维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253－3626(2004)03－0356－04

儿童淋巴结肿大疾病中 c－myc 的检测及其意义

章 均[1], 王 珊[1], 金先庆[1], 唐开勇[2]

(1.重庆医科大学儿科学院肿瘤外科,重庆 400014;2.重庆医科大学儿科学院病理科,重庆 400014)

【摘 要】目的:探讨儿童淋巴结肿大疾病与 c－myc 基因表达的关系。方法:应用 SP 免疫组化法检测 84 例淋巴结肿大患儿肿大淋巴结标本 c－myc 基因的表达。结果:①、炎症、反应性增生、恶性肿瘤 3 种类型淋巴结肿大组织中 c－myc 表达阳性率分别为 15.62%(5/32),40.48%(17/42)和 80.00%(8/10),且差异有显著性($\chi^2=14.59$, $P<0.05$)。②、反应性增生肿大和恶性肿瘤性肿大淋巴结组织的 c－mye 表达区域不同。结论:检测 c－mye 基因的表达,对鉴别恶性淋巴瘤与非肿瘤性淋巴结疾病,特别是用于和淋巴结反应性增生之间的鉴别具有一定的参考价值。

【关键词】淋巴结疾病;c－myc 原癌基因;诊断,鉴别诊断

【中国图书分类法分类号】R730.43,Q786 【文献标识码】A 【收稿日期】2003－09－16

Determination of c－myc gene in children's lymph node swollen diseases and its clinical significance

ZHANG Jun, et al

(*Department of Oncology Surgery, College of Pediatrics, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To study the expression and significance of c－myc in pediatric lymph node swollen diseases. *Methods*: Expression of c－myc gene in swollen lymph node specimens of 84 children with lymph node swollen diseases were determined with SP immunohistochemistry technique. *Results*: (1)The positivity rates of the c－myc gene of lymphadenitis, reactive hyperplasia (RH) and lymphoma were 15.62%, 40.48%, and 80.00%, respectively, and the difference was significant($\chi^2=14.59$, $P<0.05$). (2)The region of the c－myc expression in RH and malignant lymphoma were different. *Conclusion*: The immunohistochemical detection of c－myc may be used to differentiate lymphoma from other lymph node swollen diseases, especially from the RH.

【Key words】Lymph node disease; Proto－Oncogene c－myc; Diagnosis; Differential Diagnosis

淋巴结广泛分布于全身各处,是人体重要的免疫器官。儿童淋巴结肿大较为多见,是小儿常见的症状和体征。按淋巴结肿大发病机理可把它分为炎症性肿大、反应性增生(Reactive Hyperplasia,RH)肿大、肿瘤性肿大、组织细胞增生性肿大等四大类疾病。c－myc 是 myc 癌基因家族中最重要的一员,其编码产物 c－myc 蛋白属核蛋白类,其基因结构[1]具有独特性,可作为转录因子在细胞周期、细胞增殖、分化、凋亡、肿瘤发生、转移等生理病理过程中发挥重要作用。研究表明[2],c－myc 表达增强与 Burkitt 淋巴瘤的发生密切相关,同时在其它许多类型淋巴瘤标本中也都可检测出 c－myc 基因的表达异常,但是关于淋巴结反应性增生肿大疾病中 c－myc 基因表达的研究还未见报道,本研究应用 SP 免疫组化方法,探讨了儿童淋巴结肿大疾病与 c－myc 基因表达的关系,以期为临床更好的鉴别诊断该类疾病提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料

收集儿童医院 2000 年 12 月至 2003 年 3 月手术切除的肿大淋巴结组织标本石蜡块 84 例,其中淋巴结炎 32 例,淋巴结反应性增生 42 例(淋巴滤泡增生为主型 27 例,滤泡外淋巴组织增生为主型 6 例,混合型 9 例),淋巴结恶性肿瘤 10 例(小儿非何杰金氏淋巴瘤 6 例,小儿何金氏病 4 例)。男性 48 例,女性 36 例,年龄 1 月～14 岁,平均年龄 4.9 岁。

1.2 c－myc 蛋白的免疫组化染色

采用 SP 免疫组化法,实验操作参照说明书。第一抗体选用鼠抗人 c－myc 即用型单克隆抗体,购自北京中山公司。

作者介绍:章 均(1977－),男,住院医师,硕士,主要研究方向:儿童实体瘤治疗。

维普资讯 http://www.cqvip.com

用微波炉修复抗原,阴性对照以 PBS 代替第一抗体。

1.3 免疫组织化学检测结果的判定

切片在油镜下观察,每张选有代表性的视野 5 个,按一定顺序逐一进行计数,凡组织中的细胞核染成棕黄色者为阳性;蓝染者为阴性,共观察 500 个细胞,阳性细胞率>10% 者定为阳性表达[3]。

Yuza Y[4],等人报道正常淋巴结生发中心和边缘区偶有细胞表达 c-myc,但是在外套膜区未见有 c-myc 表达。据此,本实验将阳性表达分为 3 级:仅在正常淋巴滤泡区表达为(+),淋巴滤泡之外的皮髓质区有表达为(++),外层被膜区有表达为(+++)。

1.4 统计学处理

使用 SPSS 统计软件,表达强度和表达率的比较分别采用等级资料秩和检验和 χ^2 检验。$P<0.05$ 有显著性意义。

2 结 果

淋巴结炎 32 例组织 c-myc 的阳性表达率为 15.62%,主要见于淋巴结结核和慢性淋巴结炎,而坏死性淋巴结炎 c-myc 免疫组化染色全部为阴性反应。淋巴结反应性增生 42 例组织阳性表达率为 40.48%。淋巴结恶性肿瘤 10 例组织 c-myc 的阳性表达率为 80.00%,因为例数偏少,未进一走对肿瘤各类型进行分析和比较。统计学分析表明:淋巴结炎、淋巴结反应性增生、淋巴结恶性肿瘤 3 种类型淋巴结肿大组织中 c-myc 表达阳性率的差异有显著性($\chi^2=14.59$, $P<0.05$),按阳性率高低排列依次为:淋巴结恶性肿瘤、淋巴结反应性增生、淋巴结炎。淋巴结恶性肿瘤组织中 c-myc 表达强度明显强于其它两种类型的淋巴结肿大,且差别有显著性($P<0.05$)。不同类型的反应性增生阳性率和阳性分布不同。3 种类型的淋巴结反应性增生组织中 c-myc 表达阳性率和表达强度比较结果为:滤泡外淋巴组织增生主型组织中 c-myc 表达阳性率明显高于淋巴滤泡增生为主型及混合型淋合型淋巴结反应性增生组织,差异有显著性($P<0.05$)。淋巴滤泡增生为主型组织中 c-myc 表达强度明显弱于滤泡外淋巴组织增生为主型及混合型淋巴结反应性增生组织。且差异有显著性($P<0.05$)。

反应性增生肿大和恶性肿瘤性肿大淋巴结组织的 c-myc 表达区域不同。10 例 c-myc 表达阳性的淋巴滤泡增生为主型淋巴结反应性增生组织中的阳性细胞集中分布于皮质或髓质增生的淋巴滤泡中,形如"藕片孔"状,滤泡周围及外层被膜区未见阳性细胞分布(见图 1)。4 例阳性滤泡外淋巴组织增生为主型淋巴结反应性增生组织中的阳性细胞主要分布于滤泡周围及间区。3 例混合型淋巴结反应性增生组织中的阳性细胞也主要分布于淋巴滤泡及淋巴滤泡之外的皮髓质区,外层被膜区未见阳性细胞分布。8 例 c-myc 表达阳性的淋巴结恶性肿瘤组织中的阳性细胞弥漫分布于淋巴结各区,包括皮质区、髓质区及外层被膜区,呈"满天星"分布(见图 2)。

表 1 c-myc 在各型淋巴结肿大疾病组织中的阳性分布

类型	例数	表达强度			阳性率(%)
		+	++	+++	
淋巴结炎	32	2△	3△	0△	15.62*
淋巴结反应性增生	42	10△	7△	0△	40.48*
淋巴滤泡增生为主型	27	10◇	0◇	0◇	37.03★
滤泡外淋巴组织增生为主型	6	0◇	4◇	0◇	66.67★
混合型	9	0◇	3◇	0◇	33.33★
淋巴结恶性肿瘤	10	0△	0△	8△	80.00*

*淋巴结炎、淋巴结反应性增生和淋巴结恶性肿瘤三种类型淋巴结肿大组织中 c-myc 表达阳性率比较(χ^2 检验):$P<0.05$。

△淋巴结恶性肿瘤与淋巴结炎、淋巴结反应性增生组织中 c-myc 表达强度比较(秩和检验):$P<0.05$。

★滤泡外淋巴组织增生主型与淋巴滤泡增生为主型、混合型淋巴结反应性增生组织中 c-myc 表达阳性率比较(χ^2 检验):$P<0.05$。

◇淋巴滤泡增生为主型与滤泡外淋巴组织增生主型、混合型淋巴结反应性增生组织中 c-myc 表达强度比较(秩和检验):$P<0.05$。

维普资讯 http://www.cqvip.com

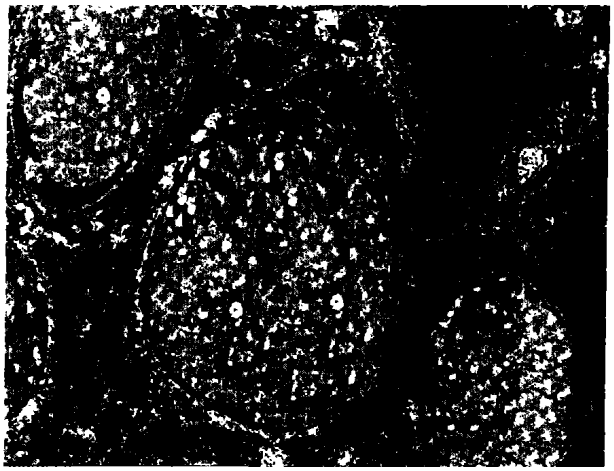


图 1 淋巴滤泡增生为主型淋巴结反应性增生 c－myc(＋)阳性细胞在淋巴结组织呈"藕片孔"状分布 SP 法×100



图 2 恶性淋巴瘤 c－myc(＋＋＋)阳性细胞在淋巴结组织内呈"满天星"分布 SP 法×100

3 讨 论

c－myc 基因编码的产物 c－myc 蛋白是一种 DNA 相关核蛋白，其上有共转化、自调节、分化抑制相重叠的氨基酸顺序区，属于转录因子范畴心蛋白结构功能上有 3 个主要结构域：转录激活区(TAB)、核定位区、二聚体形成结构域[5]。c－myc 异常表达参与肿瘤细胞的增殖和分化过程的调节，同时 c－myc 是一类"快速早期反应"的细胞内信使，在细胞由 G_0 进入 G_1 期，即由静息状态进入增殖状态前就可因有丝分裂原刺激而表达大增，c－myc 可能参与了正常、异常细胞生长的调节，是细胞周期的早期事件。本实验 3 种类型淋巴结肿大组织中均检测到 c－myc 表达即提示了这一观点。

本实验中淋巴结炎组织 c－myc 的阳性表达率为 15.62%，主要见于淋巴结结核和慢性淋巴结炎，这与许多报道淋巴结炎组织 c－myc 免疫组化染色全为阴性明显不同，原因可能在于这些报道都是将淋巴结炎作为淋巴结肿瘤的对照组来进行实验，选用的淋巴结炎数量有限，且大多数都选用的是坏死性淋巴结炎组织，本实验中坏死性淋巴炎组织 c－myc 免疫组化染色也全部都为阴性反应。

淋巴结组织组成细胞主要为免疫活性细胞，当受到病原性(抗原)刺激后，产生不同的细胞及体液因子(其中包括 c－myc 被不同程度的激活)，从而导致不同程度的淋巴结反应，性增生(Reactive Hyperplasia，RH)。本实验中滤泡外淋巴组织增生为主型组织中 c－myc 表达阳性率明显高于淋巴滤泡增生为主型及混合型淋巴结反应性增生组织，原因可能是位于滤泡外淋巴组织的 B 细胞介导的体液免疫范围更广泛，至使滤泡外淋巴组织增生为主型淋巴结反应性增生组织 c－myc 表达阳性细胞普遍增多。同时，淋巴滤泡增生为主型组织中 c－myc 表达强度明显弱于滤泡外淋巴组织增生为主型及混合型淋巴结反应性增生组织，可能与各种类型的淋巴结反应性增生的增生组织细胞类型不同有关。

c－myc 可使细胞发生截然不同的两种反应：细胞增殖与细胞凋亡，这依赖于生长刺激因素是否存在。当 c－myc 表达且生长刺激因素存在时，细胞大量分裂增殖，c－myc 表达但生长刺激因素缺乏时，细胞进入凋亡状态；c－myc 不表达或表达下降及生长刺激因素不存在、细胞处于生长抑制状态。本实验中淋巴结恶性肿瘤 10 例组织 c－myc 的阳性表达率为 80.00%，这与国外报道 c－myc 在非何杰金氏淋巴瘤组织中的阳性率为 76.5%(39/51)[6]和儿童 B 淋巴母细胞型恶性淋巴瘤的 c－myc 的阳性率为 70.6＋/－19.8%[4]基本一致。统计学分析本实验结果，淋巴结炎、淋巴结反应性增生、淋巴结恶性肿瘤三种类型淋巴结肿大组织，按 c－myc 表达阳性率高低排列依次为：淋巴结恶性肿瘤、淋巴结反应性增生、淋巴结炎，且淋巴结恶性肿瘤组织中 c－myc 表达强度明显强于其它两种类型的淋巴结肿大。这似乎提示淋巴结肿大组织的 c－myc 表达阳性率和阳性强度与淋巴结肿大组织细胞分裂增生活跃程度呈正比。

由于肿瘤细胞极具侵袭性，大多数恶性肿瘤组织都失去了原来组织的结构形态，恶性肿瘤细胞呈弥散性分布。本实验结果表明反应性增生肿大和恶

维普资讯 http://www.cqvip.com

性肿瘤性肿大淋巴结组织的 c-myc 表达方式不同，特别是淋巴滤泡增生为主型淋巴结反应性增生和恶性肿瘤性肿大淋巴结组织的 c-myc 表达方式更是显著性区别。这一点与恶性淋巴瘤的组织结构形态相一致，说明 c-myc 是反映细胞增殖状态的一个较好的指标。

由于淋巴结肿大疾病种类繁多，临床上单靠症状和体征很难鉴别，特别是早期恶性淋巴瘤细胞和一些有恶性倾向的异常增殖细胞由于缺乏肿瘤细胞形态学典型特征，给病理学诊断带来很大困难。目前临床上儿童淋巴结异常肿大除恶性淋巴瘤外，很大一部分是由于抗原刺激淋巴结后，淋巴结内的淋巴细胞增殖与调亡平衡被打破，导致淋巴细胞异常增生，导致反应性增生发生，表现为淋巴结长期肿大。本实验研究结果可为临床综合判断淋巴结肿大疾病的良恶性提供帮助，特别适用于淋巴结反应性增生和恶性淋巴瘤的鉴别诊断，同时也有助于淋巴结反应性增生的分型诊断，为临床更好的诊治淋巴结肿大疾病提供了实验依据。

参 考 文 献

[1] 曾 嵘，李 进. c-myc 的结构和功能[J]. 国外医学遗传学分册，1997；20(3)：116-119.

[2] Sacz AI, Artiga MJ, Romero C, et al. Development of a real-time reverse transcription polymerase chain reaction assay for c-myc expression that allows the identification of a subset of c-myc+ diffuse large B-cell lymphoma[J]. Lab Invost, 2003；83(2)：143-152.

[3] Sakalidou A, Kanavaros P, Tzardi M, et al. The expression of myc and ras oncogene protein in childhood lymphomas[J]. Anticancor Res, 1996；16(1)：487-491.

[4] Yuza Y, Kawakami M, Takagi K, et al. Max protein expression is associated with survival of children with lymphoblastic lymphoma[J]. Podiatr Int, 1999；41(6)：637-640.

[5] Ryan KM, Birnie GD. Myc oncogenes: the enigmatic family[J]. Biochem J, 1996；314(Pt 3)：713-721.

[6] Pagnano KB, Vassallo J, Lorand-Metze I, et al. p53, Mdm2, and c-Myc overexpression os associated with a poor prognosis in aggressive non-Hodgkin's lymphomas[J]. Am J Hematol, 2001；67(4)：279-286.

(上接第 355 页)床活动。由于下腹部手术术后恶心、呕吐常发生在 6～8h，也可通过加入一定量的氟哌利多，使术后恶心、呕吐的发生率明显降低，这与我们的研究相符。

综上所述，低浓度 0.15% 罗哌卡因复合 2μg/ml 芬太尼不仅能提供良好的镇痛效果且下肢运动神经阻滞发生较少，更适宜下腹部手术术后 PECA。

参 考 文 献

[1] 罗爱伦，主编. 病人自控镇痛[M]. 第 1 版. 北京：北京大学医科大学中国协和医科大学联合出版社，1999；36-46.

[2] Rosenberg PH, Kytta J, Alila A. Absorption of bupivacaine, etidocaine, lignocaine and ropivacaine into N-heptane, rat sciatic nerve, and human extradural and subcutaneous fat [J]. Br J Anaesth, 1986；58：310-314.

[3] Crosby E, Sandler A, Finucane B, et al. Comparison of epidural anaesthesia with ropivacaine 0.5% and bupivacaine 0.5% for caesarean section[J]. Can J Anaesth, 1998；45：1066-1071.

[4] Zaric D, Axelsson K, Nydahl PA, et al. Sensory and motor blocke during epidural analgesia with 1.0%, 0.75% and 0.5% ropivaeaine: a double-blind study[J]. Anesth Analg, 1991；72：509-515.

[5] Schug SA, Scott DA, Payne J, et al. Postoperative analgesia by continuous extradural infusion of ropivacaine after upper abdominal surgery[J]. Br J Anaesth, 1996；76：487-491.