维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号：0253-3626(2002)03-0257-03

胃粘膜癌变过程中Fas、FasL的表达及意义

吴小翎，冯志松
（重庆医科大学第二临床学院内科 重庆 400010）

【摘 要】目的：通过检测胃粘膜癌变过程中凋亡相关蛋白Fas、FasL的表达，探讨其在胃癌发生发展中的作用。方法：采用免疫组化SP法检测41例慢性浅表性胃炎（CSG）、19例慢性萎缩性胃炎伴肠化生（CAGIM）、22例异型增生（Dys）和37例胃癌（GC）。结果：Fas在CSG、CAGIM、Dys和GC组中的阳性表达率依次下降，FasL的阳性表达率则逐渐升高；Fas、FasL在高中分化GC组的阳性表达率均显著高于低分化GC组。结论：Fas、FasL的阳性表达率在胃癌发生过程中呈现不同的变化趋势，提示由Fas/FasL诱导的胃粘膜细胞凋亡异常与胃癌形成可能有密切关系。在胃癌患者，与癌细胞分化有关的Fas、FasL表达的一致性有助于判断肿瘤的恶性程度和预后。

【关键词】胃癌； 癌前病变； Fas； Fas Ligand
【中国图书分类法分类号】R753.2 【文献标识码】A 【收稿日期】2001-11-05

The expression and significance of Fas, Fas ligand in carcinogenesis of gastric mucosa

WU Xiaoling, et al
(Department of Internal Medicine, the Second College of Clinical Medicine, Chongqing Medical University)

【Abstract】*Objective*: To investigate the expression and significance of Fas, Fas ligand in carcinogenesis of gastric mucosa. *Methods*: SP immunohistochemistry. *Results*: The expression rate of Fas in chronic superficial gastritis group was significantly higher than that of dysplasia and gastric cancer groups ($P<0.05$). The expression rate of Fas ligand in chronic superficial gastritis group was significantly lower than that of other groups ($P<0.05$). In the patients with gastric cancer, the expression rates of Fas and Fas ligand were correlated with the degree of differentiation. *Conclusion*: The abnormal expression of Fas and Fas ligand in carcinogenesis of gastric mucosa may be involved in the pathogenesis and differentiation of gastric cancer.

【Key words】Gastric cancer; Precancerous lesion; Fas; Fas ligand

胃癌是最常见的恶性肿瘤之一，目前病因和发病机制尚不清楚。近年来的研究表明：在胃癌病理演化过程中，不仅存在着细胞增殖异常，细胞凋亡的异常对胃癌的发生也起着重要作用[1,2]。因此，我们检测了胃粘膜癌变过程中凋亡相关蛋白Fas、FasL的表达，探讨Fas/FasL系统在胃癌发生发展中的作用及临床价值。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 组织材料 系我院、重庆医科大学临床学院和第三军医大学大坪医院的胃镜活检和手术切除标本，常规石蜡包埋和连续切片，分别进行HE染色作组织病理诊断和免疫组化研究。根据全国胃癌协作组制定的规范进行病理诊断和分类，其中慢性中重度浅表性胃炎（CSG）41例，慢性萎缩性胃炎伴肠化生（CAGIM）19例，异型增生（Dys）22例，均为胃镜活检标本，胃癌（GC）37例，均为手术切除标本。观察对象的年龄、性别特征见表1。

表1 观察对象的基本特征

组数	例数	性别		年龄(岁)	
		男	女	$\bar{x}\pm s$	范围
CSG	41	26	15	47 ± 14	24 ~ 83
CAGIM	19	13	6	56 ± 12	39 ~ 78
Dys	22	18	4	59 ± 12	40 ~ 76
GC	37	19	18	54 ± 13	31 ~ 81

1.1.2 试剂 Fas抗体为浓缩型鼠抗人单克隆抗体，FasL抗体为浓缩型兔抗人多克隆抗体，均购于北京中山生物技术有限公司。S-P试剂盒购于福州迈新生物技术开发公司。

1.2 方法

1.2.1 Fas、FasL的检测 采用免疫组化S-P法进行检测。所有切片均在同一实验室，由同一技术人员使用同一批号试剂

作者介绍：吴小翎（1957- ），男，教授，硕士。
主要研究方向：消化系统肿瘤。

维普资讯 http://www.cqvip.com

完成免疫组织化学染色。用已知阳性对照片作阳性对照，用PBS代替一抗工作液作阴性对照。

1.2.2 结果判定 用Olympus显微镜在低倍镜下扫描全片。Fas、FasL的阳性细胞染色位于胞膜和胞浆，均为棕黄色颗粒状（DAB）；用高倍镜选择有代表性的视野5个，计数不少于500个胃粘膜细胞，阳性细胞≥10%为阳性，<10%或背景同阴性对照者判断为阴性。

2 结 果

2.1 Fas、FasL在胃粘膜各级病变中的表达

Fas在CSG、CAGIM、Dys和GC组中的阳性表达率依次下降，CSG组Fas阳性表达率显著高于Dys（$P<0.05$）和GC组($P<0.01$)，CAGIM组Fas阳性表达率显著高于GC组($P<0.05$)。FasL在CSG、CAGIM、Dys和GC组中的阳性表达率依次增高，CSG组FasL阳性表达率分别显著低于CAGIM（$P<0.05$），Dys($P<0.01$)和GC组($P<0.01$)。见表2。

表2 Fas、FasL在胃粘膜各级病变中的表达

组别	例数	Fas阳性(%)	FasL阳性(%)
CSG	41	29(70.7)	11(29.3)
CAGIM	19	12(63.2)$^{\triangle}$	11(57.8) *
Dys	22	10(45.5) *	14(63.6) **
GC	37	12(32.4) **	24(64.9) **

与CSG比较，$^{\triangle}P>0.05$； $^{*}P<0.05$； $^{**}P<0.01$

2.2 Fas、FasL的表达与胃癌分期、分化和淋巴结转移的关系

7例早期胃癌与30例进展期胃癌的Fas阳性表达率无显著性差异（$P>0.05$）；FasL阳性表达率在早期胃癌组与进展期胃癌组比较亦无显著性差异（$P>0.05$）。14例高中分化胃癌Fas、FasL阳性表达率均高于23例低分化胃癌（$P<0.05$）；24例有淋巴结转移的胃癌Fas和FasL阳性表达率与13例无淋巴结转移的胃癌比较，差异均无显著性（$P>0.05$）。见表3。

2.3 Fas、FasL在胃癌组织和癌周组织中的表达

37例胃癌组织仅有31例切片含有癌周组织（包括肠化生和异型增生），这31例胃癌的Fas阳性表达率低于癌周组织($P<0.05$)，FasL阳性表达率则无显著性差异（$P>0.05$）。见表4。

表4 Fas、FasL在胃癌和癌周组织中的表达

	例数	Fas阳性(%)	FasL阳性(%)
胃癌	31	12(38.7)$^{\blacktriangle}$	22(70.0)$^{\triangle}$
癌周组织	31	20(64.5)	18(58.1)

组间比较，$^{\blacktriangle}P<0.05$； $^{\triangle}P>0.05$

3 讨 论

3.1 Fas、FasL的表达与胃癌的发生

Fas及其天然配体（Fas Ligand, FasL）分别属于Ⅰ型和Ⅱ型跨膜蛋白，是肿瘤坏死因子（TNF）和神经生长因子（NGF）超家族成员，广泛存在于活化的T、B淋巴细胞及各种组织细胞表面。FasL（或抗Fas单克隆抗体）与Fas相结合可触发凋亡信号的传递，导致细胞凋亡。大量研究证明在肿瘤发生的多阶段过程中，不仅存在细胞增殖失控，细胞凋亡的抑制也起着重要作用[3]。Fas/FasL系统的异常表达通过抑制细胞凋亡，促进肿瘤形成在食管癌[4,5]等恶性肿瘤中已得到证实。最近Hashi等报道体外培养的胃癌细胞株有不同程度的Fas表达，并进一步用抗Fas单克隆抗体与这些胃癌细胞株作用，证明胃癌细胞株的凋亡与Fas表达率成正相关[6]。Rudi等发现胃粘膜细胞同时存在Fas和FasL的表达，后者以自泌和旁泌的方式促进胃粘膜细胞凋亡[7]。我们联合检测胃粘膜癌变过程中Fas和FasL的表达，结果显示：Fas的阳性表达率在慢性浅表性胃炎组最高，随病变

表3 Fas、FasL的表达与胃癌分期、分化和淋巴结转移的关系

	例数	Fas阳性(%)	FasL阳性(%)
早期胃癌	7	3(42.9)	5(71.4)
进展期胃癌	30	9(30.0)$^{\triangle}$	19(63.3)$^{\triangle}$
高中分化型胃癌	14	8(57.1)	12(85.7)
低分化型胃癌	23	4(17.4)$^{\blacktriangle}$	12(52.2)$^{\blacktriangle}$
有淋巴结转移胃癌	24	9(37.5)	16(66.7)
无淋巴结转移胃癌	13	3(23.1)$^{\triangle}$	8(61.5)$^{\triangle}$

组间比较，$^{\blacktriangle}P<0.05$； $^{\triangle}P>0.05$

维普资讯 http://www.cqvip.com

进展逐渐下降，至异型增生阶段已显著降低，胃癌组最低；FasL的阳性表达率在慢性浅表性胃炎组最低，随病变进展，到慢性萎缩性胃炎伴肠化生阶段已显著增高，动态观察胃粘膜癌变过程中Fas和FasL的表达，得到如图1所示的变化趋势。

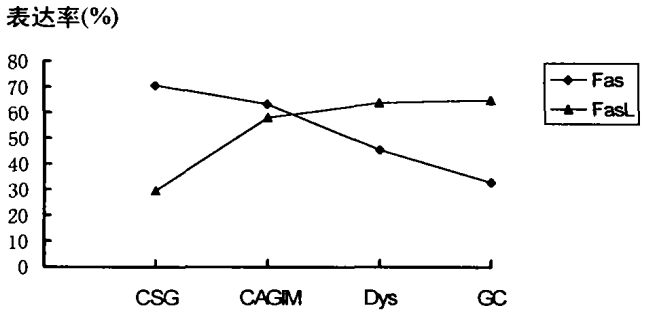


图1 各级胃粘膜病变Fas/FasL表达的变化趋势

图1中可见Fas与FasL的匹配率在慢性萎缩性胃炎伴肠化生阶段最高，以此阶段作为界点，在慢性浅表性胃炎，粘膜细胞虽有Fas的高表达，但缺乏足够的FasL与之结合；发展至慢性萎缩性胃炎伴肠化生后，粘膜细胞FasL的表达明显增高，Fas虽也有相应表达但逐渐减少。此外我们在检测胃癌及癌周组织的Fas、FasL表达时也证实癌周组织与癌前病变的表达趋势相似。由此我们可以推知，胃粘膜癌变过程中由Fas、FasL介导的细胞凋亡可能以慢性萎缩性胃炎伴肠化生为界点，前半阶段随病变加重胃粘膜细胞凋亡指数应逐渐上升，至慢性萎缩性胃炎伴肠化生后，胃粘膜细胞的凋亡指数则应随病变加重逐渐下降。许岸高等[8]用TUNEL技术检测胃粘膜癌变过程中各级病变的胃粘膜细胞凋亡指数，与我们根据检测Fas、FasL的变化趋势所作的推论完全一致。在胃粘膜病变的早期阶段，粘膜细胞凋亡增加必然引起增殖加速。大量的增殖细胞不仅自身DNA复制易发生错误，而且增加了对来自体外致癌物的敏感性，易导致DNA突变和细胞转化；至癌前病变后，因细胞凋亡受到抑制，胃粘膜细胞增殖更趋活跃，细胞积聚速度加快，有利于胃癌的形成。因此，我们认为Fas和FasL在胃粘膜癌变过程中的异常表达可能是胃粘膜细胞凋亡异常的主要机制之一，由Fas/FasL诱导的胃粘膜细胞凋亡异常与胃癌形成有密切关系。同时也提示联合检测Fas和FasL的表达，特别是癌前病变患者，当出现Fas表达受抑，FasL表达增强时，要警惕恶变可能性。

3.2 Fas、FasL的表达与胃癌的生物学行为

目前的研究认为，胃癌细胞表达的Fas和FasL均对其凋亡起促进性调控作用。因此，我们将胃癌按分期、分化、有无淋巴结转移等分组检测Fas和FasL的表达，结果显示Fas和FasL的阳性表达率在高中分化型胃癌均显著高于低分化型，但与胃癌的分期和有无淋巴结转移无关。虽然病例数偏少，Fas、FasL的表达与胃癌分期和有否转移的关系尚需进一步研究，但高中分化型胃癌Fas和FasL一致性高表达可促进胃癌细胞凋亡，降低肿瘤生长速度，延缓病程；而低分化型胃癌因Fas和FasL的表达均低，癌细胞凋亡受到抑制，肿瘤生长快，恶性程度高。我们认为，这种与癌细胞分化有关的Fas/FasL表达一致性有助于判断胃癌的恶性程度和预后。

3.3 Fas、FasL的表达与胃癌的免疫监视

本文检测结果显示，胃粘膜病变发展到异型增生阶段时Fas表达已显著降低，胃癌的Fas表达更低，但同时胃粘膜细胞FasL的表达在癌前病变时已显著升高，胃癌的FasL表达亦高。若Fas和FasL同步高表达可促进粘膜病损细胞或癌细胞凋亡，有利于抑制肿瘤的形成和发展，则Fas与FasL反向表达的病理意义值得深入探讨。Koyama等报告表达FasL的胃粘膜细胞可通过凋亡清除胃粘膜中浸润的淋巴细胞[9]。Bennett[10]等在胃癌组织中发现表达FasL的癌细胞区域内有大量的淋巴细胞凋亡。我们推测胃粘膜癌变过程中Fas/FasL的异常表达不仅通过抑制细胞凋亡，还可能因削弱机体的免疫监视作用，促进了胃癌的发生发展。

参 考 文 献

[1] Cahill RJ, Kilgallen C, Beattles, et al. Gastric epithelial cell kinetics in the progression from normal mucosa to gastric carcinoma[J]. Gut, 1996;38:177-181.

[2] 刘海峰，刘为纹，房殿春. 胃癌及癌前病变中细胞凋亡与细胞增殖的关系的研究[J]. 世界华人消化杂志，1999;7(8):649-651.

[3] Compagni A, Christofori G. Recent advances in research on multistage tumorigenesis[J]. British Jounal of Cancer, 2000;83(1):1-5.

[4] Shibakita M, Dhar DK. Prognostic significant of Fas and FasL expression in human esophageal cancer[J]. Clin Cancer Res, 1999;5:2464-2469.

[5] 谭黎杰，蒋 伟，张 农，等. 食管鳞癌及不典型增生Fas/FasL的表达[J]. 世界华人消化杂志，2001;9(1):15-19.

[6] Hashi H, Tatebe S, Osaki M, et al. Expression of Fas

(下转第263页)

维普资讯 http://www.cqvip.com

等量的H^+（99.9%）。当细胞缺氧或者细胞线粒体利用氧发生障碍时，ATP的合成小于分解，出现ATP的净分解，产生多余的H^+引起细胞pH值下降，程度越重，pH下降越显著，在腹腔镜手术中监测胃肠粘膜的pH值是反映血液动力学变化的早期指标[11]。本研究结果亦显示CO_2气腹导致了实验动物肠道粘膜pH值严重下降，而且CO_2气腹时间越长，ipH值下降越明显。我们发现在本研究中ipH和apH一样，在停止气腹后2h ipH和apH仍然显著低于气腹前和对照组。而许多作者的临床和动物实验均显示，在生理功能正常的情况下，在撤除气腹后，动脉血pH值和胃肠道粘膜pH值均得到迅速恢复[3]。由此推测，在有休克前期表现的内毒素血症情况下，CO_2气腹导致的酸碱平衡紊乱更为严重和持久。尽管本实验结果显示各组动物肠壁ATP含量无显著性差异，但是，CO_2气腹组动物的肠壁ATP含量是低于对照组和内毒素组(其ATP水平分别为6.71 μmol/g、9.41 μmol/g 和10.34 μmol/g)。这一结果提示，CO_2气腹可能引起组织的能量代谢障碍，可能系因组织灌注和静脉回流障碍所致。而本实验结果显示CO_2气腹并不影响介质TNF-α的代谢，而内毒素导致了血浆TNF-α水平一过性的显著升高。

本研究结果提示：在内毒素血症损害下，即使仅限于休克前期，CO_2气腹，对机体是非常危险的因素。必须引起人们的高度重视。

参 考 文 献

[1] Steiman M, da Silva LE, Coelho IJ, et al. Hemodynamic and metabolic effects of CO_2 pneumoperitoneum[J]. Surg Endosc, 1998;12(5):416-420.

[2] Ditter B, Becker KP, Urbaschek R, et al. Quantitativer Endotoxinnachweiss. Automatisierter kinetischer limulus-Amoebozyten-Lysat-Mikrotitertest mit Messung Probenabhaegiger Interferenzen[J]. Arzneimittelforschung, 1983;33:681-687.

[3] Holthausen U, Nagelschmidt M, Troidl H. CO_2 pneumoperitoneum: what we know and what we need to know[J]. Word J Surg, 1999;23:794-800.

[4] Diebel LN., Wilson RF., Dulchavsky SA, et al. Effect Increased Intraabdominal Pressure on Hepatic Arteial,Tortal Venous,and Hepatic Microcirculatory Blood Flow [J]. J Trauma, 1992;33(2):179-283.

[5] Gandara V, de Vega DS, Escriu N, et al. Acid-base balance alterations in Laparoscopic cholecystectomy[J]. Sur Endosc, 1997;11:707-710.

[6] Ortega AE., Richman MF., Hernandez M., et al. Inteior vena caval blood flow and cardiac hemodynamics during carbon dioxide pneumoperitoneum[J]. Surg Endosc, 1996;10:920- 924.

[7] Saggi BH, Sugerman HJ, Ivatury RR, et al. Abdominal compartment syndrome [J]. J Trauma, 1998;45:597-609.

[8] Galizia G, Prizio G, Lieto E, et al. Hemodynamic and pulmonary changes during open, carbon dioxide pneumoperitoneum and abdominal wall-lifting cholecystectomy [J]. Surg Endosc, 2001;15(5):477-483.

[9] Declan Fleming RY, Dougherty TB, Feig BM. The safety of helium for abdominal insufflation[J]. Surg Endosc, 1997;11:230-234.

[10] Schafer M, Sagesser H, Reichen, et al. Alteration in hemodynamics and hepatic and splanchnic circulation during laparoscopic in rats[J]. Surg Endosc, 2001;15:1197-1201.

[11] Knolmayer TJ, Boyer MW, Egan JC, et al. The effects of pneumoperitoneum on gastric blood flow and traditional hemodynamic measurement[J]. Surg Endosc, 1998;12(2):115-118.

（上接第259页）

antigen and its mediation of apoptosis in human gastric cancer cell lines[J]. JPN J Cancer Res, 1997;88:49-55.

[7] Rudi J, Kuck D, Strand S, et al. Involvement of the CD95 (APO-1/Fas) recepter and ligand system in helicobacter pylori-induced gastric epithelial apoptosis[J]. J Clin Invest, 1998;102: 1506-1514.

[8] 许岸高，李绍光，刘集鸿，等. 胃癌癌前病变演化与细胞凋亡和增殖的关系[J]. 中华医学杂志，1999;79(3):185-186.

[9] Koyama S. Apoptotic clepletton of infiltrating mucosul lymphocyte associated with Fas ligand expression by helicobacter pylori-infected gastric mucosal epitheliales human glandular stomach as a site of immune privilege[J]. Dig Dis Sci, 2000;45(4):773-780.

[10] Bennett WW, O., connell J, O., Sullivan GC, et al. Expression of Fas ligand by human gastric adenocarcinomas, a potential mechanis of immune escape in stomach cancer[J]. Gut, 1999;44:156-162.