

p53、CerbB-2 在慢性萎缩性胃炎伴异型增生 中医证型中的表达及其意义

张冬英 吴耀南[#] 张玉凤
(福建省厦门市中医院 厦门 351009)

摘要:目的:观察 p53、CerbB-2 表达在慢性萎缩性胃炎伴异型增生的中医各证型中的变化,探讨各证型之间在病理组织学及分子生物学水平上有无差异,探索中医辨证分型的客观指标。方法:选取 146 例慢性萎缩性胃炎伴异型增生患者进行中医辨证分型;采用 Feulgen 染色和免疫组织化学 S-P 法检测患者胃黏膜组织中 p53、CerbB-2 的表达情况。结果:(1)慢性萎缩性胃炎伴轻度异型增生即有癌基因的阳性表达,且轻、中、重度异型增生的 p53 阳性表达无显著性差异($P>0.05$),CerbB-2 在轻、重度存在非常显著性差异($P<0.01$)。 (2)p53、CerbB-2 阳性表达率在慢性萎缩性胃炎伴异型增生的中医各证型间呈显著性差异($P<0.05$),且阳性表达率均存在胃络瘀血型>胃阴不足型>脾胃虚弱型>脾胃湿热型>肝胃不和型的递进关系。结论:(1)慢性萎缩性胃炎伴异型增生的中医辨证分型有其一定的病理组织学及分子生物学基础。(2)轻、中、重度异型增生均有癌变的可能,且随着异型增生程度的加重癌变的可能性逐渐增大。(3)慢性萎缩性胃炎伴异型增生的中医证型在病情严重程度存在一定的轻重递进关系,具体表现为胃络瘀血型>胃阴不足型>脾胃虚弱型>脾胃湿热型>肝胃不和型。(4)检测 p53、CerbB-2 的表达可作为慢性萎缩性胃炎伴异型增生的诊断、分级和中医辨证分型的参考指标,并能协助指导临床诊治。

关键词:慢性萎缩性胃炎;异型增生;中医证型;癌基因

The Expression and Significance of p53 and CerbB-2 in the Syndromes of Traditional Chinese Medicine of Chronic Atrophic Gastritis with Dysplasia

ZHANG Dong-ying, WU Yao-nan[#], ZHANG Yu-feng
(Fujian Provincial Xiamen City Hospital of TCM, Xiamen351009)

Abstract: Objective: Through observing the variety of the expression of p53 and CerbB-2 in the syndromes of traditional chinese medicine (TCM) of chronic atrophic gastritis with dysplasia, to study the difference of the syndromes of TCM in the pathologic histology and molecule biology level. Exploring objective and quantitative indexes of syndromes of TCM may be as a guide to TCM in preventing and treating the chronic atrophic gastritis with dysplasia. Methods:146 cases with chronic atrophic gastritis with dysplasia were divided into five types according to the syndrome differentiation of TCM. Image analysis technique and S-P immunohistochemical method were applied to detect the expression of p53 and CerbB-2 in stomach mucosa. Results: (1)There ever was the positive expression of oncogenes in the chronic atrophic gastritis with mild dysplasia, but no significant difference was found in the expression of p53 among mild, moderate or severe dysplasia($P>0.05$). While the difference expression of CerbB-2 between mild and severe dysplasia had very significant ($P<0.01$). (2)The positive expression of p53 and CerbB-2 among all these syndromes of TCM had significant difference ($P<0.01$), and they both had a significant stepwise crescendo tendency in the following sequence, disharmony between the liver and stomach, damp heat in the spleen and stomach, deficiency of the spleen and stomach, deficiency of stomach Yin, blood stagnation of the stomach. Conclusions: (1)The syndromes of TCM of chronic atrophic gastritis with dysplasia are on the basis of pathologic histology and molecule biology reliably, and it might play partly a good guidance in treating this disease. (2)Mild, moderate and severe dysplasia all had the possibility of carcinogenesis, and the possibility increased with the increment of the severity of dysplasia in gastric mucosa. (3)The worse of the syndromes of TCM of chronic atrophic gastritis with dysplasia increased by degrees, and the regular sequence was disharmony between the liver and stomach, damp heat in the spleen and stomach, deficiency of the spleen and stomach, deficiency of stomach Yin, blood stagnation of the stomach. (4)It has been approved that p53 and CerbB-2 could be used as some important indexes for diagnosis and classification of chronic atrophic gastritis with dysplasia, and for guidance of diagnosis and treatment.

Key words: Chronic atrophic gastritis; Gastric epithelial dysplasia; Syndrome of TCM; Oncogenes

中图分类号:R735.2

文献标识码:B

doi:10.13638/j.issn.1671-4040.2015.07.002

胃黏膜癌变是一个复杂漫长的过程,常经历数年的癌前病变阶段。胃黏膜癌前病变(Precancerous Lesions of gastric cancer, PLGC)是指慢性萎缩性胃炎(CAG)伴大肠不完全型肠化(ⅡB型)和/或中、重度不典型增生(DYS)^[1]。本研究主要探讨胃黏膜癌前病变中慢性萎缩性胃炎伴异型增生者。尽管目前普遍认为慢性萎缩性胃炎伴中、重度异型增生属

胃黏膜癌前病变,但临床发现轻度异型增生亦常有癌基因的阳性表达,所以本研究将轻度异型增生同样纳入研究范围。近年来研究表明,胃癌的发生、发展与癌基因激活、抑癌基因失活、抗凋亡基因过度表达、抑制细胞凋亡、刺激细胞分化和增殖密切相关^[2]。特别是 p53、CerbB-2 的异常表达与胃黏膜癌前期病变的关系引起了高度重视,其中包括他们在慢

[#] 通讯作者:吴耀南, E-mail: 936245503@qq.com

性萎缩性胃炎伴异型增生中的表达。本研究旨在对 p53、CerbB-2 在慢性萎缩性胃炎伴异型增生中医各证型中的表达进行分析比较,探讨各证型在病理组织学及分子生物学水平上是否有显著性差异,探索中医辨证分型的客观指标,以期更好地协助指导中医药防治胃黏膜癌前病变,阻断病情的进展和恶化。

1 材料与方法

1.1 临床材料 所有入选病例均来自于厦门市中医院 2010 年 1 月~2014 年 1 月门诊及住院病人,经电子胃镜检查及胃黏膜病理组织活检证实为慢性萎缩性胃炎伴异型增生,并经我院富有经验的消化内科专家根据 2002 年中国医药科技出版社出版的《中药新药临床研究指导原则》第一版中的中医证候诊断标准进行辨证分型。观察对象共 146 例,其中男 78 例,女 68 例;年龄 24~85 岁,平均(54.86±14.02)岁;病程 2~40 年,平均(8.58±4.27)年。中医辨证为肝胃不和型 22 例,脾胃虚弱型 26 例,脾胃湿热型 32 例,胃阴不足型 39 例,胃络瘀血型 27 例;萎缩性胃炎属轻度 55 例,中度 48 例,重度 43 例;异型增生属轻度 95 例,中度 30 例,重度 21 例。上述各证型间性别、年龄经齐同性检验无显著性差异($P>0.05$)。

1.2 研究方法 对 146 例观察对象进行常规胃镜检查,并按常规取胃窦、胃体部或病灶处胃黏膜组织进行病理组织活检,新鲜标本用 10%中性福尔马林溶液固定,石蜡包埋,4 μm 厚度切片,HE 染色。病理检查依照上述标准证实为慢性萎缩性胃炎伴异型增生者,进一步行免疫组化检查,测定 p53、CerbB-2 的表达水平。

1.2.1 p53 表达的检测 采用 S-P 免疫组化标记。染色前切片于 0.05 mol/L 柠檬酸液中进行高压抗原修复,DAB 显色,苏木紫对比复染。以 PBS 替代一抗做阴性对照。试剂盒购自福州迈新公司。以所观察目标细胞核内出现棕黄色颗粒,且着色强度明显高于背景的非特异性着色为阳性。对 p53 着色强度做以下规定:未见阳性细胞者为(-);染色淡或阳性细胞<25%为(+);染色适中或阳性细胞占 25%~50%者为(++);染色深或阳性细胞>50%者为(+++)。

1.2.2 CerbB-2 表达的测定 采用 S-P 法,抗 CerbB-2 抗体为鼠抗人单克隆抗体,试剂盒购于福州迈新公司。DAB 显色,苏木素衬染,用 PBS 液代替第一抗体作阴性对照,用已知的阳性标本切片作阳性对照,并将染色强度分为:阴性(-):无棕色反应;弱阳性(+):部分细胞显示棕色;强阳性(++):绝大部分细胞显示棕色。

1.3 统计学方法 应用 SPSS17.0 统计软件包进行数据处理,计数资料采用 χ^2 检验及四格表 χ^2 检验进行两样本率的比较;计量资料采用 F 检验,两两之间比较采用 q 检验。

2 结果

2.1 p53、CerbB-2 在各级异型增生中的阳性表达 见表 1。p53 在轻、中、重度异型增生的阳性表达无显著性差异(P 均>0.05),CerbB-2 在轻、中、重度异型增生的阳性表达,在轻、重度呈非常显著性差异($P<0.01$)。

表 1 各级异型增生中 p53、CerbB-2 的阳性表达率[例(%)]			
异型增生	<i>n</i>	p53	CerbB-2
轻度	95	38 (40.0)	20 (21.1)
中度	30	18 (60.0)	11 (36.7)
重度	21	13 (61.9)	13 (61.9)

2.2 证型类别与异型增生的关系 见表 2。各证型在轻、中、重度异型增生分布上具有非常显著性差异,且肝胃不和、脾胃湿热、脾胃虚弱、胃阴不足、胃络瘀血的轻度异型增生百分率逐渐下降,而中、重度异型增生的百分率依次上升。

表 2 证型类别与异型增生的关系[例(%)]				
证型类别	<i>n</i>	轻度	中度	重度
肝胃不和	22	21 (95.5)	1 (4.5)	0 (0.0)
脾胃湿热	32	26 (81.2)	3 (9.4)	3 (9.4)
脾胃虚弱	26	18 (69.2)	5 (19.2)	3 (11.5)
胃阴不足	39	21 (53.8)	10 (25.6)	8 (20.5)
胃络瘀血	27	9 (33.3)	11 (40.7)	7 (25.9)

注:经 χ^2 检验, $\chi^2=24.645$, $df=8$, $P=0.002<0.01$ 。

2.3 p53、CerbB-2 在慢性萎缩性胃炎伴异型增生中医各证型中的阳性表达情况 见表 3。(1)五种证型 p53 的阳性表达应用 χ^2 检验,得出 $P=0.003<0.01$,表明这五种证型在 p53 的表达上具有非常显著性差异。各证型进一步以四格表公式或其校正公式进行 χ^2 检验,结果显示 p53 在肝胃不和与脾胃虚弱、胃阴不足、胃络瘀血中,脾胃湿热与胃络瘀血的阳性表达均存在非常显著性差异(P 均<0.01);脾胃湿热与胃阴不足差异显著 $P<0.05$,其余两两比较差异性均不显著(P 均>0.05),而且 p53 的阳性表达率胃络瘀血型>胃阴不足型>脾胃虚弱型>脾胃湿热型>肝胃不和型。(2)五种证型 CerbB-2 的阳性表达应用 χ^2 检验,得出 $P=0.014<0.05$,表明这五种证型在 CerbB-2 的表达上具有显著性差异。各证型进一步以四格表公式或其校正公式进行 χ^2 检验,可得出 CerbB-2 在肝胃不和与胃阴不足、胃络瘀血中,脾胃湿热与胃络瘀血的阳性表达均呈非常显著性差异(P 均<0.01),脾胃虚弱与胃络瘀血呈显著性差异($P<0.05$),其余两两比较均无显著性差异(P 均>

0.05)。而且 CerbB-2 的阳性表达率胃络瘀血型>胃阴不足型>脾胃虚弱型>脾胃湿热型>肝胃不和型。

表 3 p53、CerbB-2 在慢性萎缩性胃炎伴异型增生中医各证型中的阳性表达情况[例(%)]

证型类别	n	p53	CerbB-2
肝胃不和	22	3 (13.6)	1 (4.5)
脾胃湿热	32	10 (31.2)	7 (21.9)
脾胃虚弱	26	14 (53.8)	6 (23.1)
胃阴不足	39	23 (59.0)	14 (35.9)
胃络瘀血	27	19 (70.4)	16 (59.3)

3 讨论

胃黏膜上皮异型增生系指胃黏膜腺管及上皮的生长偏离了正常的组织结构和细胞分化。根据分化程度和范围将异型增生分为 I~III 或轻、中、重度三级,其中重度异型增生被国际病理学专家认为是一种明确的上皮性肿瘤性增生,代表肿瘤生长的起始阶段^[3]。胃癌的发生、发展中,既有抑癌基因的突变,又有原癌基因的激活。研究表明 p53 基因是胃癌中最常突变的抑癌基因,野生型 p53 作为一种抑癌基因,通过调控细胞生长和促进凋亡而发挥作用,突变后的 p53 基因不仅失去了上述作用,反具有促进细胞恶化的功能,野生型 p53 基因产物半衰期短,用免疫组化方法难以检测,而突变型 p53 基因产物的稳定性高,用免疫组化方法检测出的 p53 蛋白,皆为突变型基因产物。因此,可作为一种辅助诊断胃癌的标志物^[4]。张凤艳等^[5]研究发现胃癌组织 p53 蛋白阳性表达率明显高于胃黏膜正常组织,且随着胃癌的进展其表达逐渐升高,提示 p53 蛋白的异常表达与胃癌发生密切相关。并且发现 p53 表达水平与患者的年龄、性别、胃癌的类型和患者的生存率相关。CerbB-2 基因是 1985 年被 Semba 等发现的一种原癌基因,它位于 17q21 上,其基因表达产物是一种具有酪氨酸酶活性的糖蛋白,由大约 1 255 个氨基酸构成,相对分子量为 1.85× 105,故称 P185。多数研究认为 CerbB-2 基因的异常改变是胃癌进展的晚期事件,但也有学者发现 P185 蛋白在不典型增生黏膜中也有表达,主要定位于胞浆,分布具一定极性。一般在腔缘侧胞浆中,而癌细胞的 P185 蛋白表达主要出现在胞膜,且分布无极性。原癌基因 CerbB-2 被激活后,表现为基因的扩增和产物的高表达,具有致癌变活性,因而 CerbB-2 基因异常表达不仅与胃癌预后有关,而且与胃黏膜癌变过程相关,可作为异型增生进展的监测指标^[4]。贾振军等^[6]研究结果显示 CerbB-2 在正常胃黏膜、胃炎组织中无表达,在胃黏膜癌前病变组织中过度表达,认为可以作为判断胃黏膜癌变的重要指标。

据本研究的表 1 可见,轻度异型增生即有癌基因的阳性表达,其 p53、CerbB-2 的阳性表达率分别为 40.0%、21.1%,且随着异型增生程度的加重 p53、CerbB-2 的阳性表达率逐渐上升。其中 p53 的阳性表达率在各级异型增生非常接近,无显著性差异,说明在轻度异型增生中抑癌基因的突变就已非常活跃,且与中、重异型增生有一定的重叠性。表明轻度异型增生与中、重度异型增生同样存在癌变的可能。而 CerbB-2 阳性表达率随着异型增生程度的加重逐渐上升,其中轻、重度有非常显著性差异($P<0.01$),说明在胃黏膜癌变过程中 CerbB-2 的作用与突变量和表达量的积累密切相关,是一个由量变到质变的渐进过程。因此不同程度的异型增生均有一定的癌变能力,其中以重度异型增生的癌变率为最高,与上述诸观点基本一致。所以对不同程度的异型增生的治疗均要积极,但同时要区别对待。中医学中并没有“慢性萎缩性胃炎伴异型增生”这一病名,但根据其临床症状特征,可将其归于中医“胃痛、痞证、嘈杂、反胃”等范畴。对于其病机目前国内已较一致地认为是以脾胃气阴两虚为本,兼有气滞、或胃热、或血瘀的本虚标实之证;因虚挟邪,因实致虚是其主要的病机转化规律^[7]。在古代医籍中已有详尽论述。叶天士云“胃痛久而屡发,必有凝痰聚瘀”。《证治汇补》曰:“饮食不下,心胃作痛,此痰凝血瘀”。《古今医统》亦指出:“凡食少有碍,觉屈曲而下,微作痛,此必有死血而痰然”。归纳起来病机不外乎“滞、热、虚、瘀”几点,故认为本病属本虚标实,本虚以脾胃气阴两虚为主,标实则有气滞、血瘀、湿阻、热毒蕴胃等,且多呈兼挟之势。本研究在所观察的病例中发现轻度异型增生以肝胃不和型、脾胃湿热型为多见,中度异型增生以胃络瘀血型和胃阴不足型多见,重度异型增生则以胃络瘀血型多见(见表 2)。可见胃络瘀血是癌前病变的晚阶段事情,整个过程与“因邪致虚,因虚生邪”及“久病入络、久病必瘀”的观点是相一致的。

通过检索可知中医对本病的认识主要集中于对病因病机方面的阐述和以中医药治疗此病的经验,而就中医证型与癌基因表达之间的关系探讨不多。涂福音等^[8]对 1 049 例慢性胃炎患者进行中医辨证分型及病理组织活检,发现病理诊断为浅表性胃炎者,中医辨证分型多为肝胃不和或脾胃湿热;病理诊断为萎缩性胃炎者,中医辨证分型多为胃阴不足或脾胃虚弱。由此可知,中医证型与病理组织学之间存在一定的相关性。本研究结果显示:慢性萎缩性胃炎伴异型增生中医各证型间 p53、CerbB-2 阳性表达率均为胃络瘀血>胃阴不足>脾胃虚(下转第 12 页)

3 讨论

II 区与III区指深屈肌腱断裂后,由于该部位肌腱所处结构的特殊性,后期容易发生肌腱粘连,尽早活动是减少粘连的有效措施。为了预防肌腱粘连,须增强肌腱断端的吻合强度,以利于早期进行伤指的主、被动活动功能锻炼。有效的早期活动可促进肌腱愈合处肌腱细胞的增殖,促进肌腱内源性愈合能力,使结构恢复近似正常肌腱形态,表面光滑,愈合质量提高,防止粘连形成。传统的肌腱吻合法由于肌腱吻合断端抗拉强度不够,往往术后需要固定保护和制动 3 周,不能早期行伤指主、被动屈、伸活动锻炼,以免肌腱吻合口撕裂,这就会导致肌腱粘连、伤指屈、伸活动受限并关节屈曲畸形、僵硬。

目前,临床上肌腱断裂最常用的修复方法是改良 Kessler 法,但根据我们临床及许多资料表明它的肌腱吻合口再次断裂发生率很高^[6],不宜过早行伤指主、被动屈、伸活动功能锻炼,从而容易引起断裂吻合后的肌腱粘连导致手指屈伸受限、关节僵硬。

用多组套圈吻合法修复指深屈肌腱断裂与改良 Kessler 法相比较,其优势在于:由于有 2 组以上线套圈缝合,从而使肌腱断端在各个方向受力均匀,有效防止了断端间隙形成,抗拉强度大,肌腱吻合处不易断裂,有足够的抗张强度支持在术后麻醉失效后即刻开始在石膏保护下行主、被动屈、伸活动锻炼;而且此缝合法不影响肌腱血供,不仅利于肌腱断端的愈合,更能增加肌腱的滑动距离,增强肌腱修复后的张力,减少粘连形成,减轻局部的水肿及肌腱变性,有效防止肌腱粘连和关节屈曲畸形,从而功能恢

(上接第 6 页)弱>脾胃湿热>肝胃不和,经检验各证型间均存在显著性差异(P 均 <0.05)(见表 3)。以上这些结果从病理组织学及分子生物学角度证实了本病从中医证型的肝胃不和型→脾胃湿热型→脾胃虚弱型→胃阴不足型→胃络瘀血型是一个病情由轻到重的渐进过程。此与中医学的观点是一致的,中医学认为本病发病初期以实证为主,故临床以肝胃不和型、脾胃湿热型多见;病久则“因邪致虚”,出现气虚、阴虚等证候,以脾胃虚弱型、胃阴不足型多见;后期则“因虚生邪”,虚实夹杂,以胃络瘀血型多见。

因此慢性萎缩性胃炎伴异型增生中医辨证分型确实有其一定的病理组织学及分子生物学基础,通过对本病的中医证型与癌基因表达相关性的研究,不仅为揭示本病的中医证型的客观化提供了帮助,也为深入研究其病理实质、及对临床上的合理

复满意;手术操作简便、易掌握,临床各级医院都可推广。不足之处:不适合细小、扁平的肌腱。需要注意的关键技术:(1)根据肌腱的大小调整套圈的数量和进出针的位置,使肌腱断端得到足够的抗拉力强度,以利于术后即可行主、被动活动;(2)保证肌腱两侧套圈锁定的肌腱纤维截面积大小及每根线的松紧度的对称,以不影响血运及吻合口出现裂隙为宜;(3)肌腱缝合的边距至少要超过 1 cm,以防缝线撕脱致肌腱再次断裂;(4)术后麻醉失效后随即在医生的指导下行主、被动伸、屈运动,以防肌腱粘连及促进肌腱的高质量愈合。

综上所述,多组套圈吻合法修复指深屈肌腱断裂的综合疗效优于改良 Kessler 法,在条件允许的情况下,可优先选择此方法修复肌腱断裂。

参考文献

[1]韦加宁.韦加宁手外科手术图谱[M].北京:人民卫生出版社,2005.169
[2]曲智勇,程国良,郝铸仁.实用手外科手术学[M].第 2 版.北京:人民军医出版社,2003.124-125
[3]潘丞中,汤锦波,谢仁国,等.五种肌腱缝合方法的生物力学研究[J].中华骨科杂志,1999,19(6):367-369
[4]Baskies MA,Tuckman DV,Paksima N.Management of flexor tendon injuries following surgical repair [J].Bull NYU Hosp Jt Dis,2008,66(1):35-40
[5]陈阳,宋长福.手部屈肌腱修复术后的综合康复治疗[J].现代康复,2001,5(14):94
[6]曾洁明,林昂如.手指伸指肌腱止点撕脱伤治疗改进[J].广东医学,2009,30(2):248-249
[7]潘达德,顾玉东,侍德,等.中华医学会手外科学会上肢部分功能评定试用标准[J].中华手外科杂志,2000,16(3):130-135
[8]Golash A,Kay A,Warner JG,et al.Efficacy of ADCON-T/N after primary flexor tendon repair in Zone II : a controlled clinical trial[J].J Hand Surg Br,2003,28(2):113-115

(收稿日期:2015-01-14)

组方、提高临床疗效提供了必要的前提条件,对于指导中医药诊治胃黏膜癌前期病变具有一定的意义。

参考文献

[1]Genta RM.Atrophy,metaplasia and dysplasia:are they reversible[J]? Ital J Gastroenterol Hepatol,1998,30:s324-s325
[2]张遵红,刘启兰.p53 在胃黏膜上皮非典型增生和胃癌中的表达及意义[J].右江民族医学院学报,2004,26(2):155-157
[3]房殿春.胃黏膜癌前病变的研究进展[J].现代消化及介入诊疗,2013,18(2):87-90
[4]赵松,付英梅,赵柏,等.慢性萎缩性胃炎黏膜上皮中 p53 和 CerbB-2 表达的临床意义[J].世界华人消化杂志,2006,14(30):2943-2947
[5]张凤艳,张金子,邹树彪,等.胃癌组织中 p21,p27,p53 和 Rb 的表达及临床意义[J].临床与实验病理学杂志,2011,27(6):586-589
[6]贾振军,郭雪洁,苗新东,等.p16,p53,CerbB2 和 ki-67 在胃癌及癌前病变中的表达及意义 [J]. 中国现代普通外科进展,2014,17(8):611-615
[7]劳绍贤.胃癌癌前病变的中医药研究[J].江苏中医药,2007,39(8):9
[8]涂福音,聂明,吴耀南,等.慢性胃炎中医证型与胃黏膜活检病理变化的关系[J].中国中西医结合消化杂志,2004,12(6):323-325

(收稿日期:2015-03-26)