因^[3]。在本研究中, 我们应用 SP 免疫组化法检测两者在原发性翼状胬肉组织的表达情况, 探讨他们在原发性翼状胬肉发生和发展中的关系。

1 对象和方法

1.1 对象 试验组 40 例标本均来自于在我院眼科行手术治疗的患者, 根据临床表现及组织病理诊断确诊为原发性翼状胬肉。其中男 12 例 17 眼, 女 18 例 23 眼。13 例患者年龄 < 60 岁, 17 例患者年龄 ≥ 60 岁, 平均年龄 60.5 岁。病程 0.5 ~ 15 (平均 5.5) a。对照组 20 例结膜标本, 取自斜视患者的正常结膜组织, 经组织病理学检查证实

为正常结膜组织。试剂: Fas 鼠单抗 ZM-0295; Survivin 兔单抗 ZA-0530; PV-6000 通用型二步法免疫组化检测试剂盒; DAB 试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司)。

1.2 方法 采用免疫组化 SP 法, 枸橼酸盐缓冲液缓冲液微波热修复, 抗体工作浓度 Fas 1:50, Survivin 1:100, DAB 显色, 苏木精衬染。已知阳性片做阳性对照, PBS 代替一抗作阴性对照。

统计学分析: 应用 SPSS 11.5 统计软件进行分析, 阳性率之间的比较用卡方检验; 两组等级资料采用 Man-whitney Test 两独立样本秩和检验; Fas, Survivin 表达强度的比较采用非参数 Spearman 等级相关检验分析。以 $\alpha = 0.05$ 为检验水准。

2 结果

2.1 结果判定标准 切片上随机取视野, 按照半定量积分方法, 根据免疫组化染色反应的深度及阳性细胞的数量对镜下病理切片进行综合分析后分别记分, 其中不着色为 0 分, 浅黄色为 1 分, 棕黄色为 2 分, 棕褐色为 3 分。阳性细胞数 <5% 为 0 分, 6% ~ 25% 为 1 分, 26% ~ 50% 为 2 分, 51% ~ 75% 为 3 分, >75% 为 4 分, 并根据这两项指标的积分分为 4 级, 即阴性(-) 为 0 ~ 1 分, 弱阳性(+) 为 2 ~ 4 分, 阳性(++) 为 5 ~ 8 分, 强阳性(+++) 为 9 ~ 12 分。

2.2 Survivin 在原发性翼状胬肉组织中的表达结果 Survivin 蛋白在原发性翼状胬肉组织中主要表达于上皮细胞的胞浆和胞核, 以胞浆表达为主, 基质层几乎不表达, 着色呈现淡黄色至深棕黄色, 为灶状或弥漫性分布(图 1)。40 例原发性翼状胬肉标本中 15 例表达阳性, 占 37.5%。而 20 例正常的结膜组织中有 2 例表达, 占 10.0% (图 2), 两者之间有显著差异性($\chi^2 = 4.966, P = 0.026$), 两者阳性表达强度比较差异有统计学意义($Z = -2.210, P = 0.027$), 说明翼状胬肉组织中 Survivin 蛋白的阳性表达强度高于正常结膜组织组(表 1)。

2.3 Fas 蛋白在原发性翼状胬肉组织中的表达 Fas 蛋白在原发性翼状胬肉组织中主要表达于上皮细胞的胞浆, 基质层几乎不表达, 着色呈现淡黄色至深棕黄色, 为灶状或弥漫性分布(图 3)。40 例原发性翼状胬肉标本中 30 例表达阳性, 占 75.0%; 而 20 例正常的结膜组织中有 3 例弱表达(图 4), 占 15.0%。原发性翼状胬肉组织中 Fas 蛋白的阳性率明显高于正常结膜组织, 两者之间有显著差异性($\chi^2 = 19.394, P = 0.000$)。两者阳性表达强度比较差异有统计学意义($Z = -4.367, P = 0.000$, 表 2)。

2.4 Survivin 与 Fas 表达的相关性 经 Spearman 等级相关分析显示 Survivin 蛋白与 Fas 蛋白在原发性翼状胬肉组织中表达呈正相关, 表达一致性尚可($r_s = 0.487, P = 0.001$, 表 3)。

2.5 Survivin 蛋白和 Fas 蛋白在原发性翼状胬肉组织中的表达与年龄及性别的关系 Survivin 蛋白在年龄 <60 岁和 ≥ 60 岁的患者原发性胬肉组织中阳性表达率分别为 39.90% 和 34.85%, 两者间的差异无统计学意义($P > 0.05$)。Fas 蛋白在年龄 <60 岁和 ≥ 60 岁的患者原发性胬肉组织中阳性表达率分别为 77.68% 和 73.90%, 两者间的差异无统计学意义($P > 0.05$)。Fas 蛋白在男性和女性患者原发性胬肉组织中阳性表达率分别 74.12% 和 75.78%, 两者间的差异无统计学意义($P > 0.05$)。Survivin

表 1 Survivin 蛋白在翼状胬肉组织与正常结膜组织中的表达情况

Survivin 表达	翼状胬肉组织	正常结膜组织
阴性(-)	25	18
弱阳性(+)	8	2
阳性(++)	7	0
强阳性(+++)	0	0
合计	40	20

表 2 Fas 蛋白在翼状胬肉组织与正常结膜组织中的表达情况

Fas 表达	翼状胬肉组织	正常结膜组织
阴性(-)	10	17
弱阳性(+)	5	3
阳性(++)	8	0
强阳性(+++)	17	0
合计	40	20

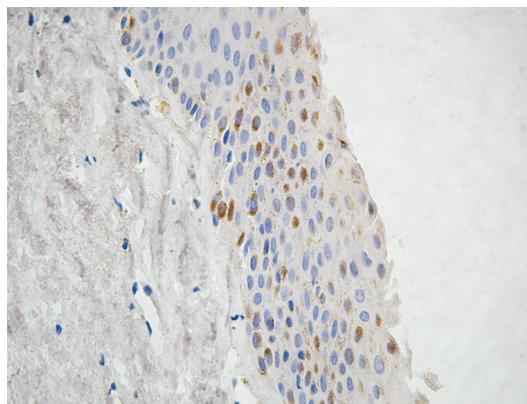


图 1 Survivin 在原发性翼状胬肉中的表达 200R。

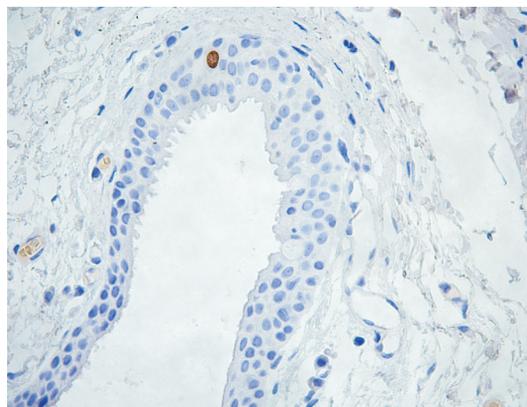


图 2 Survivin 在结膜组织中的表达 200R。

蛋白在在男性和女性患者原发性胬肉组织中阳性表达率分别为 38.15% 和 35.70%, 两者间的差异无统计学意义($P > 0.05$)。

3 讨论

翼状胬肉是眼科的常见病和多发病, 其治疗多为手术切除, 但术后复发率较高, 翼状胬肉的生长和复发是一个极其复杂的多因素调控异常的过程, 不仅与局部角膜缘干细胞缺乏有关, 而且与细胞异常增殖或凋亡也有密切关系。目前认为, 翼状胬肉组织中细胞自身凋亡机制

表3 Survivin 与 Fas 在翼状胬肉组织中的相关性分析

Survivin 表达	Fas 表达				合计	r_s	P
	-	+	++	+++			
-	3	3	5	14	25	0.487	0.001
+	3	2	1	2	8		
++	4	0	2	1	7		
+++	0	0	0	0	0		
合计	10	5	8	17			

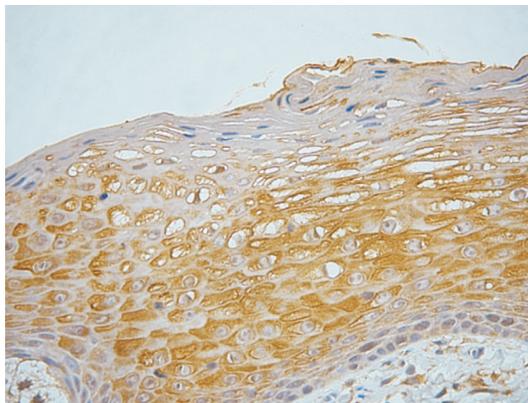


图3 Fas 在原发性翼状胬肉中的表达 200R。

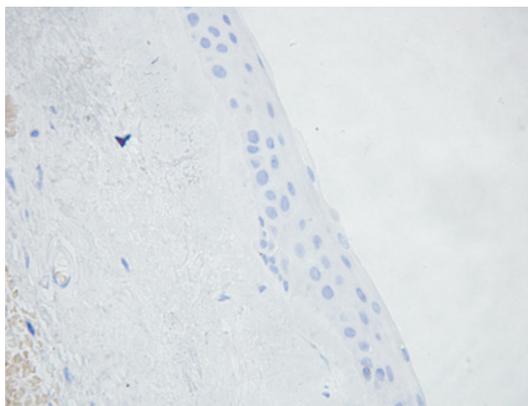


图4 Fas 在正常结膜组织中的表达 200R。

发生紊乱是翼状胬肉增殖生长并复发的重要原因之一,而非完全是局部角膜缘干细胞缺乏所致^[1]。因而,研究翼状胬肉与细胞凋亡的关系,以及从诱导细胞凋亡机制出发研究翼状胬肉细胞凋亡的调节机制,对于弄清翼状胬肉的发生和复发机制及寻求新的防治方法具有重要的临床意义。

凋亡抑制蛋白(inhibitor of apoptosis protein, IAP)是一类内源性细胞凋亡抑制因子,是细胞凋亡过程中有力的调解者,其过度表达可引起细胞凋亡不足,其与肿瘤发生密切相关。Survivin 是新发现的 IAP 成员,能通过抑制 Caspase-3 和 Caspase-7 来抑制细胞凋亡和影响细胞增殖,Survivin 几乎在所有的人类肿瘤组织中都有不同水平的表达^[2]。在本次实验中,在原发性翼状胬肉组织中 Survivin 蛋白的阳性表达率明显高于正常结膜组织,两者之间有显著差异性,与国内外研究结果^[4-6]相似,进一步证实 Survivin 与翼状胬肉组织的发生发展密切相关,其可能抑制了异常突变细胞的凋亡,从而扰乱了细胞生长和凋亡途径,促使细胞逃离生长监控而过度增殖,其在翼状胬

肉发病中起一定的促进作用。

Fas 是一种广泛表达于细胞膜表面的膜蛋白,属于肿瘤坏死因子受体超家族成员,它与 FasL 结合可以启动凋亡信号的转导引起细胞凋亡。其可以在胸腺细胞、活化的 TB 淋巴细胞、NK 细胞和单核细胞等免疫细胞表面广泛表达^[7]。Fas 分子膜外部分接受 FasL 或 Fas 单抗的刺激后,将刺激信号传递到膜内,形成死亡诱导信号复合体(death inducing signal complex, DISC),通过激活 Caspases 家族的一系列凋亡蛋白酶,诱导 Fas 蛋白所在的细胞发生凋亡^[8]。到目前为止,Fas 在翼状胬肉中的表达情况国内外未见相关报道,在本次实验中,Fas 在翼状胬肉组织中阳性率为 75.0%。明显高于正常的结膜组织的 15.0%。二者在阳性表达率及表达强度上差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。总之,Fas 在翼状胬肉中的广泛表达,提示其参与翼状胬肉的发展过程,其作用可能通过抑制大量异常突变细胞的增生和增殖,促进过度增生的上皮细胞凋亡,从而抑制翼状胬肉组织无限制生长。

我们的研究还发现,Survivin 蛋白和 Fas 蛋白在不同年龄和不同性别原发性翼状胬肉患者中的表达无显著差异,提示 Survivin 蛋白和 Fas 蛋白的表达可能与年龄及性别无关。Survivin 和 Fas 在结构和功能上既有较多的相同之处,也存在较多区别,目前关于 Survivin 和 Fas 相互对比的研究不多,我们本次的研究显示,在原发性翼状胬肉中 Fas 和 Survivin 的阳性表达呈正相关,且 Fas 蛋白的阳性率较高,两者阳性表达一致性较好。推测 Survivin 和 Fas 共同参与翼状胬肉组织的发生和发展,但其相互调节机制有待进一步研究。

参考文献

- 1 黄伟奇,杨锦荣,姚运红,等.翼状胬肉组织中 Bcl-2 和 IcaM-1 的表达.国际眼科杂志 2005;5(1):86-88
- 2 Ling X, Yang J, Tan D, et al. Differential expression of survivin-2B and survivin-DeltaEx3 is inversely associated with disease relapse and patient survival in non-small-cell lung cancer (NSCLC). *Lung Cancer* 2005;49(3):353-361
- 3 冯新,孙志熙.Fas、Caspase-3 与细胞凋亡.中国水电医学 2003;10(3):185-190
- 4 Maxia C, Perra MT, Demurtas P, et al. Expression of survivin protein in pterygium and relationship with oxidative DNA damage. *J Cell Mol Med* 2008;12(6A):2372-2380
- 5 Cristina M, Maria TP, Paolo D, et al. Relationship between the expression of cyclooxygenase-2 and survivin in primary pterygium. *Molecular Vision* 2009;15(2):458-463
- 6 郑波涛,李超,梁小庆,等.Survivin 蛋白在翼状胬肉组织中的表达及其意义.苏州大学学报(医学版) 2011;31(2):313-316
- 7 Kang YH, Lee KA, Ryu CJ, et al. Mitomycin C induces apoptosis via Fas/FasL dependent pathway and suppression of IL-18 in cervical carcinoma cells. *Cancer Lett* 2006;237(1):33
- 8 Mullauer L, Gruber P, Seibinger D, et al. Mutations in apoptosis genes: a pathogenetic factor for human disease. *Mutat Res* 2001;488(3):211-231