平均10 min。受检查者从气管镜进入鼻腔至检查完毕为止8～10 min，平均9 min，不需追加药物而达到安全有效的麻醉状态。患者清醒后平均10 min离开检查室。无1例出现头痛、恶心及呕吐等麻醉后反应，并且对整个检查过程无任何痛苦的感觉。但是我们观察到静脉全麻下行电子气管镜检查过程中，患者虽然意识不清，但咳嗽反射仍较剧烈，为此在电子气管镜进入气管以后，仍需少量使用局麻药物。我们仍使用2%的利多卡因，每次2 ml，大约2～3次。

在静息状态下PaO_2低于60 mmHg进行电子支气管镜检查有一定的危险[6]。本组患者PaO_2 < 60 mmHg 6例，为防止发生危险，我们采用保证呼吸道通畅体位，经鼻腔导管高浓度吸氧，虽然在检查过程中有瞬间血氧饱和度的下降，一般很快恢复，均未发生并发症。另外，纤维支气管镜检查中出现脑血管意外是时有发生的，从本组12例患者血压监测中发现，术前血压平均收缩压136 mmHg，舒张压93 mmHg，给药后（检查中）平均收缩压132 mmHg，舒张压92 mmHg，清醒后平均收缩压120 mmHg，舒张压80 mmHg，从平均值上看，全麻后血压有逐渐下降趋势，但波动不大，较为安全。虽然年老患者的反应低，主观上讲电子支气管镜检查容易一些，但是老年人的各脏器功能已有下降，在低氧的情况下，高血压潜在心脑血管疾病存在的可能，极易发生严重并发症，甚至造成检查中或检查后的死亡。无痛苦住院全麻电子支气管镜检查资料尚少，我院12例受检查患者的资料分析只作为一种尝试，还有很多不到之处。得普利麻的住院应用较好地解决了住院全麻检查的方向。采用得普利麻静脉全麻对患者血压有影响，尤其老年人血管弹性较差，更易受影响，应予密切观察，防止意外发生。

得普利麻对儿童、成年、老年患者均能使用，较其它的全麻药物作用时间短，发挥作用快（30 s），复苏迅速，完全清醒后无头痛头晕等副作用；而且而用药量一般在2.0 mg/kg以内，安全有效，患者无知晓、无痛苦。总之，采用得普利麻静脉全麻行纤支镜检查，麻醉效果好，对血压及血氧饱和度干扰小，镇痛效果明显，对于痛觉过敏及局麻下不能配合的患者来说，不失为一种安全、副作用小的方法。

关键词：无痛；全麻；电子支气管镜
中图法分类号：R768.1 文献标识码：B

参考文献：

[1] 贾 伟，冉献贵，周质胜. 纤维支气管镜检麻醉方法的探讨[J]. 中国内镜杂志，2000，6(3)：50－52.
[2] 王兴胜，崔社怀，仁文秋. 支气管镜检前地卡因雾化麻醉严重过敏反应3例报告[J]. 中国医师杂志，2002，4(4)：445－446.
[3] Wu K H, Man T T, Wong K L. Bronchoscopy and anesthesia for preschool-aged patients: a review of 228 cases[J]. Int Surg, 2002, 87(4): 252－255.
[4] 兰晓玲. 得普利麻静脉注射麻醉在人工流产中的应用[J]. 实用妇产科杂志，2001，17(5)：306.
[5] 刘存明，张国楼. 异丙酚加小剂量芬太尼麻醉在门诊短小手术的应用[J]. 临床麻醉学杂志，1998，2：295－298.
[6] 张 勇. 纤维支气管镜检查与缺氧性脑病1例报告[J]. 中国内镜杂志，2000，6(3)：55－56.

（编辑 陈聪连）

文章编号：1000-5404(2005)05-0467-02

经验交流

肝癌临床发展与cyclin D1表达DNA含量及细胞凋亡发生的关系

Relationship of clinical typing of hepatocellular carcinomas and cyclin D1 expression, DNA content, the occurrence of cell apoptosis

张 伟[1]，杜成友[2]，徐尔侃[3]（[1]遂宁市人民医院肝胆外科，遂宁 629000；[2]重庆医科大学附属第一医院普外科，重庆 400016；[3]成都市第二人民医院肝胆外科，成都 610000）

Cyclin D1基因是近年来提出的重要原癌基因，其基因表达产物在细胞周期关键限速点G1-S转换中起重要正调控作用[1]。此外，细胞凋亡的发生及细胞增殖在肝癌的发生发展中也起重要作用[2,3]。本研究通过检测cyclin D1表达、细胞凋亡发生和细胞DNA含量，探讨三者与肝癌临床分期之间的关系，为寻找对临床有价值的肿瘤标记物和预后判断提供帮助。

作者简介：张 伟（1968－），男，重庆市人，硕士，主治医师，主要从事肝脏肿瘤方面的研究，发表论文5篇。电话：13882571424

收稿日期：2004-11-12；修回日期：2005-01-08

1 材料与方法

1.1 临床资料

重庆医科大学附属第一医院普外科1997年10月至2000年10月经手术治疗的肝癌患者50例，男40例，女10例，年龄26～74岁，平均年龄49岁。9例正常肝组织来源于肝血管瘤术后正常肝组织标本。50例标本分为中/高分化组31例和低分化组19例；按有无肝内转移分为：无肝内转移组34例，肝内转移组16例。

1.2 免疫组化染色方法

采用链霉菌抗生物素蛋白过氧化物酶法(S-P)进行免疫组织化学染色,cyclin D1 单抗和 S-P 试剂盒均购自福州迈新公司。结果判断:阳性细胞比例超过 50% 为过度表达。

1.3 TUNEL 法检测凋亡发生率

凋亡肿瘤细胞呈细胞核棕黄色。在 400 倍显微镜下进行观察,每个标本组织片随机观察 10 个视野。分别计算每一病例的阳性肿瘤细胞与所观测肿瘤细胞总数的比例,作为凋亡指数。

1.4 细胞 DNA 染色及图像分析

用 Feulgen 法进行 DNA 染色。采用德国 Leitz 公司 MD 型真彩色图像分析仪,对每例切片在典型区测定 50~100 个细胞核,以所测细胞核的 DNA 吸光度代表 DNA 相对含量。

1.5 统计学方法

采用 SPSS 10.0 软件对数据进行 χ^2 检验和 t 检验。

2 结果

Cyclin D1 免疫组化染色、TUNEL 染色、DNA 含量测定结果见表 1。

表 1 肝癌临床分期与 cyclin D1 表达细胞凋亡发生及 DNA 含量关系

组别	例数	cyclin D1 (%)	cyclin D1 过度表达 (%)	凋亡指数 (%)	DNA 含量 (OD)
正常	9	12.3±4.5	0(0/9)	6.5±2.4	0.36±0.07
中/高分化	31	39.4±11.4**	22.6** (7/31)	10.6±3.7**	0.64±0.12**
低分化	19	55.2±16.5**##	52.6**# (10/19)	12.7±4.4**#	0.79±0.11**##
无肝内转移	34	36.7±10.8**	23.5** (8/34)	9.6±3.1**	0.67±0.15**
有肝内转移	16	56.5±15.7**△△	56.3**△ (9/16)	13.3±3.9**△	0.81±0.14**△△

**: $P<0.01$,与正常组比较;#: $P<0.05$, ##: $P<0.01$,与中/高分化组比较;△: $P<0.05$, △△: $P<0.01$,与无肝内转移组比较

3 讨论

细胞核 DNA 含量检测的原理是根据 DNA 是细胞遗传物质染色质的基础成分,DNA 含量增加提示细胞处于 S 期,生长活跃。因此,增殖活跃的恶性肿瘤细胞 DNA 含量检测应异常增加[4]。本组采用细胞核 DNA 含量测定能同时兼顾免疫组化染色和 TUNEL 杂交,因此,较其他方法更能准确反应肝癌组织的增殖状况。研究结果显示:正常肝组织 DNA 含量灰度值为 0.36±0.07,肝癌中/高分化组和低分化组 DNA 含量分别是正常水平的 1.78 倍和 2.2 倍,证实了肝癌组织的增殖特性,而且低分化组显著高于中/高分化组说明 DNA 含量和肝癌组织的临床分期有一定关系。在对肿瘤的侵袭能力和发展程度的验证上,采用了肝内转移这一分组标准,结果显示,无转移组和转移组的 DNA 含量分别是正常水平的 1.86 和 2.25 倍,证实了侵袭力较强的转移组细胞增殖能力强于未转移组。

在病理状态下,细胞凋亡与肿瘤发生发展有关。已有研究普遍认为,肿瘤的形成是凋亡抑制基因的过度表达,导致细胞凋亡紊乱,使细胞容易发生原癌基因的激活、扩增或抑癌基因的缺失、突变等导致[5]。本研究结果显示:肝癌组织的细胞凋亡率显著高于正常组,而且低分化组细胞凋亡率高于中/高分化组,肝内转移组显著高于无肝内转移组。结合细胞增殖情况分析认为,在正常组织中,细胞的增殖和凋亡处于平衡状态,而肿瘤组织的凋亡细胞数虽然增加,但增殖细胞数量远远大于凋亡细胞的数量,因此,肿瘤组织仍处于"生长"的状态,而且在发展较快的肿瘤组织,其血供往往较差,出现较多的凋亡细胞也有其结构依据,这可能是发展较快的肝内转移组细胞凋亡率较未转移组高的主要原因。

Cyclin D1 是一种反应细胞周期变化的蛋白,其在细胞周期 G1 到 S 期的转变中有重要意义,有细胞周期正调控作用,在 G1 期 cyclin D1 与相应的细胞周期蛋白依赖激酶(cyclin-dependent kinases, CDK)结合,使 pRb 磷酸化,驱使细胞通过检测点,加速细胞周期进程[6]。Cyclin D1 在增殖旺盛的正常组织中可有一定的表达,而在以增殖为特征的肿瘤则为显著表达或过度表达,有报道人类乳腺癌、食道癌、肝癌及非小细胞肺癌中有 cyclin 的过度表达,而且其过度表达与预后有关。本研究采用免疫组化方法分别检测肝癌组织、正常肝组织中 cyclin D1 蛋白的表达。Cyclin D1 在正常肝组织中无过度表达,肝癌低分化组表达百分率显著高于正常对照组和中/高分化组,其过度表达率高达 52.6%。肝内转移组表达百分率显著高于无肝内转移组,其过度表达率高达 56.3%。显然,cyclin D1 的过度表达可反应肝癌的侵袭力,它与肝癌的发生发展密切相关。

关键词:肝细胞癌;Cyclin D1;凋亡;DNA 含量

中图法分类号:R730.2 **文献标识码**:B

参考文献:

[1] Almadori G, Galli J, Cadoni G, *et al*. Human papillomavirus infection and cyclin D1 gene amplification in laryngeal squamous cell carcinoma: biologic function and clinical significance [J]. Head Neck, 2002, 24(6): 597-604.

[2] Story M, Kodym R. Signal transduction during apoptosis; implications for cancer therapy [J]. Front Biosci, 1998, 23: d365-375.

[3] Simeone A M, Tari A M. How retinoids regulate breast cancer cell proliferation and apoptosis [J]. Cell Mol Life Sci, 2004, 61(12): 1475-1484.

[4] Francis D L, Freeman A, Visvikis D, *et al*. *In vivo* imaging of cellular proliferation in colorectal cancer using positron emission tomography [J]. Gut, 2003, 52(11): 1602-1606.

[5] Li M Y, Deng H, Zhao J M, *et al*. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma ligands inhibit cell growth and induce apoptosis in human liver cancer BEL-7402 cells[J]. World J Gastroenterol, 2003, 9(8): 1683-1638.

[6] Simile M M, Miglio M R, Muroni M R, *et al*. Down-regulation of c-myc and Cyclin D1 genes by antisense oligodeoxy nucleotides inhibits the expression of E2F1 and *in vitro* growth of HepG2 and Morris 5123 liver cancer cells[J]. Carcinogenesis, 2004, 25(3): 333-441.

(编辑 龙 亮)