DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.19.026
第26卷第19期 第三军医大学学报 Vol. 26, No. 19
2004年10月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Oct. 2004

文章编号:1000-5404(2004)19-1759-03

论著

胃癌前病变组织和胃癌中 hTERT 的表达及其与幽门螺杆菌感染的关系

王国安,刘海峰,房殿春 (第三军医大学西南医院全军消化内科中心,重庆 400038)

提 要:目的 探讨胃癌前病变组织及胃癌中人端粒酶催化亚单位(human telomerase catalytic subunit, hTERT)的表达状况及其与幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, Hp)感染的关系。方法 应用免疫组织化学技术检测45例慢性胃炎和19例胃癌中hTERT蛋白的表达,用快速尿素酶法和Warthin-Starry银染色法检测Hp。结果 hTERT蛋白的表达率在胃癌组织(78.95%)中显著高于异型增生(64.29%, $P<0.05$)、肠化生(46.67%, $P<0.05$)和萎缩性胃炎组织(25.00%, $P<0.05$),在异型增生组织(64.29%)中显著高于肠化生(46.67%, $P<0.05$)和萎缩性胃炎组织(25.00%, $P<0.05$),在肠化生组织(46.67%)中显著高于萎缩性胃炎组织(25.00%, $P<0.05$)。Hp阳性患者中hTERT蛋白的表达率为77.42%,Hp阴性患者中hTERT蛋白的表达率为33.33%,二者之间差异非常显著($P<0.01$)。结论 在胃癌和胃癌前病变阶段,端粒酶(telomerase)均可能发挥重要作用,促进了胃癌的发生、发展。Hp可能是胃粘膜上皮细胞端粒酶激活的主要机制之一。

关键词:胃癌;癌前病变;幽门螺杆菌;端粒酶;端粒酶催化亚单位
中图法分类号:R377; R394.3; R735.2 文献标识码:A

Relationship between hTERT expression in human gastric carcinoma and its precancerous lesions and *Helicobacter pylori* infection

WANG Guo-an, LIU Hai-feng, FANG Dian-chun (Gastroenterology Research Center, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To study the expression of hTERT in human gastric carcinoma and its precancerous lesions and to explore the relationship between hTERT expression and *Helicobacter pylori* (Hp) infection. Methods hTERT expression was detected by immunohistochemical method. Hp was detected by rapid urease test and Warthin-Starry silver staining. Results The expression level of hTERT in human gastric carcinoma (78.95%) was significantly higher than that in gastric dysplasia (64.29%), in intestinal metaplasia (46.67%), and in atrophic gastritis (25.00%, $P<0.05$). The positive rate of hTERT protein in patients with Hp infection (77.42%) was significant higher than that in patients without Hp infection (33.33%, $P<0.01$). Conclusion The results suggest that the activity of telomerase may play an important role in the genesis and progression of gastric carcinoma. Hp infection may be one of the mechanisms in the telomerase activation in the epithelial cells in gastric mucosa.

Key words: gastric cancernoma; precancerous lesion; *Helicobacter pylori*; telomerase; human telomerase catalytic subunit

胃癌的发生与许多因素相关。大多数学者认为胃癌可能是幽门螺杆菌长期感染与其它因素共同作用的结果。从正常胃粘膜→萎缩性胃炎→肠上皮化生→异型增生→胃癌的发病模式已得到多数学者认可。端粒酶与胃癌发生发展的关系是近年来肿瘤研究的热点之一,端粒酶的激活在胃癌发生中起关键作用,而hTERT的表达可以比较准确地反映端粒酶的活性[1]。我们应用免疫组织化学染色技术从蛋白表达水平检测不同胃粘膜病变中的hTERT蛋白表达状况,并应用快速尿素酶法和Warthin-Starry银染色法检测不同胃粘膜病变中Hp感染状况,探讨Hp感染与hTERT蛋白表达之间可能的关系,以进一步阐明Hp的致癌机制。

1 材料和方法

1.1 材料

收集我院2000—2002年胃镜活检标本和胃癌手术切除标本共64例。其中慢性胃炎伴萎缩者16例,伴肠化生者15例,

基金项目:全军医学科学技术研究"十五"计划基金重点课题(01Z075)
Supported by the "Ninth Five-year Plan" for Medical Science and Public Health of PLA (01Z075)
作者简介:王国安(1972—),男,河北省清苑县人,硕士,住院医师,主要从事胃癌及胃癌前病变的基础与临床方面的研究。电话:(023)68754000-73055
通信作者:刘海峰,电话:(023)68754000-73055, E-mail:hfliuwz@163.net
收稿日期:2003-07-20;修回日期:2004-01-05

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

伴中、重度异型增生者 14 例，胃癌 19 例。胃镜活检标本均取自胃窦部，19 例胃癌均为胃远端癌。胃癌患者在手术前均未接受化疗、放疗或免疫治疗。组织标本经 100 ml/L 福尔马林液固定，石蜡包埋，4 μm 厚连续切片，并经 HE 染色病理诊断证实。兔抗人 hTERT 多克隆抗体、S-P 免疫染色试剂盒均购自 SantaCruz 公司。

1.2 方法

1.2.1 Hp 检查 采用快速尿素酶法和 Warthin-Starry 银染色法检测 Hp，两种方法均阳性者判为 Hp 感染，两种方法均阴性者判为 Hp 阴性，单项阳性者退出试验。

1.2.2 免疫组化染色 采用链霉菌素-生物素过氧化物酶(S-P)染色法。染色程序按 S-P 法操作常规进行，第一抗体原液按 1∶100 稀释。以已知 hTERT 蛋白阳性的胃癌为阳性对照，以 PBS 代替一抗作为阴性对照。光镜下观察免疫组化染色切片的显色反应，计数 500 个细胞中的阳性细胞数，hTERT 抗原表达阳性细胞数≥ 10%判为弱阳性(+)，≥ 50%判为中等阳性(++)，≥ 75%判为强阳性(+++)，< 10%判为阴性(−)。

1.2.3 统计学处理 采用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 hTERT 蛋白在不同胃粘膜病变中的表达状况

hTERT 蛋白阳性反应物质呈棕黄色颗粒，主要位于细胞浆内，偶可伴细胞核着色，见图 1、2。hTERT 蛋白的表达率在胃癌组织中显著高于异型增生($P<0.05$)、肠化生和萎缩性胃炎组织($P<0.05$)，在异型增生组织中显著高于肠化生($P<0.05$)和萎缩性胃炎组织($P<0.05$)，在肠化生组织中显著高于萎缩性胃炎组织($P<0.05$)，见表 1。

2.2 hTERT 蛋白在不同胃粘膜病变中的表达强度变化

hTERT 蛋白中等阳性、强阳性表达率在胃癌组织中显著高于异型增生($P<0.05$)、肠化生($P<0.05$)和萎缩性胃炎组织($P<0.05$)，在异型增生组织中显著高于肠化生($P<0.05$)和萎缩性胃炎组织($P<0.05$)，在肠化生组织中显著高于萎缩性胃炎组织($P<0.05$)，见表 2。

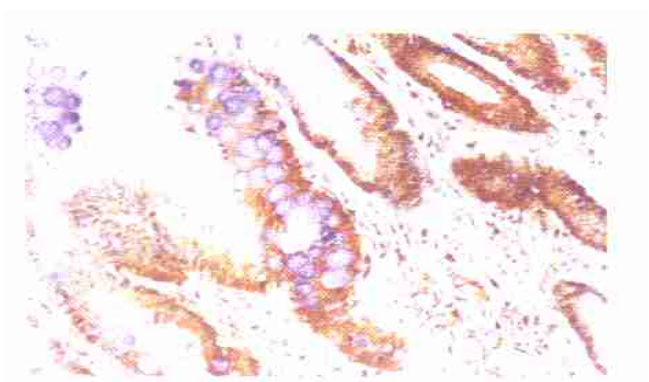


图 1 异型增生组织，**hTERT** 蛋白阳性反应物质位于细胞浆内，伴细胞核着色 (S-P × 200)

Fig 1 hTERT protein positive substance located in the cytoplasm of gastric dysplasia cells (S-P × 200)

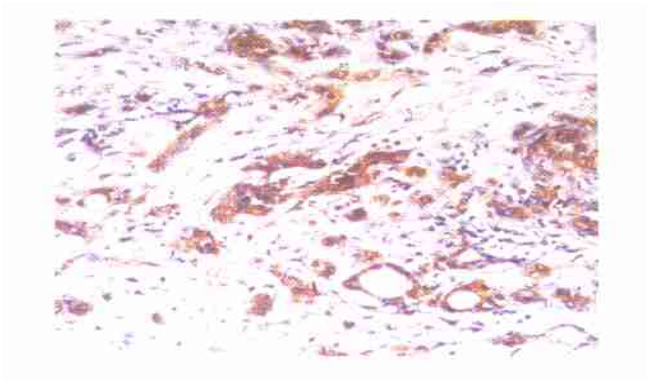


图 2 胃癌组织，**hTERT** 蛋白阳性反应物质位于细胞浆内 (S-P × 200)

Fig 2 hTERT protein positive substance located in the cytoplasm of gastric carcinoma cells (S-P × 200)

表 1 **hTERT** 蛋白在不同胃粘膜病变中的表达状况

Tab 1 hTERT protein expression in gastric epithelial cells of various lesions

Group	*n*	hTERT protein expression				hTERT positive	
		−	+	++	+++	*n*	Rate(%)
CAG	16	12	3	1	0	4	25.00
IM	15	8	5	2	0	7	46.67 *
Dys	14	5	5	2	2	9	64.29 *△
GC	19	4	5	8	2	15	78.95 *△☆

*: $P<0.05$ *vs* CAG; △: $P<0.05$ *vs* IM; ☆: $P<0.05$ *vs* Dys; CAG: Chronic atrophic gastritis; IM: Intestinal metaplasia; Dys: Gastric dysplasia; GC: Gastric carcinoma

表 2 **hTERT** 蛋白在不同胃粘膜病变中中等阳性、强阳性表达状况

Tab 2 Moderate and strong positive expressions of hTERT protein in gastric epithelial cells of various lesions

Group	*n*	hTERT protein expression				hTERT positive	
		−	+	++	+++	*n*	Rate(%)
CAG	16	12	3	1	0	1	6.25
IM	15	8	5	2	0	2	13.33 *
Dys	14	5	5	2	2	4	28.58 *△
GC	19	4	5	8	2	10	52.63 *△☆

*: $P<0.05$, *vs* CAG; △: $P<0.05$, *vs* IM; ☆: $P<0.05$ *vs* Dys

2.3 Hp 感染与 hTERT 蛋白表达的关系

Hp 阳性患者共 31 例，其中有 24 例表达 hTERT，hTERT 表达率为 77.42%。Hp 阴性患者共 33 例，其中有 11 例表达 hTERT，hTERT 表达率 33.33%。hTERT 表达率在 Hp 阳性患者中显著高于 Hp 阴性患者($P<0.01$)。

3 讨论

目前的研究证明人端粒酶主要组分为：人端粒酶催化亚单位(hTERT)、人端粒酶 RNA (hTR)、人端粒酶相关蛋白(TEP1)。目前已成功克隆到 hTERT 基因，其产物 Est2p 可与端粒酶 RNA 亚单位形成稳定的复合物且可反映癌细胞和永生化细胞中端粒酶的活性。在肿瘤细胞端粒酶激活中起关键作用[1]。Yamada 等[2] 研

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

究 10 个癌细胞系端粒酶活性与 hTERT、hTR 及 TEP1 表达的关系, 发现只有 hTERTmRNA 的变化与端粒酶活性的变化平行一致。Suzuki 等[3] 研究胃癌患者中端粒酶活性与 hTERT 表达的关系, 发现 7/8(88%)例胃癌表达端粒酶活性, 且都表达 hTERTmRNA。上述研究皆提示 hTERT 变化可比较准确地反映细胞中端粒酶活性的变化。

陈惠新等[4] 研究发现不同胃粘膜病变组织端粒酶阳性检出率为胃癌 84.80%, 重度异型增生 75.00%, 肠上皮化生 42.90%, 慢性浅表性胃炎 0.00%, 提示在胃癌前病变不同阶段端粒酶被不同程度的激活。本研究结果显示, hTERT 表达率在萎缩性胃炎、肠化生、异型增生和胃癌等不同胃粘膜癌变过程中呈递增趋势, 且相互间有显著差异, 提示端粒酶活化不仅在维持胃癌细胞永生化中起关键作用, 而且在胃癌前病变阶段已经发挥作用。随着胃粘膜病变的加重, hTERT 表达率逐渐增高, 表达强度增加, 亦即端粒酶活性逐渐增高, 端粒酶发挥的作用也越来越重要。可以推测端粒酶活化在胃癌的发生、发展中起着重要作用, 亦即端粒酶活化参与了正常胃粘膜细胞恶性转化的全过程。

流行病学资料和临床资料皆表明胃癌与 Hp 感染有密切关系, 但其具体的致癌机制仍不清楚。那么 Hp 与端粒酶是否有相关性, 亦即 Hp 感染能否引起端粒酶活化进而发生胃癌? Suzuki 等[3] 研究认为 hTERTmRNA 在胃癌和胃癌前病变中表达, 这种表达发生在胃癌变的早期阶段, 但是 hTERTmRNA 表达与 Hp 感染无相关性。吴尚农等[5] 认为, Hp(包括 $CagA^+$-Hp)感染并不能促使端粒酶的激活, Hp 与端粒酶之间无相关性。

但 Kameshima 等[6] 应用 Hp 接种至成年蒙古鼠胃粘膜中, 6 个月后做胃粘膜病理及端粒酶活性检测并与对照组比较, 发现 Hp 慢性感染可以诱导胃粘膜组织的端粒酶活化, 并导致肠上皮化生。何兴祥等[7] 用 $cagA^+$-Hp 培养滤液与胃上皮细胞共孵育 6 h, 诱导了胃上皮细胞端粒酶活性表达上调, 撤除 Hp 培养滤液继续培养 24 h 后, 其改变得以逆转, 提示 Hp 的毒性产物显著地诱导了胃上皮细胞端粒酶表达上调。Lan 等[8] 研究发现 hTERT mRNA 在胃癌中的表达高于异型增生、肠化生和萎缩性胃炎, Hp 感染与 hTERT 表达相关。本研究显示 Hp 阳性患者 hTERT 表达率显著高于 Hp 阴性患者 hTERT 表达率, 提示 Hp 可能是胃粘膜上皮细胞端粒酶激活的主要机制之一。Hp 感染可能通过激活端粒酶而诱发胃癌。支持 Hp 与端粒酶有相关性。

但是, Hp 激活端粒酶的具体机制尚不清楚。Tahara[9] 研究认为 Hp 感染引起慢性胃炎, 持续炎症引起上皮细胞增生, 有丝分裂及突变增加, 进而引起干细胞增生, 染色体复制及修复增加, 宿主细胞稳定性破坏, 从而导致胃癌的发生。何兴祥等[7] 发现 $cagA^+$-Hp 的毒性产物显著地诱导了胃上皮细胞端粒酶活性表达上调。刘海峰等[10] 研究发现, 从正常胃粘膜→萎缩性胃炎→肠上皮化生, 细胞凋亡指数及细胞增殖指数均呈递增趋势, 二者呈正相关。从肠上皮化生→异型增生→胃癌, 细胞增殖指数仍呈递增趋势, 而细胞凋亡指数递减, 二者呈负相关, 提示细胞凋亡与细胞增殖平衡失调是胃癌发生的生物学基础。因而, 在胃癌前病变阶段, 可能是 Hp 感染引起慢性胃炎和/或 Hp 产生的毒素激活端粒酶, 致胃粘膜细胞凋亡减少, 增殖增加, DNA 合成旺盛, 易受到体内外致癌因子的攻击而发生基因突变、缺失, 进而发生癌变。而一旦形成胃癌, Hp 产生的毒素仍可通过上调端粒酶活性维持染色体稳定, 而使胃癌细胞永生化。因此, 深入探讨 Hp 与端粒酶的关系及二者间的调控机制, 以进一步阐明 Hp 的致癌机制和端粒酶的激活机制, 对胃癌的防治具有重要意义。

参考文献:

[1] Meyerson M, Counter C M, Eaton E N, *et al*. HEst2, the putative human telomerase catalytic subunit gene, is upregulated in tumor cells and during immortalization[J]. Cell, 1997, 90(4): 785—795.

[2] Yamada K, Yajima T, Yagihashi A, *et al*. Role of human telomerase reverse transcriptase and telomeric-repeat binding factor proteins 1 and 2 in human hematopoietic cells[J]. Jpn J Cancer Res, 2000, 91(12): 1278—1284.

[3] Suzuki K, Kashimura H, Ohkawa J, *et al*. Expression of human telomerase catalytic subunit gene in cancerous and precancerous gastric conditions[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2000, 15(7): 744—751.

[4] 陈惠新, 凌　红, 李韶光, 等. 端粒酶在胃癌及癌前病变组织中的表达及其意义[J]. 临床消化病杂志, 2001, 13(1): 21—22.

[5] 吴尚农, 崔建和, 赵志泉. 幽门螺杆菌和端粒酶在胃癌发生中的相关性研究[J]. 江苏临床医学杂志, 2001, 5(6): 491—493.

[6] Kameshima H, Yagihashi A, Yajima T, *et al*. *Helicobacter pylori* infection: augmentation of telomerase activity in cancer and noncancerous tissues [J]. World J Surg, 2000, 24(10): 1243—1249.

[7] 何兴祥, 胡品津, YangJun, 等. 不同幽门螺杆菌培养滤液对胃上皮细胞端粒酶活性的影响[J]. 中国人兽共患病杂志, 2002, 18(1): 22—25.

[8] Lan J, Xiong Y Y, Lin Y X, *et al*. *Helicobacter pylori* infection generated gastric cancer through p53-Rb tumor-suppressor system mutation and telomerase reactivation[J]. World J Gastroenterol, 2003, 9(1): 54—58.

[9] Tahara E. Molecular mechanism of human stomach carcinogenesis implicated in *Heliobacter pylori* infection[J]. Exp Toxicaol Pathol, 1998, 50(4—6): 375—378.

[10] 刘海峰, 刘为纹, 房殿春. 胃癌及其癌前病变中细胞凋亡与细胞增殖间关系的研究[J]. 世界华人消化杂志, 1999, 7(8): 649—651.

(编辑　薛国文)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net