DOI:10.16016/j.1000-5404.1996.03.006

乳腺不典型增生组织中ras基因产物表达的意义

姜 军 陈意生* 柳凤轩** 詹新恩 马宏敏 (第三军医大学附属西南医院普通外科)重庆,630038

提 要 用免疫组化法检测正常乳腺组织、乳腺囊性增生病和乳腺癌中ras癌基因产物p21蛋白表达。结果显示正常乳腺组织无p21蛋白表达,乳腺囊性增生病不典型增生Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ级,乳腺癌组织分化Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ级p21蛋白表达阳性率分别为10%、30%、40%、46%、64%和84%。乳腺癌不同组织学类型中p21蛋白表达阳性率差别无显著性。在乳腺癌前的不典型增生阶段已有ras癌基因产物的过度表达,随着不典型增生程度加重其表达阳性率增加,提示ras癌基因改变及其产物表达增多可发生在乳腺上皮细胞癌变之前和其进展期,与乳腺癌发生及其生物学行为密切相关。可能成为临床监测乳腺癌前病变的一种有重要价值的参考指标。

关键词 乳腺;癌发生;ras癌基因产物;免疫组织化学

中图法分类号 R655.802

已有临床、病理及流行病学研究表明,乳腺良性疾病癌变是乳腺癌发生的重要原因之一[1]。乳腺上皮细胞不典型增生是重要的癌前病变,与乳腺良性疾病癌变密切相关[2]。在乳腺癌发生中癌基因突变及其产物表达增多具有重要作用。检测ras癌基因产物p21蛋白在乳腺囊性增生病不典型增生及乳腺癌中的表达,旨在探讨p21蛋白在乳腺不典型增生癌变过程中的意义。

1 材料与方法

1.1 材料来源

所有标本均系我校附属西南医院手术切除的女性乳腺标本。其中正常乳腺组织5例,取自乳腺纤维腺瘤旁,经病理检查证实为正常乳腺组织,病人年龄19~35岁,平均24.2岁;乳腺囊性增生病30例,病人年龄20~52岁,平均35.8岁;乳腺癌40例,病人年龄35~64岁,平均46.8岁。

1.2 组织学观察方法

手术切除标本经10%福尔马林固定,常规石蜡包埋切片、HE染色、光镜观察,按统一标准进行病理组织学诊断、分级、分类。

1.3 乳腺囊性增生病上皮细胞不典型增生程度分级与乳腺癌的组织学类型和分化程度评定标准

根据Page[3]的分级标准略加修改,将乳腺导管或腺泡上皮细胞增生程度分为3级:Ⅰ级,导管或腺泡上皮细胞增生多于2层而少于4层,分化良好;Ⅱ级,上皮细胞增生超过4层,突向管腔内相互桥接或充满管腔,但极性存在,伴有轻度异型性的不典型增生;Ⅲ级,导管扩张,细胞簇集成乳头状或完全充满管腔,排列紧密,有明显异型性的不典型增生。其中Ⅰ级为一般性增生,Ⅱ、Ⅲ级为不典型增生。乳腺癌的组织学类型和分化程度评定标准:根据文献[4]中规定的标准评定。

1.4 单克隆抗体ABC免疫组化染色方法及阳性评定标准

标本经10%福尔马林固定,石蜡包埋,切片厚5 μm。脱蜡后浸入0.3%双氧水/甲醇液置室温下30 min以去除内源性过氧化物酶,3%小牛血清液作用30 min以封闭非特异性抗体。滴加第一抗体(抗p21单克隆抗体为Oncogene Science Inc.产品,购自北京中山生物技术有限公司,1∶50稀释)湿盒内37 ℃孵育3 h;加生物素标记的马抗鼠抗体,室温孵育30 min,加ABC液(Vector Laboratory产品)室温孵育30 min。以上各步骤间均用PBS液洗3次,每次5 min。重蒸馏水洗5 min。DAB过氧化氢显色液反应10~20 min后PBS液终止反应。重蒸馏水冲洗,苏木精衬染。经脱水、透明、封片后光镜观察。用PBS代替第一抗体作为阴性对照,已知p21阳性肿瘤标本作为阳性对照。阳性评定标准:光镜观察,细胞膜、细胞浆或细胞核呈黄色至棕色染色为阳性;细胞膜、细胞浆无色仅细胞核蓝染为阴性。

1.5 统计方法

各组间差异用χ^2检验,$P<0.05$为相差显著。

2 结果

2.1 组织学观察结果

正常乳腺组织5例,乳腺囊性增生病不典型增生Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ级各10例,乳腺癌组织分化程度分级Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ级分别为13、14、13例。乳腺癌组织学分类:浸润性导管癌12例、髓样癌10例、单纯癌10例、硬癌8例。

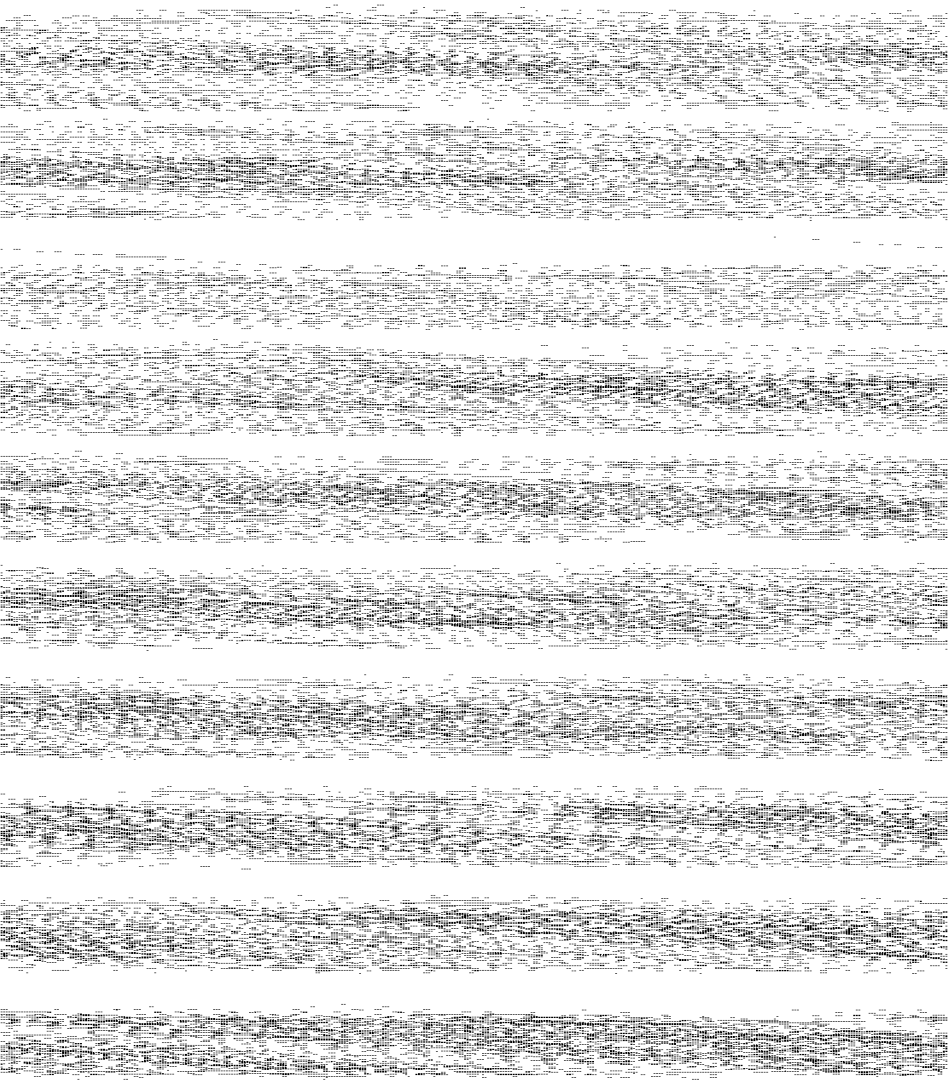
2.2 免疫组化检测结果

正常乳腺组织为阴性。乳腺囊性增生病不典型增生Ⅰ、Ⅱ、

* 基础部病理学教研室 重庆,630038

** 病理科 重庆,630038

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



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

达，提示可能有相应的癌基因改变。且随着不典型增生程度加重阳性率逐渐增高，在不典型增生Ⅱ级标本中p21蛋白表达阳性率接近乳腺癌Ⅰ级，提示ras癌基因突变和p21蛋白高表达可发生在乳腺癌癌变的早期和进展阶段[8]。ras癌基因的改变及其表达产物的增加可能在乳腺良性疾病癌变中具有重要意义。本组检测发现在乳腺囊性增生病部分不典型增生中有p21蛋白的过度表达，提示这部分病例的癌变危险性增加，可能成为临床监测乳腺癌前病变的一种有重要价值参考指标。

在乳腺癌中不同组织学类型间p21蛋白表达阳性率无明显差别。但随组织分化程度分级增高，p21蛋白表达阳性率有逐渐增高趋势，说明在乳腺癌恶性程度较高者多有ras癌基因的突变，提示ras癌基因突变与乳腺癌发生及其生物学行为密切相关。

本组检测65%乳腺癌标本有ras癌基因产物p21蛋白表达，在乳腺癌组织学分级Ⅰ级病例中仅46.2%有p21蛋白表达，提示在乳腺癌的发生和发展中有其他癌基因突变的参与。有实验研究表明[9]，ras癌基因和c-myc癌基因突变单独作用只能诱发细胞的癌前损伤，只有在ras癌基因和c-myc癌基因共转染时才表现为明显的癌生长。在乳腺肿瘤的发生中还有其它基因扩增，并且多基因的活化可使致癌过程出现阶段性进展[10]。因此在乳腺不典型增生癌变过程中的多基因变化及其规律值得进一步深入研究。

参考文献

1 Mrrow M. Identification and management of the women at increased risk for breast cancer development. Breast Cancer Res Treat,1994;31(1):53

2 Jiang J, Zhan XN, Gu CM *et al*. The significance of certain factors in the malignant degeneration of fibrocystic disease of breast. J Med Coll PLA,1994;9(2):149

3 Page DL. Cancer risk assessment in benign breast biopsies. Human Pathol,1986;17:871

4 李树玲，乳腺癌.见中华人民共和国卫生部医政司编.中国常见恶性肿瘤诊治规范(第八分册).北京医科大学中国协和医科大学出版社,1991:25～58

5 Krontiris TG, Devlin B, Karp DD *et al*. An association between the risk of cancer and mutations in the HRASI minisatellite locus. N Engl J Med,1993;329:517

6 桂开林，丛培渊，李含泗等.甲状腺肿瘤ras癌基因产物p21的免疫组织化学观察.中华医学杂志,1990;70(3):140

7 Cho KR, Vogelstein B. Genetic alterations in the adenoma carcinoma sequence. Cancer,1992;70(6 suppl):1727

8 Conway K, Edmidton S, Fried DB *et al*. Ha-ras rare alleles in breast cancer susceptibility. Breast Cancer Res Treat, 1995;35(1):97

9 Land H, Parada L, Weinberg R. Tumorigenic conversion of primary embryo fibroblasts requires at least two cooperating oncogenes. Nature,1983;304:596

10 Spaventi R. Immunohistochemical detection of TGF-alpha, EGFR, c-erbB-2, c-H-ras, c-myc, estrogen and progesterone in benign and malignant human breast lesions: a concomitant expression. In Vivo,1994;8(2):183

(收稿:1995-11-13;修回:1996-05-21)

(编辑 沈锡庚、王 红)

The significance of expression of ras oncogene product in tissue of atypical hyperplasia of mammary glands

Jiang Jun, Chen Yisheng, Liu Fengxuan, Zhan Xinen, Ma Hongmin (Department of General Surgery, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 630038)

Abstract The expression of p21 protein, a ras oncogene product, in the tissues of normal mammary glands, cystic hyperplasia of mammary glands and mammary cancer was determined with ABC immunohistochemistry. It was found that: ① There was no expression of p21 protein in the tissue of normal mammary glands; ② The positive rates of the expression of p21 protein in the tissues of cystic hyperplasia of mammary glands with atypical hyperplasia grades Ⅰ, Ⅱ and Ⅲ and mammary cancer with histological differentiation grades Ⅰ, Ⅱ and Ⅲ were 10%, 30%, 40%, 46%, 64% and 84% respectively; ③ There were no significant differences among the positive rates of p21 protein in different tissues of mammary cancer with different histological classification; ④ The excessive expression of ras oncogene product was found in the stage of precanerous atypical hyperplasia and its positive rate gradually increased along with the progressive aggravation of atypical hyperplasia. These findings suggest that changes of the ras oncogene and the increment of the ex-

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

pression of its product may occur before the canceration of epithelial cells of mammary glands and in its advancing stage and they are closely related to the pathogenesis and biological behaviors of mammary cancer The expression of p21 protein can be used as an important index of reference for clinical surveillance of the precancerous lesions of mammary glands.

Key words mammary gland; carcinogenesis; ras oncogene product; immunohistochemistry

脚踩法与手法推拿治疗腰椎间盘突出症120例临床观察

Clinical observation on 120 cases of lumbar intervertebral disc prolapse treated with tramping and manual massage

陈道清 方顺生 谷 诚 (第三军医大学附属新桥医院针灸科) 重庆,630037

腰椎间盘突出症是临床常见病,手法推拿治疗该病是目前公认的有效方法。为探索治疗途径,我们运用脚踩法与手法推拿各治疗60例患者,均获得满意的效果,特报道如下。

1 临床资料

120例腰椎间盘突出症中,男性92例,女性28例。随机分为两组,每组各60例。两组的发病年龄、病程、根据CT扫描分型及突出部位见附表。

附表 两组病例的临床资料

分组	例数	发病年龄(岁)			病程			CT分型			突出部位		
		19~	31~	41以上	12~48周	1~2年	3年以上	单纯膨出	膨出伴黄韧带增厚	中央型	$L_{3\sim4}$	$L_{4\sim5}$	$L_5\sim S_1$
脚踩法	60	30	20	10	19	22	19	35	18	7	5	26	29
推拿法	60	29	21	10	19	21	20	36	18	6	4	27	29

2 治疗方法

2.1 脚踩法

2.1.1 颤压法 患者俯卧于踩床上,上肢屈肘抱于胸前,足背垫一枕头。医者两手握杠,以便控制体重和平衡。先一只脚横放于骶尾部,另一只脚横放于腰部,两脚颤压2 min;再将两脚改"一"字形,骶尾之脚仍置于原处,另一只脚沿背部移动颤压2 min,继之两脚同时在腰骶部正中线上,呈反方向用力牵拉颤压2 min。

2.1.2 揉搓法 一只脚横放于背部,由上向下揉搓至踝部,治疗3~5遍,再从背部滑推5~7遍。

2.1.3 颤抖法 一只脚横放于背部,由上向下至踝部进行有节奏快速移动颤抖7~10遍。

2.1.4 牵拉挤压法 两助手分别拉上、下肢。术者用一只脚横放于腰部,与助手协同用力,在牵引的同时进行推挤按压治疗,反复进行3次,每次持续2 min,治疗结束后,患者必须在床上休息15 min。

2.2 手法推拿

2.2.1 掌摩法 术者用掌根部在患者施术部位摩法治疗5 min。

2.2.2 揉捏法 术者在施术部位揉捏治疗5 min。

2.2.3 弹拨法 术者用拇指指腹,也可用肘尖在施术部位进行弹拨治疗2 min。

2.2.4 滚法 术者用手背在施术部位进行滚法治疗3 min。

2.2.5 旋腰搬抖法 对患者施旋搬及牵抖手法治疗后,令其卧床休息片刻,方可离去。

病人隔日治疗一次,10次为一疗程,间隔5 d,继续第2疗程,3个疗程后观察疗效。治疗期间4周内要求卧硬板床休息,并限制弯腰动作,12周内不作体力劳动。

3 疗效观察

3.1 疗效标准

优:临床症状体征消失,直腿抬高试验80°以上,能从事原工作;良:临床症状体征大部分消失,直腿抬高试验70°以上,恢复原工作;差:经治疗后症状有改善,可做轻工作。

3.2 治疗结果

脚踩组60例患者,其中疗效优者35例(58.3%)、良者20例(33.3%)、差者5例(8.4%);手法组60例患者,优、良、差分别为28例(46.6%)、16例(26.7%)、16例(26.7%)。

脚踩组与手法组比较,经统计学处理,$\chi^2 = 6.984$, $P<0.01$,二者差异非常显著,说明脚踩组治疗效果明显优于手法组。

(下转 222 页)

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