

Bcl-2 蛋白在宫颈癌变组织中的表达及其与人乳头瘤病毒感染的关联性

黄 平, 唐秋英, 金 璞, 陈光元

(深圳市宝安区松岗人民医院妇产科, 广东 深圳 518105)

【摘要】 目的 基于宫颈癌发病的病毒学原因,探讨 Bcl-2 基因在宫颈癌中的表达及其与人乳头瘤病毒感染的相关性。**方法** 采用免疫组织化学法检测 Bcl-2 蛋白在 30 例宫颈上皮内瘤变(CIN)、20 例宫颈癌及 20 例正常宫颈组织中的表达。采用 PCR 技术检测上述标本中 HPV16/18DNA 的表达。**结果** Bcl-2 蛋白在 CIN 中的表达率为 40%,宫颈癌中为 70%,正常宫颈中表达为 5%。HPV16/18 在上述组织中的表达率依次为 50%、75%、5%。Bcl-2 蛋白和 HPV16/18DNA 在正常宫颈组织、CIN 及宫颈癌中的表达两两比较差异均具有统计学意义;Bcl-2 蛋白在 CIN I/II 及 CIN III 中的差异也具有统计学意义,但与宫颈癌病理类型及分化和临床分期无关。**结论** Bcl-2 及 HPV16/18 参与了宫颈癌的发生及发展,联合检查 HPV16/18 和 Bcl-2 有望为宫颈癌的临床早期诊断和治疗提供理论依据。

【关键词】 宫颈上皮内瘤变;宫颈癌;Bcl-2 基因

【中图分类号】 R737.33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003—6350(2013)01—0003—03

Expression of Bcl-2 protein in cervical intraepithelial neoplasia and cervical carcinoma and its correlation with HPV16/18 infection. HUNAG Ping, TANG Qiu-ying, JIN Ying, CHEN Guang-yuan. Department of Obstetric and Gynecology, Songgang People's Hospital of Baoan District of Shenzhen City, Shenzhen 518105, Guangdong, CHINA

【Abstract】 Objective To investigate the expression of Bcl-2 protein in cervical carcinoma and cervical intraepithelial neoplasia, and to analyze the correlation between expression of Bcl-2 protein with HPV16/18 infection. **Methods** With immunohistochemical method, the expression of Bcl-2 protein was detected in 30 cases of cervical intraepithelial neoplasia (CIN), 20 cases of cervical carcinoma and 20 cases of normal cervical tissues. Also, the HPV16/18 DNA was detected by PCR. **Results** The positive rates of Bcl-2 protein in the above three tissues were 40%, 70% and 5%, respectively, while the percentages of HPV16/18 infection were 50%, 75%, and 5%, respectively, both with statistically significant difference in the three tissues. The expression of Bcl-2 was related with the grade of CIN rather than clinical pathological type and clinical stage. **Conclusion** Bcl-2 and HPV16/18 may take part in the occurrence and development of cervical carcinoma. It would be useful to detect the Bcl-2 and HPV16/18 in the early diagnosis and treatment for cervical carcinoma.

【Key words】 Cervical intraepithelial neoplasia (CIN); Cervical carcinoma; Bcl-2

基金项目:2010 年度深圳市科技计划项目(编号:201003382)

通讯作者:黄 平。E-mail:youping77731@yahoo.com.cn

窄,考虑系由严重 RSS 导致死亡。

本研究期望通过本课题的研究为胃肠道术后胃肠动力障碍性疾病的发病机制及预防工作开辟新的思路和方法。

参 考 文 献

[1] Noh SM. Improvement of the Roux Limb Function Using a New Type of "Uncut Roux" Limb [J]. Am J Surg, 2000, 180 (1): 37-40.

[2] Dutra RA, Araújo WM, de Andrade JI. The Effects of Roux-en-Y Limb Length on Gastric Emptying and Enterogastric Reflux in Rats [J]. Acta Cir Bras, 2008, 23(2): 179-183.

[3] 秦新裕, 刘凤林. 术后胃肠动力紊乱的研究进展[J]. 中华胃肠外科杂志, 2005, 8(3): 193-195.

[4] 吴 强. 胃手术后功能性胃排空障碍的诊断与处理[J]. 中华胃肠

外科杂志, 2005, 8(4): 334-335.

[5] Cheng G, Hocking MP, Vogel SB, et al. The effect of Roux-en-Y diversion on gastric and Roux-limb emptying in rodent model [J]. Am J Surg, 1995, 169(6): 618-621.

[6] Miedema BW, Kelly KA. The Roux stasis syndrome. Treatment by pacing and prevention by use of an "uncut" Roux limb [J]. Arch Surg, 1992, 127(3): 295-300.

[7] Chang IY, Glasgow NJ, Takayama I, et al. Loss of interstitial cells of Cajal and development of electrical dysfunction in murine small bowel obstruction [J]. J Physiol, 2001, 536(2): 555-568.

[8] Telford GL, Walgenbach-Telford S, Sarna SK. Pathophysiology of small intestinal motility [J]. Surg Clin North Am, 1993, 73(6): 1193-1199.

(收稿日期:2012-08-16)

宫颈癌的发生与人乳头瘤病毒(HPV)感染密切相关,宫颈癌组织中HPV阳性率达95%,而其中高危型HPV16/18占了约60%以上^[1]。而目前公认的HPV16/18感染参与正常宫颈组织-CIN-宫颈癌发病的机制为:HPV病毒整合于宿主基因组,其中的E6、E7蛋白可使癌基因激活、抑癌基因失活及抗凋亡基因过度表达,从而导致细胞的恶性生物学行为^[2]。Bcl-2基因是最早发现的凋亡抑制基因。本研究采用免疫组织化学法和原位杂交法检测Bcl-2基因和HPV16/18DNA在正常宫颈组织、宫颈上皮内瘤变和宫颈癌组织中的表达,探讨Bcl-2基因在宫颈癌病变过程中的作用及其与HPV16/18感染的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择我院2011年1月至2012年5月间经病理科诊断的宫颈病变组织切片50例,包括宫颈鳞癌14例、腺癌6例,CIN I~II 15例及CIN III 15例,以及20名正常宫颈组织做对照。根据最新FIGO分期进行临床分期:I~II a期16例,II b~III期4例。病理学分级:高中分化6例,低分化14例。取材前均未接受任何治疗。

1.2 方法

1.2.1 Bcl-2蛋白检测 采用免疫组化鼠抗人Bcl-2多克隆抗体和免疫组化试剂盒(购自东盛生物有限公司),严格按照试剂盒操作说明进行。结果判断:细胞质中出现棕黄色颗粒为Bcl-22阳性,高倍镜下随机观察10个视野,记录阳性细胞百分比,<10%为阴性,>10%为阳性。

1.2.2 HPV16/18DNAPCR的检测 按照Baay等^[3]的文章设计HPV16、18型特异性引物并送公司合成。脱蜡水化,经蛋白酶K消化。取10 μl标本加入100 μl PCR体系。PCR反应条件为:95℃预变性8 min,94℃变性30 s,52℃退火30 s,72℃延伸1 min,35个循环。最后72℃延伸7 min。产物经1.5%的琼脂糖凝胶电泳,在395 bp、116 bp处出现条带为阳性。

1.3 统计学方法 样本率差异比较采用卡方检验及Fisher精确概率法,两者相关性采用Spearman秩相关分析。采用SPSS13.0软件,以 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Bcl-2蛋白和HPV16/18DNA在不同宫颈组织中的表达 Bcl-2蛋白阳性定位主要在胞质中,呈棕黄色颗粒。Bcl-2在正常宫颈组织中的阳性表达率为5%(1/20),在CIN中为40%(12/30),而在宫颈癌中高达70%(14/20)。在正常宫颈组织、CIN及宫颈癌中

的表达呈现逐渐增强的趋势,且在CIN III中表达高于CIN I和CIN II。同样,HPV 16/18在上述三种组织中逐渐增加,且差异具有统计学意义,HPV阳性率与临床分期、病理类型无关,见表1。

表1 不同临床病理特征的宫颈组织Bcl-2基因和HPV16/18阳性表达情况

临床病理情况	例数	Bcl-2蛋白		HPV16/18	
		阳性[例(%)]	P值	阳性[例(%)]	P值
正常宫颈组织	20	1(5)	<0.01 ^a	1(5)	<0.00 ^a
CIN	30	12(40)	0.002 ^b	15(50)	0.001 ^b
宫颈癌	20	14(70)	0.038 ^b	15(75)	0.041 ^b
CIN分级					
CIN I/II	15	2(13.3)		6(40)	
CIN III	15	10(66.7)	0.003	9(60)	0.273
宫颈癌					
原位癌	10	6(60)		6(60)	
浸润癌	10	8(80)	0.628	9(90)	0.303
病理类型					
鳞癌	14	10(71.4)		11(91.6)	
腺癌	6	4(66.7)	1.000	4(66.7)	0.613
病理分化					
高中分化	6	4(66.7)		3(50)	
低分化	14	10(71.4)	1.000	12(85.7)	0.131
临床分期					
I~II a期	16	10(62.5)		12(75)	
II b~III期	4	4(100)	0.267	3(75)	1.000

注:^aP表示宫颈癌、CIN及正常宫颈组织之间的比较;^bP表示宫颈癌及CIN与正常宫颈组织之间的比较。

2.2 Bcl-2表达与HPV16/18感染的相关性 经Spearman等级相关分析,宫颈癌组织Bcl-2蛋白表达与HPV16/18感染具有正相关性, $r=0.864$, $P<0.000$,见表2。

表2 宫颈组织中Bcl-2蛋白表达与HPV16/18感染的相关性分析

项目	HPV16/18(+)	HPV16/18(-)	P值	r值
Bcl-2(+)	27	0		
Bcl-2(-)	5	38	<0.000	0.864

3 讨论

Bcl-2基因是最早在B细胞白血病和滤泡型淋巴瘤的研究中发现的一种细胞凋亡抑制基因,定位于染色体18q21,由于t(14;18)染色体易位以及转录后调节异常导致Bcl-2蛋白过度表达^[4]。随后研究报道,Bcl-2的过度表达除了与淋巴造血组织肿瘤相关外,在非淋巴造血组织肿瘤的发生发展中也起着重要作用。有研究^[5]结果显示Bcl-2基因在CIN III级中的表达明显高于CIN I级和CIN II级,提示Bcl-2基因的过表达可能与癌前病变的发生即鳞状上皮进一步分化失败有关,是宫颈癌发生的早期事件。本研究中,

我们发现 Bcl-2 在正常宫颈组织、CIN 及宫颈癌组织中表达逐渐增强,且差异具有统计学意义,这就提示 Bcl-2 的过表达不仅是宫颈癌发病的早期事件,其也参与了宫颈癌病变的发展。

Bcl-2 基因抑制凋亡或者程序性细胞死亡的作用是肯定的,Bcl-2 基因的过度表达能够阻止或者减少不同刺激如化疗药物、射线等对细胞的杀伤作用,从而使得表达 Bcl-2 的肿瘤包括宫颈癌对放化疗不敏感与其不良预后有关^[6]。然而很多关于不同肿瘤类型的研究也表明表达 Bcl-2 蛋白的肿瘤患者较 Bcl-2 阴性患者手术治疗后的预后要好,这可能与 Bcl-2 对细胞周期的抑制作用有关^[7]。目前为止共有 7 项研究报道接受手术治疗的宫颈癌患者的预后与 Bcl-2 的关系,其中仅有 Dimitrakakis 等^[8]的一项研究中的患者接受手术治疗,而其他六项研究中的患者同时接受了适当的放疗或者化疗。Dimitrakakis 等^[8]发现表达 Bcl-2 的宫颈癌患者术后 5 年存活率明显高于 Bcl-2 阴性患者,分别为 74% 和 49%。国内齐荣义等^[9]研究也有此发现。我们研究结果也显示:Bcl-2 在分化较好的宫颈鳞癌中阳性表达率有增高趋势,然而必须注意的是,这种分析并不涉及其他一些重要的预后因素如肿瘤分级、浸润深度及有无淋巴转移等,因此,Bcl-2 对宫颈癌的预后价值尚需进一步探讨。

宫颈癌由良性病变发展到 CIN 及 CIN 进一步发展到癌是一个连续过程,虽然部分 CIN 可逆转,但 CIN 发展至癌的过程中与高危因素的存在也是密不可分的。高危型 HPV 感染与宫颈癌的临床进展和预后密切相关^[10]。高危型 HPV 主要为 HPV16/18 亚型,可导致 CIN II、CIN III 级病变及宫颈癌的发生。我们的研究结果显示:在正常宫颈中 HPV16/18 的感染率为 5%,CIN 中为 50%,其中 CIN III 级中为 60%,宫颈癌中为 80%,三者感染率逐渐升高,且差异具有显著统计学意义。这就意味着宫颈癌的发生发展与高危型 HPV16/18 有关,总的来说,临床上积极预防和治

疗 HPV 感染还是有重要意义的。

总之,宫颈癌的发生是遗传背景下多种因素相互作用的结果,HPV 感染、抗凋亡基因过表达等共同调节着其发生,联合 Bcl-2 基因、HPV16/18DNA 检测有望为宫颈癌的诊断治疗及预后提供有价值的参考。

参考文献

- [1] Pilch H, Gunzel S, Schaffer U, et al. Human papillomavirus (HPV) DNA in primary cervical cancer and in cancer free pelvic lymph nodes-correlation with clinico-pathological parameters and prognostic significance [J]. Zentralbl Gynakol, 2001, 123: 91-101.
- [2] Furumoto H, Irahara M. Human papilloma virus (HPV) and cervical cancer [J]. J Med Invest, 2002, 49: 1244-133.
- [3] Baay MF, Quint WG, Koudstaal J, et al. Comprehensive study of several general and type-specific primer pairs for detection of human papillomavirus DNA by PCR in paraffin-embedded cervical carcinomas [J]. J Clin Microbiol, 1996, 34: 745-747.
- [4] Uchiyama M, Iwasaka T, Matsuo N, et al. Correlation between human papillomavirus positivity and p53 gene expression in adenocarcinoma of the uterine cervix [J]. Gynecol Oncol, 1997, 65(1): 23-29.
- [5] Harnesel B, Smedts F, Kuispers J, et al. Bcl-2 immunoreactivity increases with severity of CIN: a study of normal cervical epithelia, CIN, and cervical carcinomas [J]. J Pathol, 1996, 179(1): 26-30.
- [6] Wootipoom V, Lekhyananda N, Phungrassami T, et al. Prognostic significance of Bax, Bcl-2 and p53 expressions in cervical squamous cell carcinoma treated by radiotherapy [J]. Gynecol Oncol, 2004, 94: 636-642.
- [7] Erdem O, Erdem M, Dursun A, et al. Angiogenesis, p53, and bcl-2 expression as prognostic indicators in endometrial cancer: comparison with traditional clinicopathologic variables [J]. Int J Gynecol Pathol, 2003, 22: 254-260.
- [8] Dimitrakakis C, Kymionis G, Diakomanolis E, et al. The possible role of p53 and bcl-2 expression in cervical carcinomas and their premalignant lesions [J]. Gynecol Oncol, 2000, 77: 129-136.
- [9] 齐荣义, 王慧, 栾梅, 等. 人宫颈癌 bcl-2 基因表达与预后的关系 [J]. 中国实用妇产与产科杂志, 2000, 16(6): 349-351.
- [10] Munoz N, Bosch FX, Sanjose S, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer [J]. N Engl J Med, 2003, 348: 518-527.

(收稿日期:2012-05-12)