

胃黏膜病变组织 PCNA、BCL-2 和 BAX 的表达及意义

王建敏 莫耘松 张桂珍 徐利军 杨巧仙

(浙江省杭州市余杭区中医院 杭州 311106)

摘要:目的:测定胃黏膜病变组织 PCNA、BCL-2 和 BAX 的表达,探讨其在胃黏膜病变过程中的变化规律和所起的作用。方法:用免疫组化染色法检测 88 例经胃镜和病理确诊的不同胃黏膜病变患者的病变组织中 PCNA、BCL-2 和 BAX 的表达,探讨它们之间的关系及变化规律。结果:PCNA 从浅表性胃炎→萎缩性胃炎→肠腺化生→异型增生→胃癌中的表达逐渐增强, BCL-2 在胃癌中的表达最高,而 BAX 的表达与 BCL-2 相反,在浅表性胃炎中表达最强,经相关性分析 PCNA 与 BAX 成负相关($r=-0.320, P<0.01$),与 BCL-2 成正相关($r=0.430, P<0.01$)。结论:胃黏膜病变从浅表性胃炎→萎缩性胃炎→肠腺化生→异型增生→胃癌的变化过程中, PCNA、BCL-2 和 BAX 表达的异常在其中发挥重要作用。

关键词:胃黏膜病变;PCNA;BCL-2;BAX;免疫组织化学

中图分类号:R 735.2

文献标识码:B

文献编号: 1671-4040(2006)05-0004-03

一般认为,从正常胃黏膜到发生癌变,经历了慢性浅表性胃炎、萎缩性胃炎、肠上皮化生及异型增生等癌前变化几个阶段,但癌前变化在何种状态下发生癌变,目前尚无明确界限和客观标准。应用分子生物技术,发现胃黏膜细胞从正常→癌前→癌细胞的演变过程与细胞增殖和凋亡失衡有密切关系,本研究通过对不同胃黏膜病变中 PCNA、BCL-2 和 BAX 的表达的研究,试图揭示其在胃黏膜病变过程中的变

化规律及所起的作用。

1 材料和方法

1.1 病例选择 88 例患者系 2003 年 4 月~2005 年 1 月因上腹不适到本院行胃镜检查的患者,经病理学诊断符合慢性浅表性胃炎 19 例,慢性萎缩性胃炎 19 例,肠上皮化生 18 例,异型增生 16 例,胃腺癌 16 例;其中男性 46 例,女性 42 例;年龄 22~82 岁,平均年龄(49.18± 12.63)岁。

3 讨论

长期应用小剂量红霉素治疗慢性气道感染性疾病已经得到临床资料证实,但关于红霉素治疗 COPD 尚未见报道。本实验发现模型组大鼠病理改变为支气管上皮脱落、管壁炎症细胞明显浸润,肺组织存在明显肺气肿,说明 COPD 动物模型复制成功。IL-1 β 、TNF- α 是体内前炎症因子的核心,可以由 LPS 诱导活化的多种炎症细胞分泌,诱发 IL-6、IL-8、白三烯、血小板激活因子和前列腺素等分泌,由此激发炎症连锁反应^[9]。阻断 IL-1 β 、TNF- α 有助于减轻炎症反应,进一步抑制炎症连锁反应。本实验结果显示,给予红霉素治疗和预防治疗后 BALF 中的中性粒细胞数百分比明显低于模型组,气道上皮细胞脱落、炎症细胞浸润、杯状细胞增多以及管壁平滑肌排列紊乱等现象有不同程度减轻,血清中 IL-1 β 、TNF- α 水平降低,说明红霉素能够部分减轻模型组全身以及局部气道壁、气管腔内的炎症反应,起抗炎作用,其抗炎作用机制与减少中性粒细胞聚集,减少中性粒细胞趋化活性,抑制前炎症细胞因子 IL-1 β 、TNF- α 释放有关。

参考文献

[1]Rubin BK, Henke MO. Immunomodulatory activity and effectiveness of macrolides in chronic airway disease [J]. Chest,2004, 125 (S2): 70~78
[2]Gotfried MH. Macrolides for the treatment of chronic sinusitis, asthma, and COPD[J]. Chest,2004,25 (S2): 52~60
[3]Suzuki T, Yanai M, Yamaya M, et al. Erythromycin and common cold in COPD[J]. Chest,2001, 120(3): 730~733
[4]马楠,崔德健,梁延杰,等.气道内注入脂多糖法建立大鼠慢性支气管模型[J].中华结核和呼吸杂志,1999, 22(6): 371~372
[5]Chung KF. Cytokines in chronic obstructive pulmonary disease [J]. Eur Respir J Suppl, 2001, 34(S): 50~59

(收稿日期: 2006-03-26)

的地方可以看到管壁平滑肌肌束断裂,排列紊乱,单位面积内细支气管数量减少,局灶性肺泡隔破坏,形成肺气肿,偶可见肺大泡。肺小动脉周围有水肿,有少量淋巴细胞和浆细胞浸润,动脉管壁未见明显增厚。与模型组比较,红霉素治疗组与预防治疗组气道上皮细胞脱落、炎细胞浸润、杯状细胞增多以及管壁平滑肌排列紊乱等现象有不同程度减轻。

2.2 BALF 中细胞计数和分类 见表 1。与对照组比较,模型组 BALF 中细胞总数、单核细胞及中性粒细胞百分比明显升高($P<0.05$)。与模型组比较,红霉素预防组及治疗组 BALF 中性粒细胞显著下降($P<0.05$)。

表 1 各组大鼠 BALF 有核细胞计数及分类比较 ($\bar{X}\pm S$) %

组别	BALF 回收率	细胞总数($\times 10^6$ /mL)	单核-吞噬	中性粒细胞	淋巴细胞
A 组	57± 4	18.55± 1.40	30.14± 2.06	3.01± 0.23	56.46± 9.31
P 组	56± 3	35.81± 2.88	25.82± 3.14	3.03± 1.00	71.10± 7.22
S 组	56± 3	82.57± 5.61***	58.88± 4.26**	23.02± 1.28***	18.07± 13.13****
E1 组	54± 7	80.24± 7.33	67.77± 5.99	4.70± 0.24 [△]	26.81± 2.33
E2 组	53± 3	53.747± 5.12	69.18± 5.43	4.11± 0.15 [△]	28.11± 1.69

注:与 A 组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$;与 P 组比较, ★ $P<0.05$, ★★ $P<0.01$;与 S 组比较, △ $P<0.05$ 。

2.3 血清中 IL-1 β 、TNF- α 变化 见表 2。模型组血清中 IL-1 β 、TNF- α 较对照组比较明显升高($P<0.05$),红霉素预防组及治疗组血清中 IL-1 β 、TNF- α 水平较模型组比较显著下降($P<0.05$)。

表 2 各组大鼠血清中 IL-1 β 、TNF- α 比较 ($\bar{X}\pm S$) (pg/mL)

组别	n	IL-1 β	TNF- α
A 组	6	24.81± 1.92	4.55± 1.82
P 组	6	26.352± 1.531	9.15± 0.78
S 组	6	104.37± 8.51**	29.81± 1.01**
E1 组	6	56.39± 4.61 [△]	14.38± 2.27 [△]
E2 组	6	30.21± 2.96 ^{△△}	10.49± 1.96 ^{△△}

注:与 A 组比较, * $P<0.01$;与 P 组比较, ★ $P<0.01$;与 S 组比较, △ $P<0.05$, △△ $P<0.01$ 。

1.2 诊断标准 参照 2000 年中华医学会消化病学分会在江西井冈山举行的慢性胃炎研讨会制订的慢性胃炎病理诊断标准^[1]和同济医科大学与中山医科大学病理学教研室主编的《外科病理学》有关胃癌病理诊断标准^[2]。

1.3 主要试剂 免疫组化检测试剂盒 SupervisionTM Detection Reagent(HRP) Cat 由美国 Antibody Diagnostica Inc 提供,批号:46809;DAB 显色液由美国 Antibody Diagnostica Inc 提供,批号:46809;胃蛋白酶由福州迈新生物技术开发公司提供,批号:41011330099;胰酶由福州迈新生物技术开发公司提供,批号:307293008;AEC 显色液由福州迈新生物技术开发公司提供,批号:305039001;抗体稀释液由福州迈新生物技术开发公司提供,批号:305039001;clearmountTM 水性封片剂由福州迈新生物技术开发公司提供,批号:11167608;PCNA (批号:40180165,工作浓度为 1:75)、BCL-2 (批号:40780710,工作浓度为 1:50)、BAX (批号:1104,工作浓度为 1:50) 等一抗均为小鼠来源的单克隆抗体,为美国 Antibody Diagnostica Inc 产品。

1.4 结果判断标准

1.4.1 BCL-2 和 BAX 的判断标准 镜下 BCL-2 和 BAX 阳性呈黄色或棕色颗粒,位于细胞浆。积分采用半定量法判断,即根据每张切片的腺体和上皮的阳性细胞的面积及阳性细胞的着色强度进行分级评分。结果以两项之和表示。(1)每个视野所见阳性细胞数的面积分 0、1、2、3、4 级。0 级:为阴性,记 0 分;1 级:阳性细胞占 1%~25%,记 1 分;2 级:阳性细胞占 26%~50%,记 2 分;3 级:阳性细胞占 51%~75%,记 3 分;4 级:阳性细胞占 76%~100%,记 4 分;(2)阳性细胞着色强度分为 0、1、2、3 级。0 级:无棕色或黄色颗粒,阴性记 0 分;1 级:弱阳性染色为 1 分;2 级:中等阳性染色为 2 分;3 级:强阳性染色为 3 分。

1.4.2 PCNA 结果判断方法 PCNA 染色阳性物质呈棕黄色或深棕色颗粒状均匀分布,位于细胞核内,参照 Maeda^[3]结果判断方法,以每个标本的连续切片在高倍镜(10× 40)下随机取 2~3 个视野,每个视野计数 200 个以上胃黏膜及腺体上皮细胞中 PCNA 阳性的细胞数,换算成 PCNA 标记指数(AI),PCNA 的 AI= 阳性细胞数 / 计数细胞数× 100%。

1.5 统计方法 采用 SPSS12.0 统计软件进行统计。计量数据采用均数± 标准差($\bar{X} \pm S$)表示,统计方法采用 F 检验和多元相关分析。 $P < 0.05$ 认为差异有显著性。

2 结果

2.1 胃黏膜病变组织 PCNA、BCL-2、BAX 的表达情况 PCNA 在浅表性胃炎、萎缩性胃炎、肠上皮化生、异型增生和胃癌各组中的表达呈逐渐递增趋势,除萎缩性胃炎和肠腺化生 2 组之间外,其余各组之间相比差异均有显著性 ($P < 0.01$);BCL-2 在胃癌中的表达最高,与其它各组相比差异有显著性 ($P < 0.05$),但其余各组之间相比均差异无显著性 ($P > 0.05$);BAX 的表达与 BCL-2 相反,在浅表性胃炎中表达较其它各组明显增高,差异有显著性 ($P < 0.01$, $P < 0.05$),但其余各组之间相比差异均无显著性 ($P > 0.05$),见表 1。

表 1 胃黏膜病变组织 PCNA、BCL-2、BAX 的表达比较 ($\bar{X} \pm S$)

	n	PCNA	BCL-2	BAX
浅表性胃炎	19	28.53± 10.39	0.18± 0.38	2.58± 1.54
萎缩性胃炎	19	40.53± 9.96*	0.63± 0.96	1.66± 1.47**
肠腺化生	18	45.00± 10.92*	0.58± 0.81	1.64± 0.95**
异型增生	16	63.00± 11.86*#△	0.88± 1.13	1.44± 1.12*
胃腺癌	16	76.13± 9.40*#△☆	2.31± 2.10*#△☆	1.00± 0.95*

注:与浅表性胃炎比,* $P < 0.01$,** $P < 0.05$;与萎缩性胃炎比,# $P < 0.01$;与肠腺化生比,△ $P < 0.01$;与异型增生比,☆ $P < 0.01$ 。

2.2 PCNA、BCL-2、BAX 的相关性分析 PCNA 与 BAX 成负相关 ($r = -0.320$, $P < 0.01$),与 BCL-2 成正相关 ($r = 0.430$, $P < 0.01$)。

3 讨论

PCNA 又称周期蛋白(cyclin),是一种核内蛋白质,由 261 个氨基酸组成,分子量为 36KD,是 DNA 聚合酶 δ 的辅助蛋白,它参与 DNA 的合成并在细胞周期中起着重要的调节作用^[4]。PCNA 在增殖细胞中的含量变化有明显的周期性,在 G₀ 期基本无表达,G₁ 晚期开始增加,在 S 期达高峰,G₂ 期至 M 期迅速下降^[5],这种变化恰好与细胞内 DNA 复制的时相变化相一致。因此,作为 S 期细胞的标记物,PCNA 的合成和表达代表着细胞的增殖状态,其肿瘤细胞动力学及细胞活性方面的研究为进一步阐明肿瘤形成的机制,提供了科学的依据。正是 PCNA 的这一生理功能,可以作为一项评估细胞增殖状态的指标广泛用于恶性肿瘤的研究。胃癌的发生机制还不十分清楚,从正常胃黏膜到发生癌变,经历了慢性浅表性胃炎、萎缩性胃炎、肠上皮化生及异型增生等癌前变化几个阶段,但癌前变化在何种状态下癌变,目前尚无明确界限和客观标准。这一问题也是目前胃黏膜疾病研究中的焦点之一。Corren 提出了一个胃癌发生过程的模式,即慢性浅表性胃炎→慢性萎缩性胃炎→肠上皮化生→异型增生→癌变,在这一过程中,PCNA 可能起重要作用,本研究结果显示 PCNA 在浅表性胃炎、萎缩性胃炎、肠上皮化生、异型增生和胃癌中的表达呈依次递增趋势,除萎缩性胃炎和肠腺化生组之外,其余各组之间相比均有显著性差异 ($P < 0.01$),与文献报道较一致^[6~8];经相关性分析 PCNA 与 BAX 成负相关 ($r = -0.320$, $P < 0.01$),与 BCL-2 成正相关 ($r = 0.430$, $P < 0.01$),说明 PCNA 能引起细胞的异常增殖,BCL-2 通过抑制细胞凋亡过程,破坏细胞数量的动态平衡,起到促进肿瘤发生的作用。

凋亡是细胞受到某种信号刺激后进行的一种程序化死亡,对于调节多细胞生物的个体发育及体内平衡具有重要作用^[9]。过度的凋亡与神经退行性疾病等有关,而凋亡受到抑制则与肿瘤等疾病的产生有关^[10]。人 BCL-2 基因是 1984 年 Tsujimoto 等从 B 细胞滤泡性淋巴瘤相关的 t(14;18)染色体易位的断裂点克隆到的。它是调节凋亡过程的重要基因,本身无促进增殖作用,也无促进细胞恶性转化作用,但它可以在无生长因子或神经营养因子存在的条件下通过抑制凋亡,延长细胞存活时间,增加细胞染色体畸变和病毒感染机会,导致细胞恶变和促进肿瘤的发生与发展^[11]。现已明确 BCL-2 是凋亡的抑制物,其过度表达可阻止正常的生理凋亡,这是其促进肿瘤产生的原因之一。大量的临床研究显示 BCL-2 在

胃癌细胞中表达增加,而且表达量与凋亡指数成反比^[12~14]。本研究结果显示 BCL-2 在胃癌中的表达最高,与其它各组相比有显著性差异($P<0.05$),但其余各组之间相比均无显著性差异($P>0.05$),提示 BCL-2 可能在胃癌发病过程中的后期阶段起作用。

BAX(BCL-2 associated X protein)是 BCL-2 基因家族中的细胞凋亡促进基因。BAX 与 BCL-2 有 45%的同源性。实验中 BAX 的过表达可拮抗 BCL-2 的生物效应而使细胞趋于凋亡。当 BAX 过表达,BAX 可形成同源二聚体,形成离子通道,使线粒体的膜通透性改变,细胞发生凋亡,或者 BAX 取代凋亡蛋白酶活化因子(Apaf)与 BCL-2/BCL-2L 结合 Apaf 活化 Caspase,导致凋亡。目前认为 BCL-2 家族凋亡诱导基因 BAX 等和凋亡抑制基因 BCL-2 等的相对表达水平决定了细胞对凋亡信号的反应性。当 BCL-2 超表达时,它与 BAX 形成异二聚体,凋亡被抑制。当 BAX 在细胞内超表达,细胞对死亡信号的反应增强,细胞发生凋亡。因此,BCL-2 与 BAX 比例决定细胞凋亡程度。BAX 的促凋亡的特性与肿瘤的发生、发展密切相关。本研究结果显示,BAX 的表达与 BCL-2 相反,在浅表性胃炎中表达最高,其它各组与之相比有显著性差异($P<0.05$),但其余各组之间相比无显著性差异($P>0.05$),与文献报道基本一致^[13~14]。

参考文献

[1]中华医学会消化病学分会.全国慢性胃炎研讨会共识意见[J].中华消化杂志,2000,2(3):199~201
[2]同济医科大学,中山医科大学病理学教研室.外科病理学[M].武汉:湖北科学技术出版社,1999.100~101
[3]Meada K, hung YS, Onoda N, et al. Proliferating cell nuclera antigen

labeling index of preoperative biopsy specimens in gastric carcinoma with special reference to trogmosis[J].Cancer, 1994, 73: 528
[4]Shou W, Gregory GH, Darid S, et al. The P21 inhibitor of cycliyn dependent kinases control DNA replication by interaction with PCNA[J].Nature,1994,369(16): 574~577
[5]Mathews MB,Bernstein Rm,Tranza Br, et al. Identity of the pro-liferating cell nuclear antigen and cyclin [J]. Nature, 1984, 309: 374
[6]王波,王桂华,姚伟明,等. PCNA 在胃粘膜肠上皮化生、异型增生和胃癌中表达及意义的研究 [J]. 实用肿瘤学杂志,2003,17(3): 176~178
[7]刘婷,刘凤阁,张绘宇. PCNA、BCL-2 在胃癌中的表达[J].齐齐哈尔医学院学报,2002,23(8): 841~842
[8]陈松妹,应梅雪. 幽门螺杆菌感染与胃癌、慢性胃炎、溃疡病、异型增生的关系及 PCNA 表达 [J]. 实用肿瘤杂志,2003,18(5): 399~400
[9]Nbier P, Finch A, Evan G, et al. Apoptosis in development [J]. Nature, 2000, 407(6805): 796~801
[10]Thompson CB.Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease [J].Science, 1995, 267(5203): 1 456~1 462
[11]Xu J, Xu Z, Jiang Y. Cryptorchidism induces mouse testicular germ cell apoptosis and changes in bcl-2 and bax protein espression [J]. J Environ Pathol Toxicol Oncol, 2000, 19(1~2): 25~33
[12]Sundblad AS, Tamago R. Expression of MIB-1 /KI 67 and Bcl-2 in gastric carcinoma: Relationship with clinic pathological factors [J]. Acta Gastroenterol Lalinoom, 1995, 25(2): 67~72
[13]祁晓莉,戴洁,薄爱华,等. 细胞凋亡基因 BCL-2 和 BAX 在胃癌和癌旁粘膜组织中表达的研究 [J]. 河北北方学院学报,2004,21(5): 41~43
[14]张红杰,赵志泉,王颖.胃粘膜组织 BCL-2、BAX 蛋白表达与胃癌的关系[J].河北医学,2001,7(10): 865~866

(收稿日期: 2006-03-08)

剖宫产术中脾损伤 1 例报告

叶志玲

(浙江省慈溪市第二人民医院 慈溪 315315)

关键词:剖宫产术;脾损伤;病例报告

中图分类号:R 719.8²

文献标识码:B

文献编号: 1671-4040(2006)05-0006-01

1 病例报告

患者,38 岁,孕₃产₂,因停经 40⁺周要求待产而于 2005 年 9 月 5 日 16 时入院。既往体健,2 年前行输卵管再通术,无血吸虫病和疟疾病史,无外伤史。体检:体温 36.6℃,血压 94/62mmHg,脉搏 84 次/min,呼吸 20 次/min,心肺正常,腹软,无压痛及反跳病,肝脾未触及异常。产科检查:宫高 35cm,腹围 92cm,枕左前位,先露头,浮,胎心 144 次/min。入院检查血常规和凝血功能正常。B 超检查提示:头位,双顶径 9.1cm,股骨长 7.0cm,胎心 126 次/min,胎盘成熟度 III 级,羊水指数 19.4cm。入院后予胎监检查,基线 I 型,NST 阳性。当日予卵膜剥离引产。入院后次日予 0.5%催产素引产,下午在引产过程中出现胎心偏快,予吸氧、地塞米松针等治疗后胎心无好转。鉴于患者系输卵管再通术后妊娠,胎儿珍贵,将病情向患者及家属交待,其要求剖宫产结束妊娠。即于下午 3

时 10 分在腰硬联合麻醉下行子宫下段剖宫产术,采用下腹正中切口,长约 12cm,进腹腔后无异常发现。羊水量约 400mL,II 度污染。尽量吸净羊水后,术者右手入宫腔上托胎头至切口处,助手用右手按压宫底,未施暴力按压约 10s。娩出一活女婴,新生儿 1min Apgar 评分为 10 分,体重 3 100g。分别缝合子宫切口和膀胱子宫反折腹膜,常规检查附件时发现左侧腹有少量新鲜血液,排除子宫附件出血后,见少量新鲜血液从左上腹流下,即请外科医生会诊,考虑为脾损伤。另取左上腹直切口约 12cm 进腹见脾稍肿大,脾脏肋面中部有长约 4.0cm 裂口,脏面近脾处有一长约 1.0cm 裂口,深约 1.0cm,有少量出血,未见其他异常。行脾修补术,止血成功。术后产妇恢复良好,术后 23d 痊愈出院。

2 讨论

剖宫产术中发现脾损伤极为少见,脾损(下转第 10 页)