

# 胃肠道 B 细胞淋巴瘤中 bcl-2 的表达及与 EB 病毒的相关性研究

唐文台,郭瑞珍,何妙侠,刘华庆

**摘要:**目的 研究胃肠道 B 细胞淋巴瘤与 bcl-2 蛋白的表达及与 EB 病毒感染的关系。方法 采用免疫组织化学、原位杂交方法分别检测 16 例胃肠道 B 细胞淋巴瘤中 bcl-2、LMP-1 蛋白及 EB 病毒编码的 EBER1/2 表达水平。结果 bcl-2 蛋白阳性表达 13 例(81.3%) ,均为高表达,其中 7 例低度恶性 MALT 型淋巴瘤均为阳性。EB 病毒编码的 EBER1/2 及 LMP-1 均为阴性。结论 胃肠道 B 细胞淋巴瘤特别是低度恶性 MALT 型 B 细胞淋巴瘤,与 bcl-2 蛋白的高表达密切相关,而与 EB 病毒的感染似乎无相关性。

**关键词:**胃肠道;B 细胞淋巴瘤;bcl-2 蛋白;EB 病毒

中图分类号:R733;R735 文献标识码:A 文章编号:1000-8578(2002)06-0439-03

## Astudy of the bcl-2 expression in B-cell lymphomas of gastrointestinal tract and the association of the latter with Epstein-Barr Virus

TANG Wen-tai, GUO Rui-zhen, HE Miao-xia, et al

Department of pathology, Zunyi Medical College, Zunyi 563003, China

**Abstract:** **Objective** To explore the relationship between B-cell lymphomas of gastrointestinal tract and bcl-2 protein expression, Epstein-Barr virus infection. **Methods** The expression of bcl-2, LMP-1 protein and EBV encoded EBER1/2 were detected by immunohistochemistry and in situ hybridization respectively. **Results** Overexpression of bcl-2 protein was seen in 13 of 16 cases (81.3%), including all of 7 cases of mucosa-associated lymphoid tissue-type low-grade B-cell lymphoma. All of 16 cases were LMP-1, EBER1/2 negative. **Conclusion** B-cell lymphomas of gastrointestinal tract, especially mucosa-associated lymphoid tissue-type low-grade B-cell lymphomas, have a strong association with bcl-2 protein overexpression, but seem to have no association with Epstein-Barr virus infection.

**Keywords:** Gastrointestinal tract; B-cell lymphoma; Bcl-2 protein; Epstein-Barr virus

原发性结外淋巴瘤以胃肠道 B 细胞淋巴瘤(B-cell lymphoma, BCL)最为常见,与结内淋巴瘤相比,具有不同的生物学行为,其发病机制目前尚未阐明。在肿瘤的病因病机研究上,bcl-2 蛋白的高表达及 EB 病毒的感染受到极大关注。bcl-2 是一种具有抑制细胞凋亡功能的癌基因蛋白<sup>[1]</sup>,能通过抑制细胞凋亡而增强 B 淋巴细胞的生存能力。EB 病毒是一种人类  $\gamma$ -DNA 疱疹病毒,体外感染了 EB 病毒的 B 淋巴细胞能发生永生生化形成淋巴母细胞样细胞系并进一步增殖<sup>[2]</sup>。我们采用免疫组织化学、原位杂交方法分别检测 16 例原发性胃肠道 BCL 中的 bcl-2、LMP-1

蛋白及 EB 病毒编码的 EBER1/2,研究胃肠道 BCL 与 bcl-2 蛋白表达及与 EB 病毒感染的关系。

### 1 材料与方法

16 例原发性胃肠道 BCL 选自本院 1989 ~ 1999 年间的外检档案。男性 13 例,女性 3 例。最大年龄 62 岁,最小年龄 23 岁,50 岁以上者 8 例(占 50%),平均年龄 46.4 岁。3 例原发于胃,13 例原发于肠道。所有标本经 10% 福尔马林液固定、石蜡包埋,行 HE 及 LCA、CD20、CD45RO 免疫组化染色以确定其 B 细胞淋巴瘤性质。参照最新 Kiel 分类及欧洲血液病理学会关于原发性胃肠道淋巴瘤的分类方案进行分型。

免疫组织化学采用 ABC 法。设阳性和阴性对照。LCA、CD20、CD45RO(1:100),bcl-2、LMP-1(1:25)等鼠抗人单克隆抗体(DAKO 公司产品)购自华美生物工程公司上海分公司。

采用原位杂交检测 EB 病毒编码的 EBER1/2。

收稿日期:2001-10-10;修回日期:2002-01-28

基金项目:贵州省卫生厅基金资助项目

作者单位:563003 贵州省遵义医学院病理教研室

切片脱蜡至水,蛋白酶 K 处理,加荧光素标记的 EBER 1/2 探针,55℃ 孵育 1.5h,振荡洗涤后加 Anti-FITC/AP,室温孵育 30min,BCIP/NBT 显色,核快红复染。设阳性和阴性对照。EBER1/2 探针及原位杂交检测试剂盒购自丹麦 DAKO 公司。

阳性结果判断:LCA、CD20、CD45RO 胞膜着色;bcf-2 胞膜、胞浆及核膜着色;LMP-1 胞膜、胞浆着色,均呈棕黄色或棕色。EBER1/2 核着色,呈深紫蓝色或黑色。Bcf-2 阳性肿瘤细胞在 5% 以下视为阴性,25% 以上为高表达。

2 结果

2.1 组织学类型 低度恶性 12 例,类型包括低度恶性粘膜相关淋巴组织(mucosa-associated lymphoid tissue,MALT)型淋巴瘤 7 例,中心细胞性 3 例,中心母\中心细胞性 2 例。高度恶性 4 例,包括中心母细胞性 3 例,免疫母细胞性 1 例。7 例 MALT3 例原发于胃,4 例原发于肠。

2.2 免疫组织化学及原位杂交 16 例均呈 LCA 阳性、CD20 阳性、CD45RO 阴性。bcf-2 蛋白阳性 13 例(81.3%),均为高表达。这 13 例中包括 3 例胃淋巴瘤、10 例肠道淋巴瘤;11 例低度恶性淋巴瘤,2 例高度恶性淋巴瘤。所有 16 例 LMP-1 蛋白及 EBER1/2 均为阴性,见表 1。

表 116 例胃肠道 B 细胞淋巴瘤中 bcf-2、LMP-1 及 EBER1/2 染色结果

组织学类型	n	bcf-2 (+)	LMP-1 (+)	EBER1/2 (+)
低度恶性				
低度恶性 MALT 型淋巴瘤	7	7	0	0
中心细胞性	3	3	0	0
中心母-中心细胞性	2	1	0	0
高度恶性				
中心母细胞性	3	1	0	0
免疫母细胞性	1	1	0	0
合计	16	13(81.3%)	0	0

3 讨论

bcf-2 蛋白是由 bcf-2 基因编码的 26KD 蛋白,具有抑制细胞凋亡的功能。其高表达能使细胞的死亡减少,维持细胞的生存状态,使存活细胞的数量增多,诱使肿瘤发生。在 bcf-2 细胞培养实验及 bcf-2 转基因小鼠中均证实 bcf-2 有致瘤的潜能,在 bcf-2 转基因小鼠中发生滤泡性淋巴组织增生,经长期演化后形成高度恶性淋巴瘤。Nakamura 等<sup>[3]</sup>报道,68% 的原发性胃 BCL bcf-2 蛋白阳性,而且阳性率与肿瘤的恶性程度呈负相关。LeBrun 等<sup>[4]</sup>在 75% 的原发性胃肠道滤泡性淋巴瘤中检测到了 bcf-2 蛋白的表达。

本组 bcf-2 的阳性率为 81.3%,其中低度恶性淋巴瘤的阳性率较高度恶性高。提示大多数原发性胃肠道 BCL 特别是低度恶性淋巴瘤有 bcf-2 蛋白的表达,后者可能通过对 B 淋巴细胞凋亡的抑制参与了该肿瘤的发生。bcf-2 蛋白的高表达可能使大量幸免于凋亡的 B 淋巴细胞发生堆积,在其它致瘤因素的作用下进一步发生恶性增殖,导致淋巴瘤的发生。

EB 病毒是传染性单核细胞增多症的病原体,与 Burkitt's 淋巴瘤、鼻咽癌、T/NK 细胞淋巴瘤及免疫缺陷相关性 BCL 等密切相关,但其参与肿瘤发病的机制尚未阐明。在细胞培养中,该病毒能使正常的 B 淋巴细胞永生化形成永久的淋巴母细胞样细胞系并进一步增殖,其编码的 EBNA-2、LMP-1 抗原在维持 B 淋巴细胞的持续性增殖中发挥了主要的作用,二者尚能诱导 bcf-2 蛋白的表达<sup>[5,6]</sup>,这可能是 EB 病毒参与 BCL 发病的机制之一。本人所在的淋巴瘤研究组曾报道 6 例胃 T 细胞淋巴瘤中,1 例检测到 EB 病毒<sup>[7]</sup>,Pan 等<sup>[8]</sup>报道的 11 例肠病相关性 T 细胞淋巴瘤,4 例检出 EB 病毒基因组,说明胃肠道 T 细胞淋巴瘤与 EB 病毒的感染可能有一定的联系。然而,Yang 等<sup>[9]</sup>在 52 例朝鲜胃肠道 BCL 中只有 3 例检测到了 EB 病毒,而且均为散在阳性,LMP-1 染色均为阴性。Liu 等<sup>[10]</sup>报道的 49 例胃 BCL,也仅有 4 例 EBER 阳性。本组 16 例胃肠道 BCL,均未检测到 EBER1/2 及 LMP-1 蛋白。可见,与 T 细胞淋巴瘤不同,EB 病毒与胃肠道 BCL 似乎相关性不大,提示 EB 病毒可能不参与胃肠道 BCL 的发生。但研究表明,B 淋巴细胞有 EB 病毒的受体存在,即 CR2 (C3dR, CD21),这一受体规则地表达于良性和恶性 B 淋巴细胞。这种差异性的内在原因有待进一步深入研究。

MALT 型 B 细胞淋巴瘤为发生于淋巴结外组织的原发性 B 边缘带淋巴瘤<sup>[11]</sup>,好发于胃肠道。Yang 等<sup>[9]</sup>报道的 52 例原发性胃肠道 BCL,20 例为 MALT 型淋巴瘤。Nakamura 等<sup>[3]</sup>报道的 193 例胃 BCL,179 例为 MALT 型淋巴瘤。本组 16 例胃肠道 BCL 有 7 例为 MALT 型淋巴瘤,3 例胃淋巴瘤均为 MALT 型淋巴瘤,与以上报道相近。胃肠道 BCL 中似乎以 MALT 型淋巴瘤较为多见,而且主要集中在胃。Navratil 等<sup>[12]</sup>报道,所有 20 例低度恶性 MALT 型淋巴瘤均表达 bcf-2 蛋白(中等~强阳性),绝大多数的高度恶性 MALT 型淋巴瘤不表达 bcf-2 蛋白。本组 7 例胃肠道低度恶性 MALT 型淋巴瘤均有 bcf-2 蛋白的高表达,说明其与 bcf-2 蛋白密切相关,后者的免疫组织化学标记也许可作为其诊断的辅助指标。研究表明,与滤泡性淋巴瘤不同,在低度恶性 MALT 型淋巴瘤中缺乏 t(14;18)<sup>[11]</sup>,其 bcf-2 蛋白的表达是

受到何种机制诱导的,尚有待阐明。

参考文献:

[1] Liu YJ, Mason DY, Johnson GD, et al. Germinal center cell selection: expression of p21 and p22 in germinal center B cells after activation. *Int J Cancer*, 1991, 48(8): 1905-1910.

[2] Roger D, Is E. Epstein-Barr virus human onco gene on chromosome 12. *Human Pathol*, 1997, 28(12): 1333-1335.

[3] Nakamura S, Akazawa K, Kinukawa N, et al. Inverse correlation between expression of bcl-2 and p53 proteins in primary gastric lymphoma. *J Hum Pathol*, 1996, 27(3): 225-233.

[4] Le Brun DP, Kamel OW, Clery ML, et al. Follicular lymphomas of the gastrointestinal tract. Pathologic features in 31 cases and bcl-2 oncogene protein expression. *Am J Pathol*, 1992, 140(6): 1327-1335.

[5] Henderson S, Rowe M, Gregory C, et al. Induction of bcl-2 expression by Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 protects infected B cells from programmed cell death. *J Cell Biol*, 1991, 65(7): 1107-1115.

[6] Finkel J, Fritzen R, Ternes P, et al. Expression of bcl-2 in Burkitt's lymphoma cell lines: induction by latent Epstein-Barr virus genes. *J Blood*, 1992, 80(2): 459-469.

[7] 郭瑞珍, 梁国桢, 何妙侠, 等. EB 病毒潜伏感染在不同部位 T 细胞淋巴瘤中的表达. *临床与实验病理学杂志*, 1998, 14(4): 340-342.

[8] Pan L, Diss TC, Peng H, et al. Epstein-Barr virus in enteropathy-associated T-cell lymphoma. *J Pathol*, 1993, 170(2): 137-145.

[9] Yang W, Cho MS, Tomita Y, et al. Epstein-Barr virus and gastrointestinal lymphomas in Korea. *J Yonsei Med J*, 1998, 39(3): 268-276.

[10] Liu Q, Ohshima K, Masuda Y, et al. Detection of the Epstein-Barr virus in primary gastric lymphomas by in situ hybridization. *J Pathol Int*, 1995, 45(2): 131-136.

[11] Banks PM, Isaacson PG. MALT lymphomas in 1997. Where do we stand? *J Am J Clin Pathol*, 1999, 111(Suppl. 1): 75-83.

[12] Navratil E, Gaulard P, Kanavaros P, et al. Expression of bcl-2 protein in B-cell lymphomas arising from mucosa-associated lymphoid tissue. *J Clin Pathol*, 1995, 48(1): 18-21.

(贺文校对)

# 体外观察阿司匹林对胃癌细胞 SGC-7901 细胞周期及 DNA 合成的影响

刘兴<sup>1</sup>, 高青<sup>2</sup>, 王丕龙<sup>2</sup>

关键词: 阿司匹林; DNA 合成; 细胞周期  
中图分类号: R735.2 文献标识码: D  
文章编号: 1000-8578 (2002) 06-0441-01

阿司匹林 (ASA) 作为非甾体抗炎药物的代表, 长期用于治疗风湿、类风湿疾病。近十余年的研究表明: 常规服用 ASA 可降低消化系统恶性肿瘤的发生率和死亡率, 特别是对防止家族性结肠息肉癌变, 有一定的效果。本研究应用 MTT、流式细胞仪和<sup>3</sup>H-TdR 掺入试验等方法, 观察 ASA 在体外对胃癌细胞株 SGC-7901 的作用, 探讨其可能的作用机制。

## 1 材料和方法

收稿日期: 2001-11-14; 修回日期: 2002-01-07  
作者单位: 1. 400014 重庆急救中心检验科; 2. 重庆医科大学附属第一医院消化内科

采用 MTT 法测定药物对细胞的抑制率, 流式细胞仪进行细胞周期分析, <sup>3</sup>H-TdR 掺入试验检测细胞 DNA 的合成。

## 2 结果

MTT 法检测表明 ASA 随着剂量的增加和作用时间的延长, 其对胃癌细胞的抑制率也明显增加, 且有良好的相关性 ( $r=0.949$  和  $0.97$ ,  $P<0.05$ )。细胞周期分析显示, 正常生长状态下的 SGC-7901 细胞株大多数处于 G<sub>1</sub> 期, S 期次之, G<sub>2</sub>/M 期最少。不同浓度的 ASA 作用 SGC-7901 细胞后, 细胞周期发生明显变化, 表现出 G<sub>1</sub>/G<sub>0</sub> 期细胞下降, S 期和 G<sub>2</sub>/M 细胞相应增多, 呈一定的剂量

效应关系。<sup>3</sup>H-TdR 掺入法显示, ASA 能显著抑制 SGC-7901 细胞 DNA 的合成 ( $P<0.05$ )。

## 3 讨论

胃癌是目前消化道最常见的恶性肿瘤, 严重的危害人类健康。寻找能有效预防和治疗胃癌的药物是战胜这一疾病的关键。本研究采用体外细胞培养方法, MTT 试验显示胃癌细胞株 SGC-7901 经 ASA 处理后, 其生长明显受到抑制, 其抑制率与 ASA 的浓度和作用时间有良好的相关性。这表明 ASA 能有效抑制 SGC-7901 的生长, 有可能在胃癌的治疗中发挥作用。进一步研究发现, 处理后的细胞, 细胞周期发生了变化, 其中 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期细胞下降, S 期、G<sub>2</sub>/M 期细胞增多, 从而得知, ASA 作用在 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期, 使 S 期和 G<sub>2</sub>/M 期细胞堆积。用同位素<sup>3</sup>H 标记的胸腺嘧啶核苷作为 DNA 合成的前身物质, 检测也证实 ASA 明显抑制 SGC-7901 细胞 DNA 的合成。

本研究表明 ASA 能有效抑制胃癌细胞株 SGC-7901 的生长, 其作用是通过抑制细胞 DNA 的合成, 阻滞细胞周期来实现, 与 Enoch T 报道相符, 这无疑将开拓 ASA 的应用前景。

(贺文校对)