

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.08.004

View this article at: http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2018.08.004

Smac 与 caspase-3 在子宫内膜腺癌中的表达及其意义

赵丹丹¹, 何涛², 袁红璜³

(河南科技大学 1. 临床医学院; 2. 第一附属医院妇科; 3. 医学院微生物实验室, 河南 洛阳 471003)

[摘要] 目的: 研究Smac与caspase-3在增殖期、非典型增生期及子宫内膜腺癌中的表达及意义。方法: 采用免疫组织化学技术SP法检测存档石蜡标本95例(增殖期子宫内膜组17例, 子宫内膜非典型增生组20例和子宫内膜腺癌组58例)组织中Smac与caspase-3的表达情况。结果: Smac, caspase-3在3组间的阳性表达率依次减低, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。在子宫内膜腺癌中, Smac的阳性表达与手术病理分期、组织学分级及淋巴结是否转移有关($P < 0.05$), 与年龄、肌层浸润深度无关($P > 0.05$); caspase-3的阳性表达与组织学分级有关($P < 0.05$), 与年龄、手术病理分期、肌层浸润深度及淋巴结是否转移无关($P > 0.05$)。Smac和caspase-3在子宫内膜腺癌中的表达结果呈显著正相关($P < 0.05$)。结论: 在子宫内膜腺癌中, Smac, caspase-3可能共同参与其恶性发展过程, 结合检测Smac, caspase-3在不同子宫内膜组织中的表达情况对研究子宫内膜腺癌的发生、发展具有一定意义。

[关键词] 子宫内膜腺癌; Smac; caspase-3; 免疫组织化学

Expression of Smac and caspase-3 in endometrial carcinoma and its significance

ZHAO Dandan¹, HE Tao², YUAN Hongying³

(1. Clinical Medicine College; 2. Department of Gynecology, First Affiliated Hospital; 3. Laboratory of Microbiology, Medicine College, Henan University of Science and Technology, Luoyang Henan 471003, China)

Abstract **Objective:** To study the expression and significance of Smac and caspase-3 in proliferative phase, atypical hyperplasia phase, and endometrial adenocarcinoma. **Methods:** Immunohistochemical SP method was used to detect the expression of Smac and caspase-3 in 95 cases of paraffin-embedded specimens (17 cases in the proliferative endometrium group, 20 cases in the endometrial atypical hyperplasia group, and 58 cases in the endometrial adenocarcinoma group). **Results:** The positive expression rates of Smac and caspase-3 in the three groups were successively decreased, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). In endometrial adenocarcinoma, the positive expression of Smac was significantly different from the histopathological staging, histological grade, and metastasis of lymph nodes ($P < 0.05$), but was not related to age and myometrial infiltration depth ($P > 0.05$). The positive expression and histological grading of caspase-3 were statistically significant ($P < 0.05$), but not related to age, surgical pathological stage, myometrial infiltration depth, and lymph node

收稿日期 (Date of reception): 2018-05-13

通信作者 (Corresponding author): 袁红璜, Email: 374663945@qq.com

metastasis ($P>0.05$). The expression of Smac and caspase-3 in endometrial adenocarcinoma showed a significant positive correlation ($P<0.05$). **Conclusion:** In endometrial adenocarcinoma, Smac and caspase-3 may be involved in its malignant progression. Detection of Smac and caspase-3 expression in different endometrial tissues is of great significance to the study of the occurrence and development of endometrial adenocarcinoma.

Keywords endometrial neoplasms; Smac; caspase-3; immunohistochemistry

细胞凋亡是一个受到严格控制的过程, 细胞凋亡的错误调控与诸多人类疾病有关, 包括肿瘤、自身免疫性疾病、炎症反应等^[1], 抑制细胞凋亡是人类癌症发生的一个标志^[2]。半胱氨酸蛋白酶的第2个线粒体激活因子(second mitochondria-derived activator of caspase, Smac)主要存在于两种凋亡通路中, 受到凋亡刺激后, Smac在细胞质中作为二聚物, 通过抑制凋亡蛋白家族(inhibitors of apoptosis proteins, IAPs)的抑制剂, 可以激活半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶(cysteinyI aspartate specific protease, caspases)系统中的冬氨酸特异的胱氨酸蛋白酶-3(cysteine aspartate-specific protease-3, caspase-3), caspase-3广泛表达于正常人体组织及多种肿瘤组织中。2003年, Yoo等^[3]通过免疫组织化学技术发现: 在不同肿瘤组织中, Smac的表达不同。本文通过检测不同子宫内膜组织中Smac和caspase-3的表达情况, 旨在为子宫内膜腺癌提供新的检测指标。

1 材料与方法

1.1 标本

搜集2011至2013年在河南科技大学第一附属医院行全子宫切除手术的存档石蜡标本95例, 根据病理检查结果分为增殖期子宫内膜组(17例), 子宫内膜非典型增生组(20例)和子宫内膜腺癌组(58例)。子宫内膜腺癌组均为子宫内膜样腺癌, 手术病理分期根据2009年国际妇产科联盟(International Federation of Gynecology and Obstetrics, FIGO)分期, 所选子宫内膜腺癌均行淋巴结清扫。3组患者术前均未经过性激素治疗或化疗, 同时无合并其他恶性肿瘤。本研究经河南科技大学第一附属医院医学伦理委员会审核批准, 患者均签署知情同意书。

1.2 方法

检测兔抗人Smac多克隆抗体(型号: 10434-1-AP浓缩型)和鼠抗人caspase-3单克隆抗体(型号:

66470-2-1g浓缩型)均购自美国Proteintech公司。粉剂型抗原修复液(柠檬酸法; 型号MVS-0066)、SP免疫组化试剂盒(型号KIT-9710)、DAB酶底物显色剂(型号DAB-2031)均购自福州迈新生物工程有限公司。PBS缓冲液粉末pH 7.3(型号ZLI-9061)购自北京中杉金桥生物技术有限公司。实验组应用SP法免疫组织化学染色, 对照组一抗用PBS缓冲液代替做阴性对照, 显微镜下观察。

1.3 判断标准

Smac, caspase-3的阳性表达部位均在细胞质, 染色均呈弥漫分布或棕黄色颗粒。计算评分依据阳性细胞数和染色水平, 阳性细胞计数: 光镜下随机察看每张玻片10个高倍视野, 计算10×100个不同细胞内阳性细胞数的百分比, 无为0分, 0%~25%为1分, >25%~50%为2分, >50%~75%为3分, >75%~100%为4分。染色水平: 无色为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×染色水平即为每例标本的最终得分, 0~2分为阴性, >3分为阳性。结果由2位病理科医师进行诊断。

1.4 统计学处理

应用SPSS 21.0统计软件进行数据分析, 分析应用 χ^2 检验分析两者在子宫内膜腺癌中与临床病理特征的关系; 应用Spearman等级相关分析Smac, caspase-3在子宫内膜腺癌中的表达, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Smac, caspase-3 在不同子宫内膜组织中阳性表达比较

Smac在增殖期子宫内膜组、子宫内膜非典型增生组与子宫内膜腺癌组组织中阳性表达率依次减低, 差异有统计学意义($\chi^2=12.704$, $P<0.05$); 在增殖期子宫内膜组与子宫内膜非典型增生组的阳性表达差异无统计学意义($\chi^2=1.803$, $P>0.05$); 在

子宫内膜非典型增生组与子宫内膜腺癌组的阳性表达差异有统计学意义($\chi^2=4.303$, $P<0.05$); 在增殖期子宫内膜组与子宫内膜腺癌组的阳性表达差异有统计学意义($\chi^2=10.759$, $P<0.05$; 表1)。

Caspase-3在增殖期子宫内膜组、子宫内膜非典型增生组与子宫内膜腺癌组组织中阳性表达率依次减低, 差异有统计学意义($\chi^2=10.522$, $P<0.05$); 在增殖期子宫内膜组与子宫内膜非典型增生组的阳性表达差异无统计学意义($\chi^2=0.792$, $P>0.05$); caspase-3在子宫内膜非典型增生组与子宫内膜腺癌组的阳性表达差异有统计学意义($\chi^2=4.572$, $P<0.05$); 在增殖期子宫内膜组与子宫内膜腺癌组的阳性表达差异有统计学意义($\chi^2=7.454$, $P<0.05$; 表1)。

2.2 Smac, caspase-3 在不同子宫内膜组织中的表达情况

Smac, caspase-3均在细胞质中表达。Smac在增殖期子宫内膜组织中阳性表达(图1A), 在子宫

内膜腺癌高、中、低分化组织中的染色水平依次减低(图1B~1D)。Caspase-3在增殖期子宫内膜组织阳性表达(图1E), 在子宫内膜腺癌高、中、低分化组织中的染色水平也依次减低(图1F~1H)。

2.3 Smac, caspase-3 阳性表达与子宫内膜腺癌临床病理特征的关系

Smac阳性表达在子宫内膜腺癌中与组织学分级、手术病理分期及淋巴结是否转移有关($P<0.05$), 与年龄、肌层浸润深度无关($P>0.05$); caspase-3阳性表达在子宫内膜腺癌中的表达与组织学分级有关($P<0.05$), 与年龄、手术病理分期、肌层浸润深度及淋巴结是否转移无关($P>0.05$, 表2)。

2.4 Smac, caspase-3 在子宫内膜腺癌中表达的相关性

Smac与caspase-3在子宫内膜腺癌中的表达结果呈显著正相关($r=0.378$, $P<0.05$; 表3)。

表1 Smac, caspase-3在子宫内膜组织中的阳性表达比较

Table 1 Comparison of positive expression of Smac and caspase-3 in endometrial tissues

组别	n	Smac阳性表达/ [例(%)]	χ^2	P	caspase-3阳性表达/ [例(%)]	χ^2	P
增殖期子宫内膜组	17	15 (88.2)			16 (94.1)		
子宫内膜非典型增生组	20	14 (70.0)	12.704	0.002	17 (85.0)	10.522	0.005
子宫内膜腺癌组	58	25 (43.1)			34 (58.6)		

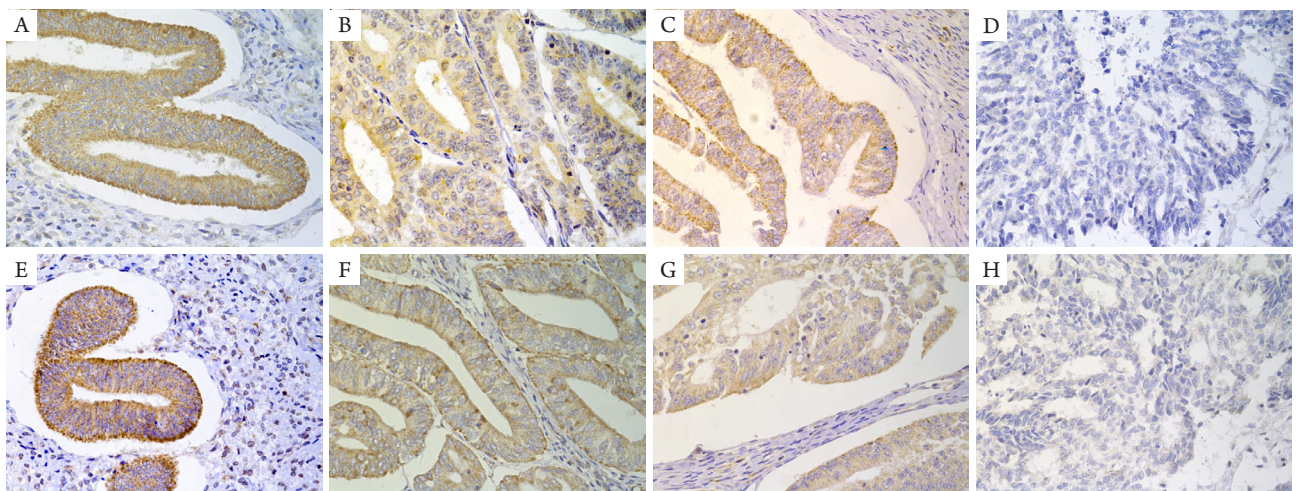


图1 Smac(A~D)和caspase-3(E~H)在不同子宫内膜组织中的表达(SP法, ×400)

Figure 1 Expression of Smac (A~D) and caspase-3 (E~H) in different endometrial tissues (SP staining, ×400)

表2 Smac, caspase-3阳性表达与子宫内膜腺癌临床病理特征的关系

Table 2 Relationship between the positive expression of Smac and caspase-3 and the clinicopathological features of endometrial adenocarcinoma

临床病理特征	n	Smac表达			Caspase-3表达		
		阳性/[例(%)]	χ^2	P	阳性/[例(%)]	χ^2	P
年龄/岁			1.279	0.258		0.684	0.408
≤50	23	12 (52.2)			15 (65.2)		
>50	35	13 (37.1)			19 (54.3)		
组织学分级			9.569	0.008		11.254	0.004
G1	25	16 (64.0)			20 (80.0)		
G2	23	8 (34.8)			12 (52.2)		
G3	10	1 (10.0)			2 (20.0)		
手术病理分期			4.312	0.038		1.793	0.181
I~II	46	23 (50.0)			29 (63.0)		
III	12	2 (16.7)			5 (41.7)		
肌层浸润程度			2.953	0.086		0.677	0.411
≤1/2	42	21 (50.0)			26 (61.9)		
>1/2	16	4 (25.0)			8 (50.0)		
淋巴结转移			4.446	0.035		2.808	0.094
无	49	24 (49.0)			31 (63.3)		
有	9	1 (11.1)			3 (33.3)		

表3 Smac, caspase-3表达在子宫内膜腺癌中的相关性

Table 3 Correlation of Smac and caspase-3 expression in endometrial adenocarcinoma

Caspase-3	Smac	
	阳性	阴性
阳性	20	14
阴性	5	19
r	0.378	
P	0.003	

3 讨论

子宫内膜癌是美国最常见的妇科恶性肿瘤, 2017年约有61 380例新病例和11 000例死亡, 每年子宫内膜癌的发病率增加1%~2%^[4]。但子宫内膜癌的病因尚不明确。研究^[5]显示: 凋亡抑制基因和凋亡促进基因与子宫内膜癌的发生发展有密切

关系。

在非小细胞肺癌^[6]、原发性肝癌^[7]、胰腺癌^[8]、宫颈癌^[9]中, Smac在肿瘤组织中表达的阳性率低于肿瘤旁组织的表达, 并与患者预后有一定的关系。研究^[10]表明: Smac在子宫内膜癌中的表达与组织学分级有关, 但与手术病理分期无显著相关性。在本研究中, Smac在子宫内膜腺癌中的表达与手术病理分期有关, 手术病理分期越高阳性率越低, Smac在增殖期子宫内膜组、子宫内膜非典型增生组、子宫内膜腺癌组的阳性表达率依次降低, 表明Smac与子宫内膜腺癌的发生可能有一定的关系。Smac在子宫内膜腺癌组织中组织学分级越低、手术分期越高、淋巴结已转移的表达阳性率就越少, 说明Smac与子宫内膜腺癌的进展可能有关。

Caspase-3在子宫内膜癌中的表达国内外已有研究, 但caspase-3在子宫内膜癌中与临床病理特征的关系尚存在争议。孙炯等^[11]认为: caspase-3在子宫内膜癌中的表达与手术病理分期及淋巴结转移

有关。而本研究结果显示: caspase-3在子宫内膜腺癌中的表达仅与组织学分级有关, 且随着分级的增高而表达降低, 表明caspase-3在肿瘤细胞凋亡过程中与组织学分化程度可能有一定关系; caspase-3在增殖期子宫内膜组、子宫内膜非典型增生组、子宫内膜腺癌组的阳性表达率也依次降低, 表明caspase-3可能参与了子宫内膜腺癌的发生。

Smac和caspase-3在子宫内膜腺癌中的相关性研究较少, 在本研究中, 子宫内膜腺癌中Smac和caspase-3的表达呈正相关, 推测其机制可能为: 在肿瘤的细胞凋亡通路中, Smac的表达量减少, 抑制凋亡蛋白家族的抑制剂能力下降, 激活caspase-3效应减低, 肿瘤细胞凋亡减少。

细胞凋亡的改变对于肿瘤细胞的发展至关重要, 而放疗和化疗在很大程度上依赖于细胞凋亡引起癌细胞的死亡^[3]。本研究中, Smac, caspase-3在子宫内膜腺癌低分化组织中阳性表达率较低, 其表达水平与肿瘤恶性程度可能相关, 可通过检测Smac, caspase-3来进一步评估子宫内膜腺癌的恶性程度, 为评估患者预后提供有力的证据。Smac模拟物是目前的研究热点, 其可通过细胞凋亡信号通路作用于caspase-3, 进一步导致细胞凋亡, 可作为子宫内膜腺癌中抗肿瘤药物诱导凋亡的增敏剂, 或可为今后的临床治疗提供一个新的方向。

参考文献

- Bai L, Smith DC, Wang S. Small-molecule SMAC mimetics as new cancer therapeutics[J]. *Pharmacol Ther*, 2014, 144(1): 82-95.
- Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation[J]. *Cell*, 2011, 144(5): 646-674.
- Yoo NJ, Kim HS, Kim SY, et al. Immunohistochemical analysis of Smac/DIABLO expression in human carcinomas and sarcomas[J]. *APMIS*, 2003, 111(3): 382-388.
- Makker V, Green AK, Wenham RM, et al. New therapies for advanced, recurrent, and metastatic endometrial cancers[J]. *Gynecol Oncol Res Pract*, 2017, 4: 19.
- Nasiadek M, Kilanowicz A, Darago A, et al. The effect of cadmium on the coagulation and fibrinolytic system in women with uterine endometrial cancer and myoma[J]. *Int J Occup Med Environ Health*, 2013, 26(2): 291-301.
- Qin S, Yang C, Zhang B, et al. XIAP inhibits mature Smac-induced apoptosis by degrading it through ubiquitination in NSCLC[J]. *Int J Oncol*, 2016, 49(4): 1289-1296.
- Bao ST, Gui SQ, Lin MS. Relationship between expression of Smac and Survivin and apoptosis of primary hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2006, 5(4): 580-583.
- Liang W, Liao Y, Zhang J, et al. Heat shock factor 1 inhibits the mitochondrial apoptosis pathway by regulating second mitochondria-derived activator of caspase to promote pancreatic tumorigenesis[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2017, 36(1): 64.
- Jin XJ, Cai PS, Zhu SP, et al. Negative correlation between X-linked inhibitors of apoptosis and second mitochondria-derived activator of caspase expression levels in cervical carcinoma and cervical intraepithelial neoplasia[J]. *Oncol Lett*, 2017, 14(5): 5340-5346.
- Dobrzycka B, Terlikowski SJ, Bernaczyk PS, et al. Prognostic significance of smac/DIABLO in endometrioid endometrial cancer[J]. *Folia Histochem Cytobiol*, 2010, 48(4): 678-681.
- 孙炯, 杨留才, 李仕红, 等. Livin与caspase-3在子宫内膜癌组织中的表达水平及相关性研究[J]. *医学综述*, 2014, 20(9): 1708-1710. SUN Jiong, YANG Liucui, LI Shihong, et al. Expression and correlation of Livin and caspase-3 in endometrial carcinoma tissue[J]. *Medical Recapitulate*, 2014, 20(9): 1708-1710.

本文引用: 赵丹丹, 何涛, 袁红瑛. Smac与caspase-3在子宫内膜腺癌中的表达及其意义[J]. *临床与病理杂志*, 2018, 38(8): 1614-1618. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.08.004

Cite this article as: ZHAO Dandan, HE Tao, YUAN Hongying. Expression of Smac and caspase-3 in endometrial carcinoma and its significance[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2018, 38(8): 1614-1618. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.08.004