

nm23-H₁、PCNA、p53 蛋白在肺多形性癌组织中的表达及意义尹满香¹ 林雪平² 方铎华³ 陶正义¹

(1 浙江省武警总队医院 嘉兴 314000; 2 浙江省嘉兴学院医学院 嘉兴 314000;

3 浙江省肿瘤医院 杭州 310022)

摘要:目的:探讨 nm23-H₁、PCNA、p53 蛋白在肺多形性癌组织中的表达及意义。方法:应用免疫组化 SP 法回顾性分析 20 例肺多形性癌组织中 nm23-H₁、PCNA、p53 基因表达,并结合肺多形性癌的转移、侵袭力、肿块大小及预后等进行分析。结果:nm23-H₁ 在肺多形性癌有无淋巴结转移中阳性率分别为 25.0%和 87.5%,差异有显著性($P < 0.01$),有无侵犯周围组织中阳性率各为 37.5%和 100%,差异有显著性($P < 0.01$);PCNA 在肺多形性癌有无淋巴结转移中阳性率分别为 66.7%和 75.0%,差异无显著性($P > 0.05$),在有侵犯周围组织中阳性率各为 68.8%和 75.0%,差异无显著性($P > 0.05$);p53 在肺多形性癌有无淋巴结转移中阳性率分别为 83.3%和 25.0%,差异有显著性($P < 0.01$),在有侵犯周围组织中阳性率各为 68.8%和 25.0%,差异有显著性($P < 0.01$)。Nm23-H₁、p53 基因表达与肺多形性癌淋巴结转移、侵袭力及预后有关。结论:nm23-H₁、P53 基因能抑制肺多形性癌的转移及侵袭,而 PCNA 基因表达与肺多形性癌的转移和侵袭无明确相关性。

关键词:肺肿瘤;nm23-H₁ 蛋白;PCNA 蛋白;p53 蛋白;预后

Abstract:Objective: To observe the expression and role of nm23-H₁、PCNA and P53 protein in lung polymorphic cancer tissue. Methods:The expression of nm23-H₁、PCNA and P53 in lung polymorphic cancer were determined by immunohistochemistry, and combined the results with metastasis、invasiveness、tumor and prognosis of lung polymorphic cancer, then compared study. Results:The positive rates of nm23-H₁、PCNA and P53 in lung polymorphic cancer tissues with and without lymphatic metastasis were 25.0% and 87.5%、66.7% and 75.0%、83.3% and 25.0% respectively, In lung polymorphic cancer with and without invasive peripheral tissue, the positive rates were 37.5% and 100%、68.8% and 75.0%、68.8% and 25.0% respectively, The nm23-H₁ and P53 had obvious difference ($P < 0.01$), but PCNA had not difference ($P > 0.05$). The expression of nm23-H₁ and P53 were closely related with the lymphatic metastasis、invasiveness and prognosis of lung Polymorphic cancer. Conclusions: nm23-H₁ and P53 gene can effectively inhibit metastasis and invasiveness of lung polymorphic cancer, but the PCNA can not do it.

Key words: lung tumor; nm23-H₁ protein; PCNA protein; P53 protein; prognosis

中图分类号:R 734.2

文献标识码:B

文献编号:1671-4040(2005)03-0005-03

肺多形性癌较少见,组织来源存有争议。1999 年 WHO 新的定义^[1]认为肺多形性癌是一种分化差的含有肉瘤样成分的非小细胞癌,其本质是癌。它的临床病理特点及与肺癌肉瘤的区别,我们^[2]已作了回顾性分析。在此基础上,我们应用免疫组化法进一步检测 20 例肺多形性癌组织中 nm23-H₁、PCNA、p53 基因的表达,以探讨肺多形性癌的转移及预后。

1 材料和方法

1.1 临床及病理资料 选自 1994 年 1 月~2000 年 12 月间经病理证实的肺多形性癌标本 20 例,其中 9 例源自浙江省武警总队医院,11 例源自浙江省肿瘤医院。男 18 例,女 2 例;年龄 35~74 岁,中位年龄 59.6 岁;肿块平均直径 6.79 cm;侵犯周围组织 16 例,有淋巴结转移 12 例;病变右上肺 7 例,右

下肺 6 例,左上肺 7 例;术后随访 16 例,死亡 9 例,术后生存期从 2 月~4 年 1 月,平均 11.2 月。病理特点:20 例肺多形性癌中上皮成分为鳞癌 10 例,腺癌 5 例,大细胞癌 3 例,腺鳞癌 2 例;肉瘤样成分为伴有多少不等明显异型的梭形细胞或巨细胞,其比例在 30%~50%间。

1.2 材料及实验方法 20 例均为手术切除标本,用 4%甲醛溶液固定,肿瘤组织均多块取材,常规石蜡包埋,连续 4μm 切片 2 张,1 张行 HE 染色以复查诊断,另 1 张行免疫组化染色。免疫组化采用 SP 法,应用鼠抗人 nm23-H₁、PCNA、p53 单克隆抗体进行标记,并分别设立阳性对照(已知阳性切片)及阴性对照(以 PBS 代替一抗),试剂为福建迈新公司产品。

1.3 结果判断 以癌细胞胞浆及胞膜呈棕黄色为阳性,以阳

3.4 呼吸道管理 与麻醉医生配合默契,术中均采用双腔支气管插管,能使两肺隔离,创造良好的手术视野,缩短手术时间,保证良好的单肺通气^[3]。术中随时吸除健侧支气管痰液及术中渗漏的血液,在缝合支气管后,插入导管吸净远端支气管的痰液及积血,充分保证术中的供氧,以确保手术的安全。术后加强雾化吸入、化痰治疗,保持呼吸道湿润,使痰液稀释,并鼓励咳嗽排痰,协助翻身拍背,以保证呼吸道的通畅。

3.5 并发症的防治 (1)术中尽量缩短吻合时间,加强抗感染治疗。本组有 2 例出现肺部严重感染并发呼吸衰竭。(2)可应用小剂量的激素,预防吻合口水肿,保证肺膨胀。(3)术后 1 月和 6 月门诊复查胸片,必要时行纤支镜和胸部 CT 检查,以明确吻合口有无狭窄。本组 1 例 6 月后出现吻合口轻

中度狭窄,行支气管内支架置入术,治愈。

参考文献

- [1]茅乃权,祝家兴,黄鼎铭,等.袖状肺叶切除术后肺通气功能的研究[J].广西医学,2004,26(5):657-658
- [2]马富锦,史宁江,高昕,等.支气管隆凸血管成形术治疗肺癌 96 例疗效分析[J].中华胸心血管外科杂志,1998,14(2):90
- [3]顾恺时.胸心外科手术学[M].上海:上海科学技术出版社,2003.652
- [4]周清华,刘伦旭,杨俊杰,等.支气管肺动脉袖状成形术治疗侵犯肺动脉干的 III 期肺癌[J].中国肺癌杂志,2002,5(6):403-407
- [5]徐伟兴,高天华,周全福,等.袖状肺叶切除术的呼吸管理[J].上海医学,2002,25(2):124-125

(收稿日期:2004-01-10)

性细胞数 <10% (—), 阳性细胞数 10%~25% 为 (+), 阳性细胞数 25%~50% 为 (++) , 阳性细胞数 >50% 为 (+++)。

1.4 统计学处理 实验结果采用 χ^2 检验, 全部数据输入电脑并用 EP I6.0 分析软件作统计学处理。

2 结果

2.1 nm23-H₁ 基因表达与肺多形性癌淋巴结转移及侵袭性的关系 nm23-H₁ 基因在肺多形性癌中表达阳性率为 50.0% (10/20), 淋巴结转移 (+) 组表达水平低于淋巴结转移 (—) 组, 2 组比较差异有显著性 ($P < 0.01$)。本组 20 例肺多形性癌中有 16 例侵犯脏层胸膜或胸壁, 有侵犯周围组织 (+) 组基因表达水平低于无侵犯周围组织 (—) 组, 2 组间有显著性差异 ($P < 0.01$)。见表 1。

表 1 肺多形性癌与 nm23-H₁ 基因表达 例

淋巴结转移及侵袭性	nm23-H ₁ 基因表达		阳性率 (%)	P 值
	+	—		
有淋巴结转移组	3	9	25.0	<0.01
无淋巴结转移组	7	1	87.5	
有侵犯周围组织	6	10	37.5	<0.01
无侵犯周围组织	4	0	100	

2.2 PCNA 基因表达与肺多形性癌淋巴结转移及侵袭性的关系 PCNA 基因在肺多形性癌中表达阳性率为 70.0% (14/20), 淋巴结转移 (+) 组与淋巴结转移 (—) 组相似, 2 组比较无显著性差异 ($P > 0.05$)。在有侵犯周围组织组与无侵犯周围组织组间, PCNA 基因水平表达无显著性差异 ($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 肺多形性癌与 PCNA 基因表达 例

淋巴结转移及侵袭性	PCNA 基因表达		阳性率 (%)	P 值
	+	—		
有淋巴结转移组	8	4	66.7	>0.05
无淋巴结转移组	6	2	75.0	
有侵犯周围组织	11	5	68.8	>0.05
无侵犯周围组织	3	1	75.0	

2.3 P53 基因表达与肺多形性癌淋巴结转移及侵袭性的关系 P53 基因在肺多形性癌中表达的阳性率为 60.0%, 淋巴结转移 (+) 组表达水平高于淋巴结转移 (—) 组, 2 组比较差异有显著性 ($P < 0.01$)。有侵犯周围组织组基因表达水平高于无侵犯周围组织组, 2 组间有显著性差异 ($P < 0.01$)。见表 3。

表 3 肺多形性癌与 P53 基因表达 例

淋巴结转移及侵袭性	P53 基因表达		阳性率 (%)	P 值
	+	—		
有淋巴结转移组	10	2	83.3	<0.01
无淋巴结转移组	2	6	25.0	
有侵犯周围组织	11	5	68.8	<0.01
无侵犯周围组织	1	3	25.0	

3 讨论

肺多形性癌较少见, 我们曾对该肿瘤与肺癌肉瘤的区别作了报道, 认为它是一种含有肉瘤样成分的非小细胞癌, 其本质是癌, 与 1999 年 WHO 新的定义相符。人类肿瘤转移抑制基因 nm23 蛋白家族中有 2 个同源性约 88% 的基因 nm23-H₁ 和 nm23-H₂, 它们都定位于 17q21.3 区, 前者的表达

与某些肿瘤的转移能力有更好的相关性。本研究发现有淋巴结转移组 nm23-H₁ 基因表达水平明显低于无淋巴结转移组, 2 组比较差异有显著性 ($P < 0.01$), 有侵犯周围组 nm23-H₁ 表达水平低于无侵犯周围组织组, 2 组比较差异有显著性 ($P < 0.01$, 表 1), 显示 nm23-H₁ 基因表达与肺多形性癌的淋巴结转移及侵袭力有关。国内何诚等经半定量 RT-PCR 方法分析肺巨细胞癌中的两株细胞 nm23-H₁ 表达, 发现高转移能力细胞株比低转移能力细胞株低, 这说明 nm23-H₁ 具有抑制肿瘤转移的作用。他们还进一步利用分子克隆技术, 将 nm23-H₁-绿色荧光蛋白融合基因经脂质体转移, 分析其体外侵袭能力, 发现具有高转移能力的 2 株瘤细胞均比对照组明显低 ($P < 0.01$), 这说明 nm23-H₁ 在体外能降低肿瘤细胞的侵袭能力。我们的结果表明 nm23-H₁ 基因表达与肺多形性癌的淋巴结转移及侵袭性呈负相关, 而肿瘤的侵袭转移是临床肿瘤治疗的一大难题, 因此检测肺多形性癌组织中 nm23-H₁ 基因表达可作为判断肺多形性癌转移、侵袭和预后的一个重要参考指标。

增殖细胞核抗原 (PCNA) 在肺癌中研究较多, 但结果存在着争议^[1]。于秋菊^[2]等报道 PCNA 在非小细胞肺癌中的表达率为 53.6%, 而本组 PCNA 在肺多形性中阳性率为 70.0% (14/20), 高于前者, 这可能与肺多形性癌恶性程度高或含有肉瘤样间质有关。且我们发现 PCNA 表达率与肺多形性癌有无淋巴结转移及有无侵犯周围组织没有明确的相关性 ($P > 0.05$), 这也与于秋菊等的报道相一致。但因肺多形性癌是一种恶性程度很高的肿瘤, 我们无法判断 PCNA 与肺多形性癌分化程度之间的关系。

较多研究表明, PCNA 表达愈低, 患者生存期愈长, 本组术后随访了 16 例, 平均存活期 11.2 月, 预后较差, 但其中有 1 例存活了 4 年零 1 个月, PCNA 表达呈阴性。因例数少, 无法作统计学分析, 因此 PCNA 的低表达是否预示肺多形性癌患者预后较好有待进一步观察。

P53 蛋白能抑制转化细胞的生长, 抑制肿瘤细胞的形成, 许多研究表明突变型 P53 在组织中的过量表达与肿瘤的分化程度有关, 但是否与淋巴结转移有关存有争议。本组研究表明, P53 基因表达在肺多形性癌有无淋巴结转移中的阳性率分别为 83.3% 和 25.0%, 2 组比较差异有显著性 ($P < 0.01$), 同时在有无侵犯周围组织中的阳性率各为 68.8% 和 25.0%, 2 组比较也有显著性差异 ($P < 0.01$)。这提示 P53 基因表达与肺多形性癌的浸润进展及恶性程度有关, 与丁翠敏等^[3]的研究一致。因此我们认为 P53 蛋白的过度表达可作为肺多形性癌恶性程度及判断病人预后的重要指标之一。

参考文献

[1] Travis WD, Colby TV, Corrin B, et al. Histological typing of lung and pleural tumors. WHO Internation Histological Classification of Tumors[J]. 3rd ed. Berlin:Springer, 1999, 143(19):984-990
 [2] 林雪平, 方铣华, 尹满香, 等. 肺癌肉瘤与多形性癌临床病理分析[J]. 实用肿瘤杂志, 2002, 17(4): 257-259
 [3] 何诚, 贺平, 朱运松. Nm23-H₁-GFP 融合蛋白在人肺癌细胞株中的表达及其肿瘤细胞体外侵袭能力的影响[J]. 中国生物化学与分子

“水三仙”口服液对小鼠免疫性肝损伤保护作用的研究

杨雄志 张庆珍

(浙江医药高等专科学校 宁波 315100)

摘要:目的:探讨“水三仙”口服液(SSL)对卡介苗(BCG)和脂多糖(LPS)诱导的小鼠免疫性肝损伤的保护作用。方法:静脉注射 BCG 和 LPS 诱导小鼠免疫性肝损伤。在注射 LPS 前,小鼠腹腔注射不同剂量的 SSL(10、15、20 mL/kg),连续 10d 后,取血清,检测血清谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、乳酸脱氢酶(LDH)的活性,测定肝组织匀浆中脂质过氧化产物丙二醛(MDA)含量和超氧化物歧化酶(SOD)活性。结果:不同剂量的 SSL 治疗组小鼠血清 ALT、AST、LDH 活性及肝组织匀浆 MDA 含量均低于模型组,且肝组织损伤不同程度地减轻。结论:“水三仙”口服液对 BCG 和 LPS 诱导的小鼠免疫性肝损伤具有一定的保护作用。

关键词:“水三仙”口服液;卡介苗;脂多糖;免疫性肝损伤;保肝作用

Abstract: objective: To study the protective effect of Oral Shuishanxian Liquor (SSL) on experimental liver injury induced by Calmette-Guerin bacillus vaccine (BCG) and Lipopolysaccharide (LPS) in mice. Methods: Experimental liver injury was induced by Calmette-Guerin bacillus vaccine and Lipopolysaccharide in male mice by injecting via tail vein (50 μg/kg), and administering LPS (10μg/mouse) 10d later. Therapeutic groups were given respectively with SSL (10,15,20 ml/kg) before administration of LPS. The level of ALT, AST and LDH in serum were measured by automatic biochemistry analyzer, and MDA in liver plasma was measured by TBA method and the level of SOD was measured by pyrogallol autooxidation method. Results: The three experimental groups were found with significant decrease in the elevation of serum GPT and LDH level and the content of MDA in the liver plasma. The liver tissue damages were also ameliorated. Conclusion: SSL has protective effect against the experimental liver injury induced by BCG and LPS in mice.

Key words: SSL; BCG; LPS; Immunological liver injury; hepatoprotection

中图分类号: R 575

文献标识码: B

文献编号: 1671-4040(2005)03-0007-02

“水三仙”口服液是由菱角、薏苡仁、白莲、茯苓、山药、灵芝等中药配伍组成的清补之品。本品性味偏于甘凉,主入脾经,兼入心肾二经,其特点活泼清灵,补中有疏,疏而不泄,对脏腑而言可有健脾之功,而针对湿热又可清利。通过临床实践应用,本品扶正祛邪,解酒,健脾,生津,止渴,兼有养心安神、补肾固精之功,适宜作为调理大众身心、保证人民健康的中药制剂。目前资源尚未充分利用。“水三仙”口服液对肝损伤是否有保护作用还未见报道,为进一步探明其生物活性及治病机理,以小鼠为对象,应用 BCG+LPS 制作急性免疫性肝损伤模型,选择血清酶学血清超氧化物歧化酶(SOD)、肝脏脂质过氧化物丙二醛(MDA)为测定指标,从多方面观察“水三仙”口服液对小鼠急性免疫性肝损伤的保护作用及其作用机制,使其为中药制剂的开发及临床应用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 动物 昆明系小鼠,雄性♂,4~5 周龄,体重(20±2)g,购自浙江省实验动物中心。

1.1.2 药品和试剂 “水三仙”口服液(SSL,每支 10mL,生药含量 2g/mL,本校药物研究中心研制);1%联苯双酯(DDB,北京协和制药厂);卡介苗冻干粉 BCG,上海生物制品研究所,临用前以无菌生理盐水配成 12.5mg/mL;联苯三酚、细菌脂多糖(LPS)、硫代比妥酸(TBA)和四乙氧基丙烷(TEP)购自 Sigma 公司;血清谷丙转氨酶(ALT)、血清谷草转氨酶(AST)

和血清乳酸脱氢酶(LDH)测定试剂盒购自南京建成生物制品研究所。其余试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器 UV7250 紫外分光光度计(中国,上海);Olympus AU640 全自动生化分析仪(日本)。

1.3 方法

1.3.1 受试动物分组及药物用量 实验中动物随机分为 6 组,每组 12 只。各种药物用量为:正常组(N.S.)动物不给任何药,只给等量生理盐水及不作任何处理;损伤对照组(N.S.+BCG+LPS);阳性对照组(DDB+BCG+LPS);实验组 A、实验组 B、实验组 C 为不同剂量的 SSL,剂量依次按生药量为 5mL/kg、10mL/kg、20mL/kg+(BCG+LPS)。见表 1。

表 1 实验分组及药物用量 (n=12)

组别	N.S. /mL	DDB /mL·kg ⁻¹	SSL/mL·kg ⁻¹			BCG+LPS
			5	10	20	
正常组	10	—	—	—	—	—
对照组	10	—	—	—	—	*
阳性对照组	—	20	—	—	—	*
实验组 A	—	—	5	—	—	*
实验组 B	—	—	—	10	—	*
实验组 C	—	—	—	—	20	*

注:*表示 BCG 和 LPS 仅给药 1 次,BCG 为开始时每鼠尾静脉注射 1mg/0.2mL,LPS 为最后每鼠尾静脉注射 10μg/0.2mL。

1.3.2 小鼠免疫性肝损伤模型的建立^[4] 动物随机分组,每组 12 只,除正常组外,其余各组小鼠均经尾静脉注射 BCG 1mg/0.2mL,3 h 后,正常组小鼠腹腔注射等容生理盐水

生物学报,2000,16(1):51~56

[4]Abe S.Molecular biological prognostic markers in lung cancer[J].

Nippon Geka Gakkai Zasshi, 1997, 98(1):2~7

[5]于秋菊,马兰,景士兵,等.nm23、IV 型胶原、PCNA 在非小细胞肺

癌中表达的临床意义[J].中国肺癌杂志,2001,4(6):469~470

[6]丁翠敏,徐金升,左连富,等.cyclin D1、P53 蛋白及 DNA 倍体在评价肺癌预后中的作用[J].中国肺癌杂志,2001,4(4):287~289

(收稿日期:2005-01-16)