

霍奇金淋巴瘤潜伏膜蛋白 1 及 p53 及 bcl-2 蛋白的表达及意义

齐宗利袁 彭彤袁 新华袁 张进华袁 韩西群袁 梅刚渊 第一军医大学病理学教研室袁 广东 广州 510515 冤

摘要 目的 探讨 EB 病毒潜伏膜蛋白 LMP1 及 p53 及 bcl-2 的蛋白表达在霍奇金淋巴瘤发病机制中的作用及其意义 方法 对收集的 31 例石蜡包埋的 HL 组织进行 LMP1 及 p53 及 bcl-2 蛋白免疫组化染色 结果 LMP1 及 p53 及 bcl-2 的阳性率分别为 58.1% 及 1.3% 及 5.5% 结论 LMP1 与 p53 相关性分析具有统计学意义 结论 p53 可能参与 LMP1 在 HL 致病机制中的作用 bcl-2 可能与 HL 的致病关系不大

关键词 霍奇金病 疱疹病毒 4 型 病毒包膜蛋白质类 蛋白质 p53 原癌基因蛋白质 c-bcl-2 免疫组织化学

中图分类号 R392.31;R733 文献标识码 文章编号 000-2588(2003)03-0225-03

Expressions of latent membrane protein 1, p53 and bcl-2 proteins and their significance in Hodgkin's lymphoma

QIZong-li,ZHAOTong,ZHOUXin-hua,ZHANGJin-Hua,HANXi-qun,ZHUMei-gang

Department of Pathology,FirstMilitaryMedicalUniversity,Guangzhou510515,China

Abstract: Objective To study the expression of latent membrane protein 1 (LMP1), p53 and bcl-2 proteins and investigate their significance in the pathogenesis of Hodgkin's lymphoma. Methods Immunohistochemical staining was used to examine the expressions of LMP1, bcl-2, and p53 proteins in 31 paraffin-embedded tissue samples from Hodgkin's lymphoma. Results The positivity rates of LMP1, p53 and bcl-2 proteins were 58.1% (18/31), 61.3% (19/31) and 35.5% (11/31), respectively, showing a statistically significant difference between the expressions of the former 2 proteins. Conclusion p53 may be involved as an important agent in the pathogenesis of Hodgkin's lymphoma induced by LMP1, whereas bcl-2 appears unrelated to the development of this disease.

Key words: Hodgkin disease; herpesvirus 4, human; viral envelope proteins; protein p53; proto-oncogene proteins c-bcl-2; immunohistochemistry

霍奇金淋巴瘤 Hodgkin's lymphoma 是一种与 EB 病毒 Epstein-Barr virus 密切相关的肿瘤。EB 病毒潜伏膜蛋白 1 (latent membrane protein 1, LMP1) 的表达在癌细胞增殖和凋亡中起重要作用。有研究证明 p53 和 bcl-2 的表达可使 DNA 受损的细胞持续生存,增加了基因变异的概率,从而促使肿瘤的发生。p53 和 bcl-2 蛋白是否也参与 HL 中 LMP1 的致病机制,相关报道较少。本研究试图通过对 HL 蜡块组织中 LMP1 及 p53 及 bcl-2 三者蛋白表达水平的测定,探讨他们在 HL 发生与发展中的作用,并为 HL 的预后提供理论依据。

例年龄 6.6 岁,男女比例为 5.2。所有病例均分别由两位淋巴瘤专家按照 WHO 最新分类,采用双盲法进行分型。其中 1 例为淋巴细胞为主型 (lymphocyte predominant), 5 例为混合细胞型 (mixed cellularity), 1 例为结节硬化型 (nodular sclerosis), 5 例为

1.2 方法

将蜡块组织连续切片,厚约 3~4 μm,贴附于硅胶处理过的载玻片上,染色前 5 烤片 30 min。常规脱蜡,梯度酒精水化。免疫组织化学采用北京中山生物试剂公司生产的超敏 SP 通用免疫组化试剂盒。即用型,按照试剂盒说明书所述方法进行。LMP1 鼠单克隆抗体为 DAKO 公司产品,用前 1:100 稀释。鼠抗 bcl-2 和 p53 蛋白单克隆抗体为北京中山公司即用型产品。用已知阳性对照切片作为阳性对照,以病理诊断为良性淋巴组织增生的淋巴结组织作为阴性对照。

1.3 结果判断

以镜下所见肿瘤 R-S 细胞 Reed-Sterberg cell 明显的棕黄色颗粒为阳性。LMP1 为胞膜及胞质阳性, p53 为胞核阳性, bcl-2 为胞质阳性。

1.4 统计学处理

1 材料和方法

1.1 材料来源

31 例 HL 蜡块组织为 1984 年 1 月~2000 年 12 月间第一军医大学附属南方医院和广州军区总医院病理科收集的病例。每个蜡块组织对应 1 个病例。

收稿日期 2002-10-24

基金项目 国家自然科学基金 9970692

Supported by National Natural Science Foundation of China (39970692)

作者简介 齐宗利,男,1968 年,山西岐山人,第一军医大学在读博士研究生。电话 20-61648228, E-mail: qizongli@sina.com

采用 SPSS10.0 软件进行配对计数资料的 字检验及相关分析遥

2 结果

2.1 LMP1 尧 p53 尧 bcl-2 蛋白在 HL 中的表达

HL 中 LMP1 与 bcl-2 阳性表达于 R-S 细胞的胞

质中或胞膜上尧 p53 则在胞核表达遥 图 1~3 显示 LMP1 尧 p53 尧 bcl-2 的阳性率分别为 58.1% 渊 8/31 尧 61.3% 渊 9/31 尧 和 35.5% 渊 11/31 尧 遥 三者在不同类型 HL 中的表达情况见表 1 遥 各型中 LMP1 以 LP 型最高尧 其次为 MC 型 尧 bcl-2 以 NS 型较高尧 p53 在各型中的表达率比较接近遥

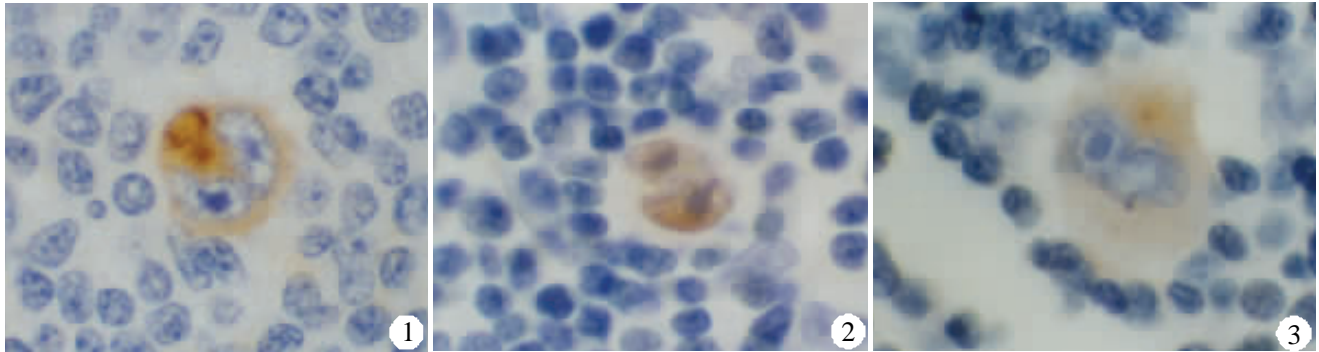


图 1 霍奇金淋巴瘤 R-S 细胞胞质和胞膜 LMP1 蛋白阳性表达尧 免疫组织化学染色尧 伊 000 冤

Fig.1 Positive staining for LMP1 protein in the cytoplasm and membrane of Reed-Sterberg cells of Hodgkin's lymphoma (Immunohistochemicalstaining, 伊 000)

图 2 霍奇金淋巴瘤 R-S 细胞胞核 p53 蛋白阳性表达尧 免疫组织化学染色尧 伊 000 冤

Fig.2 Positive staining for p53 protein in the nucleus of Reed-Sterberg cells of Hodgkin's lymphoma (Immunohistochemicalstaining, 伊 000)

图 3 霍奇金淋巴瘤 R-S 细胞胞质 bcl-2 蛋白阳性表达尧 免疫组织化学染色尧 伊 000 冤

Fig.3 Positive staining for bcl-2 protein in the cytoplasm of Reed-Sterberg cells of Hodgkin's lymphoma (Immunohistochemicalstaining, 伊 000)

表 1 LMP1 尧 p53 和 bcl-2 蛋白在霍奇金淋巴瘤中的表达 [例数(%)]

Tab.1 Expressions of LMP1, p53 and bcl-2 proteins in Hodgkin's lymphoma [cases(%)]

Subtype	n	LMP1	p53	bcl-2
LP	15	13(86.7)	9(60.0)	5(30.0)
MC	11	5(45.5)	7(63.6)	3(27.3)
NS	5	0(0.0)	3(60.0)	3(60.0)

LMP1:Latentmembraneprotein1;LP:Lymphocyte predominant;MC:Mixedcellularity;NS:Nodularsclerosis

表 2 LMP1 蛋白与 bcl-2 和 p53 蛋白表达的关系尧 例数尧 冤
Tab.2 Relationship of LMP1 with bcl-2 and p53 protein expressions (cases)

Group		LMP1positive	LMP1negative
bcl-2	Positive	7	4
	Negative	11	9
p53	Positive	15	4
	Negative	3	9

2.2 LMP1 的表达与患者年龄及 p53 尧 bcl-2 的相关性分析

本次收集蜡块组织所代表的病例尧 男性 26 例尧 女性仅 5 例尧 尧 性别分析意义不大遥 对病例的年龄进行分组发现尧 未成年组 渊 18 岁 冤 所有病例 LMP1 均呈阳性尧 10/10 尧 尧 明显高于成年组的阳性率 38.1% (8/21) 尧 具有显著的统计学意义 渊 <0.01 冤 遥 对 LMP1 与 bcl-2 和 p53 蛋白的表达结果进行配对计数资料的 字检验尧 尧 结果见表 2 遥 LMP1 与 bcl-2 间配对比较无显著性差异 曰 而 LMP1 与 p53 之间统计学差异显著 渊 <0.01 冤 尧 说明 p53 与 LMP1 具有相关性遥

流行病学尧 分子生物学及免疫学等方面已经证实 L 与 EBV 的感染有关尧 但 EBV 的感染率各家报道有所差别尧 在北美和欧洲等发达国家尧 BV 的检出率 20%~50% 曰 在秘鲁和肯尼亚等不发达国家高达 90% 曰 我国报道的检出率处于 48%~57% 之间 遥 本研究 HL 蜡块组织 LMP1 的阳性率为 58.1% 尧 处于我国以往报道的上限 遥 同时尧 本实验收集的 HL 各亚型中尧 LMP1 的阳性率以 LP 型最高尧 MC 型次之 遥 此结果与以前报道的 MC 型阳性率最高有所不同 尧 这可能与本次收集的病例中 LP 型比例较高 渊 8.4% 冤 有关 遥 我们还发现尧 在 10 例年龄小于 18 岁的病例中尧 所有病例 LMP1 均呈阳性尧 而成人组只有 38.1% 遥 本结果高于 Zhou 尧 及李佩娟 有关儿童 HL 患者 EBV 感染率的报道尧 后两者的感染率分别是 89% 和 81.7% 遥

3 讨论

以上两种情况如果排除病例数较少等原因是否与广东地区 HL 患者所携带的 EBV 病毒株的致病性较强等因素有关尚需通过增加病例数及细胞和分子生物学实验进一步研究证实

LMP1 的致瘤性一直是 EBV 相关疾病的研究热点。LMP1 在 HL 致病过程中是否也伴随某些癌基因如 c-myc 或抑癌基因如 p53 的活化或失活和表达。有研究认为 LMP1 可通过 A20 一种抗凋亡基因阻碍 p53 的表达而抑制癌细胞的凋亡。而另有研究发现 LMP1 对癌细胞增殖和凋亡的作用可能并不受 p53 及 bcl-2 蛋白表达的影响。本结果表明 LMP1 蛋白的表达与 p53 蛋白的表达有一定相关性。而与 bcl-2 无相关性。故我们认为 p53 在 LMP1 致病机制中一定作用。而 bcl-2 可能在 LMP1 致病过程中意义不大。该结果在研究鼻咽癌和 HL 与凋亡相关基因关系时得到了初步证实。但其具体机制尚需深入探讨。

参考文献

- Flavell KJ, Murray PG. Hodgkin's disease and the Epstein-Barr virus. *Clin Pathol*, 2000, 53(5):262-9.
- 齐宗利, 赵彤, 朱梅刚. EB 病毒与霍奇金淋巴瘤关系的研究进展. *实用癌症杂志*, 2002, 17(2):221-3.
- Qi ZL, Zhao T, Zhu MG. The advances of Epstein-Barr and Hodgkin lymphoma. *Pract Cancer*, 2002, 17(2):221-3.
- Elgui-de-Oliveira D, Bacchi MM, Abreu ES, et al. Hodgkin disease in adult and juvenile groups from two different geographic regions in Brazil: characterization of clinicopathologic aspects and relationship with Epstein-Barr virus infection. *Am J Clin Pathol*, 2002, 118(1):25-30.

- Harris NL, Jaffe ES, Diebold J, et al. The World Health Organization classification of neoplasms of the hematopoietic and lymphoid tissues: report of the Clinical Advisory Committee meeting, Airlie House, Virginia, November, 1997. *Hematol J*, 2000, 1(1):53-66.
- 徐钢, 杨红, 文锦, 等. EB 病毒与何杰金病关系的研究. *临床与实验病理学杂志*, 1996, 12(2):105-7.
- Xu G, Yang H, Wen J, et al. The association between Epstein-Barr Virus and Hodgkin's disease. *J Clin Exp Pathol*, 1996, 12(2):105-7.
- Zhou XG, Sandvej K, Li PJ, et al. Epstein-Barr virus (EBV) in Chinese pediatric Hodgkin disease: Hodgkin disease in young children is an EBV-related lymphoma. *Cancer*, 2001, 92(6):1621-31.
- 李佩娟, 周晓鸽, 刘淑荣, 等. 82 例小儿何杰金淋巴瘤与 EB 病毒相关的研究. *中华病理学杂志*, 1994, 23(4):224-6.
- Li PJ, Zhou XG, Liu SR, et al. The association of Epstein-Barr virus with Hodgkin's lymphoma in childhood. *Chin J Pathol*, 1994, 23(4):224-6.
- Codd JD, Salisbury JR, Packham G, et al. A20 RNA expression is associated with undifferentiated nasopharyngeal carcinoma and poorly differentiated head and neck squamous cell carcinoma. *J Pathol*, 1999, 187(5):549-55.
- 刘克拉, 宗永生, 张昌卿. 鼻咽癌组织中 EB 病毒 LMP1 表达与癌细胞增殖和凋亡的关系. *癌症*, 1999, 18(1):23-6.
- Liu KL, Zong YS, Zhang CQ. The correlation between Epstein-Barr virus gene encoded LMP-1 and proliferation and apoptosis of nasopharyngeal carcinoma cells. *Chin J Cancer*, 1999, 18(1):23-6.
- Preciado MV, Chabay PA, DeMatteo EN. Epstein-Barr virus associated pediatric nasopharyngeal carcinoma: its correlation with p53 and bcl-2 expression. *Med Pediatr Oncol*, 2002, 38(5):345-8.
- Lauritzen AF, Moller PH, Nedergaard T, et al. Apoptosis-related genes and proteins in Hodgkin's disease. *APMIS*, 1999, 107(7):636-44.

责任编辑 黄开颜

连接 221 页

- Schafer S, Zerbo O, Gressner AM. The synthesis of proteoglycans in fat-storing cells of rat liver. *Hepatology*, 1987, 7(4):680-7.
- Kakar SS, Sellers JC, Devor DC, et al. Angiotensin II type-1 receptors subtype cDNAs: differential tissue expression and hormonal regulation. *Biochem Biophys Res Commun*, 1992, 183(3):1090-6.
- Song L, Wang D, Cui X, et al. Kinetic alterations of angiotensin-II and nitric oxide in radiation pulmonary fibrosis. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*, 1998, 17(2):141-50.
- Ruiz Ortega M, Egidio J. Angiotensin II modulates cell growth-related events and synthesis of matrix proteins in renal interstitial fibroblasts. *Kidney Int*, 1997, 52(6):1497-510.
- Border WA, Noble NA. Interactions of transforming growth factor-beta and angiotensin II in renal fibrosis. *Hypertension*, 1998, 31(1pt2):181-8.
- 张艺军, 杨希山, 吴平生. 一种简便又经济的肝脏脂肪细胞分离方法. *第一军医大学学报*, 2001, 21(4):304-6.
- Zhang YJ, Yang XS, Wu PS, et al. A simple and economic method for isolating hepatic lipocytes. *J First Mil Med Univ*, 2001, 21

(4):304-6.

- Fujii K, Umemoto S, Fujii A, et al. Angiotensin II type 1 receptor antagonist downregulates nonmuscle myosin heavy chains in spontaneously hypertensive rat aorta. *Hypertension*, 1999, 33(4):975-80.
- Leyland H, Gentry J, Arthur MJ, et al. The plasminogen-activating system in hepatic stellate cells. *Hepatology*, 1996, 24(5):1172-8.
- Ramires FJ, Sun Y, Weber KT. Myocardial fibrosis associated with aldosterone or angiotensin II administration: attenuation by calcium channel blockade. *Mol Cell Cardiol*, 1998, 30(3):475-83.
- Kim S, Ohta K, Hamaguchi A, et al. Effects of an AT1 receptor antagonist, an ACE inhibitor and a calcium channel antagonist on cardiac gene expressions in hypertensive rats. *Br J Pharmacol*, 1996, 118(3):549-56.
- Sun Y, Ramires FJ, Weber KT. Fibrosis of atria and great vessels in response to angiotensin II or aldosterone infusion. *Cardiovasc Res*, 1997, 35(1):138-47.
- Brilla CG, Schencking M, Scheer C, et al. Spironolactone: renaisance of anti-aldosterone therapy in heart failure. *Schweiz Rundsch Med Prax*, 1997, 86(14):566-74.