

Malign Mezotelyomada bcl-2 ve p53 Protein Ekspresyonu

Dr. Sezer Kulaçoğlu¹, Dr. Fehmi Aksoy¹,

ÖZET

Malign mezotelyomada (25 olgu) ve reaktif mezotelyal proliferasyonda (23 olgu) monoklonal antikorlar kullanılarak immünohistokimyasal olarak bcl-2 ve p53 protein ekspresyonu araştırıldı. Ayrıca mezotelyoma olgularında alt tiplerinde boyanma oranı ve her iki protein ekspresyonu arasındaki ilişki değerlendirildi. Yirmibeş mezotelyoma olgusundan 12'sinde bcl-2 ile, 11'inde p53 ile immünreaktivite saptandı. Beş olguda her iki antikorla reaksiyon gözlemlendi. Mezotelyomalarda p53 ve bcl-2 ekspresyonu arasında ilişki gözlenmedi. Yirmiüç reaktif mezotelyal proliferasyon olgusundan birinde bcl-2 ile ikisinde p53 ile reaksiyon saptandı. Bu nedenle p53 ve bcl-2 pozitifitesinin mezotelyoma ile reaktif mezotelyal dokuların ayırımında çok güvenilir olmadığı, bununla beraber diğer kriterlerle destekleyici bir bulgu olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Mezotelyoma, bcl-2 protein, p53 protein, immünohistokimya.

GİRİŞ

18. kromozomda yerleşim gösteren bcl-2 gen ekspresyonu ilk kez, t(14;18) translokasyonu içeren folliküler lenfomalarda tanımlanmıştır^(1,2). Bu protoonkogen mitokondrial membranda, nükleer membranda ve endoplazmik retikulumda bulunan bir proteini kodlamaktadır^(3,4). Bcl-2 tarafından kodlanan bu proteinin rolü programlı hücre ölümünü (apoptozis) engelleyerek hücrenin ömrünü uzatmaktadır^(3,4,5). Bazı çalışmalarda t(14;18) translokasyonu olmadan da bcl-2 ekspresyonu olabileceği gösterilmiştir⁽⁶⁾. İmmünohistokimyasal olarak bcl-2 başlıca lenfatik dokularda, nöral dokularda ve bazı epitenyal dokularda saptanabilmektedir^(7,8). Ayrıca çeşitli lenfatik, nörojenik, epitenyal ve mezenkimal neoplazmlarda da bcl-2 ekspresyonu rapor edilmiştir⁽⁹⁻¹⁰⁾. Bu çalışmalarda bcl-2 ekspresyonu ile tümörlerin histolojik özellikleri ve prognozu arasındaki ilişkinin farklılıklar gösterdiği gözlenmiştir⁽¹¹⁾.

Apoptozisin regülasyonunda rol oynayan genlerden biri de tümör supresör p53 genidir ve p53, bcl-2'nin aksine bazı durumlarda apoptozisi indüklemektedir^(5,7,11,16,17).

Bu çalışma, malign mezotelyoma ve reaktif mezotelyal hü-

BCL-2 AND P53 PROTEIN EXPRESSION IN MALIGNANT MESOTHELIOMA

To determine the expression of bcl-2 protein and p53 protein in malignant mesothelioma, an immunohistochemical study was performed in 25 malignant mesotheliomas and 23 reactive mesothelium using monoclonal antibodies. In addition, immunoreactivity for bcl-2 and p53 in subtypes of mesothelioma and the relationship between the expression of the two proteins were evaluated. We detected bcl-2 immunoreactivity in 12 cases and p53 immunoreactivity in 11 cases of 25 malignant mesothelioma. Immunoreactivity for both proteins was detected in five cases. We did not observe a reciprocal relationship between bcl-2 and p53 expression in mesothelioma cases. Out of 23 reactive mesothelium one case showed positive reaction for bcl-2 and two cases for p53. Thus, we conclude that bcl-2 and p53 positivities are not fully reliable for the distinction of malignant mesothelioma from reactive mesothelium, however this might be useful as a supportive finding together with the other criteria.

Key Words : Mesothelioma, bcl-2 protein, p53 protein, immunohistochemistry.

relerde bcl-2 ve p53 protein ekspresyonunu araştırmak ve her iki protein ekspresyonu arasındaki ilişkiyi incelemek amacı ile yapılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

25'i malign mezotelyoma, 23'ü reaktif mezotelyal proliferasyon olarak tanımlanmış 48 plevral biyopsi materyali çalışmaya alındı. Tanılar ışık mikroskopunda HE kesitlere ek olarak PAS, alci-an blue gibi histokimyasal yöntemler ve sitokeratin, EMA, CEA ve vimentin immün boyaları ile desteklenerek kondu. Yirmibeş mezotelyoma olgusunun 17'si epitelial tip, yedisi mikst tip ve biri sarkomatöz tip olarak değerlendirildi. Olguların parafin bloklarından elde edilen kesitler anti-bcl-2 monoklonal antikor (bcl-2 / 124, DAKO) ve anti-p53 monoklonal antikor (DO-7, DAKO) ile streptavidin HRP metodu kullanılarak boyandı. Olgular bcl-2 ekspresyonu açısından pozitif veya negatif olarak, p53 ekspresyonu açısından ise dört kategoriye ayrılarak incelendi. %1-5 oranında boyanma (+), %5-20 (++) , %20-50 (+++) ve %50'nin üzerinde boyanma oranı ise (++++) olarak değerlendirildi.

¹ Ankara Numune Hastanesi Patoloji Bölümü

SONUÇLAR:

Mezotelyoma olgularında genel olarak ve histolojik alt tiplere göre bcl-2 ve p53 ekspresyonu ve her iki protein ekspresyonu arasındaki ilişki Tablo1'de görülmektedir. Bcl-2 ve p53 ekspresyonu mezotelyoma olgularında yarıya yakın gözlenirken her iki protein ekspresyonu arasında bir ilişki izlenmedi. P53 ekspresyonu gösteren 11 olguda boyanma yoğunluğu şu şekilde idi: 3 olgu (+), 3 olgu (++), 2 olgu (+++) ve 3 olgu (++++). Olgu olarak değerlendirildi.

Yirmiüç reaktif mezotelyal proliferasyon olgusundan bcl-2 ile bir olguda, p53 ile iki olguda immünreaktive saptandı.

TARTIŞMA:

Çalışmamızda malign mezotelyomada bcl-2 protein ekspresyonu %48 oranında gözlemlendi. Bu oran, literatürde saptayabildiğimiz, mezotelyomalarda bcl-2 ekspresyonunu inceleyen bir başka çalışmaya göre yüksek bir orandır. Segers'in 62 olguluk bu çalışmasında oran %8 olarak bulunmuştur ve bcl-2 ekspresyonu ile prognoz arasında ilişki gözlenmemiştir⁽¹⁸⁾. Bizim çalışmamızda elde edilen yüksek oranın sebebi teknik nedenler olabileceği gibi, mezotelyoma olgularının etyolojisindeki farklılıklar olabilir. Aynı çalışmada non-neoplastik mezotelyal dokuda immünreaktivite saptanmamıştır. Bu çalışmada ise 23 adet reaktif mezotelyoma olgusundan birinde pozitifite saptandı. Malign mezotelyomadaki bcl-2 ekspresyonunu t(14;18) translokasyonun-

dan bağımsız olduğu düşünülmektedir⁽¹⁸⁾. Çünkü malign mezotelyomalarda yapılan sitogenetik çalışmalarda bu translokasyon saptanmamıştır^(19,20). Bu da neoplastik hücrelerdeki bcl-2 protein disregülasyonunun sadece bir sitogenetik anormalliğe bağlı olmadığını göstermektedir. Bununla birlikte yazarlar bcl-2 pozitifitesinin malign mezotelyoma ile reaktif mezotelyal proliferasyonların ayırımında yararlı olabileceğini öne sürmüşlerdir⁽¹⁸⁾. Ancak "non-small-cell" akciğer karsinomlarında da bcl-2 ekspresyonu izlenmesi nedeniyle⁽¹⁴⁾ malign mezotelyoma ile akciğer orijinli plevral metastazların ayırımında yeri yoktur.

Malign mezotelyomayı ve non-neoplastik mezotelyal dokuyu p53 gen ekspresyonu açısından inceleyen daha fazla sayıda çalışma mevcuttur⁽²¹⁻²⁷⁾. Bu çalışmalarda p53 protein ekspresyonu oranı mezotelyoma olgularında %25 ile %75 arasında değişmektedir^(21,22,23,24,26,27). Çoğunda reaktif mezotelyal proliferasyonunda p53 immünreaktivitesi izlenmemiştir ve yazarlar p53 ekspresyonunun, mezotelyoma ve reaktif proliferasyonların ayırımında spesifik ve sensitif bir bulgu olduğu görüşündedirler^(21,22,23,24). Ancak Kawai, DO7 monoklonal antikorunu kullanarak yaptığı çalışmasında reaktif mezotelyal dokuların tümünde⁽²⁷⁾, Dowell sitolojik materyallere uyguladığı çalışmasında reaktif dokularda %14.7 oranında⁽²⁵⁾ p53 pozitifitesi saptamışlardır. Çalışmamızda 23 reaktif olgudan ikisinde p53 ekspresyonu izledik. Genomik hasara maruz kalan non-neoplastik hücrelerde p53 ekspresyonu bulunabileceği belirtilmektedir⁽²⁸⁾. Ayrıca immünohistokimyasal

Sonuçlar	Tüm mezotelyoma olguları (25 olgu)	Epitelyal tip (17 olgu)	Mikst tip (7 olgu)	Sarkomatöz tip (1 olgu)
bcl-2(+)	12	9	2	1
p53(+)	11	8	2	1
bcl-2(+)/p53(-)	7	5	2	-
bcl-2(+)/p53(+)	5	4	-	1
bcl-2(-)/p53(-)	7	4	3	-
bcl-2(-)/p53(+)	6	4	2	-

Tablo 1 : Tüm mezotelyoma olgularında ve histolojik alt tiplere göre bcl-2 ve p53 protein immunoreaktivitesi ve bcl-2 ile p53 protein ekspresyonu ilişkisi.

olarak saptanan p53 ekspresyonunu her zaman mutasyon sonucu oluşmadığı gösterilmiştir ⁽¹¹⁾. Wild-tip p53 geni varlığında da immünohistokimyasal olarak p53 protein saptanabilir, bunun nedeni indirgeyici enzimlerin inaktivasyonu veya myc protein overekspresyonu tarafından transaktivasyonu veya viral proteinlerle kompleks oluşturulmasıdır ⁽²²⁾. Bunun tersi de söz konusu olabilmekte ve p53 mutasyonu olduğu halde bu mutasyon p53 protein stabilitesini artırmadığı için tümör p53 negatif olabilmektedir ⁽²²⁾. Kolorektal neoplazmalarda yapılan bir çalışmada immünohistokimyasal olarak saptanan p53 ekspresyonu ile mutant gen varlığı arasında %80 oranında uyum saptanmıştır ⁽²⁹⁾. Bu bulgular da mezotelyomalar ile reaktif proliferasyonların ayırımında p53 ekspresyonunu kullanırken dikkatli davranılması

gerektiğini düşündürmektedir.

Kolorektal karsinomlar, meme karsinomu ve Hodgkin hastalığında bcl-2 ve p53 protein ekspresyonu arasındaki ilişkiyi inceleyen bazı çalışmalarda bcl-2 ekspresyonu kaybı ile p53 overekspresyonun korelasyon gösterdiği saptanmıştır ^(11,30, 31). Buna karşılık mezenkimal tümörlerde yapılan bir çalışma p53 ve bcl-2 pozitivitesi arasında bir ilişki bulunamamıştır ⁽¹⁶⁾. Bizim çalışmamızda da böyle bir ilişki gözlenmedi.

Sonuç olarak malign mezotelyomada bcl-2 ve p53 protein ekspresyonu olguların yaklaşık yarısında saptandı. Hem bcl-2 hem p53 ekspresyonunu reaktif mezotelyal proliferasyonda da görülebileceği, bu nedenle neoplastik ve non-neoplastik mezotelyal lezyonların ayırımında tek başına güvenilir bir bulgu olmadığı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Tsujimoto Y, Finger LR, Yunis J, Nowell PC, Croce CM. Cloning of the chromosome breakpoint of neoplastic B cells with the t(14;18) chromosome translocation. *Science* 1984; 226:1097-1099.
2. Bakhshi A, Jensen JP, Goldman P. et al. Cloning the chromosomal breakpoint t(14;18) human lymphomas: clustering around JH on chromosome 14 and near a transcriptional unit on 18. *Cell* 1985; 41:899-906.
3. Hockenbery DM. Bcl-2 in cancer, development and apoptosis. *J. Cell Sci.* 1994; 18: 51-55.
4. Hockenbery DM, Nunez G, Milliman C, Schreiber RD, Korsmeyer SJ. Bcl-2 is an inner mitochondrial membrane protein that blocks programmed cell death. *Nature* 1990; 348: 334-336.
5. Reed JC. Bcl-2 and the regulation of programmed cell death. *J. Cell Biol.* 1994; 124:1-6.
6. Pezella F, Tse AGD, Cordell JL, Pulford KAF, Gatter KC, Mason DY. Expression of the bcl-2 oncogene protein is not specific for the 14;18 chromosomal translocation. *Am. J. Pathol.* 1990; 137:225-232.
7. Hockenbery DM, Zutter M, Hickey M, Nahm M, Korsmeyer SJ. Bcl-2 protein is topographically restricted in tissues characterized by apoptotic cell death. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1991; 88:69612-6965.
8. Lu Q-L, Poulsom R, Wong L, Hanby AM. Bcl-2 expression in adult and embryonic non-hematopoietic tissues. *J. Pathol.* 1993; 169:431-437.
9. Joensuu H, Pylkkanen I, Toikkanen S. Bcl-2 protein expression and long-term survival in breast cancer. *Am. J. Pathol.* 1994; 145:1191-1198.
10. Sinicrope FA, Ruan SB, Cleary KR, Stephens C, Le JJ, Levin B. Bcl-2 and p53 oncoprotein expression during colorectal tumorigenesis. *Cancer Res.* 1995; 55: 237-241.
11. Kaklamani L, Savage A, Mortensen N, Tsiotos P, Doussis-Anagnostopoulou I, Biddolph S, et al. Early expression of bcl-2 protein in the adenoma-carcinoma sequence of colorectal neoplasia. *J. Pathol.* 1996;179:10-14.
12. Harmsel BT, Smedts F, Kuipers J, Jeunink M, Baptist T, Ramaekers F. Bcl-2 immunoreactivity increases with severity of CIN: a study of normal cervical epithelia, CIN, and cervical carcinoma. *J. Pathol.* 1996;179:26-30.
13. Lippinen Pk, Aaltomas S, Eskelinen M. Expression of the apoptosis suppressing bcl-2 protein in transitional cell bladder tumours. *Histopathology* 1996;28:135-140.
14. Pezella F, Turley H, Kuzu I, Tungekar MF, Dunnill MS, Pierce CB, et al. Bcl-2 protein in non-small-cell lung carcinoma. *New eng. J. Med.* 1993;329:690-694.
15. Krajewski S, Chatten J, Hanada M, Reed JC. Immunohistochemical analysis of the bcl-2 oncoprotein in human neuroblastomas. Comparison with tumor cell differentiation and N-myc protein. *Lab. Invest.* 1995;71:42-54.
16. Soini Y, Paakkö P. bcl-2 is preferentially expressed in

- tumors of muscle origin but is not related to p53 expression. *Histopathology* 1996;28:141-145.
17. Kernohan Nm., Yynce SC. Regulation of apoptosis by bcl-2 and its related proteins: Immunochemical challenges and therapeutic implications. *J. Pathol.* 1996;179:1-3.
 18. Segers K, Ramael M, Singh SM, Jeyler J, Meerbeeck JV, Vermeire P et al. Immunoreactivity for bcl-2 protein in malignant mesothelioma and non-neoplastic mesothelium. *Virchows Archiv.* 1994;424:631-634.
 19. Hagemeijer A, Versnel M, Van Druenen E, Moret M, Bouts M, Kjas TH van der, Hoogsteden A. Cytogenetic analysis of malignant mesothelioma. *Cancer* 1990; 47:281-285.
 20. Taguchi T, hanwar SC, Siegfried JM, Kelle SM, Testa JR, Recurrent deletions of specific chomosomal sites in 1p, 3p, 6q, and 9p in human malignant mesothelioma. *Cancer Res.* 1993; 53: 4349-4355.
 21. Ramael M, YLemmens G, Eerdeken C, Buysse C, Deblie I, Jacobs W et al. Immunoreactivity for p53 protein in malignant mesothelioma and non-neoplastic mesothelium, *J. Pathol.* 1992;168:371-375.
 22. Kafiri G, Thomas DM, Shepherd NA, Krausz T, Lane DP, Hall PA. P53 expression is common in malignant mesothelioma. *Histopathology* 1992;21:331-334.
 23. Mayall FG, Goddard H, Gibbs AR, P-53 immunostaining in the distinction between benign and malignant mesothelial proliferations using formalin-fixed paraffin sections. *J. Pathol.* 1992;168:377-381.
 24. Cagle PT, Brojn RJ, Russel M, Lebovit RM, P53 immunostaining in the differentiation of reative processes from malignancy in pleural biopsy specimens. *Hum, Pathol.* 1994;25:443-448.
 25. Dowell S, Derias N, Wilson POG, Lane DP, Hall PA. Expression of p53 in reactive mesothelium. *Histopathology* 1993;22:96-97.
 26. Mayall FG, Goddard H, Gibbs AR. The frequency of p53 immunostaining in asbestos-associated mesotheliomas and non-asbestos-associated mesotheliomas. *Histopathology* 1993;22:383-386.
 27. Kawai T, Watanabe M, Takagi K. Thoracoscopic anatomy, significance of pathologic findings in thoracoscopic open lung biopsy and pleural mesothelima Nippon-Kyobu-Shikkan-Gakkai-Zasshi 1994;32:142-147.
 28. Lane DP.P53: guardian of the genome? *Nature* 1992;358:15-16.
 29. Bass IO, Mulder J, Offerhaus G, Vogelstein B, Hamilton S. an evaluation of six antibodies for immunohistochemistry of mutant p53 gene product in archival colerectal neoplasms, *J. Patol.* 1994;172:5-12.
 30. Doussis IA, Pezella F, Lane DP, Gatter KC, Mason DY. An immunocytochemical study of p53 and bcl-2 protein expression in Hodgkin's disease. *Am. J. Clin., Pathol.* 1993;99:63-667.
 31. Leek RD, 'Kaklamanis L, Pezella F. Gatter KC, Harris AL. Bcl-2 in normal human breast and carcinoma, association with oestrogen receptor positive, epidermal growth factor receptor-negative tumors and in situ cancer. *Br. J. Cancer* 1994;6:135-19.