

结直肠癌bcl-2和 β -catenin的表达及临床意义

徐晨 于秀文*

齐齐哈尔医学院病理学院 黑龙江 齐齐哈尔 161006

摘要:目的:检测结直肠腺癌组织及癌旁正常组织bcl-2、 β -catenin蛋白表达,探讨bcl-2、 β -catenin与患者的年龄、性别、肿瘤部位、分化程度、与浸润深度、淋巴结转移及TNM分期等临床病理参数的关系。方法:原发性结直肠腺癌及对应的癌旁正常组织各62例用免疫组织化学方法检测bcl-2、 β -catenin蛋白表达情况。结果:结直肠腺癌组织bcl-2、 β -catenin蛋白表达高于远切端正常黏膜,bcl-2与浸润深度、淋巴结转移及TNM分期有关($P < 0.05$); β -catenin与肿瘤的分化程度、淋巴结转移及TNM分期有关($P < 0.05$)。结论:结直肠腺癌组织bcl-2和 β -catenin在结直肠腺癌组织中高表达,且存在一定的相关性。

关键词:结直肠腺癌;bcl-2蛋白; β -catenin,免疫组织化学

结直肠癌(CRC)是全球范围内最常见的癌症之一,由于高转移和复发率,结直肠癌的生存率仍不满意^[1]。B细胞淋巴瘤-2(B-cell lymphoma-2,简称Bcl-2)在细胞凋亡中起着重要作用,在多种癌症中呈现高表达^[2-3]。Wnt信号通路通过三条不同的细胞内通路进行传递,包括经典Wnt/ β -catenin(β -连环蛋白)信号通路、“非经典”的Wnt/ Ca^{2+} (钙)通路和Wnt/PCP(平面细胞极性)通路。Wnt/ β -catenin通路主要调控发育过程中细胞的命运,而Wnt/PCP极性通路的主要功能是调节细胞骨架组织^[4]。本文探讨结直肠bcl-2与 β -catenin蛋白表达情况及与临床病理参数之间的关系,为结直肠腺癌的机制研究提供实验数据。

1 材料

1.1 标本来源 随机选取齐齐哈尔医学院临床病理诊断中心2020年1月~2021年6月期间根治性切除的原发性结直肠腺癌组织62例,在不影响病理诊断的前提下,收集癌组织典型病变部位,同时取距离癌组织5cm以上的远切端正常组织作为对照组,结直肠腺癌和远切端正常黏膜组织分别放入10%中性甲醛溶液固定,经石蜡包埋、HE染色证实均为结直肠腺癌。62例结直肠腺癌发病年龄小于60岁34例,大于等于60岁28例;男性29例,女性33例;发生部位结肠32例,直肠30例;高中分化33例,低分化29例;浸润未达肌层35例,达到或超过肌层27例;无淋巴结转移者27例,有淋巴结转移者35例;TNM分期

中I~II期33例,III~IV期29例。

1.2 主要试剂 兔抗人单克隆bcl-2抗体、 β -catenin抗体及免疫组织化学试剂盒及二氨基联苯胺(DAB)显色液均为福州迈新生物技术公司产品。

1.3 实验方法 免疫组织化学染色检测bcl-2、 β -catenin蛋白的表达 切片常规脱蜡水化后,PBS冲洗3次,修复液修复10min,内源性过氧化物酶封闭15分钟,滴加一抗bcl-2、 β -catenin室温1h,PBS洗3次,滴加二抗15分钟,DAB显色,苏木素复染。以PBS代替一抗作阴性对照。所有切片采用双盲法由两位病理医师独立阅片,结果判定采用半定量积分法。综合评分=染色强度计分+阳性细胞百分比计分:0~1分为阴性,2分及以上为阳性。 β -catenin染色结果判读标准按照Maruyama等^[5]的方法:细胞膜阳性表达细胞率>70%为正常表达,胞浆或胞核阳性表达细胞率>10%为阳性表达。

1.4 统计学分析 采用IBM SPSS26.0软件进行统计学分析。计数资料采用卡方检验,相关分析采用Spearman等级相关分析,用相关系数 r 值判定相关性,检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 结直肠腺癌组织bcl-2和 β -catenin蛋白的表达 bcl-2蛋白表达在细胞质, β -catenin蛋白阳性表达在胞质或胞膜,呈棕褐色颗粒状(图1)。bcl-2远切端正常黏膜和结直肠腺癌的表达率分别为11.3%(7/62)和56.5%(35/62),有统计学意义($P < 0.001$)。 β -catenin远切端正常黏膜和结直肠腺癌的表达率分别为45.2%(28/62)和90.3%(56/62),有统计学意义($P < 0.001$)(表1)。

基金项目:齐齐哈尔医学科学院临床科研基金项目
项目编号:QMSI2019L-25

作者简介:徐晨女 在读硕士研究生 助理实验师
于秀文女 博士 教授 通讯作者

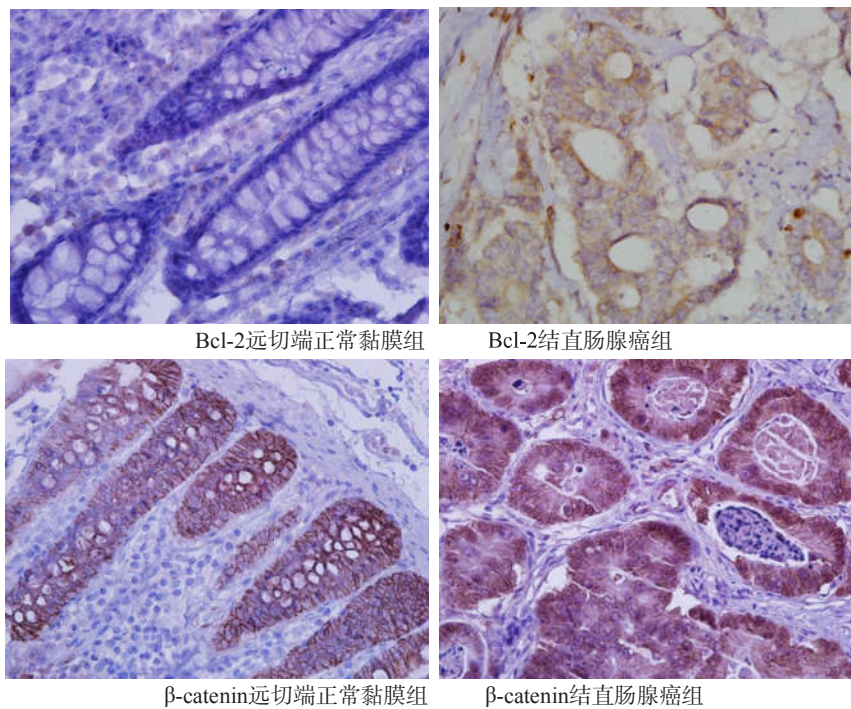


图1 结直肠腺癌组织bcl-2和β-catenin蛋白的表达 (免疫组织化学, 放大200倍)

表1 结直肠腺癌组织bcl-2和β-catenin蛋白的表达

	Bcl-2		β-catenin	
	+	-	+	-
远切断正常黏膜	7	55	28	34
结直肠腺癌	35	27	56	6
χ^2 值	28.228		28.933	
P值	< 0.001		< 0.001	

2.2 结直肠腺癌组织bcl-2蛋白与临床病理参数的关系
 结直肠腺癌组织bcl-2蛋白表达与患者的年龄、性别、肿瘤部位及分化程度无相关性, 与肿瘤的浸润深度、淋巴结转移及TNM分期有关 ($P < 0.05$); β-catenin蛋白表达与患者的年龄、性别、肿瘤部位及浸润深度无相关性, 与肿瘤的分化程度、淋巴结转移及TNM分期有关 ($P < 0.05$) (表2)。

表2 结直肠腺癌组织bcl-2和β-catenin表达与临床病理参数的关系 (N = 62)

临床参数	例数	Bcl-2 ⁺	χ^2 值	P值	β-catenin ⁺	χ^2 值	P值
年龄 (岁)	< 60	34	19	0.010	30	0.375	0.540
	≥ 60	28	16		26		
性别	男	29	17	0.104	27	0.482	0.488
	女	33	18		29		
肿瘤部位	结肠	32	20	0.984	28	0.603	0.438
	直肠	30	15		28		
分化程度	高中分化	33	22	2.995	33	7.559	0.006
	低分化	29	13		23		
浸润深度	< 肌层	35	13	12.189	32	0.112	0.737
	≥ 肌层	27	22		24		
淋巴结转移	无no	27	11	4.082	22	4.277	0.039
	有yes	35	24		34		
TNM分期	I ~ II	33	12	11.581	27	5.838	0.016
	III ~ IV	29	23		29		

2.3 结直肠癌中bcl-2和β-catenin表达的相关性分析
 β-catenin表达阳性的结直肠癌组织中有35例bcl-2表达阳

性, 21例bcl-2表达阴性; bcl-2和β-catenin表达均为阴性的标本有6例。bcl-2和β-catenin的表达情况经双变量相关分

析, Spearman系数 $r = 0.373$, $P = 0.003$, 二者表达有相关性 ($P < 0.01$), 见表3。

表3 bcl-2和 β -catenin在结直肠癌中表达的相关性

	β -catenin (+)	β -catenin (-)	r 值	P 值
Bcl-2(+)	35	0		
Bcl-2(-)	21	6		
			0.373	0.003

3 讨论

Bcl-2是近几年在临床上研究比较广泛的与凋亡有关的基因, 可以有效的抑制细胞中程序性的凋亡, 从而诱发恶性肿瘤^[6]。Bcl-2的失调是许多疾病的基础^[7]。Bcl-2是一种抗凋亡蛋白, 与多种癌症进展相关^[8], 是Bcl-2蛋白家族中第一个被记载的蛋白^[9]。Bcl-2是恶性肿瘤的潜在治疗靶点, 靶向Bcl-2蛋白可能通过化疗药物改善细胞凋亡^[10-11]。本实验中Bcl-2蛋白在结直肠癌中表达高于正常黏膜, 且与肿瘤的浸润深度、淋巴结转移及TNM分期有关 ($P < 0.05$)。

作为Wnt信号通路中的功能效应分子, β -catenin的修饰和降解是Wnt信号通路和结肠癌发生发展的关键因素^[12]。邹慧娟等^[13]在结直肠癌患者血清中发现了可以活化Wnt信号通路的一些因子, 活化后的Wnt信号通路会通过 β -catenin上调细胞增殖的相关因子, 促进结直肠癌细胞的增殖^[14-15]。本研究结果显示 β -catenin蛋白在结直肠癌中表达显著高于癌旁正常黏膜, 且与肿瘤的分化程度、淋巴结转移及TNM分期有关 ($P < 0.05$)。本研究在蛋白水平上研究了bcl-2和 β -catenin二者的表达情况及其与临床病理参数之间的关系。二者联合监测是否可以作为结直肠癌诊断的生物学标记物, 以及进一步了解二者相互作用机制将有助于疾病的诊断和靶向药物的研究。

参考文献

[1]Pita-Fernández S, Alhayek-Aí M, González-Martín C, López-Calviño B, Seoane-Pillado T, Pértega-Díaz S. Intensive follow-up strategies improve outcomes in nonmetastatic colorectal cancer patients after curative surgery: a systematic review and meta-analysis. *Ann Oncol*. 2015 Apr;26(4):644-656.

[2]Liu D, Chen C, Cui M, et al. miR-140-3p inhibits colorectal cancer progression and its liver metastasis by targeting BCL9 and BCL2[J]. *Cancer Med*,2021,10(10):3358-3372.

[3]Wang J, Yao S, Diao Y, et al. miR-15b enhances the proliferation and migration of lung adenocarcinoma by targeting BCL2[J]. *Thorac Cancer*,2020,11(6):1396-1405.

[4]Zhao H, Ming T, Tang S, Ren S, Yang H, Liu M, Tao Q,

Xu H. Wnt signaling in colorectal cancer: pathogenic role and therapeutic target. *Mol Cancer*. 2022 Jul 14;21(1):144.

[5] Maruyama K, Ochiai A, Akimoto S, et al. Cytoplasmic beta-catenin accumulation as a predictor of hematogenous metastasis in human colorectal cancer[J]. *Oncology*, 2000,59(4): 302-309.

[6]姚晓慧.miR-1915-3p和Bcl-2在结肠癌组织中的表达及其临床意义[J]. *中国当代医药*,2022,29(09):70-73.

[7]Banjara S, Suraweera CD, Hinds MG, Kvensakul M. The Bcl-2 Family: Ancient Origins, Conserved Structures, and Divergent Mechanisms. *Biomolecules*. 2020 Jan 12;10(1):128.

[8]Gilormini M, Malesys C, Armandy E, Manas P, Guy JB, Magné N, Rodriguez-Lafrasse C, Ardail D. Preferential targeting of cancer stem cells in the radiosensitizing effect of ABT-737 on HNSCC. *Oncotarget*. 2016 Mar 29;7(13):16731-44.

[9]Hockenbery D, Nuñez G, Milliman C, Schreiber RD, Korsmeyer SJ. Bcl-2 is an inner mitochondrial membrane protein that blocks programmed cell death. *Nature*. 1990 Nov 22;348(6299):334-6.

[10]Yoshino T, Shiina H, Urakami S, Kikuno N, Yoneda T, Shigeno K, Igawa M. Bcl-2 expression as a predictive marker of hormone-refractory prostate cancer treated with taxane-based chemotherapy. *Clin Cancer Res*. 2006 Oct 15;12(20 Pt 1):6116-24.

[11]Perini GF, Ribeiro GN, Pinto Neto JV, Campos LT, Hamerschlag N. BCL-2 as therapeutic target for hematological malignancies. *J Hematol Oncol*. 2018 May 11;11(1):65.

[12]Neiheisel A, Kaur M, Ma N, Havard P, Shenoy AK. Wnt pathway modulators in cancer therapeutics: An update on completed and ongoing clinical trials. *Int J Cancer*. 2022 Mar 1;150(5):727-740.

[13]邹慧娟,郑航,李明君,等. Wnt信号通路在结肠癌中的表达及其作用机制[J]. *中国老年学杂志*,2016,14(36):3373-3374.

[14]Li Z, Yan Z, Xu C, Dong Y, Xiong Y, Dai Y. Acetylshikonin attenuates angiotensin II-induced proliferation and motility of human brain smooth muscle cells by inhibiting Wnt/ β -catenin signaling. *Hum Cell*. 2018 Jul;31(3):242-250.

[15]Lee SC, Kim OH, Lee SK, Kim SJ. IWR-1 inhibits epithelial-mesenchymal transition of colorectal cancer cells through suppressing Wnt/ β -catenin signaling as well as survivin expression. *Oncotarget*. 2015 Sep 29;6(29):27146-59.