DOI:10.16016/j.1000-5404.2000.11.008
第22卷第11期 第三军医大学学报 Vol. 22, No. 11
1036 2000年11月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Nov. 2000

论著

文章编号:1000-5404(2000)11-1036-03

胃癌细胞凋亡与胃癌患者临床预后的关系

刘海峰,刘为纹,房殿春,杨仕明,赵晶京,赵 丽 (第三军医大学附属西南医院消化内科,重庆 400038)

提 要:目的 研究胃癌组织中自发性细胞凋亡的发生情况及其与胃癌临床病理参数和胃癌患者预后的关系。方法 采用脱氧核糖核酸末端转移酶介导的dUTP缺口末端标记(TUNEL)技术对53例有随访结果的胃癌组织中的凋亡细胞进行原位观察和比较。结果 胃癌组织自发性细胞凋亡指数平均为5.76%。细胞凋亡指数与胃癌患者年龄、性别、肿瘤大小、浸润深度无明显关系,与胃癌细胞分化程度、淋巴结转移及临床分期有关,高、中分化腺癌凋亡指数显著高于低分化腺癌($t=3.054$, $P<0.01$),无淋巴结转移和临床Ⅰ、Ⅱ期胃癌凋亡指数显著高于有淋巴结转移和临床Ⅲ、Ⅳ期胃癌($t=2.160$, $t=2.322$, $P<0.05$)。高凋亡指数组的胃癌患者生存率优于低凋亡指数组(Logrank时序检验 $\chi^2=4.570$, $P<0.05$)。结论 胃癌组织自发性细胞凋亡与胃癌的某些生物学特性有密切的关系,细胞凋亡异常在胃癌发生发展过程中可能起重要作用。细胞凋亡指数可作为一种预测指标用于胃癌的动态观察及预后判断。

关键词:胃肿瘤;细胞凋亡;临床;预后
中图法分类号:R329.25;R735.207 文献标识码:A

Relationship between cancerous cell apoptosis and clinical prognosis in patients with gastric carcinoma

LIU Hai-feng, LIU Wei-wen, FANG Dian-chun, YANG Shi-ming, ZHAO Jing-jing, ZHAO Li (Department of Gastroenterology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To study the index of spontaneous apoptosis of cancerous cells and the relationship between the clinicopathological parameters and the prognosis of gastric carcinoma. Methods The apoptotic cells of gastric carcinoma tissues from 53 patients with gastric carcinoma were observed by using terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated nick and labeling (TUNEL) technique and the results were compared with the patient's condition obtained from follow up data. Results The average spontaneous apoptotic index of the cancerour tissues was 5.76%. The apoptotic indexes had no obvious correlation with patient's age, sex, size of tumor and depth of invasion but correlated to tumor cell differentiation, lymph node metastasis and clinical stages of tumor. The apoptotic indexes was higher in the cases of well/moderate- than poorly-differentiated adenocarcinoma ($t=3.054$, $P<0.01$), in those without lymph node metastasis than with metastasis, and in those in stage Ⅰ and Ⅱ than stage Ⅲ and Ⅳ ($t=2.160$, $t=2.322$, $P<0.05$). In patients with high apoptotic index, the prognosis was significantly better than those with a low index ($\chi^2=4.570$, $P<0.05$). Conclusion This study indicates that apoptotic index is correlated with tumor cell differentiation, lymph node metastasis and tumor stage. The abnormality of cell apoptosis plays an important role in the incidence and development of gastric carcinoma. Apoptotic index can be regarded as a predictive index in the dynamic observation and prognosis of gastric carcinoma.

Key words: gastric neoplasm; apoptosis; clinic; prognosis

基金项目:全军"九五"医药卫生重点课题资助项目(96Z047)及重庆市应用基础研究基金资助项目

作者简介:刘海峰(1965—),男,河北省景县人,博士,副主任医师,副教授,主要从事胃癌及胃癌前病变的基础与临床研究,发表论文41篇。电话:(023)65318301-73055

收稿日期:2000-03-30;修回日期:2000-07-18

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

已有研究表明, 肿瘤的发生发展不仅与肿瘤细胞的增殖而且与其凋亡有密切关系, 细胞凋亡是恶性肿瘤普遍的自发现象[1]。为了解临床胃癌标本中细胞凋亡的发生情况, 探讨胃癌细胞凋亡与胃癌生物学特性及预后之间的关系, 我们采用脱氧核糖核酸末端转移酶介导的缺口末端标记(TUNEL)技术对 53 例有随访结果的胃癌组织中的凋亡细胞进行原位观察和比较。

1　材料和方法

1.1　材料

53 例胃癌组织均为我院 1994～1996 年外科手术切除标本, 并经病理诊断证实。53 例胃癌均为胃远端癌, 所有病例在手术前均未接受化疗、放疗或免疫治疗。胃癌组织标本经 100 ml/L 福尔马林固定, 常规石蜡包埋, 4 μm 连续切片。

1.2　方法

1.2.1　TUNEL 染色　　细胞凋亡原位检测试剂盒(In situ cell death detection kit, POD)为德国 Boehringer Mannheim 公司产品, 染色步骤: ①切片经二甲苯脱蜡, 梯度乙醇水化; ②3 ml/L H_2O_2 封闭 30 min; ③20 mg/L 蛋白酶 K 消化液作用 20 min; ④TUNEL 反应液, 37 ℃孵育 60 min; ⑤过氧化物酶连接的抗荧光素抗体, 37 ℃孵育 30 min; ②～⑤步后均以 10 mmol/L PBS(pH 7.4)振洗 3 次, 每次 5 min; ⑥DAB 显色, 苏木素复染, 脱水透明, 封片。以 PBS 替代 TUNEL 反应液作阴性对照, 阳性对照切片经 DNase Ⅰ 预处理 10 min, 再接 TUNEL 染色步骤。

1.2.2　结果判定　　光镜下观察 TUNEL 染色切片的显色反应, 数 5 个以上高倍视野, 不少于 1 000 个细胞, 记数阳性细胞数并以百分数表示, 作为胃癌细胞凋亡指数, 所得数据资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示。

1.2.3　胃癌病人的随访　　对本组 53 例胃癌患者均进行随访, 随访时间为 18～59 月, 平均 39 月。随访次数最少 1 次, 最多 5 次。随访的主要目的是了解胃癌患者的生存期。

1.3　统计学处理

记数资料用 t 检验进行统计学分析, 随访资料采用 Kaplan-Meier 生存曲线法处理并进行 Logrank 检验。

2　结果

2.1　胃癌组织中自发性细胞凋亡与胃癌临床病理参数的关系

TUNEL 染色阳性物质呈棕黄色, 位于细胞核内, 浓缩的核质紧贴于核膜, 或核质呈现均匀的染色。TUNEL 染色阳性细胞在所有的胃癌组织中均可见到。53 例胃癌组织中的平均细胞凋亡指数为 5.76%。经统计学分析, 胃癌细胞凋亡指数与胃癌患者年龄、性别、肿瘤大小、浸润深度无明显关系; 与胃癌细胞分化程度、淋巴结转移及临床病例分期有关。高、中分化腺癌细胞凋亡指数为 8.33%, 显著高于低分化腺癌(4.08%, $P<0.01$); 无淋巴结转移胃癌细胞凋亡指数为 6.66%, 显著高于有淋巴结转移者(4.03%, $P<0.05$); 临床Ⅰ、Ⅱ期胃癌细胞凋亡指数为 6.73%, 显著高于临床 Ⅲ、Ⅳ胃癌(4.20%, $P<0.05$), 见表 1。

表 1　细胞凋亡与胃癌临床病理参数的关系

Tab 1　Correlation between apoptosis and clinico-pathological parameters of gastric carcinomas

Parameters	n	Apoptotic index(%)
Age(years)		
≤59	36	5.15±4.83
≥60	17	7.09±5.11
Sex		
Male	37	5.97±4.95
Female	16	5.33±5.10
Grade of differentiation		
Well/moderate	18	8.33±5.74 *
Poor	26	4.08±2.67
Mucoid	9	5.56±4.58
Tumor size		
< 5 cm	33	5.93±4.05
≥5 cm	20	6.39±5.48
Lymph-node metastasis		
Negative	23	6.66±5.07 **
Positive	30	4.03±3.31
Serosal invasion		
Absent	25	5.96±4.31
Present	28	5.92±5.77
Clinical stages		
Ⅰ and Ⅱ	32	6.73±4.90 #
Ⅲ and Ⅳ	21	4.20±3.03

*: $P<0.01$ *vs* poorly differentiated gastric carcinoma;
**: $P<0.05$ *vs* positive Lymph-node metastasis group;
#: $P<0.05$ *vs* stage Ⅲ and Ⅳ gastric carcinoma

2.2　胃癌细胞凋亡与胃癌患者生存率的关系

以胃癌组织平均细胞凋亡指数 5.76% 为界, 将 53 例胃癌患者分为两组, 即高凋亡指数组(> 5.76%, 25 例)及低凋亡指数组(< 5.76%, 28 例)。Kaplan-Meier 生存曲线显示, 高凋亡指数组的病例生存率优于低凋亡指数组, Logrank 时序检验 $\chi^2=4.570$, $P<0.05$。

3　讨论

肿瘤组织中自发性细胞凋亡的临床意义目前尚不清楚。Staunton 等[2] 应用形态学标准, 检测了 209 例不

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

同肿瘤中的细胞凋亡指数，发现不同类型的肿瘤有不同的凋亡指数，而且与肿瘤的分化、分级、发展和肿瘤的生物学行为有关，虽然未作精确的定量研究，但组织学的研究显示，分化良好、生长缓慢、预后较好的肿瘤组织中的凋亡细胞较多。但也有相反的研究结果，Hino等[3]及Saegusa等[4]应用TUNEL技术分别检测了肝癌、胃癌中的细胞凋亡指数，发现低分化癌及进展期癌细胞凋亡指数显著高于高分化癌和早期癌。在解释这一现象时，Hino认为，低分化肝癌及进展期肝癌增殖快、恶性程度高，为维持肿瘤细胞增殖和死亡的相对平衡，细胞凋亡势必会增加。出现这种相互矛盾的研究结果的原因，可能与研究者选择病例数的多少及判断标准的差异有关，有关这方面的问题还有待进一步研究证实。本研究发现，胃癌细胞凋亡指数与胃癌细胞分化程度、淋巴结转移及临床分期有关。高、中分化腺癌细胞凋亡指数显著高于低分化腺癌，可能是高、中分化腺癌生长较低分化腺癌缓慢的原因之一；无淋巴结转移和临床Ⅰ、Ⅱ期胃癌细胞凋亡指数显著高于有淋巴结转移和临床Ⅲ、Ⅳ期胃癌，提示低分化腺癌及进展期胃癌可能具有逃避细胞凋亡的机制，细胞凋亡受抑制可能在胃癌淋巴结转移过程中发挥重要作用。

已有研究报道，胃癌的预后与肿瘤自身的增殖活性密切相关[5,6]。本研究发现，胃癌的预后不仅与肿瘤自身的增殖活性有关，还与肿瘤自身的凋亡活性有关，具有较高细胞凋亡指数的胃癌患者预后较好。胃癌组织自发性细胞凋亡与胃癌细胞增殖、胃癌细胞转移及胃癌预后关系密切，检测胃癌组织中的细胞凋亡指数可作为一种预测指标用于胃癌的动态观察及预后判断。因此，今后临床评估胃癌的预后应全面考察肿瘤细胞增殖和细胞凋亡两个方面，这对提高对胃癌患者预后的判断水平及更好的指导胃癌患者的术后治疗具有重要意义。

胃癌组织中自发性细胞凋亡与胃癌的某些生物学特性及预后有密切的关系，提示细胞凋亡异常在胃癌发生发展中可能起重要作用。因此，深入研究细胞凋亡在胃癌发生发展过程中的作用及其调控机制将有助于揭示胃癌的发生机制，并将为胃癌的防治研究提供新的思路。

参考文献：

[1] kerr J F R, Winterford C M, Harmon B N. Apoptosis: Its significance in cancer and cancer therapy[J]. Cancer, 1994, 73(8): 2 013—2 026.

[2] Staunton M J, Gaffney E F. Tumor type is a determinant of susceptibility to apoptosis[J]. Am J Clin Pathol, 1995, 103(3): 300—307.

[3] Hino N, Higashi T, Nouso K, *et al*. Apoptosis and proliferation of human hepatocellular carcinoma[J]. Liver, 1996, 16(2): 123—129.

[4] Saegusa M, Takano Y, Wakabayashi T, *et al*. Apoptosis in gastric carcinoma and its association with cell proliferation and differentiation[J]. Jpn J Cancer Res, 1995, 86(8): 743—748.

[5] Mori M, Kakeji Y, Adachi Y, *et al*. The prognostic significance of proliferating cell nuclear antigen in clinical gastric cancer[J]. Surgery, 1993, 113(6): 683—690.

[6] Maeda K, Chung Y S, Onoda N, *et al*. Proliferating cell nuclear antigen labeling index of preoerative biopsy specimens in gastric carcinoma with special reference to prognosis[J]. Cancer, 1994, 73(3): 528—533.

（编辑 王 红）

书讯

《医学实验动物学》——教育部推荐的研究生教学用书

由第三军医大学魏泓教授主编、四川科技出版社出版的《医学实验动物学》一书，由教育部组织专家评审，审定为全国生物医学研究生教学用书。凡需要此书作为研究生、本科生教材者，请与第三军医大学学报编辑部联系。

联系电话：(023)68752187　　E-mail: Leng@mail.tmmu.com.cn

联 系 人：冷怀明　　邮政编码：400038

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