文章编号:1000-5404(2007)14-1449-02

经验交流

人激肽释放酶蛋白 14 在宫颈癌中的表达

李巧云[1],史惠蓉[2],颜秋梅[1] (郑州大学:[1]第五附属医院妇产科,郑州 450052,[2]第一附属医院妇产科,郑州 450000)

激肽释放酶(kallikrein,KLK)是近几年新兴的肿瘤生物学指标,在人体内受激素调控,和妇科肿瘤密切相关[1]。本实验采用 KLK14 多克隆抗体,应用免疫组化法,研究 KLK14 蛋白在宫颈癌细胞内定位及与临床病理的关系,探讨其在宫颈癌发生发展中的作用及意义。

1 材料与方法

1.1 研究对象

搜集 2004 年 3 月至 2006 年 3 月本院病理科的宫颈活检或手术切除标本,其中正常宫颈 20 例,宫颈癌 47 例(术前均未行放疗或化疗),年龄 29~71 岁,按 FIGO(2000 年)分期Ⅰ期 20 例,Ⅱ期 13 例,Ⅲ期 9 例,Ⅳ期 5 例。组织学类型:鳞癌 42 例,腺癌 5 例。组织学分级:G_1 9 例,G_2 22 例,G_3 16 例。淋巴转移 18 例,无淋巴转移 29 例。

1.2 主要试剂

羊抗人 KLK14 多克隆抗体(Santa Cruz 公司),S-P 试剂盒(兔抗羊,北京中杉公司)。

1.3 免疫组化法

所有标本经 10% 福尔马林固定,常规石蜡包埋,4 μm 连续切片,常规脱蜡脱水,行微波抗原修复,滴加 3% 的 H_2O_2,正常兔血清封闭,加入一抗和二抗,滴加链霉素卵白素工作液,DAB 显色,自来水冲洗,苏木精复染,以 PBS 代替一抗作为阴性对照。

1.4 结果判断

组织切片中显示细胞质为淡黄色或棕黄色者为阳性细胞标志,KLK14 蛋白定位于细胞质,在光镜下观察 5 个视野,每个视野计数 100 个细胞,染色阳性细胞大于 10% 为阳性表达。

1.5 统计学处理

采用 SPSS 10.0 统计软件行 Fisher's 确切概率法。

2 结果

2.1 KLK14 蛋白在正常宫颈组织和宫颈癌组织中的表达

结果见表 1。KLK14 蛋白在宫颈癌组织中的表达显著高于正常宫颈组织($P<0.01$)。

表 1 KLK14 蛋白在正常宫颈组织和宫颈癌组织中的表达

组织来源	n	KLK14 蛋白表达		P 值
		阴性	阳性	
正常宫颈	20	16	4	<0.01
宫颈癌	47	14	33	

2.2 KLK14 蛋白表达与宫颈癌组织临床病理特征的关系

KLK14 蛋白表达在临床分期、组织学类型对比中有统计学差异($P<0.05$),在年龄、组织学分级、淋巴结转移对比中无统计学差异($P>0.05$)(表 2)。

表 2 KLK14 蛋白表达与宫颈癌临床病理特征的关系

分类	年龄		临床分期		组织学类型		组织学分级		淋巴结转移	
	≤50 岁	>50 岁	Ⅰ/Ⅱ	Ⅲ/Ⅳ	鳞癌	腺癌	G_1+G_2	G_3	有	无
例数	25	22	33	14	42	5	31	16	18	29
KLK14 表达阳性	16	17	20	13	32	1	22	11	14	19
KLK14 表达阴性	9	5	13	1	10	4	9	5	4	10
P 值	0.321		0.025		0.022		0.875		0.25	

3 讨论

宫颈癌是妇科常见的恶性肿瘤,大约 35% 的患者在治疗后复发或未控,因而进行治疗后的监测是必须的。除了传统的临床病理学指标,人们正寻找与肿瘤行为密切的预后因素。KLK 是一组大的丝氨酸蛋白酶家族,定位于 19q13.4 染色体上,由 15 个成员组成,分别编码相应的蛋白。KLK 与肿瘤之间的作用机制有以下几个方面:①KLK 能够有效水解细胞外基质(ECM),可以促进肿瘤细胞侵袭邻近正常组织或转移至远处恶性增殖。②KLK 具有酶三联体结构的活性,可活化体内某些生长因子,参与酶级联促反应,加剧肿瘤细胞分裂。③部分 KLK 成员基因序列含有激素诱导反应元件,受激素调控,参与肿瘤细胞的表达[1,2]。家族中 KLK7、KLK8 和宫颈癌关系密切[3],其他成员和卵巢癌关系密切[2]。

本实验结果显示,20 例正常宫颈中 4 例 KLK14 蛋白阳性表达;47 例宫颈癌,33 例 KLK14 蛋白阳性表达,呈高表达,与 KLK14 蛋白在卵巢癌,KLK7、KLK8 在宫颈癌中高表达一致[3,4],表明 KLK 参与妇科肿瘤发生发展。通过对 KLK14 蛋白与宫颈癌临床病理特征分析,发现 KLK14 蛋白的表达在Ⅲ/Ⅳ期患者阳性率高于Ⅰ/Ⅱ期,二者相比有统计学差异,KLK14 蛋白在宫颈鳞癌和腺癌中都有表达,在鳞癌中表达高于腺癌,二者相比有统计学差异,这表明 KLK14 蛋白的表达与宫颈癌的

作者简介:李巧云(1963-),女,河南省焦作市人,副主任医师,主要从事妇科肿瘤及微创手术方面的研究。电话:13903861639

收稿日期:2006-10-24;修回日期:2007-01-19

临床进展相关。由此推测KLK14可能会成为一种新的宫颈癌的预测指标,有助于宫颈癌的早期诊断。

随着宫颈癌患者的日益年轻化,常规治疗的同时,迫切需要新的免疫疗法。目前已有相关树突状细胞(DC)疫苗出现,DC作为功能最强的抗原递呈细胞(APC),能以不同方式负载肿瘤抗原,抗原可以为蛋白多肽、酶类、病毒载体、DNA或RNA及肿瘤裂解产物等[5]。本研究结果显示,KLK14蛋白在宫颈癌组织中的异常表达,可以设想将KLK14蛋白负载于机体DC细胞,诱发机体产生免疫应答,抑制肿瘤细胞逃逸,将可能有助于宫颈癌的治疗。

关键词:宫颈癌;KLK14蛋白;免疫组化

中图法分类号:R737.33 **文献标识码**:B

参考文献:

[1] Zucollo A, Dziubecki D, Villareal I, *et al*. The development of insulitis and the kallikrein-kinin system[J]. Int Immunopharmacol, 2002, 2(13-14): 1941-1947.

[2] Yourself G M, Diamandis E P. An overview of the kallikrein gene families in humans and other species: emerging candidate tumour markers[J]. Clin Biochem, 2003, 36(6): 443-452.

[3] Cane S, Bignotti E, Bellone S, *et al*. The novel serine protease tumor-associated differentially expressed gene-14 (KLK8/Neuropsin/Ovasin) is highly overexpressed in cervical cancer[J]. Am J Obstet Gynecol, 2004, 190(1): 60-66.

[4] Yousef G M, Fracchioli S, Scorilas A, *et al*. Steroid hormone regulation and prognostic value of the human kallikrein gene 14 in ovarian cancer[J]. Am J Clin Pathol, 2003, 119(3): 346-355.

[5] Heiser A, Coleman D, Dannull J, *et al*. Autologous dendritic cells transfected with prostate-specific antigen RNA stimulate CTL responses against metastatic prostate tumors[J]. J Clin Invest, 2002, 109(3): 409-417.

(编辑 陈聪连)

经验交流

文章编号:1000-5404(2007)14-1450-02

根除幽门螺杆菌治疗慢性特发性血小板减少性紫癜的临床探讨

牟爱国,何思春,杨丽华,何吉琼 (四川省达州市中心医院内四科,达州 635000)

慢性特发性血小板减少性紫癜(chronic idiopathic thrombocytopenic purpura, cITP)是一种病因未明的自身免疫性血小板减少症。目前主要的治疗方法是糖皮质激素、免疫抑制剂和脾切除,但易复发,合并症多。近年来发现ITP与幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, Hp)感染有关,预示着ITP可能有新的治疗策略。现回顾性分析本科2004年4月至2006年6月诊治的86例cITP患者,以进一步探讨其关系。

1 对象与方法

1.1 研究对象

cITP患者86例均为我院2004年4月至2006年6月的就诊患者,男性31例,女性55例,平均年龄47.6岁,病程0.6~5.7年。86例cITP患者,57例Hp阳性,Hp阳性率为66.3%。按Hp检测结果及根治情况分3组:Hp阴性组(A组)29例;Hp阳性并行Hp根治组(B组)31例;Hp阳性未根治组(C组)26例。

1.2 诊断及疗效标准

cITP诊断及疗效标准符合1994年全国第5届血栓与止血学术会议修订的标准[1]。B组经治疗3个月后复查^{13}C尿素呼气试验,结果阴性者为根治,结果仍为阳性者为未根治。

1.3 治疗方案

患者均用强的松1 mg·kg^{-1}·d^{-1}治疗,B组加用Hp根治方案:奥美拉唑20 mg,阿莫西林0.75 g,克拉霉素0.4 g,每天2次,共7 d。

1.4 观察指标

统计3组患者治疗前后血小板计数、PAIgG、Hp检测及根治情况。血小板计数用SF-3000仪,PAIgG用ELISA法,^{13}C尿素呼气试验检测Hp。

1.5 统计学处理

采用SPSS 10.0统计软件,治疗前后资料比较用配对t检验,疗效比较用χ^2检验。

2 结果

Hp根治者31例,根治成功27例,根治成功率87.1%。

治疗前后血小板计数、PAIgG见表1,2,患者疗效的比较见表3。

表1 治疗前后血小板计数的比较($\times10^9$/L, $\bar{x}\pm s$)

组别	治疗前	治疗后7 d	治疗后3个月
A组	20.28±15.14	72.63±54.32[a]	172.88±105.35[a]
B组	21.76±14.34	33.88±23.72[a]	212.11±98.41[a]
C组	22.88±10.67	26.69±14.74	32.74±27.83

a: $P<0.05$, 与治疗前比较

表2 治疗前后PAIgG比较(ng/10^7 PA, $\bar{x}\pm s$)

组别	治疗前	治疗后3个月
A组	1 108±67	148±113[a]
B组	1 206±183	126±96[a]
C组	1 179±121	978±107

PAIgG参考值为0~178 ng/10^7 PA a: $P<0.05$, 与治疗前比较

作者简介:牟爱国(1967-),男,四川省巴中市人,副主任医师,主要从事血液病的临床方面的研究。电话:(0818)2995299,E-mail: qaiguo@tom.com

收稿日期:2006-09-25;修回日期:2006-11-08