

· 论著 ·

免疫组化法评估宫颈癌及宫颈上皮内瘤变组织中Survivin和mmp-9表达的临床意义

熊云刚* 赵露 姜森

贵州航天医院病理科 (贵州 遵义 563000)

【摘要】目的 探索免疫组化法评估宫颈癌及宫颈上皮内瘤变组织中Survivin和mmp-9表达的临床意义。**方法** 回顾性分析的49例CIN患者(对照组)、31例宫颈癌患者(观察组)均在2016年3月至2021年3月期间收集,均采用免疫组化法评估mmp-9、Survivin阳性率和染色积分,比较各组mmp-9、Survivin阳性率及染色积分,经相关性分析不同病变类型与Survivin、mmp-9染色积分相关性以及两项指标之间相关性。**结果** 观察组Survivin阳性率64.52%、mmp-9阳性率77.42%、mmp-9染色积分(5.62±0.37)、Survivin染色积分(4.57±0.42)高于对照组患者($P<0.05$)。CIN分级中,CINIII级mmp-9阳性率55.56%、Survivin阳性率44.44%、mmp-9染色积分(3.31±0.18)、Survivin染色积分(3.28±0.33)高于CIN I级($P<0.05$)。不同临床分期、病理分级、淋巴结转移情况宫颈癌患者比较,Survivin、mmp-9阳性率存在差异性($P<0.05$)。同时经Pearson法分析,Survivin染色积分与mmp-9染色积分呈正相关性,经Spearman法分析,不同病变类型与Survivin、mmp-9染色积分呈正相关性($P<0.05$)。**结论** 宫颈癌和宫颈上皮内瘤变组织均存在Survivin、mmp-9蛋白表达升高,宫颈癌蛋白表达情况与病理分级、临床分期、淋巴结转移情况相关。

【关键词】 免疫组化法; 宫颈癌; 宫颈上皮内瘤变; Survivin; mmp-9

【中图分类号】 R711.74

【文献标识码】 A

DOI:10.3969/j.issn.1009-3257.2022.07.026

Immunohistochemistry Was Used to Evaluate the Clinical Significance of Survivin and MMP-9 Expression in Cervical Cancer and Cervical Intraepithelial Neoplasia

XIONG Yun-gang*, ZHAO Lu, JIANG Sen.

Department of Pathology, Guizhou Aerospace Hospital, Zunyi 563000, Guizhou Province, China

Abstract: Objective To investigate the clinical significance of Survivin and MMP-9 expression in cervical cancer and cervical intraepithelial neoplasia by immunohistochemical method. **Methods** In retrospective analysis, 49 CIN patients (control group) and 31 cervical cancer patients (observation group) were collected from March 2016 to March 2021, and MMP-9 and Survivin positive rates and staining scores were evaluated by immunohistochemistry, and MMP-9 and Survivin positive rates and staining scores were compared among each group. The correlation between Survivin and MMP-9 staining scores and the two indexes were analyzed. **Results** The Survivin positive rate (64.52%), MMP-9 positive rate (77.42%), MMP-9 staining score (5.62±0.37) and Survivin staining score (4.57±0.42) in the observation group were higher than those in the control group ($P<0.05$). In CIN III grade, MMP-9 positive rate (55.56%), Survivin positive rate (44.44%), MMP-9 staining score (3.31±0.18), Survivin staining score (3.28±0.33) were higher than CIN I grade ($P<0.05$). The positive rates of Survivin and MMP-9 were different among cervical cancer patients with different clinical stages, pathological grades and lymph node metastasis ($P<0.05$). The Survivin staining score was positively correlated with MMP-9 staining score by Pearson's method, and the Survivin staining score was positively correlated with MMP-9 staining score by Spearman's method ($P<0.05$). **Conclusion** The expression of Survivin and MMP-9 protein is increased in cervical cancer and cervical intraepithelial neoplasia. The expression of cervical cancer protein is related to pathological grade, clinical stage and lymph node metastasis.

Keywords: Immunohistochemistry; Cervical Cancer; Cervical Intraepithelial Neoplasia; Survivin; Mmp-9

宫颈癌是妇科常见恶性肿瘤,位居妇科肿瘤第二位,发病率仅次于乳腺癌,随着现代女性工作压力增加和生活方式改变,发病率逐年上升,且逐渐年轻化^[1-2]。宫颈上皮内瘤变(CIN)是癌前病变,分为三级,I级属于可逆性,II级和III级为不可逆,存在癌变可能,故需尽早分辨两类疾病,及时给予相应诊治,以便对该病变的进一步恶化进行有效控制^[3]。Survivin蛋白是与凋亡控制有关的蛋白,通常在胚胎中表达,主要通过信号传导调节细胞周期或抑制细胞凋亡,通常在恶性肿瘤中具有较高表达,例如在卵巢癌组织^[4]、结直肠癌^[5]中均具有高表达,但在宫颈病变中表达情况还有待进一步探索;mmp-9是蛋白水解酶家族的一员,在多种肿瘤细胞侵袭、转移、增殖中起到重要调控作用^[6],但目前关于其与宫颈癌、宫颈上皮内瘤组织关系研究报道较少,基于此,本文深

入探索了Survivin、mmp-9在CIN、宫颈癌中表达性以及相关性。报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性分析在2016年3月至2021年3月收集的31例宫颈癌患者(观察组)、49例CIN患者(对照组)临床资料,观察组年龄31~58岁,平均年龄(44.46±6.45)岁,体重51~69kg,平均体重(58.71±4.32)kg;对照组年龄30~59岁,平均年龄(44.51±6.33)岁,体重50~70kg,平均体重(58.63±4.41)kg。两组比较年龄、体重等一般资料无统计学差异性($P>0.05$)。而对照组CIN患者中,I级11例,II级20例,III级18例;观察组:临床分期:I期10例,II期10例,III期11例;病理分级:I级9例,II级13例,III级9例;间质

【第一作者】 熊云刚,男,主治医师,主要研究方向:肿瘤病理。E-mail: xiong18212@163.com

【通讯作者】 熊云刚

浸润：深肌层19例，浅肌层12例；组织分型：腺癌5例，鳞癌26例。纳入标准：术前未接受化疗、放疗；临床资料齐全；近6个月内无非甾体消炎药应用史。

1.2 研究方法 免疫组化法：标本经固定、脱水、浸蜡、包埋，切成3-4μm的切片，经二甲苯脱蜡，梯度酒精水化，采用链霉菌抗生素蛋白-过氧化物酶连接法(S-P法)，3%过氧化氢灭活内源性过氧化物酶，高温高压抗原修复，一抗4℃孵育过夜，滴加生物素标记的二抗37℃孵育30min，磷酸缓冲盐溶液(PBS)冲洗，二氨基联苯胺法(DAB)显色，苏木素复染，酒精脱水，二甲苯透明，中性树胶封片。

1.3 染色结果判断 由两位经验丰富的病理医师进行双盲阅片，Survivin阳性表达为细胞质和细胞核呈棕黄色颗粒；mmp-9阳性表达为细胞质呈现棕黄色颗粒，采用半定量结果判断，分别对镜下的阳性细胞百分比和染色强度给予评分。

(1)阳性着色细胞数：每个切片观察5个高倍视野(×200)，计数阳性细胞百分比，阳性细胞数<5%，为0分；5%~25%，为1分；26%~50%，为2分；51%~75%，为3分；>75%，为4分。(2)阳性细胞着色强度：无色为0分，淡黄色为1分，棕黄色为2分，棕褐色为3分。(3)两者计分相乘即为染色积分，用染色积分反映蛋白的相对表达量。0分为阴性，1~4分为弱阳性，5~8分为阳性，9~12分为强阳性。

1.4 统计学方法 采用SPSS 20.0统计学软件处理，相关性采用

Pearson或Spearman法分析，计数资料比较采用 χ^2 检验，用(%)表示，计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示，多组间比较采用单因素方差分析，事后两两比较采用LSD-t检验，检验水准0.05。

2 结果

2.1 比较两组阳性率 观察组Survivin、mmp-9阳性率高于对照组($P<0.05$)，CIN分级中，III级mmp-9、Survivin阳性率高于CIN I级($P<0.05$)，见表1。

表1 对比不同分组Survivin和mmp-9阳性率

组别	n	Survivin阳性率(%)	mmp-9阳性率(%)
对照组	49	13(26.53)	18(36.73)
I级	11	1(9.09)	2(18.18)
II级	20	4(20.00)	6(30.00)
III级	18	8(44.44)*	10(55.56)*
观察组	31	20(64.52)*#	24(77.42)*#

注：*表示与CIN I级相比，差异具有统计学意义($P<0.05$)；#表示与对照组相比，差异具有统计学意义($P<0.05$)。

2.2 比较不同病理特征宫颈癌组织中阳性表达情况 不同临床分期、病理分级、淋巴结转移情况宫颈癌患者比较Survivin、mmp-9阳性率存在差异($P<0.05$)，不同间质浸润、组织分型的阳性率差异无统计学意义。($P>0.05$)，见表2。

表2 不同病理特征宫颈癌组织中mmp-9、Survivin阳性表达比较

临床病理学特征	n(31)	Survivin		χ^2 值	P值	mmp-9		χ^2 值	P值
		阳性表达(n=20)	阴性表达(n=11)			阳性表达(n=24)	阴性表达(n=7)		
临床分期 I期	10	4(40.00)	6(60.00)	6.062	0.048	5(50.00)	5(50.00)	6.351	0.042
II期	10	6(60.00)	4(40.00)			9(90.00)	1(10.00)		
III期	11	10(90.91)	1(9.09)			10(90.91)	1(9.09)		
病理分级 I级	9	2(22.22)	7(77.78)	10.242	0.006	4(44.44)	5(55.56)	7.923	0.019
II级	13	10(76.92)	3(23.08)			12(92.31)	1(7.69)		
III级	9	8(88.89)	1(11.11)			8(88.89)	1(11.11)		
间质浸润 深肌层	19	12(63.16)	7(36.84)	0.040	0.842	14(73.68)	5(26.32)	0.392	0.531
浅肌层	12	8(66.67)	4(33.33)			10(83.33)	2(16.67)		
淋巴结转移 是	18	15(83.33)	3(16.67)	6.639	0.010	17(94.44)	1(5.56)	7.117	0.008
否	13	5(38.46)	8(61.54)			7(53.85)	6(46.15)		
组织分型 腺癌	5	3(60.00)	2(40.00)	0.053	0.818	4(80.00)	1(20.00)	0.023	0.880
鳞癌	26	17(65.38)	9(34.62)			20(76.92)	6(23.08)		

2.3 分析不同类型mmp-9、Survivin染色积分 宫颈癌mmp-9、Survivin染色积分高于对照组($P<0.05$)，CIN III级mmp-9、Survivin染色积分高于CIN I级($P<0.05$)，见表3。

2.4 相关性分析 经Spearman法分析，不同病变类型与Survivin、mmp-9染色积分呈正相关性；经Pearson法分析，Survivin染色积分与mmp-9染色积分呈正相关性，见表4。

表3 不同病变类型的mmp-9、Survivin染色积分对比

组别	n	Survivin染色积分	mmp-9染色积分
对照组	49	1.62±0.37	2.32±0.42
I级	11	0.86±0.11	0.93±0.15
II级	20	1.29±0.24	1.63±0.28
III级	18	3.28±0.33*	3.31±0.18*
观察组	31	4.57±0.42*#	5.62±0.37*#
F值		219.740	292.389
P值		<0.001	<0.001

注：*表示与CIN I级相比，差异具有统计学意义($P<0.05$)；#表示与对照组相比，差异具有统计学意义($P<0.05$)。

表4 分析不同病变类型和各项指标染色积分相关性

		不同病变类型	Survivin染色积分	mmp-9染色积分
不同病变类型	r		0.785	0.811
	P		0.000	0.000
Survivin染色积分	r	0.785		0.834
	P	0.000		0.000
mmp-9染色积分	r	0.811	0.834	
	P	0.000	0.000	

3 讨论

经流行病学调查^[7]，每年约有45万女性患有宫颈病变，其中宫颈癌、CIN均是女性好发类型。在对宫颈疾病的探索过程中，有学者发现，乳头瘤病毒为宫颈病变常见的诱因之一，当乳头瘤病毒与宿主DNA结合后，可对基因转录过程进行调节，诱导宿主细胞恶性增殖，从而诱发宫颈病变^[8]。CIN与宫颈癌病因、临床症状均有相似之处，极易造成混淆，但其治疗方式及预后却有差异，为了辨别两类病变，还需合理选择一项筛查方式，从而为疾病诊疗提供科学依据^[9]。

有研究表明^[10]，Survivin蛋白为小分子量的凋亡抑制蛋白，可对细胞的凋亡进行抑制，还可对有丝分裂的过程进行调节，促使细胞增殖，与肿瘤的发生、发展及预后情况具有密切关联。本研究中，宫颈癌中Survivin蛋白分子的阳性率和染色积分相较于对照组有增高趋势，且有统计学差异，说明了Survivin蛋白的表达与宫颈病变进展呈逐渐增强趋势，也提示了通过对宫颈癌细胞的凋亡进行抑制，可促进细胞增殖^[11-12]。周庆红^[13]学者在研究中显示，Survivin蛋白的表达在正常宫颈间及CIN I级对比无显著差异，故单方面筛查Survivin蛋白仍可造成误差，对此需高度重视CIN与正常宫颈的差别，对其进行积极治疗并随访。MMPs为锌离子依赖肽链内切酶，可降解细胞外基质中的成分，从而作用肿瘤侵袭转移的过程^[14]。mmp-9为MMPs中分子量最大的酶，但该酶需在活化的作用下才可发挥作用。本研究表明，观察组MMP-9的阳性率及染色积分高于对照组，说明mmp-9与机体恶性肿瘤转移的潜能及预后情况具有密切关联。同时CIN III级mmp-9的表达量高于CIN I级，说明mmp-9参与了宫颈病变形成早期过程，且在非致死性、致死性子宫颈癌细胞中亦有高表达性，也进一步说明了MMP-9蛋白水解酶在宫颈癌、宫颈病变形成中有着重要的意义。

同时，本研究显示，不同临床分期、病理分级、淋巴结转移情况宫颈癌患者比较Survivin、mmp-9阳性率存在差异性($P < 0.05$)，不同间质浸润、组织分型的阳性率差异无统计学意义($P > 0.05$)，表明Survivin的表达水平与宫颈癌的淋巴结转移及临床分期、病理分级情况具有密切关联，其肿瘤临床分期越高，则Survivin的表达阳性率也有提高，且淋巴结转移组阳性的表达率比无淋巴结转移组更高，也说明了

Survivin的表达与宫颈癌的发展具有密切关系，也可在一定程度上反映宫颈癌的恶性程度。经Spearman法分析，不同病变类型与Survivin、mmp-9相对表达量呈正相关性，提示了MMP-9可作为宫颈癌转移的重要指标，可对宫颈癌的预后情况进行预测^[15]。此外。经Pearson法分析，Survivin相对表达量与mmp-9相对表达量呈正相关性，推测可能是，一方面，过度表达的Survivin，可促进PGE2合成，刺激MMP-9分泌；另一方面，Survivin的过度表达还可诱导mmp-9表达上调，增强对BM、ECM讲解，促进宫颈癌浸润侵袭，故推测Survivin、mmp-9表达存在一定关系，但具体作用机制还需进一步实验证实^[16]。

综上所述，宫颈癌及宫颈上皮内瘤患者经免疫组化法评估后，Survivin和mmp-9表达量随着病变的严重程度可呈升高趋势，且能够在一定程度上反映病情进展情况，推测可作为反映宫颈病变前病变、宫颈癌预后标志物。

参考文献

- [1] 朱辛茹, 李宁. 阴道镜联合HPV检测对提高宫颈病变筛查准确率的影响分析[J]. 罕少疾病杂志, 2019, 26(5): 41-43.
- [2] 谭凤珠. HPV、TCT联合阴道镜在筛查早期宫颈病变中的临床意义[J]. 罕少疾病杂志, 2016, 23(3): 22-23, 44.
- [3] 李留灿. 研究浸润性宫颈癌术前CT及MRI诊断的临床价值[J]. 罕少疾病杂志, 2018, 25(1): 62-63.
- [4] 杜琳, 陈颖, 张岩. 卵巢癌组织中REG4与survivin的蛋白表达及临床意义[J]. 现代肿瘤医学, 2019, 27(11): 1968-1971.
- [5] 程平, 窦红漫, 于庆生, 等. 结直肠癌中Survivin和P-gp蛋白表达及其与血清CEA的相关性[J]. 临床与实验病理学杂志, 2019, 35(7): 39-42.
- [6] 甘露, 陈燕, 居文惠. 子宫内肌瘤中VEGF和MMP-9蛋白的表达及临床意义[J]. 河北医药, 2018, 40(8): 1168-1171.
- [7] Wang Y, Cai Y B, James W, et al. Human papillomavirus distribution and cervical cancer epidemiological characteristics in rural population of Xinjiang, China[J]. Chin Med J (Engl), 2021, 134(15): 1838-1844.
- [8] 张伟, 韩萍, 肖远革, 等. HPV L1壳蛋白、Survivin蛋白及高危型HPV感染在不同程度宫颈病变中的相关性研究及临床价值[J]. 中国妇幼保健, 2018, 33(22): 5258-5261.
- [9] 李桂湖. Survivin、p53在宫颈上皮内瘤变和宫颈癌组织中的表达及意义[J]. 中国生育健康杂志, 2017, 28(3): 280-281.
- [10] 周成友, 杜阳, 赵静, 等. 子宫颈癌中miR-153和Survivin的表达及其临床意义[J]. 临床与实验病理学杂志, 2020, 36(3): 311-315.
- [11] 贾利刚, 褚兆莘, 田菲, 等. XIAP、cyclin D1及survivin在宫颈癌组织中的表达及意义[J]. 癌症进展, 2018, 16(10): 93-95, 114.
- [12] 范怡冰. 宫颈分泌物中Stat3和Survivin的测定在宫颈病变筛查中的价值[J]. 中国妇幼保健研究, 2018, 29(9): 1123-1128.
- [13] 周庆红, 洛若愚, 周晓红, 等. Survivin、bFGF、VEGF在宫颈癌组织中的表达及其与临床病理特征的关系研究[J]. 现代生物医学进展, 2018, 18(18): 3467-3470, 3562.
- [14] 殷敏敏, 罗英华. 宫颈癌组织中VEGF、MMP-9表达与微血管密度的关系[J]. 解放军预防医学杂志, 2017, 35(5): 461-464.
- [15] 施璠, 汪涛, 王娟, 等. 宫颈癌组织中Survivin、UHRF1 mRNA表达及其与宫颈癌放疗敏感性的相关性[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2020, 41(1): 23-26.
- [16] 潘冰, 陈慧, 郑炜智, 等. 宫颈癌患者临床病理特点及P16、SDF-1、MMP-9和VEGF-C的表达[J]. 中国妇幼保健, 2018, 33(22): 5105-5107.

(收稿日期: 2021-09-08)