

# Caspase3、Bcl-2的表达在结肠癌诊断中的临床意义

董晓彤, 黄莹, 李巍, 单伟颖, 郑继宁, 陈健

董晓彤, 黄莹, 单伟颖, 承德医学院护理学院 河北省承德市 067000

李巍, 陈健, 承德医学院附属医院 河北省承德市 067000

郑继宁, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

董晓彤, 硕士, 主要从事病理学的相关研究。

作者贡献分布: 此课题由董晓彤、黄莹及李巍设计; 研究过程由董晓彤、黄莹、李巍、单伟颖、郑继宁及陈健操作完成; 研究所用试剂及分析工具由郑继宁提供; 数据分析由董晓彤、李巍及单伟颖完成; 本论文写作由董晓彤、黄莹及陈健完成。

通讯作者: 陈健, 主治医师, 067000, 河北省承德市南营子大街36号, 承德医学院附属医院消化内科. nannan19790105@126.com  
收稿日期: 2013-07-17 修回日期: 2013-09-07

接受日期: 2013-09-17 在线出版日期: 2013-10-28

## Diagnostic significance of Caspase 3 and Bcl-2 expression in colon cancer

Xiao-Tong Dong, Ying Huang, Wei Li, Wei-Ying Shan, Ji-Ning Zheng, Jian Chen

Xiao-Tong Dong, Ying Huang, Wei-Ying Shan, Nursing College of Chengde Medical University, Chengde 067000, Hebei Province, China

Wei Li, Jian Chen, the Affiliated Hospital of Chengde Medical University, Chengde 067000, Hebei Province, China

Ji-Ning Zheng, Chengde Medical University, Chengde 067000, Hebei Province, China

Correspondence to: Jian Chen, Attending Physician, the Affiliated Hospital of Chengde Medical University, 36 Nanyingzi Street, Chengde 067000, Hebei Province, China. nannan19790105@126.com

Received: 2013-07-17 Revised: 2013-09-07

Accepted: 2013-09-17 Published online: 2013-10-28

## Abstract

**AIM:** To detect the expression of Caspase 3 and Bcl-2 in colon cancer and to analyze their diagnostic significance.

**METHODS:** Immunohistochemistry was used to detect the expression of Caspase 3 and Bcl-2 proteins in colon cancer, colon adenoma and normal colonic mucosa. The relationship between Caspase 3 and Bcl-2 protein expression with clinicopathological features of colon cancer was analyzed.

**RESULTS:** Compared with the normal colonic mucosa, the positive rate of Caspase 3 protein expression significantly declined in adenocarci-

noma and adenoma (90.0% vs 50.0%, 48.5%, both  $P < 0.05$ ) and that of Bcl-2 protein expression significantly increased (30.0% vs 83.4%, 66.7%, both  $P < 0.05$ ) in adenocarcinoma and adenoma. Caspase 3 and Bcl-2 protein expression was significantly related to the degree of tumor differentiation (both  $P < 0.05$ ) but not to other clinicopathological features. Expression of Caspase 3 was negatively correlated with that of Bcl-2 ( $r = -0.320$ ,  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Bcl-2 can be used as a marker for evaluation of the malignancy of colon cancer. Bcl-2 functions in colon cancer possibly by restraining Caspase 3 activation.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Colon cancer; Immunohistochemistry; Caspase 3; Bcl-2

Dong XT, Huang Y, Li W, Shan WY, Zheng JN, Chen J. Diagnostic significance of Caspase 3 and Bcl-2 expression in colon cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(30): 3281-3285 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3281.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i30.3281>

## 摘要

**目的:** 探讨Caspase3、Bcl-2的表达在结肠癌诊断中的临床意义。

**方法:** 通过采用免疫组织化学SP检测Caspase3、Bcl-2蛋白在结肠癌、结肠腺瘤和正常结肠黏膜组织中的表达情况, 分析其阳性表达及强度与临床病理特征之间的联系。

**结果:** 在结肠腺癌、腺瘤与正常黏膜中Caspase3蛋白的阳性表达率依次升高。Bcl-2蛋白在正常结肠黏膜、腺癌、腺瘤中的阳性表达率依次升高。与正常黏膜相比, Caspase3蛋白在腺癌、腺瘤中的阳性表达率均降低明显, 差异有统计学意义(50.0%, 48.5% vs 90.0%, 均 $P < 0.05$ ), Bcl-2蛋白在腺癌、腺瘤中的阳性表达率均升高明显, 差异有统计学意义(83.4%, 66.7% vs 30.0%, 均 $P < 0.05$ )。

## ■背景资料

Caspase 3在肺癌、胃癌、卵巢癌等多种肿瘤的发生发展中发挥着重要作用。Bcl-2是细胞凋亡抑制基因, 其可能通过抑制细胞凋亡而引起肿瘤的发生发展。本研究拟通过观察结肠癌、结肠腺瘤和正常结肠黏膜组织中Caspase3、Bcl-2蛋白的表达, 探讨其在结肠癌发生发展中的意义, 以期对结肠癌的早期诊断与治疗提供理论依据。

## ■同行评议者

吴建兵, 教授, 主任医师, 南昌大学第二附属医院肿瘤科

## ■ 研究前沿

结肠癌作为发病率、致死率较高的恶性肿瘤之一,其发病机制迄今尚不清楚,腺瘤是结肠癌中最常见、发病率最高的良性上皮性肿瘤,其发病率随着年龄增长而逐年增高,且统计数据显示:70%以上的结肠癌来源于腺瘤。

Caspase3、Bcl-2蛋白阳性表达率均与肿瘤分化程度密切相关( $P<0.05$ ),且随着肿瘤分化程度的降低,Caspase3、Bcl-2阳性表达率逐渐降低( $P<0.05$ ),与其他临床病理特征差异无统计学意义,且Caspase3和Bcl-2呈现负相关( $r = -0.320, P<0.05$ )。

**结论:** Bcl-2作为是判断结肠癌恶性程度的参考指标之一,其可能通过抑制Caspase3激活抑制细胞凋亡,延长其生存时间,增加不稳定性基因,导致细胞凋亡异常及增生过度。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 结肠癌; 免疫组织化学法; Caspase3; Bcl-2

**核心提示:** 本研究结果可见,在结肠腺癌、腺瘤与正常黏膜中Caspase3蛋白的阳性表达率依次升高。Bcl-2蛋白在正常结肠黏膜、腺癌、腺瘤中的阳性表达率依次升高。

董晓彤, 黄莹, 李巍, 单伟颖, 郑继宁, 陈健. Caspase3、Bcl-2的表达在结肠癌诊断中的临床意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(30): 3281-3285 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3281.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i30.3281>

## 0 引言

结肠癌属于临床常见的恶性肿瘤之一,其发病涉及因素繁杂,且近年来该病的发病率呈现不断上升的趋势,在其致病机制研究中,“腺瘤-癌演进学说”的细胞增殖与凋亡失衡是目前较为公认的结肠癌发病机制<sup>[1]</sup>。

Caspase3被称为细胞凋亡的执行者,以其具有剪切管家蛋白和DNA片段的功能,被认为是参与凋亡途径的关键效应分子,相关研究表明: Caspase3在肺癌、胃癌、卵巢癌等多种肿瘤的发生发展中发挥着重要作用<sup>[2]</sup>。Bcl-2是细胞凋亡抑制基因,其可能通过抑制细胞凋亡而引起肿瘤的发生发展<sup>[3]</sup>。因此,本研究拟通过观察结肠癌、结肠腺瘤和正常结肠黏膜组织中Caspase3、Bcl-2蛋白的表达,探讨其在结肠癌发生发展中的意义,以期对结肠癌的早期诊断与治疗提供理论依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 55例结肠组织石蜡标本来源于承德医学院附属医院病理科、承德市中心医院病理科,其中结肠腺癌33例、腺瘤12例,正常结肠黏膜组织10例,且33例结肠癌患者均有完整的临床

资料,术前均未经放疗、化疗等抗肿瘤治疗。

结肠癌患者中男18例,女15例,年龄36-78岁,平均50.2岁;肿瘤大小(直径): <3 cm者12例,≥3 cm者21例;病例分级: 中分化腺癌18例,低分化腺癌9例,高分化腺癌6例;淋巴结转移情况: 无转移者21例;有转移者12例;Dukes分期: A期4例, B期9例, C期12例, D期8例。腺瘤患者中男8例,女4例,年龄33-82岁,平均53.7岁。正常结肠黏膜组织中男7例,女3例,年龄28-79岁,平均48.1岁。

SP试剂盒购自福州迈新生物技术公司; 兔抗人Caspase3多克隆抗体、鼠抗人Bcl-2单克隆抗体、山羊抗小鼠IgG抗体-辣根过氧化物酶(HRP)多聚体(PV-6000)、DAB显色剂购自北京中山生物技术有限公司。

**1.2 方法** 参照试剂盒中免疫组织化学SP法步骤进行实验。实验结果采用光学显微镜观察并摄片,数据结果随机选取10个高倍镜下较为清晰的视野,计数阳性细胞占细胞总数的比例,取均值,分别记为0-4分,染色深度以按着色强度记分,记为0-3分。两者乘积即为阳性强度,分别为: 阴性(-)、弱阳性(+),中度阳性(++),强阳性(+++)。

**统计学处理** 所有数据经SPSS14.0统计学软件进行分析、处理, Bcl-2、Caspase3与各个相关因素的差异性比较采用 $\chi^2$ 检验,相关性研究采用Spearman法。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 Caspase3、Bcl-2蛋白在正常结肠黏膜、腺瘤及癌组织中的表达** 由表1、2可知,在结肠腺癌、腺瘤与正常黏膜中Caspase3蛋白的阳性表达率依次升高。Bcl-2蛋白在正常结肠黏膜、腺癌、腺瘤中的阳性表达率依次升高。与正常黏膜相比, Caspase3蛋白在腺癌、腺瘤中的阳性表达率均降低明显,差异有统计学意义( $P<0.05$ ), Bcl-2蛋白在腺癌、腺瘤中的阳性表达率均升高明显,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),腺瘤与腺癌两者相比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

**2.2 Caspase3、Bcl-2蛋白阳性表达与大肠癌临床病理特征的关系** 由表3可知, 33例结肠癌组织中Caspase3、Bcl-2蛋白阳性表达率均与肿瘤分化程度密切相关( $P<0.05$ ),且随着肿瘤分化程度的降低, Caspase3、Bcl-2阳性表达率逐渐降低,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),与患者年龄、性别、肿瘤直径、有无淋巴结转移、Dukes分期等临

表 1 Caspase3蛋白在正常结肠黏膜、腺瘤及癌组织中的表达

分组	n	Caspase3[n(%)]		阳性表达率(%)	P值
		-	+		
正常结肠黏膜	10	1(10.00)	9(90.00)	90.0	0.002
腺瘤	12	6(50.00)	6(50.00)	50.0	0.004
腺癌	33	17(51.52)	16(49.50)	48.5	0.133

表 2 Bcl-2蛋白在正常结肠黏膜、腺瘤及癌组织中的表达

分组	n	Bcl-2[n(%)]		阳性表达率(%)	P值
		-	+		
正常结肠黏膜	10	7(70.00)	3(30.00)	30.0	0.014
腺瘤	12	2(16.67)	10(83.34)	83.4	0.010
腺癌	33	11(33.33)	22(66.67)	66.7	0.110

表 3 Caspase3、Bcl-2蛋白阳性表达与大肠癌临床病理特征的关系

病理特征	n	Bcl-2		P值	Caspase3		P值
		-	+		-	+	
年龄(岁)				0.133			0
<50	13	5	8		6	7	
≥50	20	6	14		11	9	
性别				0.09			0.11
男	18	7	11		6	12	
女	15	4	11		11	4	
肿瘤大小(cm)				0.893			0.921
<3	12	3	9		5	7	
≥3	21	8	13		12	9	
分级				0.011			0.01
中分化腺癌	6	1	5		1	5	
低分化腺癌	18	3	15		8	10	
高分化腺癌	9	8	1		8	1	
淋巴结转移				0.643			0.826
无	21	7	14		10	11	
有	12	4	8		7	5	
Dukes' 分期				0.26			0.103
A	4	1	3		1	3	
B	9	3	6		5	4	
C	12	5	7		6	6	
D	8	2	6		5	3	

## ■相关报道

Caspase3一旦被激活,细胞的凋亡将不可避免,其在细胞凋亡过程中发挥着关键作用。已有研究证实:Caspase3在肝癌、胃癌、乳腺癌等不同肿瘤组织中的表达程度及意义存在着较大差异,而在大肠癌中的失表达可能提示,其参与了大肠癌的发生及去分化过程。

床病理特征差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

**2.3 Caspase3、Bcl-2蛋白的阳性表达强度与结肠癌临床病理特征的关系** 由表4可知,33例结肠癌组织中Caspase3、Bcl-2蛋白阳性表达强度均与肿瘤分化程度密切相关( $P<0.05$ ),且随着肿瘤分化程度的降低,Caspase3、Bcl-2阳性表达强度逐渐降低,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),与患

者年龄、性别、肿瘤直径、有无淋巴结转移、Dukes分期等临床病理特征差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

**2.4 Caspase3蛋白与Bcl-2蛋白的相关分析** 由表5可知,33例结肠癌组织中,有4例Caspase3和Bcl-2均存在阳性表达,8例均为阴性表达,两者呈负相关( $r = -0.320$ ),差异有统计学意义( $P<0.049$ )。

## ■应用要点

Bcl-2蛋白阳性表达率与浆膜浸润、淋巴结转移有正相关性,提示Bcl-2基因激活与大肠癌分化、转移有关,可作为大肠癌预后的指标之一。

表 4 Caspase3、Bcl-2蛋白的阳性表达强度与结肠癌临床病理特征的关系

病理特征	n	Bcl-2				P值	Caspase3				P值
		-	+	++	+++		-	+	++	+++	
年龄(岁)						0.133					0
<50	13	5	2	4	2		6	2	3	2	
≥50	20	6	5	5	4		11	4	4	1	
性别						0.091					0.089
男	18	7	3	4	4		6	3	5	4	
女	15	4	3	4	4		11	0	2	2	
肿瘤大小(cm)						0.824					0.925
<3	12	3	2	4	3		5	2	3	2	
≥3	21	8	5	5	3		12	5	0	3	
分级						0.045					0.031
中分化腺癌	6	1	0	1	4		1	0	1	4	
低分化腺癌	18	3	6	5	4		8	3	5	2	
高分化腺癌	9	8	1	0	0		7	1	1	0	
淋巴结转移						0.104					0.113
无	21	7	5	4	5		10	5	4	3	
有	12	4	2	3	3		7	1	4	0	
Dukes' 分期						0.256					0.264
A	4	1	0	2	1		1	2	1	0	
B	9	3	3	1	2		5	1	2	2	
C	12	5	2	3	2		6	3	3	0	
D	8	2	2	2	2		5	1	2	0	

表 5 Caspase3蛋白与Bcl-2蛋白的相关性分析

Bcl-2	Caspase3		r值	P值
	+	-		
+	3	8	-0.320	<0.049
-	14	8		

## 3 讨论

结肠癌作为发病率、致死率较高的恶性肿瘤之一,其发病机制迄今尚不清楚,腺癌是结肠癌中最常见、发病率最高的良性上皮性肿瘤,其发病率随着年龄增长而逐年增高,且统计数据显示:70%以上的结肠癌来源于腺瘤<sup>[1]</sup>。近年来研究发现,在肿瘤的发生发展过程中,细胞凋亡的抑制发挥重要作用<sup>[2-4]</sup>,因此,探讨结肠癌早期发生的分子机制,观察细胞凋亡基因在本病诊断中的意义及其与临床病理特征的关系,从而为临床寻找早期分子学诊断标志物提供理论根据。

已证实Caspase3一旦被激活,细胞的凋亡将不可避免,其在细胞凋亡过程中发挥着关键作用<sup>[5,6]</sup>。已有研究证实:Caspase3在肝癌、胃癌、乳腺癌等不同肿瘤组织中的表达程度及意义存在着较大差异,而在大肠癌中的失表达可能提

示,其参与了大肠癌的发生及去分化过程<sup>[7]</sup>,同时,亦有学者发现Caspase3的表达下调与恶性肿瘤的浸润、转移等生物学行为特征密切相关,进而推测Caspase3处于已知各种凋亡通路的最下游,多种因素造成癌组织中Caspase3表达减少,从而使癌细胞凋亡降低,进而促进了肿瘤的发生、发展,提示检测Caspase3表达有助于结肠癌的诊断及判断预后<sup>[8,9]</sup>。

Bcl-2基因是目前公认的抗凋亡基因,其原癌基因位于18q21,由3个外显子组成,编码Bcl-2α蛋白和Bcl-2β蛋白<sup>[10]</sup>,由于其具有抑制细胞丢失、阻止细胞凋亡的作用,而被称为“存活基因”。研究证实:Bcl-2的过度表达与多种上皮性肿瘤的发生发展密切相关<sup>[11]</sup>,其可导致DNA受损的细胞持续生存,从而使得突变产物聚集,发挥促进肿瘤的发生发展的作用<sup>[12,13]</sup>。可见,肿瘤恶性程度越高,肿瘤细胞越不容易凋亡,多导致临床预后不良。已有研究显示<sup>[14]</sup>:Bcl-2蛋白阳性表达率与浆膜浸润、淋巴结转移有正相关性,提示Bcl-2基因激活与大肠癌分化、转移有关,可作为大肠癌预后的指标之一。

本研究结果可见,在结肠腺癌、腺瘤与正常黏膜中Caspase3蛋白的阳性表达率依次升高。



Bcl-2蛋白在正常结肠黏膜、腺癌、腺瘤中的阳性表达率依次升高. 与正常黏膜相比, Caspase3蛋白在腺癌、腺瘤中的阳性表达率均降低明显, 差异有统计学意义( $P<0.05$ ), Bcl-2蛋白在腺癌、腺瘤中的阳性表达率均升高明显, 差异有统计学意义( $P<0.05$ ), 腺瘤与腺癌两者相比较, 差异无统计学意义( $P>0.05$ ). Caspase3、Bcl-2蛋白阳性表达率均与肿瘤分化程度密切相关( $P<0.05$ ), 且随着肿瘤分化程度的降低, Caspase3、Bcl-2阳性表达率逐渐降低, 差异有统计学意义( $P<0.05$ ), 与其他临床病理特征差异无统计学意义( $P>0.05$ ). 且Caspase3和Bcl-2呈现负相关, 提示Caspase3可作为判断结肠癌组织分化程度的一个指标, 不能作为判断结肠癌临床预后<sup>[15]</sup>. Bcl-2可作为判断结肠癌恶性程度的参考指标之一, 可能是通过抑制Caspase3激活抑制细胞凋亡, 延长其生存时间, 增加不稳定性基因, 导致细胞凋亡异常及增生过度, 具体机制有待今后进一步深入研究.

#### 4 参考文献

- 1 Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Smigal C, Thun MJ. Cancer statistics, 2006. *CA Cancer J Clin* 2006; 56: 106-130 [PMID: 16514137 DOI: 10.1007/s11010-010-0463-0]
- 2 徐丽丽, 高世勇, 季宇彬. 细胞凋亡相关蛋白的研究进展. 齐齐哈尔医学院学报 2008; 29: 1361-1363
- 3 王小敏, 佟树文, 郑素琴. Caspase家族对大肠癌影响研究进展. 华北煤炭医学院学报 2010; 12: 639-641
- 4 詹建生, 舒晴, 谭永港. Bcl-2与PCNA在大肠锯齿状腺瘤和普通腺瘤的表达及意义. 广东医学 2010; 31: 768-769
- 5 林妙霞, 罗敏琪, 杨峰, 文卓夫, 冯智英. Caspase-3在大肠肿瘤中的表达及其临床病理意义. 中国自然医学杂志 2010; 12: 173-175
- 6 Jindal P, Chopra G, Chaudhary A, Rizvi AA, Sharma JP. Taylor's approach in an ankylosing spondylitis patient posted for percutaneous nephrolithotomy: A challenge for anesthesiologists. *Saudi J Anaesth* 2009; 3: 87-90 [PMID: 20532110 DOI: 10.4103/1658-354X.57879]
- 7 张弦, 陈明净, 陈宣世, 孙兴旺. Survivin和Caspase 3蛋白在大肠黏膜癌变过程中的表达及意义. 海南医学 2009; 20: 1-4
- 8 陈文习, 朱尤庆, 朱润庆, 刘卫容, 蔡丽. pkc- $\alpha$ 、caspase-3在大肠癌中的表达及意义. 数理医药学杂志 2006; 19: 596-598
- 9 马颖, 杨向红, 林连捷, 姜卫国. PTEN和Caspase-3在大肠癌中的表达及临床意义. 中国医科大学学报 2010; 39: 290-292
- 10 李静, 包翠芬. 大肠癌患者P16和Bcl-2基因蛋白对预后的评估价值. 中国临床康复 2005; 9: 140-141.i009
- 11 周桔, 罗荣保, 汤长发, 瞿树林. Bcl-2蛋白家族和p53基因在细胞凋亡中的调控效应. 中国组织工程研究与临床康复 2007; 11: 1950-1953
- 12 樊勇军, 冯一中, 李海, 郑晓娟. Survivin、caspase-3及AKT1在大肠癌中的表达及意义. 实用癌症杂志 2010; 25: 26-30
- 13 魏茂富, 卢义生, 刘镜文, 刘冠兰, 张彩弟, 康东平. p21、p27和bcl-2在大肠癌、大肠腺瘤及正常大肠黏膜中表达的意义及相关性研究. 病理分析 2009; 16: 22-25
- 14 闫朝霞. 凋亡相关蛋白在大肠癌中的表达及其与凋亡关系的研究. 山西医科大学学报 2010; 41: 199-201
- 15 曾浩然, 刘学勇, 陈德志, 张红欣, 程敏, 张山, 万祖安. Caspase-3基因在大肠癌、大肠腺瘤中的表达及其与细胞凋亡的关系. 中国厂矿医学 2008; 21: 515-517

#### ■同行评价

本文方法学及数据结果可信, 逻辑性强, 具有一定可读性.

编辑 田滢 电编 闫晋利

