

bcl-x1、bcl-2 在非小细胞肺癌中的表达及意义

李娜,刁路明,李蓓芸,夏东,邹祖玉,刘铭球

Expression of bcl-x1 and bcl-2 in Non-Small Cell Lung Carcinoma and Their Significance

LI Na, DIAO Lu-ming, LI Pei-yun, XIA Dong, ZOU Zu-yu, LIU Ming-qiu

Department of Pathology, Medical College, Wuhan University, Wuhan 430071, China

Abstract: **Objective** To investigate the expression level and clinic pathological significance of bcl-x1 and bcl-2 in non-small cell lung carcinoma (NSCLC). **Methods** The immunohistochemistry was used to determine the expression of bcl-x1 and bcl-2 in 10 normal bronchial epithelium, 49 primary NSCLC and 9 paired lymph node metastases. **Results** The immunointensity of bcl-x1 in NSCLC was higher than that in normal bronchial epithelium ($P < 0.05$). The immunointensity of bcl-x1 and bcl-2 in NSCLC with lymph node metastasis were significantly higher than that without lymph node metastasis ($P < 0.01$). The expression were not correlated between bcl-x1 and bcl-2. **Conclusion** The up-regulation of bcl-x1 was probably related to the tumor genesis of NSCLC. The overexpression of bcl-x1 and bcl-2 may play an important role in the lymph node metastasis of NSCLC. There was no correlation between bcl-x1 and bcl-2 in NSCLC.

Key words: bcl-x1; bcl-2; Non-small cell lung carcinoma; Immunohistochemistry; Apoptosis

摘要:目的 探讨非小细胞肺癌(NSCLC)中 bcl-x1 和 bcl-2 表达情况及其意义。方法 采用免疫组化 SP 法,检测 10 例正常肺组织,49 例 NSCLC 组织和 9 例配对淋巴结转移癌组织中的 bcl-x1 及 bcl-2 表达强度。结果 NSCLC 组织中,bcl-x1 表达强度显著高于正常肺组织($P < 0.05$)。伴淋巴结转移的 NSCLC 组织 bcl-x1 和 bcl-2 表达强度均高于不伴淋巴结转移的 NSCLC 组织($P < 0.01$)。NSCLC 中 bcl-x1 与 bcl-2 表达强度无相关性($P > 0.05$)。结论 bcl-x1 表达增强可能与 NSCLC 发生有关。bcl-x1 和 bcl-2 表达增强在 NSCLC 的淋巴结转移方面可能起着重要作用。在 NSCLC 组织中,bcl-x1 与 bcl-2 表达无相关性。

关键词: bcl-x1; bcl-2; 非小细胞肺癌; 免疫组织化学; 凋亡

中图分类号: R734.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-8578(2005)07-0395-03

0 引言

肿瘤的发生是细胞凋亡受抑,增殖失控的结果。bcl-x1 和 bcl-2 是 bcl-2 家族蛋白成员中主要的抗凋亡分子。近年对 bcl-2 蛋白在肿瘤中的表达及意义研究较多,而 bcl-x1 研究甚少。有文献报道,bcl-x1 是比 bcl-2 更强的凋亡抑制因子^[1,2]。本研究通过免疫组化法检测 NSCLC 中 bcl-x1、bcl-2 表达强度,探讨其在 NSCLC 发生、发展、转移中的意义,及 NSCLC 中 bcl-x1 和 bcl-2 表达的相关性。

1 材料与方法

1.1 研究对象

49 例 NSCLC 原发癌标本,9 例配对淋巴结转移癌标本取自湖北省肿瘤医院、武汉大学人民医院 1995~2003 年手术切除标本,均经病理检查确诊。

1.2 试剂

bcl-x1 兔多克隆抗体(产品编号 BA0413)购自武汉博士德公司。bcl-2 小鼠单抗(产品编号 ZM-0010)购自 Zymed 公司(北京中山公司代理)。超敏 SP 试剂盒购自福州迈新公司。

1.3 免疫组化 SP 法

常规 SP 法检测,DAB 显色。阳性对照由试剂公司提供,阴性空白对照由 PBS 替代一抗。

1.4 免疫组化结果判断

参照文献[3],稍做修改。bcl-x1 和 bcl-2 均以胞浆颗粒着色或核膜着色的细胞为阳性细胞,阳性细胞大于 20%时判定为阳性表达。根据细胞着色深浅,将表达强度分为:弱阳性(+),阳性(++),强阳性(+++)。

1.5 统计学分析

采用 SPSS 10.0 统计软件对数据进行分析。表达强度与临床病理资料的关系用秩和检验,bcl-x1 和 bcl-2 相关性比较用 pearson 积矩相关,原发癌与配对淋巴结转移癌 bcl-x1 和 bcl-2 表达差异用 Wilc-

收稿日期:2004-08-20;修回日期:2005-02-25

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39870305)

作者单位:430071 武汉大学医学院病理学教研室

oxon 符号秩和检验。P < 0.05 为有统计学差异。

2 结果

2.1 正常肺组织支气管黏膜上皮中 bcl-x1 和 bcl-2 蛋白表达状况

bcl-x1 和 bcl-2 在正常支气管上皮细胞的胞浆中呈散在颗粒状着色。正常肺支气管上皮组织中 bcl-x1 阴性 4 例,弱阳性 4 例,阳性 2 例。bcl-2 阴性 8 例,弱阳性 1 例,阳性 1 例,见表 1。

2.2 NSCLC 中 bcl-x1 表达状况及其与 NSCLC 发生、病理类型、组织分级、淋巴结转移的关系

bcl-x1 在癌细胞胞浆中呈弥漫性颗粒状胞浆着色,2 例癌细胞为核膜着色,同时间质中部分炎细胞呈阳性。bcl-x1 蛋白在 NSCLC 中阳性表达率为 75.5%,其中弱阳性 11 例,阳性 9 例,强阳性 17 例;阴性表达率 24.5%。NSCLC 组织中 bcl-x1 表达强度高于正常肺组织 (P < 0.05)。伴淋巴结转移的 NSCLC 组织 bcl-x1 表达强度高于不伴淋巴结转移的 NSCLC 组织 (P < 0.01)。肺腺癌 bcl-x1 表达强度高于肺鳞癌 (P < 0.01)。bcl-x1 表达强度与 NSCLC 的组织学分级无关 (P > 0.05),见表 1。

表 1 bcl-x1 和 bcl-2 的表达与 NSCLC 发生、病理类型、组织分级和淋巴结转移的关系

分组	例数	bcl-x1				P	bcl-2				P
		-	+	##	###		-	+	##	###	
正常肺组织	10	4	4	2	0	0.045	8	1	1	0	0.110
非小细胞肺癌	49	12	11	9	17		27	7	5	10	
病理类型											
腺癌	24	1	7	3	13	0.002	15	2	1	6	0.596
鳞癌	25	11	4	6	4		12	5	4	4	
组织分级											
低分化	12	4	2	2	4		8	0	3	1	
中分化	22	6	3	6	7	0.867	10	6	2	4	0.689
高分化	15	2	6	1	6		9	1	0	5	
淋巴结转移											
阴性	23	8	8	3	4	0.006	18	1	2	2	0.004
阳性	26	4	3	6	13		9	6	3	8	

2.3 NSCLC 中 bcl-2 表达状况及其与 NSCLC 发生、病理类型、组织分级、淋巴结转移的关系

bcl-2 分布特点同 bcl-x1。bcl-2 蛋白在 NSCLC 中表达率 44.9%,其中弱阳性 7 例,阳性 5 例,强阳性 10 例;阴性率 55.1%。NSCLC 组织中 bcl-2 表达强度与正常肺组织比较,差异无显著性 (P > 0.05)。伴淋巴结转移的 NSCLC 组织 bcl-2 表达强度高于不伴淋巴结转移的 NSCLC 组织 (P < 0.01)。bcl-2 表达强度与 NSCLC 病理类型及组织学分级无关 (P > 0.05),见表 1。

2.4 NSCLC 中 bcl-x1 与 bcl-2 表达的相互关系

NSCLC 中 bcl-x1, bcl-2 表达的关系见表 2。经 pearson 积矩相关分析,两者表达无相关性 (r = 0.041, P = 0.781)。

表 2 NSCLC 中 bcl-x1, bcl-2 表达的关系

bcl-x1	bcl-2				合计
	-	+	++	+++	
-	10	2	2	2	16
+	5	0	0	3	8
++	3	2	3	2	10
+++	9	3	0	3	15
合计	27	7	5	10	49

2.5 9 例 NSCLC 原发癌及其配对淋巴结转移癌中 bcl-x1 和 bcl-2 表达状况

bcl-x1 和 bcl-2 除表达于淋巴结转移癌的癌细胞胞浆中,在淋巴滤泡帽区细胞的胞浆内也有表达。bcl-x1 和 bcl-2 在 9 例 NSCLC 原发癌和配对淋巴结转移癌中的表达见表 3。经 Wilcoxon 符号秩和检验, bcl-x1 和 bcl-2 表达强度在原发癌与配对淋巴结转移癌中差别无显著性 (P > 0.05)。

表 3 bcl-x1, bcl-2 在 9 例 NSCLC 原发癌和配对淋巴结转移癌中的表达

序号	bcl-x1		bcl-2	
	原发癌	淋巴结转移癌	原发癌	淋巴结转移癌
1	+++	++	+	+
2	-	+++	+++	+++
3	+++	+++	-	-
4	-	-	+	+
5	+++	++	+++	+++
6	-	-	++	+++
7	+	++	+++	+++
8	-	+++	+	-
9	++	++	-	-

3 讨论

bcl-2 家族蛋白是在细胞凋亡过程中起关键作用的一类蛋白质。在线粒体上, bcl-2 家族蛋白通过与其他凋亡蛋白的协同作用,调控线粒体膜结构与功能的稳定性,发挥着细胞凋亡“主开关”的作用^[4]。bcl-x1 和 bcl-2 是 bcl-2 家族蛋白成员中主要的抗凋亡分子,它们通过与 bcl-2 家族的促凋亡蛋白形成异源二聚体,维持促凋亡成员在细胞内的定位分布,保护细胞不进入凋亡程序。

正常肺组织中就存在 bcl-x1 弱阳性或阳性表达, NSCLC 中 bcl-x1 表达强度高于正常肺组织。bcl-x1 表达增强,癌细胞凋亡受抑可能参与 NSCLC 的发生。多种信号传导途径可促进 bcl-x1 的表达,

如依赖于表皮生长因子受体(EGFR)的信号传导途径,神经生长因子(NGF)/神经生长因子高亲和力受体(Trk)途径和 CD40-gp39 途径^[5],特别是 EGFR 途径可能与 NSCLC 发生关系密切。

肿瘤细胞抵抗死亡信号的能力为之形成转移灶提供有利条件。本研究发现伴淋巴结转移的 NSCLC 组织 bcl-x1 和 bcl-2 表达强度均高于不伴淋巴结转移的 NSCLC 组织。目前对各种肿瘤中 bcl-x1 和 bcl-2 与转移的关系报道不一,在恶性黑色素瘤、乳腺癌、食管鳞状细胞癌中,bcl-x1 和 bcl-2 蛋白表达与淋巴结转移有关^[6-8]。本研究还发现 bcl-x1 和 bcl-2 在 NSCLC 原发癌与淋巴结转移癌中表达差异无显著性。提示淋巴结转移灶中的癌细胞保留了原发癌 bcl-x1 和 bcl-2 抗凋亡分子高表达的特性,凋亡受抑,存活力增强,易于抵抗各种凋亡诱导因子的作用,更易在淋巴管及淋巴结内存活,最终形成转移灶。

本实验显示 NSCLC 组织中 bcl-x1 和 bcl-2 表达无相关性,推测它们可能是相互独立的抗凋亡分子,它们的调节途径及机制可能不同。本实验还观察到 NSCLC 组织中,bcl-x1 表达率明显高于 bcl-2,bcl-x1 更广泛的表达于 NSCLC 组织。bcl-x1 可能是比 bcl-2 更有意义的凋亡调节因子。

细胞凋亡是精密调控的过程。bcl-x1 和 bcl-2

是重要的凋亡调控因子,其表达增强在 NSCLC 的发生和转移中可能发挥重要作用。

参考文献:

- [1] Gottschalk AR,Boise LH,Thompson CB, et al. Identification of immunosuppressant-induced apoptosis in a murine B-cell line and its prevention by bcl-x but not bcl-2[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1994, 91(15): 7350-7354.
- [2] Shimizu S, Eguchi Y, Kosaka H, et al. Prevention of hypoxia-induced cell death by bcl-2 and bcl-xL[J]. Nature, 1995, 374(6525): 811-813.
- [3] Cox G, Walker RA, Muller S, et al. Does immunointensity account for the differences in prognostic significance of Bcl-2 expression in non-small cell lung cancer[J]. Pathol oncol res, 2000, 6(2): 87-92.
- [4] 付永鏞,樊延俊. bcl-2 家族蛋白与细胞凋亡[J]. 生物化学与生物物理学报, 2002, 34(4): 389-394.
- [5] 王娟,李惠. bcl-2, bcl-x1 在皮肤增生性疾病中的表达及意义[J]. 临床皮肤科杂志, 2002, 31(12): 798-780.
- [6] Leiter U, Schmid RM, Kaskel P, et al. Antiapoptotic bcl-2 and bcl-xL in advanced malignant melanoma[J]. Arch Dermatol Res, 2000, 292(5): 225-232.
- [7] Fernández Y, España L, Mañas S, et al. bcl-x1 promotes metastasis of breast cancer cells by induction of cytokines resistance[J]. Cell Death Differ, 2000, 7(4): 350-359.
- [8] Matsumoto M, Natsugoe S, Nakashima S, et al. Clinical significance and prognostic value of apoptosis related proteins in superficial esophageal squamous cell carcinoma[J]. Ann Surg Oncol, 2001, 8(7): 598-604.

[编辑:贺文;校对:刘红武]