DOI: 10.16016/j.1000-5404.1998.02.012

胃癌组织中促凋亡基因 Bax的表达及意义*

刘海峰** 刘为纹 房殿春 门荣甫 (第三军医大学附属西南医院消化内科) 重庆, 400038

提 要 目的: 研究促凋亡基因 Bax在胃癌中的表达及意义。方法: 采用免疫组织化学方法对 57例胃癌标本中 Bax的表达情况进行观察。结果: Bax表达的阳性率为 57.89%, 阳性反应物质主要位于细胞浆, 胞核中偶有表达。Bax在胃癌组织中的表达与病人年龄、性别、肿瘤大小、浸润深度、淋巴结转移及临床病理分期无明显关系, 与胃癌形态学分型及分化程度有关, 肠型胃癌及高中分化胃癌中 Bax表达率明显高于弥漫型胃癌及低分化胃癌 ($P < 0.05$及 $P < 0.01$)。结论: 促凋亡基因 Bax在大部分胃癌中具有不同程度的表达, 可能参与了胃癌细胞凋亡的调变; Bax表达可能与肠型胃癌的发生及胃癌分化有关。

关键词 胃肿瘤; Bax; 细胞凋亡; 免疫组织化学
中图法分类号 R735.2

研究表明, 肿瘤的发生及其生物学特性与肿瘤细胞凋亡有密切关系。近年来肿瘤细胞凋亡调变的研究已成为人们关注的热点。自 1993年 Oltval等[1]发现 Bcl-2相关 X蛋白 (Bcl-2 associated X protein, Bax)具有加速细胞凋亡的功能以来, Bax对细胞凋亡的调节作用已受到一定的重视。Bax可与抗凋亡蛋白 Bcl-2形成异源二聚体, 具有抑制 Bcl-2, 促进细胞凋亡的作用。为了探讨促凋亡基因 Bax在胃癌细胞凋亡调变中的作用, 本实验采用免疫组织化学方法, 对 Bax蛋白在胃癌中的表达, 以及它与某些临床病理参数的关系进行了研究。

1 材料和方法

1.1 标本

57例胃癌组织均为我院 1994~1996年外科手术切除标本, 病例男 39例, 女 18例, 平均年龄 58.6岁。所有标本均经 10%福尔马林固定, 石蜡包埋, 4μm厚连续切片, HE染色并经病理诊断证实。

1.2 免疫组织化学染色

采用 S-P法。兔抗人 Bax多克隆抗体 (N-20)为美国 Santa Cruz生物技术公司产品, S-P试剂盒为北京中山生物技术公司产品。染色步骤: ① 切片经二甲苯脱蜡, 梯度乙醇水化; ② 0.3% H_2O_2封闭 30 min阻断内源酶; ③ 10%正常羊血清封闭 10 min; ④ 滴加兔抗人 Bax多克隆抗体, 37℃孵育 30 min; ⑤ 滴加生物素标记的二抗, 37℃孵育 10 min; ②、④、⑤后均经 10 mmol/L PBS (pH 7.4)振洗 3次, 每次 5 min; ⑥ DAB显色, 苏木素衬染, 脱水透明, 封片。用已知阳性切片作阳性对照, 用 PBS替代一抗作阴性对照。

1.3 结果评定

光学显微镜下观察组织切片的显色反应, 数 5个以上高倍视野, 不少于 1000个细胞, 计数阳性细胞数并以百分数表示。标本无阳性反应细胞、阳性反应细胞 < 10%或背景同空白对照者为阴性, 阳性反应细胞≥ 10%为阳性。统计阳性标本例数, 计算阳性率, 用 χ^2检验进行统计学分析。

2 结果

2.1 Bax蛋白在胃癌组织中的表达

57例胃癌组织中, Bax在 33例有程度不同的表达, 阳性率为 57.89%。Bax阳性反应物质呈棕黄色, 主要位于胃癌细胞胞浆内, 个别病例在胞核中亦有表达。部分病例周围成熟的淋巴细胞亦有 Bax蛋白表达。在胃癌组织中, Bax蛋白阳性的胃癌细胞以弥漫性分布为主, 见附图, 部分呈局灶性分布, 少数散在分布。



附图 **Bax阳性反应物质位于胃癌细胞胞浆中 (S-P× 200)**

Fig Bax immunoreactivity was detected in cytoplasm of gastric carcinoma cells (S-P× 200)

* 军队医药卫生"九五"重点攻关项目, No. 96Z047
** 刘海峰, 男, 32岁, 主治医师, 讲师, 博士研究生

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2.2 Bax蛋白表达与胃癌临床病理参数的关系

Bax蛋白在胃癌组织中的表达与患者的性别、年龄、肿瘤大小、淋巴结转移、浸润深度、临床病理分期均无明显关系,与胃癌分型及组织学类型有关($P<0.05$及$P<0.01$)。30例肠型胃癌中Bax阳性反应22例,阳性率73.33%;27例弥漫型胃癌中Bax阳性反应11例,阳性40.74%,两者差异显著($P<0.05$)。21例高、中分化胃癌中Bax阳性反应17例,阳性率为80.95%;26例低分化胃癌中Bax阳性反应10例,阳性率38.46%,两者之间差异亦显著($P<0.01$),见附表。

附表 **Bax**蛋白在胃癌组织中的表达

Table Bax protein expression in gastric carcinoma tissues

		No. of cases	Bax protein expression		Positive rate (%)
			Positive	Negative	
Age(yr)	≤ 59	39	22	17	56.41
	≥ 60	18	11	7	61.11
Sex	M	39	24	15	61.54
	F	18	9	9	50.00
Type	Intestinal	30*	22*	8*	73.33*
	Diffuse	27	11	16	40.74
Grade of differentiation	Well/Moderate	21△	17△	4△	80.95△
	Low-differentiated	26	10	16	38.46
	Mucoid	10	6	4	60.00
Tumor size	< 5 cm	35	21	14	60.00
	≥ 5 cm	22	12	10	54.55
Serosal invasion	Negative	27	14	13	51.85
	Positive	34	20	14	58.82
Dukes' stages	Stages Ⅰ and Ⅱ	34	20	14	58.82
	Stages Ⅲ and Ⅳ	23	13	10	56.52

*: $P<0.05$ *vs* diffuse-type gastric carcinoma; △: $P<0.01$ *vs* low-differentiated gastric carcinoma

3 讨论

细胞凋亡是由基因调控的细胞主动死亡过程,是程序性细胞死亡的主要形式,此过程的异常与肿瘤的发生发展有密切关系。肿瘤细胞的凋亡同增殖一样是肿瘤的普遍现象,一种肿瘤组织中瘤细胞的凋亡易感性决定于多种凋亡相关基因表达产物的水平和相互作用,存在多种调定点构成的复杂调控系统[2]。已有研究发现,Bax蛋白在前列腺癌、直肠癌、乳腺癌、睾丸肿瘤、卵巢癌等肿瘤的细胞凋亡调变中发挥重要作用[3-6]。

本实验57例胃癌中33例(57.89%)Bax反应阳性,在不同病例中其阳性反应存在差异,表明Bax不同程度地参与了大部分胃癌的凋亡调变。Bax在高、中分化胃癌的表达率明显高于低分化胃癌,提示Bax对胃癌凋亡的调变可能主要作用于高、中分化胃癌。Bax在肠型胃癌中的表达率显著高于弥漫型胃癌,表明Bax蛋白异常表达可能与肠型胃癌发生的关系密切,同时进一步说明了肠型胃癌与弥漫型胃癌发生的分子机制可能不同。此外,Bax在胃癌中的表达与淋巴结转移、临床病理分期无明显关系,而淋巴结转移、临床分期是判断胃癌预后的重要指标,提示Bax可能在胃癌形成的早期阶段发挥作用,而在中晚期的作用不明显。Bax促凋亡作用的具体机制及其与其它凋亡相关蛋白的关系有待进一步研究。

参考文献

1 Oltval Z N, Milliman C L, Korsmeyer S J. Bcl-2 heterodimerizes *in vivo* with a conserved hemology, Bax, that accelerates programmed cell death. Cell, 1993; 74(4): 609

2 Hale A J, Smith C A, Sutherland I C *et al*. Apoptosis: molecular regulation of cell death. Eur J Biochem, 1996; 236(1): 1

3 Krajewski S, Blomquist C, Franssila K *et al*. Reduced expression of proapoptosis gene Bax is associated with poor re-

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

sponse rates to combination chemotherapy and shorter survival in women with metastatic breast adenocarcinoma. Cancer Res, 1995; 55(19): 447

4 Krajewska M, Moss S, Krajewski S *et al*. Elevocted expression of Bcl-x and reduced Bak in primary colorectal adeno-carcinoma. Cancer Res, 1996; 56(8): 1834

5 Chresta C M, Masters J R W, Hickman J A. Hypersensitivity of human testicular tumors to etoposide-induced apoptosis is associated with functional p53 and a high Bax: Bcl-2 ratio. Cancer Res, 1996; 56(8): 1834

6 Krajewska M, Krajewski S, Epstein J I *et al*. Immunohistochemical analysis of Bcl-2, Bax, Bcl-x, and mcl-1 expression in prostate cancer. Am J Pathol, 1996; 148(5): 1567

(收稿: 1997-09-26;修回: 1997-12-16)

(编辑 汪勤俭)

Expression of proapoptotic gene Bax in gastric carcinoma and its significance

Liu Haifeng, Liu Weiwen, Fang Dianchun, Men Rongpu (Department of Gastroenterology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038)

Abstract Objective: To investigate the expression of proapoptotic gene Bax in gastric carcinoma and its significance. Methods: The expression of Bax protein was detected with immunohistochemistry in samples from 57 cases of gastric carcinoma. Results: The positive rate of Bax protein staining was 57.89% and the positively reactive substance was mainly localized in the cytoplasm of cancerous cells. The expression of Bax protein was not correlated to the tumor size, lymph node metastasis, depth of invasion, Duke's stage of the tumor and age and sex of patients ($P > 0.05$) but strongly associated with the morphological type and differentiation degree of the tumor. Meanwhile, it was significantly higher in intestinal-type and well/moderately differentiated gastric carcinoma than in diffuse and poorly differentiated one ($P < 0.05$ and 0.01). Conclusion: The proapoptotic gene Bax can express to various degrees in most kinds of the gastric carcinomata and may take part in the apoptosis of the gastric carcinoma. The expression of Bax might be associated with the occurrence of intestinal-type gastric carcinoma and the differentiation of the gastric carcinoma.

Key words stomach neoplasm; Bax; apoptosis; immunohistochemistry

套扎治疗直肠粘膜内脱垂(附20例报告)

Ligation to treat prolapse of rectal mucosa (a report of 20 cases)

吴国庆* 余佩武 张 超 (第三军医大学附属西南医院普通外科)重庆,400038

直肠粘膜内脱垂又称直肠内套叠,指肠粘膜与肌层松弛分离下移脱垂的粘膜隐匿于直肠壶腹未脱出肛门外的一种疾病;是以排便困难为主要症状出口梗阻综合症之一,我们自1996年 10月至 1997年 10月在肛肠门诊采用了胶圈套扎治疗20例病人,近期取得了较好的效果。

1 临床资料

本组20例,男 3例,女 17例;年龄35~ 53岁;病程6个月~ 20年,平均每周排便1次11例;4~ 6 d排便1次9例;所有病例均有不同程度地依赖泻剂或缓泻剂。排粪造影,其特征是钡剂灌入后静息时直肠纵形粘膜增粗,在直肠内形成环形套叠,排便时直肠粘膜重叠迂曲,粘膜下垂至肛管部,肛直角明显下移,侧位片呈漏斗状影,根据粘膜下垂至肛管部的程度将该病分为轻、中、重三度。8~ 10 cm为轻度,6~ 10 cm为中度,4~ 10 cm为重度。本组轻度4例,中度14例,重度2例。

治疗方法:病人排空粪便后取胸膝位,用本院自制负压枪

(下转 12页)

* 吴国庆,男,45岁,副主任医师,副教授

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net