文章编号:1000-5404(2006)17-1821-02

经验交流

Bcl-2 和 Ki-67 在肾细胞癌中的表达

李 鸣[1],张红宾[1],张惠中[2] ([1]解放军第 3 医院泌尿外科,宝鸡 721004;[2]第四军医大学唐都医院中心实验室,西安 710038)

肾细胞癌(renal cell carcinoma, RCC)是最常见的肾脏恶性肿瘤,生物学行为及预后难以估计。Bcl-2 基因是在 t(14;18)染色体易位断点处发现的一种癌基因,是人类滤泡型淋巴瘤的遗传学标志[1-3],具有阻断程序化细胞死亡作用。Ki-67 最初是以何杰金氏细胞系 L428 细胞核成份制备的单抗,是针对处于增殖周期的人类细胞核抗原的抗体,其表达与细胞增殖高度相关[2]。近年来研究表明它们与人类多种肿瘤有关[2,4,5]。我们应用免疫组化法对人肾细胞癌 Bcl-2 及 Ki-67 基因产物进行检测,以研究其在肾细胞癌中的表达并讨论其临床意义。

1 材料与方法

1.1 材料

确诊的肾实质癌且行根治手术患者 59 例,男性 39 例,女性 20 例,年龄 20~67 岁,平均 49 岁。右侧 38 例,左侧 21 例。临床无症状由体检偶然发现者 11 例。临床表现单纯腰痛者 17 例,血尿 16 例,腹部肿块 7 例。临床表现为腰痛并血尿者 6 例,腹部肿块并血尿者 5 例,腰痛并腹部肿块者 4 例,有血尿、腰痛和腹部肿块者 7 例。肺转移且无明显症状 2 例,脊椎转移伴局部疼痛 1 例。B 超检查 52 例,阳性率 89%,CT 检查 49 例,阳性率 97%,MRI 检查 12 例,阳性率 98%,静脉尿路造影(IVU)检查 55 例,阳性率 24%。TNM 分期:T_1 期 27 例,T_2 期 20 例,T_3 期 7 例,T_4 期 5 例。Fuhrman 标准分级:Ⅰ级 17 例,Ⅱ级 26 例,Ⅲ级 10 例和Ⅳ级 6 例。组织学类型:透明细胞癌 48 例,颗粒细胞癌 5 例,混合细胞癌 3 例,乳头状腺癌 2 例,未分化癌 1 例。病理检查有淋巴结转移者 5 例(8.5%),其中 T_1 期 1 例,T_2 期 2 例,T_3 期和 T_4 期各 1 例。随访(3~72 个月)56 例患者中,T_1 期 27 例平均≥24 个月,T_2 期 19 例手术后生存 15~66(平均 30)个月,T_3 期 6 例术后生存 3~54(平均 15)个月,T_4 期 4 例生存 3~6(平均 3.5)个月。6 例正常肾组织作为对照。

1.2 方法

标本行 LSAB(labeled streptavidin-biotin)免疫组化染色,鼠抗人 Bcl-2 单克隆抗体、兔抗人 Ki-67 多克隆抗体、生物素标定的兔抗鼠或猪抗兔 IgG 均为丹麦 Dako 公司产品。用 Tris-HCl 缓冲液替代一抗作阴性对照。Bcl-2 染色细胞质和/或细胞膜染成棕黄色为阳性,Ki-67 细胞核染成棕黄色为阳性。肿瘤细胞相应部位不着色者为阴性。在高倍镜下,选择 10 个有代表性的视野计数,每个视野计数 100 个肿瘤细胞。Bcl-2 阳性细胞数占肿瘤细胞数 <15% 为(+),15%~30% 为(++),30%~50% 为(+++),>50% 为(++++)。Ki-67 阳性细胞数 <25% 为(+),25%~50% 为(++),50%~75%(++++),>75% 为(++++)。低表达:(+~++),高表达:(+++~++++)。

1.3 统计学方法

应用 SPSS 11.0 软件进行统计学处理,各项指标间差别检验应用 χ^2 检验及确切概率法。

2 结果

正常肾组织 6 例 Bcl-2 均为阴性反应。肾细胞癌 59 例中 Bcl-2 表达为阴性 16 例(27.1%),低表达 13 例(22.0%),高表达 30 例(50.9%),总阳性表达 42 例(71.2%)。Bcl-2 阳性染色位于细胞质和细胞膜,细胞核未见染色。Bcl-2 表达与肾癌分期、分级相关,随着肾癌分期、分级的上升而降低($P<0.05$),但与组织学类型未见相关($P>0.05$,表 1)。

表 1 Bcl-2 在肾癌不同分期和组织类型中表达情况

分类	n	−	+	++	+++	++++	阳性[n,(%)]
TNM 分期							
T_1	27	4	1	2	7	13	23(85.2)
T_2	20	7	2	4	5	2	13(65.0)
T_3	7	2	1	2	2	0	5(71.4)
T_4	5	3	1	0	1	0	2(40.0)
Fuhrman 标准分级							
Ⅰ	17	2	1	1	3	10	15(88.2)
Ⅱ	26	6	1	5	9	5	20(76.9)
Ⅲ	10	4	2	2	2	0	6(60.0)
Ⅳ	6	4	1	0	1	0	2(33.3)
组织学类型							
透明细胞癌	48	16	2	6	12	12	32(66.7)
颗粒细胞癌	5	0	1	2	1	1	5(100)
混合细胞癌	3	0	1	0	1	1	3(100)
乳头细胞癌	2	0	0	0	1	1	2(100)
未分化癌	1	0	1	0	0	0	1(100)

在正常肾组织 6 例中未见 Ki-67 表达,59 例肾细胞癌中 Ki-67 为阴性 27 例(45.8%),低表达 16 例(27.1%),高表达 6 例(10.2%),总阳性 32 例(54.2%)。Ki-67 阳性染色定位于细胞核和核膜上,细胞质未见染色。Ki-67 表达有随肾癌分期、分级的增高阳性率上升的趋势($P<0.05$),但与组织学类型未见

基金项目:兰州军区后勤部优秀科技人才资助项目(2001-2005)
Supported by the Project for Excellent Sci & Tech Researchers by the Department of Logistics of Lanzhou Military Command (2001-2005)

作者简介:李 鸣(1962-),男,陕西省西安市人,副主任医师,主要从事肾肿瘤诊治的临床与基础方面的研究,发表论文 8 篇。电话:(0917)3415511,E-mail: xuct2004@163.com

收稿日期:2005-01-04;修回日期:2005-06-05

明显相关($P>0.05$,表2)。肾细胞癌组织中,Bcl-2 和 Ki-67 两者表达无相关性($P>0.05$),两者之间的表达具有独立性。

表2 Ki-67 在肾癌不同分期和组织类型中表达情况

分类	n	−	+	++	+++	++++	阳性[n,(%)]
TNM 分期							
T_1	27	17	6	4	0	0	10(37.0)
T_2	20	8	10	2	0	0	12(60.0)
T_3	7	2	1	1	2	1	5(71.4)
T_4	5	0	1	1	1	2	5(100)
Fuhrman 标准分级							
Ⅰ	17	12	3	1	1	0	5(29.4)
Ⅱ	26	14	11	1	0	0	12(46.2)
Ⅲ	10	1	3	2	2	2	9(90.0)
Ⅳ	6	0	1	4	0	1	6(100)
组织学类型							
透明细胞癌	48	24	16	6	2	0	34(66.7)
颗粒细胞癌	5	1	1	2	0	1	4(80.0)
混合细胞癌	3	1	1	0	0	1	2(66.7)
乳头细胞癌	2	0	0	0	1	1	2(100)
未分化癌	1	1	0	0	0	0	0

3 讨论

我们研究表明,正常肾组织 Bcl-2 和 Ki-67 无表达,肾细胞癌组织有明显表达,肾癌分期、分级越高 Bcl-2 表达有降低的趋势($P<0.05$),而 Ki-67 则呈上升趋势($P<0.05$),但两者的表达与组织学类型未见相关($P>0.05$),各具独立性。提示 Bcl-2 和 Ki-67 是肾细胞癌组织中癌基因,对研究肾癌分期、分级有一定临床意义。此外,Bcl-2 阳性染色位于细胞质和细胞膜,细胞核未见染色,而 Ki-67 阳性染色定位于细胞核和核膜上,细胞质未见染色。

细胞凋亡(apoptosis)又称为细胞程序性死亡(programmed cell death),其对于多细胞生物体的发育和稳态的维持是至关重要的,细胞凋亡异常可导致多种恶性肿瘤的发生。肿瘤的发生与控制细胞增殖的癌基因的过度表达有关,也与抑制细胞凋亡的基因的高表达及诱导细胞凋亡的抗癌基因的变异失活有关[1,3-6]。细胞凋亡机制被不适当的终止后,为细胞癌变提供了重要前提。已证实 Bcl-2 是抑制细胞凋亡的重要基因,是决定肿瘤预后的重要指标,该基因表达增强能显著抑制细胞凋亡。Bcl-2 基因最初是从 B 细胞淋巴瘤鉴定出来的癌基因,随后相继在多种人类肿瘤中发现存在 Bcl-2 高表达水平,通过广泛抑制各种刺激因素诱导的细胞凋亡延长细胞活力而发挥生物学作用[4-7]。目前认为 Bcl-2 的高表达,不是某一肿瘤的特征,而是反映了肿瘤细胞的一种增生状态。我们研究发现,肾癌 Bcl-2 阳性率为71.2%,而正常肾细胞中无表达,其阳性染色位于细胞质和细胞膜。同时表明 Bcl-2 表达随着肾癌的分期、分级的升高而降低,提示 Bcl-2 的表达与肾癌预后呈负相关,这一结果与先前报道相近[5-8]。

Ki-67 与核内 395×10^3 和 345×10^3 非组蛋白结合,出现在细胞的增殖周期,如 G_1、S、G_2 和 M 期,G_0 期不出现,是针对处于增殖周期的人类细胞核抗原的抗体。在非何杰金氏淋巴瘤、膀胱癌、肾癌、乳腺癌、卵巢癌等多种肿瘤研究中,提示 Ki-67 表达可作为评价肾癌恶性程度及预后的指标[8,9]。我们研究发现,肾癌 Ki-67 阳性表达 54.2%,在正常肾组织无表达,其阳性染色定位于细胞核和核膜上,细胞质未见染色。Ki-67 表达有随肾癌分期、分级的增高阳性率上升的趋势,但与组织学类型未见明显相关,提示 Ki-67 的表达与肾癌的预后有关[9,10]。肿瘤细胞的生长调控是一个十分复杂的过程,与多种癌基因、生长因子的相互作用有关,已发现癌基因 c-fos、c-mgc、PCNA 和抑癌基因 p53 等与肾癌恶性程度有关。

关键词:肾癌;免疫组织化学;LSAB;Bcl-2;Ki-67
中图法分类号:R737.11 **文献标识码**:B

参考文献:

[1] ORDONEZ N G. The diagnostic utility of immunohistochemistry in distinguishing between mesothelioma and renal cell carcinoma: a comparative study [J]. Hum Pathol, 2004, 35(6): 697-710.
[2] RINI B I, WEINBERG V, SMALL E J. Practice and progress in kidney cancer: methodology for novel drug development [J]. J Urol, 2004, 171(6 Pt 1): 2115-2121.
[3] 李 鸣,张红宾. 肾癌的诊断和治疗 89 例分析[J]. 第四军医大学学报, 2004, 25(15): 1426-1428.
[4] 朱国萍,娄 阳,徐 冲. Bcl-2 蛋白家族与细胞凋亡[J]. 细胞生物学杂志, 2001, 23(1): 20-23.
[5] KALLIO J P, HIRVIKOSKI P, HELIN H, *et al*. Renal cell carcinoma mib-1, bax and Bcl-2 expression and prognosis[J]. J Urol, 2004, 172(6, Part 1 of 2): 2158-2161.
[6] ITOI T, YAMANA K, BILIM V, *et al*. Impact of frequent Bcl-2 expression on better prognosis in renal cell carcinoma patients[J]. Br J Cancer, 2004, 90(1): 200-205.
[7] 吴 静,路 红,薛群基. Bcl-2 基因的研究进展[J]. 世界华人消化杂志, 2004, 12(9): 2171-2173.
[8] ZHU Z, XING S, CHENG P, *et al*. The relationship of expression of Bcl-2, p53, and proliferating cell nuclear antigen (PCNA) to cell proliferation and apoptosis in renal cell carcinoma [J]. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci, 2004, 24(4): 354-357.
[9] KAUSCH I, JIANG H, BROCKS C, *et al*. Ki-67-directed antisense therapy in an orthotopic renal cell carcinoma model [J]. Eur Urol, 2004, 46(1): 118-125.
[10] YILDIZ E, GOKCE G, KILICARSLAN H, *et al*. Prognostic value of the expression of Ki-67, CD44 and vascular endothelial growth factor, and microvessel invasion, in renal cell carcinoma [J]. BJU Int, 2004, 93(7): 1087-1093.

(编辑 薛国文)