基础研究 文章编号:0253-3626(2009)03-0293-03

胃癌术中区域动脉灌注化疗作用的初步研究

夏术森[1],张才全[1],王崇树[2],杜 江[2]
(1.重庆医科大学附属第一医院普外科,重庆 400016;2.川北医学院附属医院普外一科,南充 637000)

【摘 要】目的:探讨胃癌术中区域动脉灌注化疗(Regional arterial infusion chemotherapy,RAIC)的作用。方法:采用 SP 免疫组化法检测术中 RAIC 前后 30 例胃癌原发灶中 VEGF 及 Ki-67 的表达,并进行病理观察。结果:术中 RAIC 后,肿瘤组织 Ki-67 和血管内皮生长因子(Vasailar endothelial growth factor,VEGF)的表达较术前降低,且两者差异均有显著性($P<0.05$);光镜检查发现癌细胞出现轻度细胞核固缩、肿胀,细胞浆凝固,细胞间质轻度水肿,炎性细胞浸润,部分病例可见轻度血管炎表现。透射电镜发现癌细胞细胞核肿胀,核异染色质凝集,核周间隙扩大,胞质线粒体肿胀,内质网扩张,高尔基复合体扩张。结论:胃癌术中 RAIC,可明显降低 Ki-67 与 VEGF 的表达,改变癌组织的组织病理学形态,对降低癌细胞活性、预防术中医源性转移和术后复发具有积极作用。

【关键词】胃癌;区域化疗;Ki-67;血管内皮生长因子;病理学
【中国图书分类法分类号】R735.2;R365;R446.61 【文献标识码】A 【收稿日期】2008-08-28

A primary study for the effect of intraoperative regional arterial infusion chemotherapy on gastric cancer

XIA Shu-sen, et al
(*Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To evaluate the effect and mechanism of intraoperative regional arterial infusion chemotherapy (RAIC) on gastric cancer. *Methods*: The expressions of Ki-67 and VEGF, in 30 cases of gastric cancer, before and after the treatment of intraoperative RAIC, were shown by SP immunohistochemical staining. And pathological changes of tumor were detected. *Results*: After the intraoperative RAIC, the expressions of Ki-67 and VEGF were significantly lower than those before treatment ($P<0.05$). Light microscope examination revealed a mild change of karyopyknosis, nuclear swelling, coagulation of cytoplasm in cancer cells, mild hydropsia of intercellular substance, invasion of inflammatory cells and mild vasculitis in some cases. Transmission electron microscope found that nuclear swelling, nuclear heterochromatin agglutination, nuclear-week gap expansion, mitochondrial swelling, endoplasmic reticulum expansion, and Golgi complex expansion. *Conclusion*: The intraoperative RAIC for gastric cancer could obviously depress the expressions of Ki-67 and VEGF and cause the histo-pathological changes of cancer cells. Intra operative RAIC could significantly inhibit invasion activity of cancer cells and reduce iatrogenic metastasis and post operative recurrence rate.

【Key word】Gastric cancer; Regional Chemotherapy; Ki-67; Vascular endothelial growth factor(VEGF); Pathology

胃癌是最常见的消化道恶性肿瘤之一,其死亡率居我国各种恶性肿瘤首位[1]。胃癌的治疗以外科手术为主,但我国临床检测出来的胃癌 90%左右为进展期,即使能手术切除,术后的 5 年生存率也比较低,多数病人死于术后的复发和转移,其原因有:(1)术中有微小癌灶残留及手术操作引起的癌细胞沿血管、淋巴管向远处扩散。(2)外科手术切除原发肿瘤可造成原先处于休眠状态的微转移瘤的生长。为了减少术中的医源性扩散和转移,控制微转移瘤的生长,提高胃癌的手术效果,我们开展了胃癌术中区域动脉灌注化疗(Regional arterial infusion chemo therapy,RAIC),检测给药前后肿瘤细胞 Ki-67 及 VEGF 的表达,并进行了病理观察,报告如下。

1 材料与方法

1.1 临床资料

病人术前病理学证实为胃癌,血常规和肝肾功能无明显

作者介绍:夏术森(1982-),男,硕士,
研究方向:胃肠肿瘤外科。
通讯作者:张才全,男,教授,E-mail:zhangyu0323@21cn.com。
通讯作者:王崇树,男,教授,Email: chongs-wang@163.com。

异常,无心肺等重要器官功能损害及出凝血机制障碍。自2007 年 9 月至 2008 年 3 月收集川北医学院附属医院普外科符合条件的住院病人 30 例。男 21 例,女 9 例。年龄 37 岁至 72 岁,平均年龄 58.9 岁。其中胃窦癌 20 例,胃底癌 7 例,胃体癌 3 例,15 例行远半胃癌根治术,3 例行姑息性远半胃癌切除术,6 例行近半胃癌根治术,4 例行根治性全胃切除术,2 例行姑息性全胃切除术。组织学类型:高分化腺癌 3 例,中分化腺癌 12 例,低分化腺癌 15 例。30 例病人均为进展期胃癌。

1.2 术中 RAIC 和标本采集的方法

30 例病人均术前 1 d 经胃镜采集肿瘤组织标本。开腹探查确定肿瘤的部位,解剖出肿瘤的主要供血动脉,如胃左、右动脉,胃网膜左、右动脉等,以美蓝证实,近心段结扎,远心段用 6.5# 头皮针穿刺成功后,以 5-Fu 1 g/m² 和丝裂霉素 10mg/m² 用生理盐水稀释至 100 ml 缓慢注入。灌注完成后立刻结扎肿瘤的主要供血动脉,手术继续进行。等手术约 2 ~ 3 h 切下肿瘤后立即留取给药后的标本,标本采集的部位尽量和给药前部位相一致。标本用 10%甲醛固定,常规脱水,石蜡包埋后连续切片,厚度为 4 μm。电镜标本用电镜标本固定液固定保存。

1.3 检测项目

免疫组化法检测 Ki-67 及 VEGF 鼠抗人 Ki-67 抗体、兔抗人血管内皮生长因子(Vasailar endothelial growth factor,VEGF)多克隆抗体和 SP 免疫组化染色试剂盒均购于福州迈新生物技术开发有限公司,操作按说明书进行。

VEGF 阳性判断标准:以细胞浆、胞膜或间质呈清晰棕黄色颗粒或团快为阳性。在癌细胞密集处随机取 10 个 40 × 高倍镜视野,计算阳性细胞数占总的肿瘤细胞数的比例,计算阳性率。

Ki-67 的阳性判断标准:Ki-67 抗原定位于肿瘤细胞核,细胞核内出现棕褐色颗粒为阳性。在癌细胞密集处随机取 10 个 40 × 高倍镜视野,计算阳性细胞数占总的肿瘤细胞数的比例,计算阳性率。

光镜观察石蜡切片中癌细胞的变性(水肿、空泡变性)、坏死(核固缩、碎裂、溶解及整个细胞结构破坏、崩解)以及肿瘤组织血管内膜的变化和间质的炎症变化等。

电镜观察肿瘤细胞的超微结构变化。

1.4 统计学处理

采用统计软件 SPSS 软件包,运用配对秩和检验比较给药前后肿瘤细胞 Ki-67 抗原和 VEGF 的表达率,以 $P<0.05$ 作为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 术中 RAC 对肿瘤细胞 Ki-67 表达的影响

30 例病人 Ki-67 表达有 24(80%)例呈阳性,24 例病人中阳性表达率最高为 88.9%,最低为 37.7%,中位数为 60.5%。行术中 RAC 后,24 例胃癌病人 Ki-67 阳性表达率最高为 65.4%,最低为 17.6%,中位数为 39.2%.采用统计软件 SPSS 软件包,运用配对秩和检验得 $P<0.05$,差异有统计学意义(见表 1)。因此胃癌病人行术中 RAC 后,癌细胞 Ki-67 表达率较术前下降。

2.2 术中 RAIC 对肿瘤细胞 VEGF 表达的影响

30 例病人 VEGF 表达有 21(70%)例呈阳性,21 例病人中阳性表达率最高为 67.4%,最低为 21.8%,中位数为 46.1%。行术中 RAC 后,21 例胃癌病人 VEGF 阳性表达率最高为 39.3%,最低为 7.9%,中位数为 25.6%。采用统计软件 SPSS 软件包,运用配对秩和检验得 $P<0.05$,差异具有显著性(见表 1)。因此胃癌病人行术中 RAIC 后,癌细胞 VEGF 表达率较术前下降。

2.3 石蜡切片进行常规 HE 染色后,在光镜下观察发现

与给药前标本相比,术中 RAIC 后癌组织出现组织病理学改变:30 例均有轻度的细胞核固缩、细胞浆凝固,细胞间质轻度水肿,炎性细胞浸润,以浆细胞、淋巴细胞为主,呈轻度炎症反应。18 例(60%)可见血管内皮细胞肿胀,周围炎性细胞浸润,呈轻度的血管炎表现。

2.4 透射电镜分析

给药前癌细胞超微结构形态(见图 1):细胞外形完整,细胞膜境界清晰,细胞之间连接紧密,细胞器正常。术中 RAIC 后癌细胞超微结构形态(见图 2)主要表现:30 例均出现肿瘤细胞细胞核肿胀,核异染色质凝集,核周间隙扩大,胞质线粒体肿胀,内质网扩张,高尔基复合体扩张,但细胞膜完整。

3 讨 论

丝裂霉素和 5-Fu 是常用的胃癌化疗药,且两者大剂量联合应用有明显的协同作用[2]。胃癌术中区域动脉灌注化疗(RAIC)是经肿瘤的主要供血动脉靶向给药,显著提高肿瘤及周围组织中的化疗药物浓度,最大限度杀伤癌细胞。研究表明,RAIC 时癌灶化疗药物的浓度是全身化疗时的 9~68 倍[3]。肿瘤的药物动力学研究表明,多数抗癌药物的细胞杀伤作用呈浓度依赖性,局部浓度每增加 1 倍,杀灭细胞的数量提高 10 倍[4]。朱志东等研究表明[5],胃癌的术中 RAIC 可使门静脉血及癌旁组织等血药浓度即刻达到高峰,且明显高于外周静脉给药。同时化疗药

表 1 行术中 RAIC 前后肿瘤细胞 Ki-67 与 VEGF 的阳性表达变化情况

组别指标	RAC 前后	例数	最大值(%)	最小值(%)	中位数(%)	秩和检验(P)
Ki-67	前	24	88.9	37.7	60.5	$P<0.05$
	后	24	65.4	17.6	39.2	
VEGF	前	21	67.4	21.8	46.1	$P<0.05$
	后	21	39.3	7.9	25.6	

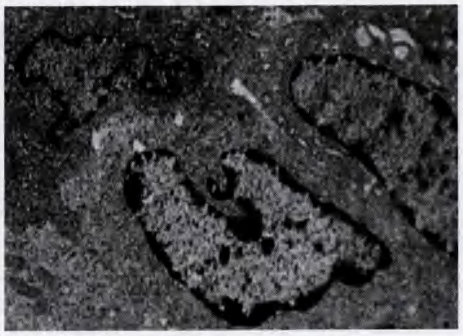


图 1 术前肿瘤细胞电镜图片（×8 000）

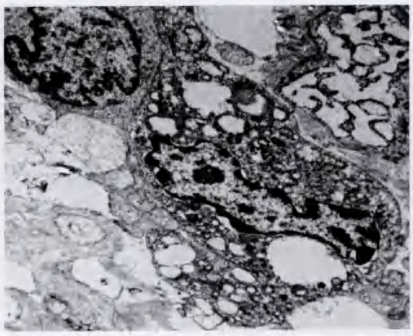


图 2 术中 RAIC 后肿瘤细胞电镜图片（×8 000）

物经伴随静脉及淋巴系统回流，又可在肿瘤静脉和淋巴回流区形成高浓度的抗癌环境，也有助于抑制或杀死静脉和淋巴回流区域的癌细胞及微转移瘤的生长。

Ki-67 抗原是与增殖细胞相关的核抗原，其功能被认为与染色质相连及与细胞的有丝分裂密切相关，是一个界定细胞凋亡和增殖的有价值标记物，其半衰期为 1 h 或更短，有利于术中检测。Ki-67 抗原的高表达表明肿瘤组织的增殖活性较强，癌细胞的增殖是胃癌浸润转移的重要原因。还有研究发现[6]，胃癌中 Ki-67 抗原的阳性率与胃癌的淋巴结转移显著相关；恶性肿瘤的无限制侵袭性生长和转移依赖于血管生成，VEGF 是肿瘤的血管生成过程中特异性最强的促血管生长因子[7]，在循环中的半衰期小于 6 min。胃癌细胞能够分泌 VEGF，且 VEGF 可作为判断胃癌病人愈后的一项独立指标，VEGF 高表达的病人比低表达的病人愈后差[8]。

本研究结果显示：(1)30 例病人有 24 例(80%) Ki-67 呈阳性表达，比文献报道[6]的要高，原因可能是 30 例病人均为进展期胃癌，且有 28 例伴有淋巴结的转移。24 例 Ki-67 阳性表达的病人行术中 RAIC 后，肿瘤细胞 Ki-67 的表达率较术前明显下降。提示行术中 RAIC 可使术中残留癌细胞（指术中残留癌细胞及医源性扩散的癌细胞）Ki- 67 的表达降低，使其增值能力下降，这样就能有效的抑制残留癌细胞的增殖与远处转移，从而有利于降低术后病人的复发和转移。(2)30 例病人有 21 例(70%) VEGF 呈阳性表达，和文献报道进展期胃癌 VEGF 的表达相似[7]；21 例 VEGF 阳性表达的病人行术中 RAIC 后，癌细胞 VEGF 的表达率较术前下降；提示行术中 RAIC 可使术中残留癌细胞诱导肿瘤血管生成的能力下降，这样不仅抑制了肿瘤细胞的大块生长，而且有效抑制了残留癌细胞的远处转移与扩散及微转移瘤的生长，从而有利于降低术后病人的复发和转移。(3)手术本身操作可能会造成肿瘤细胞的脱落与远处扩散，原因有[9]：手术的牵拉或挤压，可造成浸润浆膜的肿瘤细胞脱落到腹腔，同时可造成癌细胞沿淋巴管及血管的远处扩散；在切断肿瘤的血管和淋巴管时，癌细胞随血液淋巴液脱落到腹腔；而本组组织病理学结果表明，术中 RAIC 可有效的降低残留癌细胞的活性，这可能是因为：我们术中一次性灌注的化疗药的量比较大；且我们术中灌药结束后立刻阻断了肿瘤的主要供血动脉，使癌细胞缺氧，在此状态下癌细胞的胞膜通透性大大增加，从而提高了化疗药物的疗效；另外，根据朱志东[5]等的研究表明术中 RAIC 后可使门静脉血及癌旁组织等的血药浓度即刻达到高峰，且作用时间比较长。这样，我们就可以推测即使存在术中的医源性扩散，经术中 RAIC 也能有效降低它们的活性，抑制其在远处继续生长增殖的能力，从而减少术后的复发与转移。Kobayashi M 等研究发现[10]，术中经肿瘤的滋养血管注射化疗药，可使局部的血管、淋巴回流的药物浓度达到一个较高水平，即使由于手术中的挤压造成癌细胞在血管内或淋巴回流中的残留，也将被杀死

基础研究 文章编号:0253-3626(2009)03-0296-04

S100A4 基因在膀胱移行细胞癌中的表达及意义

卢 东,唐 伟

(重庆医科大学附属第一医院泌尿外科,重庆 400016)

【摘 要】目的:探讨 S100A4 基因在膀胱移行细胞癌(Transitional cell carcinoma of the bladder,TCCB)中的表达及意义。方法:通过逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)方法检测 38 例膀胱移行细胞癌组织及其相应癌旁组织中 S100A4 基因的表达情况,结合临床及组织病理学特点探讨 S100A4 基因与膀胱癌发生及发展的关系。结果:S100A4 基因在膀胱移行细胞癌及正常膀胱移行上皮组织中的阳性表达率分别为 60.5%(23/38)和 0%(0/38)。膀胱移行细胞癌组织中 S100A4 基因的表达率明显高于正常膀胱移行上皮组织($P<0.005$)。其中膀胱移行细胞癌组织中 S100A4 基因的表达率随肿瘤分级、分期的增高及淋巴结转移而相应增高($P<0.05$)。结论:S100A4 基因表达与移行膀胱癌分化有关,癌组织 S100A4 基因有可能成为膀胱癌的一个新的肿瘤标记物;S100A4 基因差异表达与移行膀胱癌侵袭和转移明显相关,移行膀胱癌组织中 S100A4 基因可望作为移行膀胱癌的病情发展及指导临床治疗的标记物之一。

【关键词】膀胱移行细胞癌;S100A4 基因;逆转录聚合酶链反应

【中国图书分类法分类号】R737.14 【文献标识码】A 【收稿日期】2008-09-09

Expression of S100A4 gene in transitional cell carcinoma of the bladder and its significance

LU Dong, et al

(*Department of Urology, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

作者介绍:卢 东(1975-),男,医师,硕士,
研究方向:泌尿系统肿瘤。

通讯作者:唐 伟,男,教授,E-mail:tangwei2060@yahoo.com.cn。

【Abstract】*Objective*: To investigate the expression and clinical signi ficance of S100A4 gene in transitional cell carcinoma of bladder (TCCB). *Methods*: The expression of S100A4 gene in 38

或抑制,而且全身毒副作用少,术后 5 年生存率明显高于全身静脉用化疗药。

总之,术中 RAIC 可有效降低术中残留的癌细胞 Ki-67、VEGF 的表达并降低癌细胞的活性。术中 RAIC 操作简便,经济,不需要特殊设备,选择性强,药物集中,全身毒副反应小,因此可作为胃癌手术的重要辅助治疗手段,提高手术的疗效,改善病人的预后。

参 考 文 献

[1] 孙 燕,周际昌.临床肿瘤内科[M].北京:人民卫生出社,2003.102-104,106-107.

[2] 段 红,张俊文,汤为学,等.5-氟脲嘧啶及丝裂霉素对人胃癌细胞 SGC-7901 及 BGc-823 的相互作用[J].中国病理生理杂志,2000,16(10):1058.

[3] Maurer C A, Borner M, Buchler M W. Regional chemotherapy of gastric intestinal cancer [J]. Digestive Surgery, 1997, 14(1):9-22.

[4] 孙世良,温海燕,张连阳,等.现代大肠癌诊断与治疗[M].重庆:重庆出版社,2004.393.

[5] 朱志东,蒲永东.氟尿嘧啶经胃左动脉和外周静脉化疗的药代动力学比较[J].中华胃肠外科杂志,2000,3(1):28-30.

[6] Goishi H, Tanaka S, Haruma K, et al. Predictive value of Cathepsin D and Ki-67 expression at the deepest penetration site for lymph node metastases in gastric cancer[J]. Oncology Reports, 2000, 7(4):713-718.

[7] Yoshikawa T, Tsuburaya A, Kobayashi O, et al. Plasma concentrations of VEGF and bFGF in patients with gastric carcinoma[J]. Cancer Letters, 2000, 153(1-2):7-12.

[8] Driessen A, Landuyt W, Pastorekova S, et al. Expression of carbonic anhydrase IX (CA IX), a hypoxia-related protein, rather than vascular-endothelial growth factor (VEGF), a pro-angiogenic factor, correlates with an extremely poor prognosis in esophageal and gastric adenocarcinomas[J]. Annals of surgery, 2006, 243(3):334-340.

[9] Sethna K S, Sugarbaker P H. New prospects for the control of peritoneal surface dissemination of gastric cancer using perioperative intraperitoneal chemotherapy[J]. Cancer Therapy, 2004, 2(A):B79.

[10] Kobayashi M, Yamamoto H, Sugimoto T, et al. Intraoperative local infusion chemotherapy (ILIC) for gastric cancer[J]. Gan To Ksgaku Ryoho, 1998, 25(9):1281-1283.

(责任编辑:冉明会)