

· 论著 ·

Bcl2和Bcl6在溃疡性结肠炎中表达的意义*

北京大学深圳医院消化内科 (广东 深圳 518035)

吴慧华 何兴桢 李 曦

【摘要】目的 研究Bcl2和Bcl6在溃疡性结肠炎(UC)中的表达及意义。**方法** 选取2013年3月至2014年11月在北京大学深圳医院诊断的UC患者25例及健康对照者20例,采用免疫组化法检查各组标本Bcl2和Bcl6表达情况。**结果** UC组中Bcl2表达水平(0.15 ± 0.08)低于正常组(0.22 ± 0.11),但差异没有统计学意义($P=0.054$);UC组中Bcl6表达(0.35 ± 0.12)也低于正常组(0.50 ± 0.13),且差异有统计学意义($P=0.001$)。**结论** UC患者肠道组织Bcl6表达降低,可能是UC的发病机制之一,为UC的诊断、治疗提供新的方向。

【关键词】 Bcl2; Bcl6; 溃疡性结肠炎

【中图分类号】 R446; R574.1

【文献标识码】 A

【基金项目】 深圳市科技计划项目,编号201302056

DOI: 10.3969/j.issn.1009-3257.2018.02.002

Expressions of Bcl2 and Bcl6 in Ulcerative Colitis*

WU Hui-hua, HE Xing-zhen, LI Xi. Department of Gastroenterology, Peking University Shenzhen Hospital, Shenzhen 518036, Guangdong Province, China

【Abstract】Objective To investigate the significance of the expressions of Bcl2 and Bcl6 in patients with ulcerative colitis (UC).

Methods The immunohistochemical method was applied to detect the expressions of Bcl2 and Bcl6 in colorectal tissues of 25 patients in UC group and 20 healthy controls. Further, the patients and healthy controls were detected in Shenzhen Hospital of Peking University from March 2013 to November 2014. **Results** The expression of Bcl2 in UC group(0.15 ± 0.08) was lower than that in normal control group(0.22 ± 0.11), but the difference had no statistical significance ($P=0.054$). And the expression of Bcl6 in UC group(0.35 ± 0.12) was lower than that in control group(0.50 ± 0.13), the difference had statistical significance ($P=0.001$). **Conclusion** The lower expression of Bcl6 in colorectal tissues of UC may play an important role in the pathogenesis of UC, which provides patients with UC with a new direction of clinical diagnosis and therapy.

【Key words】 Bcl2; Bcl6; Ulcerative Colitis

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)作为一种病因不明的肠道慢性及复发性炎症,与克罗恩病(Crohn disease, CD)一起组成炎症性肠病的主要疾病类型。病变呈连续弥漫性分布,局限于粘膜及粘膜下层。以腹痛、腹泻、黏液脓血便为主要临床表现^[1]。近年来,随着人们饮食习惯的改变以及就诊率的提高,其发病率呈逐渐上升趋势^[2],对患者的生存质量造成严重影响。其病因及发病机制不明,可能与环境、遗传、免疫等多因素相关。有研究表明,溃疡性结肠炎的发生、发展与细胞凋亡密切相关^[3]。Bcl2(B-cell lymphoma-2)和Bcl6(B-cell lymphoma-6)均属于B细胞淋巴瘤(B cell lymphoma, Bcl)家族基因,属于凋亡相关的基因。本研究采用免疫组织化学法检测溃疡性结肠炎患者肠道组织中Bcl2和Bcl6的表达,探讨其在溃疡性结肠炎中发挥的作

用。

1 资料与方法

1.1 一般资料 病人主要来自于2013年3月至2014年11月期间我院住院和门诊就诊病人。溃疡性结肠炎患者入组标准:根据中华医学会消化病学分会炎症性肠病学组炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2012广州)制定的标准进行诊断,所有入组患者都能确诊为溃疡性结肠炎(包括临床类型、病情程度、病变范围、病情分期、肠外表现)。选取诊断溃疡性结肠炎(活动期,轻型或中型, E1或E2期)的患者。健康人入组标准:没有严重器质性病变,无近期感染病史的健康人群。溃疡性结肠患者组中男性16例,女性9例,平均年龄(39.0 ± 11.9)岁,正常对照组男性14

例, 女性6例, 平均年龄(37.7±9.8)岁。

1.2 标本的采集和处理 所有标本来自于肠镜活检的取得的病理组织标本, 石蜡进行包埋。

1.3 采用常规免疫组织化学检测Bcl2和Bcl6, 并测定吸光度值。具体如下: 石蜡切片经二甲苯脱蜡, 2×10分钟; 100%, 95%, 85%, 75%, 50%梯度酒精水化5分钟; PBS冲洗5分钟×3遍; 3% H_2O_2 液室温下封闭10分钟; 高温抗原修复; PBS冲洗5分钟; 置入免疫组化封闭液山羊血清室温下孵育30分钟; 加入一抗(abcam), 4℃过夜。PBS冲洗5分钟×3遍; 加入二抗(southern biotech)室温下孵育30分钟; PBS冲洗5分钟×3遍, DBA显色, PBS冲洗; 苏木素复染; 脱水、透明、封片; 光镜观察。

2 结果

结果提示, 在正常组织和溃疡性结肠炎患者肠道组织中均有Bcl2和Bcl6表达。溃疡性结肠炎组中Bcl2表达水平(0.15±0.08)低于正常组(0.22±0.11), 但没有统计学意义($P=0.054$)。在溃疡性结肠炎组中Bcl6表达(0.35±0.12)也低于正常组(0.50±0.13), 且差异有统计学意义($P=0.001$) (见图1-6)。

3 讨论

溃疡性结肠炎是病因以及发病机制不明的肠道慢性炎症性疾病。具有容易复发, 病程长, 迁延不愈的特点, 使患者的生存质量受到严重影响。有研究表明, 溃疡性结肠炎的发生、发展与细胞凋亡密切相关^[3], 已引起人们的广泛关注。

Bcl2作为一种原癌基因, 位于人类染色体18q21, 通过激活以及过度表达, 抑制细胞的正常凋亡, 从而延长细胞生存时间。在众多凋亡基因中, Bcl2基因家族有着重要的作用^[4]。国内学者张启芳^[5]

等研究发现, UC组肠粘膜上皮Bcl2表达较正常组有明显增强, 表明UC的病因可能与Bcl2凋亡调控蛋白的异常表达有关。曹广亚等^[6]研究发现Bcl2蛋白在慢性萎缩性胃炎胃粘膜的表达异常。王倩等^[7]将UC组分成活动期与缓解期, 相比正常对照组, Bcl2表达在活动期组明显升高, 在缓解期组差异无统计学意义。国外学者研究发现^[8], UC实验小鼠较正常对照组Bcl-2表达明显增加, 且美沙拉嗪治疗后表达明显下调。Bcl2在炎症细胞中的表达增高, 炎症细胞的凋亡程序被减慢是造成其在UC患者肠壁中大量浸润及活化的重要原因。本实验研究结果表明UC患者肠道病理组织标本Bcl2表达较正常组相比, UC组有下降, 但差异无统计学意义($P>0.05$), 与大多数研究结果相反。可能与纳入的样本量较少, 存在一些方法学上的局限性, 本实验采用免疫组化法测量蛋白只能对蛋白进行半定量比较。可以补充使用Western blot定量方法检测蛋白, 使结果更加可信。同时可以进一步扩大样本容量, 从而进一步了解UC和Bcl2关系, 进一步阐述UC的发病机制。

Bcl6基因位于人类染色体3q27, 其编码的Bcl6蛋白是一个锌指蛋白, 属一种转录抑制因子。在调控细胞分化、细胞免疫反应、细胞周期发育中发挥重要作用。促进生发中心B细胞增殖表达^[9], 已发现其在多种类型淋巴瘤中高表达^[10]。胡随等^[11]研究发现Bcl6b在结肠癌组织中表达下调, Bcl6与Bcl6b锌指蛋白结构有94%同源性^[12], 发挥相似的转录抑制功能。流行病学统计发现UC患者发生结肠癌风险较正常人增高, 约有20%最终会进展为结肠癌^[13]。可见结肠癌与Bcl6, UC均有关联, 目前UC与人类Bcl6基因的表达关系未见明确报道。本实验通过免疫组化法测量UC患者和健康对照组Bcl6的表达情况。发现在溃疡性结肠炎组肠道组织中Bcl6表达低于正常组, 且差异有统计学意义。这与部分学者的研究结果存在一致性, Dent等^[14]研究发现敲除Bcl6基因的小鼠有免疫缺陷和严重

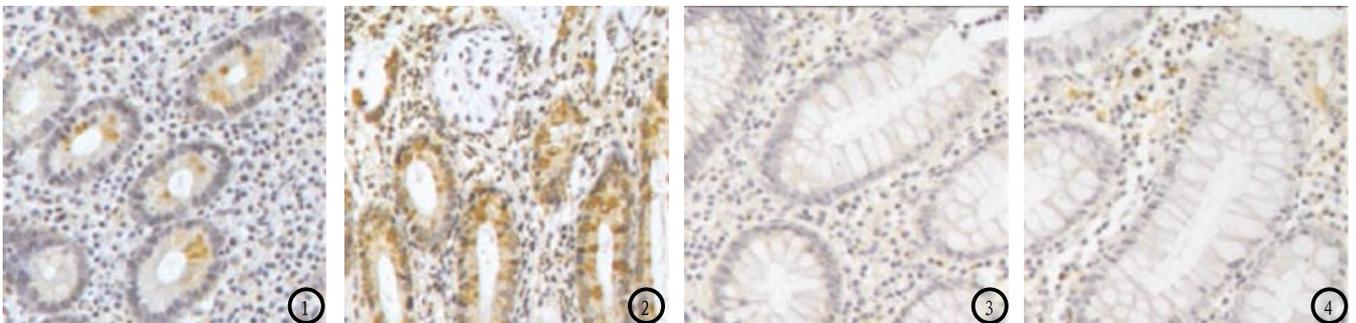


图1 UC组Bcl6表达; 图2 正常组Bcl6表达; 图3 UC组Bcl2表达; 图4 正常组Bcl2表达。

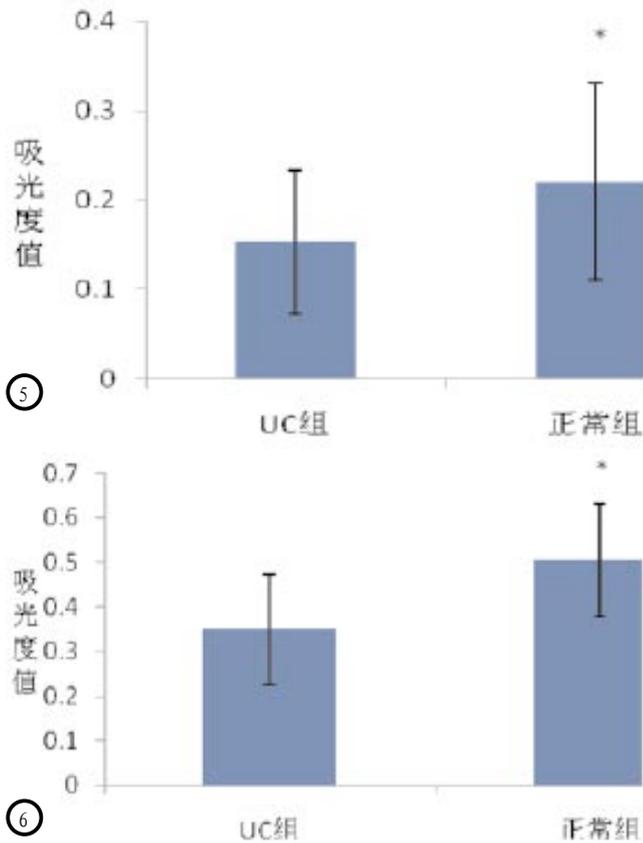


图5 UC和正常组Bcl2吸光度值, UC组Bcl2低于正常组,但没有统计学意义($P>0.05$)。图6 UC和正常组Bcl6吸光度值, UC组Bcl6表达低于正常组($P<0.05$)。

的炎症性疾病。同时Bcl6能抑制炎症趋化因子^[15]。王越等^[16]试验发现免疫缺陷病毒感染中国恒河猴Bcl6表达有统计学意义下降,表明Bcl6与机体免疫异常相关。但也有学者研究发现经葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium, DSS)诱导后建立UC小鼠模型,检测诱导前后组织标本Bcl6表达,发现诱导后Bcl6表达明显上升。何兴桢等^[17]研究发现UC的发病与miRNA21表达有关,而miRNA21表达又与Bcl6表达相关。总之,Bcl6表达与UC的发生、发展存在相关性,可能与其参与炎症及免疫反应有关。研究Bcl6表达对UC发生、发展的影响,进一步加深对UC发生机制的了解。但Bcl6的对转录抑制的调节作用充满复杂性,仍存在很多疑问待我们深入研究。由于本实验仅是对Bcl6在UC患者肠道表达情况的初步探讨,病例样本较少。需要以后开展多中心、大样本临床研究,同时将实验组根据临床严重程度,病变范围,病情分期等精细分组比较来进一步验证结果。

Bcl2和Bcl6在UC患者均有差异性表达,进一步加深Bcl2、Bcl6与UC发病的关系,了解UC的细胞凋亡机制,从而为UC的诊治提供新的方向、新的靶点。

参考文献

- [1] 中华医学会消化病学分会炎症性肠病学组炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2012年).中华消化杂志,2012,32:796-813.
- [2] Boyle M,Ting A,Cury DB,et al.Adherence to Rectal Mesalamine in Patients with Ulcerative Colitis[J].Inflamm Bowel Dis,2015,21(12):2873-2878.
- [3] Pacheco RG,Esposito CC, Müller LC, et al. Use of butyrate or glutamine in enema solution reduces inflammation and fibrosis in experimental diversion colitis[J].World J Gastroenterol,2012,18(32):4278-4287.
- [4] Cvejic D,Selemetiev S,Savin S,et al.Apoptosis and proliferation related molecules (Bcl-2,Bax,p53,PCNA) in papillary microcarcinoma versus papillary carcinoma of the thyr[J].Pathology,2008,40(5):475-480.
- [5] 张启芳,李晓燕,王媛媛,等.半乳糖凝集素3与Bcl-2在溃疡性结肠炎患者大肠黏膜中的应用研究[J].重庆医学,2015,44(2):180-185.
- [6] 曹广亚,刘香,刘莉娜.bcl-2蛋白在慢性萎缩性胃炎胃粘膜的表达[J].罕少疾病杂志,2009,16(1):19-20.
- [7] 王倩,吕永慧,周丽梅,等.Bcl-2与Caspase-3在溃疡性结肠炎中的表达与意义[J].天津医药,2013,41(9):849-851.
- [8] Heng Fan, Xing-xingLiu, Li-juanZhang,et al. Intervention effects of QRZSLXF, a Chinese medicinal herb recipe, on the DOR- β -arrestin1-Bcl2 signal transduction pathway in a rat model of ulcerative colitis[J].Journal of Ethnopharmacology,2014,154(1):88-97.
- [9] Basso K, Dalla-Favera R. BCL6: master regulator of the germinal center reaction and key oncogene in B cell lymphomagenesis[J].Adv Immunol,2010,105:193-210.
- [10] Salamon D,Adori M, He M, et al. Type I interferons directly down-regulate BCL-6 in primary and transformed germinal center B cells: differential regulation in B cell lines derived from endemic or sporadic Burkitt's lymphoma[J].Cytokine,2012,57(3):360-371.
- [11] 胡随.BCL6B在结肠癌中的表达失活及其生物学功能[D].北京:安徽医科大学空军临床学院,2014:1-66.
- [12] Sakashita C,Fukuda T,Okabe S,et al.Cloning and characterization of the human BAZF gene, a homologue of the BCL6 oncogene[J].Biochem Biophys Res Commun,2002,291(3):567-573.
- [13] 张春霞,吴小平.溃疡性结肠炎相关性结直肠癌研究进展[J].临床内科杂志,2014,31(2):85-87.
- [14] Dent AL,Shaffer AL,Yu X,et al.Control of inflammation,cytokine expression,and germinal center formation by Bcl-6[J].Science,1997,276(5312):589-592.
- [15] Toney LM,Cattoretti G,Graf JA,et al.Bcl-6 regulates chemokine gene transcription in macrophages[J].Nat Immunol,2000,1(3):214-220.
- [16] 王越.HIV-1感染对肠粘膜回归相关基因表达影响的实验研究[D].北京:中国疾病预防控制中心,2014:1-206.
- [17] 何兴桢,李曦.miRNA21在溃疡性结肠炎患者中表达的意义[J].罕少疾病杂志,2016,23(1):32-33,36.