

肝癌组织中 HCV 感染与凋亡相关基因 bcl-2、bax 及 ICH-1 表达的关系

郭琳琅袁颖袁长安第一军医大学珠江医院病理科袁广东 广州 510282 冤

摘要目的 探讨 HCV 感染与凋亡相关基因 bcl-2、bax 及 ICH-1 表达的关系及其在肝癌发生中的作用遥方法 采用免疫组化 SP 法观察 40 例肝细胞性肝癌组织中 HCV 抗原 NS5 抗原 bcl-2、bax 及 ICH-1 的表达遥结果 40 例肝癌组织中 NS5 抗原阳性 11 例袁阳性率为 27.5%遥癌旁组织阳性 5 例袁阳性率为 12.5%遥 11 例 HCV 阳性的肝癌组织中 bcl-2 阳性 1 例袁 bax 阳性 1 例袁两者之比为 1:1 遥 ICH-1L 阳性 5 例袁 ICH-1S 阳性 6 例袁两者之比为 1:1.2 遥 29 例 HCV 阴性的肝癌中 bcl-2 阳性 6 例袁 bax 阳性 7 例袁两者之比为 1:1.1 遥 ICH-1L 阳性 10 例袁 ICH-1S 阳性 15 例袁两者之比为 1:1.5 遥两组间比较均无明显差异 (P>0.05)遥结论 bcl-2、bax 及 ICH-1 基因表达异常可能与肝细胞癌变有关袁但 HCV 可能不是引起 bcl-2、bax 及 ICH-1 表达异常的主要原因遥

关键词 肝癌 丙型肝炎病毒 凋亡基因 bcl-2、bax、ICH-1

中图分类号 R735.7 文献标识码 B 文章编号 000-2588(2002)09-0797-03

Relationship between hepatitis C virus infection and expression of apoptosis-related gene bcl-2, bax and ICH-1 in hepatocellular carcinoma tissues

GUOLin-lang, GUOYing, CAOChang-an

Department of Pathology, Zhujiang Hospital, First Military Medical University, Guangzhou 510282, China

Abstract: Objective To study the association between hepatitis C virus (HCV) infection and expression of apoptosis-related gene bcl-2, bax and ICH-1, and explore the significance of HCV infection in the tumorigenesis of hepatocellular carcinoma (HCC). Methods The expression of HCV antigen (NS5) along with bcl-2, bax and ICH-1 proteins was investigated in 40 specimens of hepatocellular carcinomas by immunohistochemistry method, with 13 normal liver tissues serving as control. Results Eleven carcinoma specimens were positive for NS5 antigen, accounting for a positive rate of 27.5%, and 5 tissues specimens adjacent to the carcinomas were identified as positive, with a rate of 12.5%. Of the 11 carcinoma tissues positive for NS5, bcl-2 and bax were positive respectively in 1 case (showing a ratio of 1:1), and ICH-1L and ICH-1S were positive in 5 and 6 cases respectively (showing a ratio of 1:1.2). Among the 29 NS5-negative cases, bcl-2 and bax were positive in 6 and 7 cases respectively constituting a ratio of 1:1.1, while ICH-1L and ICH-1S were identified in 10 and 15 cases respectively, at the ratio of 1:1.5. No significant differences were found between NS5-positive and -negative groups (P>0.05). Conclusion Aberrant expression of bcl-2, bax and ICH-1 may be related to HCC genesis, but HCV infection may not be the principal cause for their expression aberrance.

Key words: hepatocellular carcinoma; hepatitis C virus; apoptosis gene; bcl-2; bax; ICH-1

大量研究表明 HCV 感染与肝癌发生关系密切袁但其肝细胞癌变过程中的作用机制尚不清楚遥本研究采用免疫组化技术通过分析原发性肝细胞性肝癌组织中 HCV 抗原与凋亡相关基因 bcl-2、bax 及 ICH-1 表达的关系袁从细胞凋亡角度探讨 HCV 在肝癌发生中的作用遥

第一抗体为 HCV 抗原 NS5 单克隆抗体渊北京医科大学肝病研究所研制袁克隆号 8B2 渊购自武汉博士德公司冤另有鼠抗 bcl-2 单克隆抗 (Maxim 公司产品) 尧兔抗 bax 多克隆抗体 渊anta Cruz 公司产品冤 ICH-1L 和 ICH-1S 多克隆抗体 渊anta Cruz 公司产品冤及 SP 染色试剂盒 (Zymed 公司产品)遥采用免疫组化 SP 法染色袁AB 显色遥每例均设阴性和阳性对照遥结果判定细胞浆中出现棕黄色颗粒为 NS5 抗原 bcl-2、bax 及 ICH-1 染色阳性遥

1 材料与方法

1.1 标本来源

选自我院手术切除的原发性肝细胞性肝癌标本 40 例袁根据 Edmondson-Steiner 分类法袁将 40 例肝癌分为玉级 9 例袁瓷级 18 例袁瓷~郁级 13 例遥取尸检和肝外伤的正常肝组织 13 例作为对照遥

1.2 免疫抗体和染色方法

1.3 统计学处理

采用 字检验遥

2 结果

2.1 肝癌组织中 NS5 抗原检测

40 例肝癌中 NS5 抗原阳性 11 例袁阳性率为 27.5%遥其中玉级 2 例袁瓷级 5 例袁瓷~郁级 4 例袁各组织学分级间 NS5 阳性率无明显差异 (P>0.05)遥癌旁组织中 NS5 抗原阳性 7 例袁阳性率 17.5%遥

收稿日期 2002-05-08

作者简介 郭琳琅 1962 年袁安徽阜阳人袁 1991 年毕业于中山医科大学袁硕士渊教授)渊主任医师)遥电话 20-61643495 袁 e-mail: linlangg@yahoo.com

2.2 Bcl-2 和 bax 在肝癌和癌旁组织中的表达

40 例肝癌组织中 bcl-2 阳性 6 例... 2.3 肝癌和癌旁组织中 ICH-1 的表达

13 例正常肝中 ICH-1L 阳性 3 例... 遥两者阳性率间之比为 1 颐 7 遥

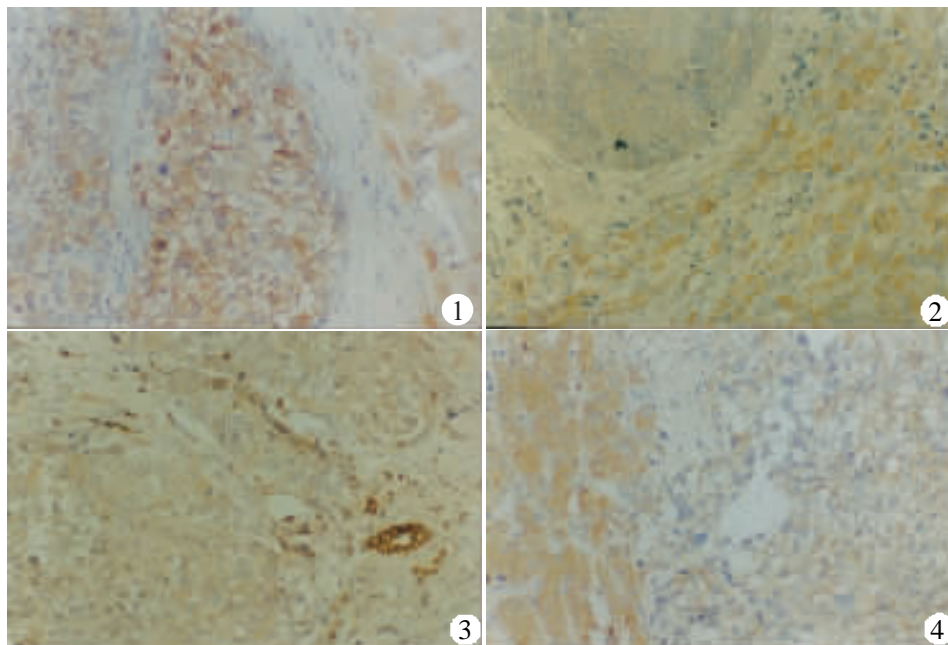


图 1 肝癌细胞和癌旁肝细胞 HCV-NS5Ag 阳性(免疫组化染色伊00) Fig.1 Positive staining for bax protein in the cytoplasm of hepatocarcinoma cells and adjacent hepatocytes

图 2 肝癌细胞 bcl-2 蛋白弱阳性... Fig.2 Weak positive staining for bcl-2 protein in the cytoplasm of hepatocarcinoma cells, but strong reaction in adjacent small bile duct epithelium

图 3 肝癌细胞 bax 蛋白弱阳性... Fig.3 Weak positive staining for bax protein in the cytoplasm of hepatocarcinoma cells, but strong reaction in adjacent hepatocytes

图 4 肝癌细胞和癌旁肝细胞 ICH-1L 均呈阳性染色... Fig.4 Positive staining for ICH-1L in the cytoplasm of hepatocarcinoma cells, especially obvious in adjacent hepatocytes

2.4 NS5 检出率与 bcl-2 尧 bax 及 ICH-1 表达的关系

11 例 NS5 阳性的肝癌组织中 bcl-2 阳性 1 例... 遥 29 例 NS5 阴性的肝癌组织中 bcl-2 阳性 5 例

ICH-1L 阳性 10 例... 遥 5 例 NS5 阳性的癌旁肝细胞中 bcl-2 阳性 1 例... 遥 5 例 NS5 阴性的癌旁细胞中 bcl-2 阳性 7 例

1 例 ICH-1L 阳性 25 例 ICH-1S 阳性 27 例两者之比为 1 例 0.8 遥两组间比较均无明显差异 $P > 0.05$ 表 2 冤

表 1 肝内癌组织、癌旁组织及正常组织中 bcl-2、bax、ICH-1L 及 ICH-1S 的表达例数冤

Tab.1 Expression of bcl-2, bax, ICH-1L and ICH-1S in tumor tissues, adjacent tissues and normal tissues

(number of cases)

Group	Total cases	Positivenumber			
		bcl-2	bax	ICH-1L	ICH-1S
Grade Ⅰ	40	6	8	15	21
域	9	1	2	3	4
芋-郁	18	3	4	7	11
Adjacent tissues	13	2	2	5	6
Normal tissues	40	8	25	29	31
Tumor tissues	13	1	6	3	2

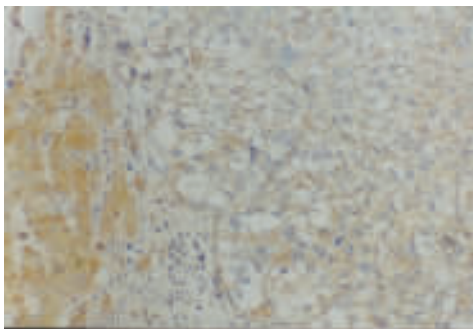


图 5 肝癌细胞和癌旁肝细胞 ICH-1S 均呈阳性染色 以癌旁细胞明显 免疫组化染色 $\times 400$ 冤

Fig.5 Positive staining for ICH-1S in the cytoplasm of hepatocarcinoma cells, especially obvious in adjacent hepatocytes (Immunohistochemical staining, $\times 400$)

表 2 NS5 检出与 bcl-2、bax 及 ICH-1 表达的关系

Tab.2 Relationship of HCV-NS5 with bcl-2 and bax expression in HCC

HCV-NS5	bcl-2		bax		ICH-1L		ICH-1S	
	+	-	+	-	+	-	+	-
Positive	1	10	1	10	2	9	3	8
Negative	5	24	7	22	4	25	7	22

3 讨论

HCV 在肝癌发生中的作用机制尚不完全清楚 但已取得一定的进展 研究发现 HCV 能激活转化生长因子 α 、 β 和胰岛素样生长因子域 α 、 β 域 而影响肝细胞的生长 分化和增殖 最终引起肝细胞癌变 最近 Ray 等 发现 HCV 核心蛋白对野生型 p53 基因的转录有抑制作用 从而促进细胞增生 近年来的研究表明 细胞凋亡相关基因与肝癌形成有一定关系 而 HCV 感染与凋亡相关基因的关系尚未见报道 遥

Bcl-2 和 bax 是近年来研究较多的凋亡相关基

因 表 cl-2 是凋亡抑制基因 而 bax 是凋亡促进基因 表 bcl-2 和 bax 可形成异源二聚体 表外研究发现两者间的比例关系 决定着细胞是否存活或凋亡 遥 本研究发现正常肝组织中 bcl-2 与 bax 间的阳性率之比为 1 例 1.3 表 癌旁组织中两者之比为 1 例 1.3 表 癌组织中两者之比为 1 例 3.3 遥 可见从正常肝细胞 癌旁肝细胞 肝癌细胞的过程中 表 cl-2 与 bax 间的比值逐渐增大 表肝细胞的凋亡状态发生了改变 表促进细胞凋亡的作用逐渐降低 表抑制细胞凋亡的作用逐渐增强 表肝细胞凋亡状态的异常可能是肝癌发生中的重要原因之一 遥 陈燕等 报道在急性髓细胞白血病中 bcl-2/bax 比率较正常骨髓细胞明显增高 表 cl-2/bax 比率异常在急性髓细胞白血病的发生 发展及药物耐受中起着重要的作用 遥 分析 HCV 感染对 bcl-2 和 bax 比例关系的影响 表发现癌组织或癌旁组织中 NS5 阳性和阴性组 bcl-2 和 bax 阳性率之比近似 遥 提示 HCV 感染可能不是引起 bcl-2 和 bax 比率变化的主要原因 遥

ICH-1 是新近发现的一种与细胞凋亡有关的基因 表属蛋白酶 ICE 家族中的一员 遥 ICH-1 有 2 种 mRNA 表 ICH-1S 和 ICH-1L 表 分别编码 2 种相应蛋白 遥 ICH-1L 过度表达可诱导细胞凋亡 表 ICH-1S 过度表达则阻止凋亡发生 遥 遥 ICH-1 与肿瘤关系的研究尚少 遥 本研究对 ICH-1 与肝癌的关系进行了研究 遥 结果显示 40 例肝癌中 15 例 ICH-1L 阳性 表阳性率为 37.5% 表 1 例 ICH-1S 阳性 表阳性率为 52.5% 遥 较正常肝细胞增加 表以 ICH-1S 增加显著 ($P < 0.05$ 冤 遥 正常肝组织中 ICH-1L 和 ICH-1S 阳性率之比为 1 例 0.7 遥 癌旁组织中两者阳性率之比为 1 例 0.7 遥 癌组织中两者阳性率之比为 1 例 4 遥 从正常肝细胞 癌旁肝细胞 肝癌细胞过程中 表 ICH-1L 和 ICH-1S 阳性率之比逐渐减小 表促进细胞凋亡的作用逐渐降低 表抑制细胞凋亡的作用逐渐增强 表与 bcl-2/bax 的变化对肝细胞凋亡所产生的影响相同 遥 表明 bcl-2、bax 及 ICH-1 可能是引起肝细胞凋亡状态异常的重要病因 表在肝细胞癌变过程中可能起重要作用 遥 分析 HCV 感染与 ICH-1 表达异常的关系 表发现癌组织或癌旁组织中 NS5 阳性和阴性组 ICH-1L 和 ICH-1S 阳性率之比近似 遥 表明 HCV 感染可能也不是引起 ICH-1 表达异常的主要原因 遥 遥 bcl-2、bax 及 ICH-1 表达异常和 HCV 感染与肝癌发生的关系有待于进一步阐明 遥

本研究还发现癌旁肝组织中 bcl-2、bax、ICH-1L 及 ICH-1S 的表达均高于癌组织和正常肝组织 表凋亡基因蛋白的合成增加与凋亡基因的功能活跃有关 遥 但具体原因尚不清楚 表于是是否提示肝细胞发生癌变的可能性增加 表能否作为预测肝细胞癌变的一项指标 表还需作进一步的研究证实 遥