

端粒酶活性在胃癌组织中表达的临床意义

徐 萍,唐永明

(解放军第 454 医院消化科,江苏南京 210002)

[摘 要] 目的 研究胃癌组织中端粒酶的活性表达。方法 采用端粒酶重复序列扩增法。结果 胃癌组织中端粒酶活性表达阳性率达 91%。正常胃黏膜组织中未检出端粒酶活性。两者有显著性差异($P < 0.001$)。胃癌组织不同分化程度及淋巴结转移之间端粒酶活性阳性率未发现显著差异($P > 0.05$)。结论 端粒酶参与各型不同分化程度胃癌的发生,在胃癌组织中高度表达,而在正常组织中不表达,有助于提高早期胃癌的检出率。

[关键词] 端粒酶;胃癌;表达

中图分类号: R735.2 文献标识码: A 文章编号: 1672-271X(2009)06-0518-03

The clinical significance of expression of telomerase in gastric cancer

XU Ping, TANG Yong-ming (The 454th Hospital of PLA, Nanjing 210002, Jiangsu, China)

[Abstract] **Objective** To study the expressing of telomerase in gastric cancer and its clinical significance. **Methods** Repeated sequence amplification assay was used to detect telomerase activity. **Results** Telomerase activity was detected in 91% gastric cancer tissues while not detected in normal gastric mucosas. There was significant difference between them ($P < 0.001$). No significantly different expression of telomerase in differentiation and lymph node metastasis between gastric cancer and normal mucosa was found. **Conclusion** Telomerase activity is a universal event in differentiation of gastric cancer. Telomerase is over expression in gastric cancer and no expression in normal tissue, which is helpful in the early diagnosis of gastric cancer.

[Key words] Telomerase; Gastric cancer; Expression

胃癌是我国发病率和死亡率均居前位的恶性肿瘤,全世界约 35% 的病例发生在中国,每年我国死于胃癌的患者超过 17 万^[1-2]。胃癌的早期诊断与预后有极大的影响。端粒酶与人类恶性肿瘤之间的紧密联系使它成为目前已知的最为广泛的肿瘤分子标记物之一^[3]。我们采用端粒酶重复序列扩增法检测胃癌、胃癌前病变及正常胃黏膜组织的端粒酶活性,观察其在胃癌发生发展中的作用,探讨端粒酶活性变化对早期胃癌的临床诊断价值。

1 资料与方法

1.1 组织标本 本组标本取自于我院 1999 年 8 月至 2008 年 6 月胃癌、胃癌前病变患者及正常人。标本均通过胃镜下取胃黏膜活检组织并经病理确诊。胃癌 350 例,其中男 242 例,女 108 例,年龄 32~85 岁,平均年龄 52.2 岁;慢性萎缩性胃炎伴肠化 450

例,其中异型增生 146 例,正常胃黏膜组织 422 例,收集的组织置于 -70°C 贮存备用。

1.2 组织提取物制备 胃黏膜活检组织置 500 μl 无菌生理盐水中漂洗,10 000 r/min 离心 10 min,弃去上清液,用消毒的眼科剪将组织剪碎,加冷裂解液 50 μl ,混匀后置 4°C 孵育 2 h,12 000 r/min 离心 15 min,取上清置于 -70°C 保存备用。

1.3 端粒酶检测 采用端粒酶重复序列扩增法(telomeric repeat amplification protocol, TRAP)法^[4]:取裂解的上清液 3 μl ,加入 PCR 反应液 25 μl ,加去离子水混匀,室温下反应 30 min,以完成端粒酶介导的 TS 延伸反应;加 TX 引物 2.23 μg ,混匀后 90°C 作用 90 s,以灭活端粒酶活性;然后于 PCR 循环仪进行扩增反应。循环参数为 94°C 30 s、 52°C 30 s、 72°C 60 s,循环 35 次,最后 72°C 继续反应 5 min。每次以裂解液代替端粒酶提取液为阴性对照。取 PCR 产物

作者简介:徐 萍(1951-),女,湖南平江人,本科,主任医师,从事消化专业临床及研究工作。

于 10% 非变性聚丙烯凝胶及琼脂糖凝胶中电泳。电泳结束后,经固定、浸胶、银染、显色等步骤,获得检测结果。

1.4 统计学处理 计数资料以 χ^2 检验及多个独立样本非参数检验, $P < 0.05$ 有统计学意义。

2 结果

350 例胃癌组织端粒酶活性表达 320 例,其阳性率为 91%,其中早期胃癌 13 例。450 例胃癌前病变组织端粒酶活性表达 252 例,其阳性率为 56%。422 例正常组织中未检出端粒酶活性;三组间比较,经多个独立样本非参数检验, $\chi^2 = 1\,079.7$, $P = 0.000$;胃癌组与胃癌前病变组及正常组比较,经 χ^2 检验, $\chi^2 = 121.268$, $P = 0.000$;均有显著性差异(P 均 < 0.001),见表 1。

表 1 端粒酶活性在胃癌、癌前病变及正常组织中的表达

组别	例数	端粒酶活性表达	
		阳性数	阳性率(%)
胃癌组	350	320	91.4
癌前病变组	450	252	56.0
正常组	422	0	0.0

经 χ^2 检验,端粒酶活性表达在胃癌不同组织分型、不同分化程度及淋巴结转移之间无显著差异(P 均 > 0.05),见表 2。

表 2 端粒酶活性与胃癌病理特征的关系

病理特征	例数	端粒酶活性表达	
		阳性数	阳性率(%)
组织分型			
粘液腺癌	132	116	87.8
腺癌	218	204	93.6
分化程度			
高分化	85	79	92.9
中分化	64	60	93.8
低分化	201	181	90.0
淋巴转移			
有	272	252	92.6
无	78	68	87.1

3 讨论

大量研究表明,在细胞恶变过程中,端粒酶的激活是一非常重要的步骤,由于端粒酶的激活,使端粒的长度维持一种动态平衡,使肿瘤细胞获得无限制增殖的能力。由于端粒活化是多种肿瘤发生的必须

之路,约 85% ~ 90% 的恶性肿瘤可检出端粒酶活性。胃癌细胞也可有端粒酶活性表达,而在良性肿瘤细胞中无此活性表达,同时发现,人类正常体细胞也无端粒酶活性表达。人类细胞在胚胎发育早期,端粒酶呈活化状态,随后被抑制并一直处于失活状态,因而体细胞无端粒酶活性。当体细胞发生癌变时端粒酶再度活化,以逃避正常的细胞衰老过程,获得无限增殖的潜能,因而端粒酶再活化是恶性肿瘤一个显著的生物学特征^[5]。

有学者已经观察到胃癌与其他人体实体肿瘤一样其端粒酶阳性率较高^[6]。Matsutani 等^[7]观察癌组织端粒酶活性阳性率明显增高。慢性萎缩性胃炎伴肠上皮化生及异型增生端粒活性阳性检出率也有所增高。但与患者性别、肿瘤大小、浸润深度、大体类型、分化程度、有无淋巴结转移及临床分期无明显相关性。Hiyama 等^[8]报告 66 例原发胃癌中 85% 表现端粒酶阳性,其中 8 例为早期胃癌,大多数阳性患者瘤体较大,为进展期胃癌。

本组资料研究显示:胃癌组织端粒酶活性表达阳性率为 91%,胃癌前病变组织端粒酶活性表达阳性率为 56%。正常胃组织中无端粒酶活性表达,胃癌组与正常组端粒酶活性表达阳性率有显著差异($P < 0.001$),与国内外文献报道相近。端粒酶活性作为胃肿瘤诊断的重要生物标志物,尤其对早期胃癌的诊断有重要价值。正常组织中测不到端粒酶,这也可作为区别正常、良性增生及癌细胞的一个指标。

有学者发现,在感染 HP(幽门螺杆菌)胃癌细胞中端粒的长度与端粒的含量比未感染 HP 者明显减少,而端粒酶的活性则显著升高。提示 HP 感染引起的持续炎症状态可诱导黏膜上皮慢性再生及慢性有丝分裂增加,进而促进上皮细胞基因的突变^[9]。这将是有待进一步研究的课题。

参考文献

[1] 于志坚. 胃癌防治研究新进展[J]. 交通医学,2007,21(3): 225-225.

[2] 王福生. 3427 例胃癌临床资料分析[J]. 胃肠病学和肝病杂志,2006,15(1):40-41.

[3] 姚伟明,王 波,姒健敏. 端粒酶与胃癌相关性研究进展[J]. 实用肿瘤学杂志,2007,21(1):92-94.

[4] 王旭霞,张盈华,郝晓柯,等. 端粒活性检测在胃癌诊断中的应用及其意义[J]. 解放军第四军医大学学报,2002,12(3): 12-13.

[5] 龙 军,付曲波,黄才斌,等. 端粒、端粒酶及其基因转录调控与肿瘤[J]. 赣南医学院学报,2008, 28(3):467-468.

(下转第 522 页)

方法判断结果完全一致,对 47 例混合性酸碱失衡两种方法判断一致率为 95.74%,两者有高度一致性,说明本软件可完全替代人工判断。与国内数款同类软件实现功能相比^[6-8],除了都能实现血气分析结果的基本判断以外,本软件还具有一定的创新特色。

3.1 软件可网络共享 本软件除了可在装有 Windows 版本的单机上使用,还可以生成 SWF 格式文件,整合在局域或广域网上共享使用。

3.2 原发紊乱性质的判断 可由人工选择或软件自动选择原发失衡性质。区分原发紊乱是代谢性,还是呼吸性(包括急性、慢性)是血气分析结果判断的重要环节,如果人工一时难于区分,可点击“自动”按钮由软件判断,软件将按照各类酸碱失衡的规律,同时根据 HCO_3^- 及 PaCO_2 的偏离度进行逻辑判断(偏离度大的一方为原发失衡)。反之,如果人工判断原发失衡有误,系统可自动判断正确的原发性质。本软件对原发紊乱性质判断,将“人工”和“自动”选择相辅相成、互为补充。

3.3 多种判断相结合 ①仅有血气分析资料时,可以初步判断 18 种酸碱失衡类型,基本可以满足急诊使用。有同步生化资料时即可进行精确判断。②图示判断提供了 3 项原始数据及 6 项相关计算结果数据,并且在具有象征酸碱失衡意义的由红(酸血症)、绿(正常或代偿)及黄(碱血症)图形区域内对应位置显示。图形判断,既对血气分析诊断初学者具有一定的教学和便于理解作用,也方便具有一定知识的医生作为参考,这种方法目前还未见报告。③首次合成了同步动-静脉血气分析功能模块。④理论 pH 值的计算,可以方便地排除因为仪器故障

而产生的错误血气分析报告,确保判断的准确性。⑤显示继发变化预计代偿范围,在双重性酸碱失衡时,可以了解继发变化超出代偿高值或低值的程度,以便在纠正酸碱失衡治疗时加以考虑。

3.4 采用了矫正的 AG 值和矫正的 Cl^- ^[2] 危重及慢性病患者低白蛋白血症并不少见,在血浆白蛋白低于 43 g/L 时,软件将 AG 进行矫正[AG 矫正值 = $\text{AG} + 0.25 \times (43 - \text{实测血白蛋白})$],可减少高 AG 的漏判。而按照实测 $\text{Cl}^- \times 140 / \text{实测 } \text{Na}^+$ 的方法对 Cl^- 进行矫正,可提高正常(高)AG 代酸并代碱、混合性代酸判断的准确性。

参考文献

- [1] 张家骥. 酸碱平衡紊乱的程序化诊断方法[J]. 中国小儿急救医学, 2006, 13(6): 569-575.
- [2] 杜建民, 肖 琅. 潜在 PCO_2 概念对判定三重酸碱失衡应用的临床评估[J]. 天津医药, 2000, 28(2): 77-79.
- [3] 梁占浩, 胡春江. 氧利用率监测在危重病人预后中的应用[J]. 海南医学, 2007, 18(4): 75-79.
- [4] 孙业祥. 酸碱失衡类型判断方法研究[J]. 医师进修杂志, 2000, 23(4): 47-50.
- [5] 陈灏珠. 实用内科学[M]. 11 版. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 927-944.
- [6] 宋从周, 李 伟. 微机在血气判断中的应用[J]. 铁道医学, 2002, 8(5): 316-317.
- [7] 开发自动判断酸碱失衡类型的计算机软件系统及应用[J]. 中国现代医学, 2006, 16(5): 759-762.
- [8] 李凯述, 陈建荣, 蔡央云, 等. 动脉血气分析和治疗建议软件的开发和应用[J]. 医学信息学, 2006, 19(12): 2084-2087.

(收稿日期: 2009-05-18; 修回日期: 2009-07-10)

(本文编辑: 潘雪飞; 英文编辑: 王建东)

(上接第 519 页)

- [6] Yang Si-ming, Fang Dian-chun, Luo Yuan-hui, et al. Alterations of telomerase activity and terminal restriction fragment in gastric cancer and its premalignant lesions[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2001, 16(8): 876-882.
- [7] Matsutani N, Yokozaki H, Tahara E, et al. Expression of MRE11 complex (MRE11, RAD50, NBS1) and hrap1 and its relation with telomere regulation, telomerase activity in human gastric carcinoma

[J]. Pathobiology, 2001, 69: 219-222.

- [8] Hiyama E, Okuyama T, Tatsumoto N, et al. Telomerase activity in gastric cancer[J]. Cancer Res, 1995, 55(15): 3258.
- [9] Kuniyasu H, Kitadai Y, Mieno H, et al. Helicobacter pylori infection is closely associated with telomere reduction in gastric mucosa[J]. Oncology, 2003, 65(3): 275-282.

(收稿日期: 2009-07-17; 修回日期: 2009-08-03)

(本文编辑: 潘雪飞; 英文编辑: 王建东)