18—20.
[3] Hu C C, Zhang C, Qian Q, *et al*. Reparative dentin formation in rat moles after direct pulp capping with growth factors[J]. J Endod, 1998, 24(11): 744—751.
[4] Rickard D J, Sullivan T A, Shenker B J, *et al*. Induction of rapid osteoblast differentiation in rat bone marrow stromal cell cultured by dexamethasone and BMP-2[J]. Dev Biol, 1994, 161(1): 218—228.
[5] Tucker A S, Matthews K L, Sharpe P T. Transformation of tooth type induced by inhibition of BMP signaling[J]. Science, 1998, 282(5 391): 1 136—1 138.
[6] Takeda K, Oida S, Goseki M, *et al*. Expression of bone morphogenetic protein genes in the human dental pulp cells[J]. Bone, 1994, 15(5): 467—470.
[7] Toyono T, Nakashima M, Kuhara S, *et al*. Temporal changes in expression of transforming growth factor-beta superfamily members and their receptors during bovine preodontoblast differentiation *in vitro*[J]. Arch Oral Biol, 1997, 42(7): 481—488.
[8] Ruch J V, Lesot H, Bege-Kin C. Odontoblast differentiation[J]. Int J Dev Biol, 1995, 39(1): 51—68.

(编辑 陈聪连)

文章编号:1000-5404(2002)10-1225-02

个案与短篇

胆管癌组织中 Gastrin/CCK 受体表达的研究

Studies on the expression of gastrin/CCK receptors in cholangiocarcinoma tissues

张丰深,马宽生,何振平,董家鸿 (第三军医大学附属西南医院全军肝胆外科研究所、西南肝胆外科医院,重庆 400038)

胃泌素(Gastrin)和胆囊收缩素(Cholecystokinin, CCK)在进化上来源于单一祖先肽,在结构上具有等同的C端5肽酰胺活性片段,共同组成一激素家族(Gastrin/CCK族);而且两者的受体序列也具有同源性,其中胃泌素受体与CCK-B受体高度同源而统称为Gastrin/CCK-B受体。近20余年来,胃泌素和CCK作为单纯消化激素的概念发生了巨大变化。研究表明,通过Gastrin/CCK-B和(或)CCK-A受体,Gastrin/CCK对某些消化道肿瘤(包括胆管癌)的发生发展过程有确切的促进作用,已成为一类重要的肿瘤生长因子[1,2]。Gastrin/CCK成为消化道肿瘤生长因子的细胞学机制除刺激细胞增殖外,其对细胞凋亡的影响正开始受到关注[3,4]。本研究对40例胆管癌组织标本中Gastrin/CCK受体的表达进行原位杂交检测,分析Gastrin/CCK受体表达的临床病理学意义及其与细胞凋亡的关系。

1 材料与方法

1.1 研究对象

收集我院1995—1998年肝外胆管癌手术切除标本40例,其中高分化癌18例(45.0%)、中分化癌11例(27.5%)、低分化癌11例(27.5%)。制备冰冻切片用于原位杂交,制备石蜡切片用于TUNEL染色和免疫组化。

1.2 原位杂交检测Gastrin/CCK受体表达

含有Gastrin/CCK-B受体cDNA(2.0 kb)的质粒FBRH和含有CCK-A受体cDNA(1.1 kb)的质粒TA分别由Mitsuhiro Ito(Kobe University School of Medicine, JAPAN)和Alan S. Kopin(New England Medical Center, The principal teaching hospital for Tufts University School of Medicine, AMERICAN)教授惠赠。探针制备与原位杂交按文献[5]的方法进行,设立RNase消化的空白对照、杂交液空白对照及先加未标记探针后加标记探针的封闭对照。

1.3 TUNEL染色和免疫组化分别检测凋亡细胞及bcl-2/bax表达[4]

原位细胞凋亡检测试剂盒(*In situ* cell death detection kit, POD)购自Boehringer Mannhiem,按试剂盒说明书进行TUNEL染色。光镜下观察切片显色反应、结合形态学变化确定凋亡细胞,随机选择5个以上癌区高倍视野,计数500个癌细胞中的凋亡细胞数,以百分数表示,即凋亡指数(Apoptotic index, AI)。bcl-2、bax多抗及免疫组化试剂盒为Santa Cruz产品,抗原微波修复,抗体稀释度1∶100,S-P染色。光镜下观察切片显色反应,随机选择5个以上癌区高倍视野,计数500个癌细胞中的阳性细胞数,用百分率表示,阳性细胞数<10%为阴性,≥10%为阳性。

1.4 统计学方法

组间Gastrin/CCK受体mRNA率和bcl-2/bax表达率的比较采用χ^2检验,组间AI比较采用t检验。

2 结果

2.1 Gastrin/CCK受体表达

胆管癌组织标本中,Gastrin/CCK-B、CCK-A受体的阳性表达率分别为82.5%(33/40)、45.0%(18/40),32.5%(13/40)的病例同时表达两种受体,Gastrin/CCK-B受体表达率显著高于CCK-A受体表达率($P<0.01$)。33例Gastrin/CCK-B受体阳性的病例中,高/中分化腺癌占78.8%(26/33),低分化癌占21.2%(7/33),前者显著高于后者($P<0.01$);18例CCK-A受体阳性病例中,高/中分化腺癌为17例(94.4%),低分化癌仅1例(5.6%),两者比较有显著差异($P<0.01$)。

2.3 Gastrin/CCK受体表达与bcl-2凋亡途径的关系

Gastrin/CCK-B和CCK-A受体阳性标本的AI分别显著低于其阴性者($P<0.01$),见表1。Gastrin/CCK-B受体阳性标本的bcl-2表达率显著高于其阴性者($P<0.01$),CCK-A受体阳性标本的bcl-2表达率高于其阴性者($P>0.05$),Gastrin/CCK受体表达与bax表达无明显关系,见表2。

(下转1228页)

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39670711)
作者简介:张丰深(1968—),男,贵州省遵义市人,博士,主治医师,主要从事胆胰外科基础及肿瘤的研究,发表论文10篇,现在解放军第324医院普通外科工作,重庆 400020。电话:(023)68762059
收稿日期:2001-12-01;修回日期:2002-07-10

(C)1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

致伤瞬间发生剧烈的动力学变化而造成的物理性损伤[5,6]。而伤后 3～24 h 脑组织病理的进行性改变则可能是在前述物理性损伤的基础上，由于脑缺血缺氧、水肿的发生激发了氧自由基、兴奋性氨基酸(EAA)以及一氧化氮(NO)等一系列生化因子的产生，最终导致继发性脑损伤的结果。

脑作为生命活动的中枢，损伤后不仅严重影响脑功能，而且还可导致各种并发症的发生。有学者证明间接性神经创伤可加重肺水肿[7]。本实验结果显示，腹部爆炸伤所致的间接性脑损伤尽管较单纯枪弹伤所致的重，病理改变也进展迅速，但与伤后 24 h 比较而言，伤后即刻的病理学改变仍属较轻，若能及早明确诊断并采取恰当的措施，将有助于防止继发性脑损伤的发生，从而遏止其病理改变的迅速发展。因此，只有充分认识爆炸伤损伤的广泛性，才能正确及时地判断伤情，避免漏诊误治，从而使伤员能够尽快地全面康复。

参考文献：

[1] 李兵仓，杨志焕，王正国. 爆炸性武器在现代战争中的应用及其致伤机制[J]. 解放军医学情报，1996，10(5)：251－253.

[2] Berlin R. Energy transfer and regional blood flow changes following missile trauma[J]. J Trauma，1979，19(3)：170－176.

[3] Cernak I，Savic J，Malicevic Z，*et al*. Involvement of the central nervous system in the general response to pulmonary blast injury[J]. J Trauma，1996，40(3)：S100－S104.

[4] 周华东，陈尔瑜，刘荫秋，等. 腹部枪伤后脑部动脉的远达效应及其临床意义[J]. 中华创伤杂志，1995，6(11)：366－368.

[5] Suneson A，Hansson H A，Seeman T. Pressure wave injuries to the nervous system caused by high-energy missile extremity impact：Part Ⅱ. Distant effects on the central nervous system-a light and electron microscopic study on pigs[J]. J Trauma，1990，30(3)：295－306.

[6] 周华东，陈尔瑜，刘荫秋. 腹部枪伤时脑部动脉的形态学变化及其压力传递[J]. 第三军医大学学报，1994，4(16)：309.

[7] Cernak I，Savic J，Mrsulja B，Djuricic B. Pathogenesis of pulmonary edema to blast wave[J]. Vojnosanit Pregl，1991，48(6)：507－514.

(编辑 薛国文)

(上接 1225 页)

表 1 **Gastrin/CCK** 受体表达与自发性细胞凋亡指数的关系($\bar{x}\pm s$)

Group	n	AI(%，$\bar{x}\pm s$)
CCK-A(＋)	18	5.98±1.46**
CCK-A(－)	22	9.75±2.56
Gastrin/CCK-B(＋)	33	6.91±2.42△△
Gastrin/CCK-B(－)	7	12.53±3.17

**：$P<0.01$ *vs* CCK-A(－)；△△：$P<0.01$ *vs* Gastrin/CCK-B(－)

表 2 **Gastrin/CCK** 受体表达与 **bcl-2/bax** 表达的关系

Group	n	bcl-2		Ratio(%)	bax		Ratio(%)
		＋	－		＋	－	
CCK-A(＋)	18	16	2	88.89	8	10	44.44
CCK-A(－)	22	13	9	59.09	11	11	50.00
Gastrin/CCK-B(＋)	33	29	4	87.87**	16	17	48.48
Gastrin/CCK-B(－)	7	1	6	14.29	3	4	42.86

**：$P<0.01$ *vs* Gastrin/CCK-B(－)

2 讨论

大量对胃癌、大肠癌、胰腺癌及胆管癌组织标本和细胞系的检测显示，Gastrin/CCK 受体在消化道肿瘤中普遍表达，为 Gastrin/CCK 成为消化道肿瘤生长因子奠定了物质基础，但发挥作用的受体类别因肿瘤类型而异，而且尚可能存在经典 Gastrin/CCK-B 和 CCK-A 以外的受体种类(如 Gastrin/CCK-C 受体、ProG/CCK 受体、G/CCK-gly 受体)[2]。本研究结果显示，Gastrin/CCK-B 和 CCK-A 受体 mRNA 在胆管癌组织标本中均有表达(前者表达率显著高于后者)，并与胆管癌分化呈正相关，提示 Gastrin/CCK(尤其是 Gastrin/CCK-B)受体后信号对胆管癌可能有重要的调节作用，Gastrin/CCK 受体高表达可作为胆管癌分化良好、恶性程度低的标志。

胆管癌已成为一种常见的消化道肿瘤，但其研究进展缓慢，发病机理远未明了，手术切除难以根治，放化疗不敏感，预后差[7]。研究表明，凋亡机制不仅在胆管缺乏、复旧等良性过程中有重要作用，而且细胞凋亡(特别是 bcl-2 细胞凋亡途径)异常与胆管癌的发生和发展也密切相关[5]。然而，胆管癌细胞凋亡障碍的原因仍不得而知。本研究结果显示，Gastrin/CCK-B 和 CCK-A 受体阳性胆管癌标本的 AI 分别低于其阴性者、而 bcl-2 表达率则分别高于其阴性者，提示内源性 Gastrin 和 CCK 可能参与了胆管癌细胞凋亡的调控、抑制胆管癌细胞凋亡，其机制可能与上调 bcl-2 基因表达有关。

关键词：胆管癌；胃泌素/肿囊收缩素受体；细胞凋亡
中图法分类号：R735.802　　文献标识码：B

参考文献：

[1] Rozengurt E，Walsh J H. Gastrin，CCK，signaling，and cancer[J]. Annu Rev Physiol，2001，63(1)：49－76.

[2] 张丰深，何振平，马宽生. 消化道肿瘤细胞 Gastrin/CCK 自分泌调节环路的研究进展[J]. 胃肠病学和肝病学杂志，2002，11(1)：92－94.

[3] Kidd M，Tang L H，Modlin I M，*et al*. Gastrin-mediated alterations in gastric epithelial apoptosis and proliferation in a mastomys rodent model of gastric neoplasia[J]. Digestion，2000，62(2－3)：143－151.

[4] Wu H，Rao G N，Dai B，*et al*. Autocrine gastrins in colon cancer cells up-regulate cytochrome c oxidase Vb and down-regulate efflux of cytochrome c and activiaon of caspase-3[J]. J Biol Chem，2000，275(42)：32 491－32 498.

[5] 何振平，马宽生，王曙光，等. 胆管癌细胞胆囊收缩素受体 mRNA 的表达及意义[J]. 肝胆胰外科杂志，1999，11(3)：134－136.

[6] 张丰深，马宽生，何振平，等. 胆管癌组织中自发性细胞凋亡和 bcl-2/bax 表达的状况及意义[J]. 第三军医大学学报，2002，24(1)：96－99.

[7] 黄志强. 肝门部胆管癌外科治疗观念的转变[J]. 消化外科，1999，1(1)：5－9.

(编辑 张大春)

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