DOI: 10.16016/j.1000-5404.1997.03.030

经验交流

肝癌患者 HCV感染与癌基因 c-erbB-2表达的关系

The relationship between HCV infection and the expression of c-erbB-2 oncogene in patients with hepatocellular carcinoma

周子成* 汪荣泉 杨建民 房殿春 (第三军医大学附属西南医院消化内科) 重庆, 630038

提 要 目的: 探讨 HCV感染与肝癌组织中癌基因 c-erbB-2表达的关系。方法: 采用免疫组化 SP法。结果: 46例 HCC及其 38例癌旁组织中, HCV NS_3抗原的检出率分别为 21.7% 和 34.2%, 两者间差异不显著 ($P > 0.05$); 癌基因 c-erbB-2蛋白的检出率分别为 47.8% 和 44.7%, 两者间差异不显著 ($P > 0.05$); 肝癌组织中癌基因 c-erbB-2蛋白表达的阳性率与该患者的 HCV感染无关 ($P > 0.05$)。结论: HCV感染与 c-erbB-2蛋白表达无关, 提示 HCV的致癌可能与 c-erbB-2癌基因的激活无关。

原发性肝细胞癌 (HCC)是我国目前最常见的恶性肿瘤之一, 它的病因及发生机理迄今并不完全清楚。近年丙型肝炎病毒 (HCV)已成为 HCC病因学研究的一个热点, 大量的血清学和分子流行病学研究表明 HCV与 HCC发生密切相关[1], HCV可能是我国继 HBV之后的另一重要的肝癌相关因素。为进一步探讨 HCV与 HCC的关系, 揭示其可能存在的致癌机理具有重要的意义。本研究利用免疫组化 SP法和抗 HCV NS_3抗原的单克隆抗体, 抗 c-erbB-2蛋白的多克隆抗体, 对 46例 HCC患者的 HCV感染情况作了研究, 进而探讨 HCV感染与肝癌组织中癌基因 c-erbB-2表达的关系。

1 材料与方法

1.1 标本来源

46例 HCC患者均为我院 1994年施行手术切除治疗并经病理诊断, 其中 38例切除标本含癌旁肝组织。1例大致正常肝组织为肝内胆管结石患者半肝切除标本。所有标本均经 10% 福尔马林固定, 石蜡包埋, 5 μm连续切片。46例中, 男 41例, 女 5例, 年龄 23~64岁, 平均 47.3岁。

1.2 实验试剂

抗 HCV NS_3抗原的单克隆抗体由北京医科大学肝病研究所陶其敏教授惠赠, 抗 c-erbB-2蛋白的多克隆抗体、SP试剂盒、DAB显色试剂盒购自福州迈新公司 (进口分装, 即用型)。

1.3 免疫组化染色方法

切片常规脱蜡、水化。内源性过氧化物酶阻断剂、正常羊血清室温各孵育 30 min, 加一抗, 4℃过夜; 生物素标记的二抗室温孵育 30 min; 链菌素亲生物蛋白—过氧化物酶室温孵育 30 min; 上述每一步均经 PBS液洗涤 3次, 每次 5 min (正常羊血清孵育除外)。DAB显色, 苏木素衬染, 脱水透明封片。

1.4 实验对照

用 PBS液代替一抗作空白对照, 用抗 p53、抗 c-myc的单抗和抗 P物质的多抗代替一抗作替代试验, 用大致正常肝组织染色作阴性对照, 以确保实验的可靠性和特异性。

2 结果

2.1 HCV NS_3抗原的检测

NS_3抗原在 46例 HCC及其 38例癌旁组织中的检出率分别为 21.7% 和 34.2%, 经 χ^2检验, 两者间差异不显著 ($P > 0.05$)。NS_3抗原分布于肝细胞和肝癌细胞的胞浆内, 而在小胆管上皮细胞、炎性浸润细胞内无阳性染色。少数病例的少数肝细胞膜上可见 NS_3抗原的沉着而使细胞膜呈明显的棕褐色分界。细胞核内无 NS_3抗原。不同病例的 NS_3抗原阳性物质的分布及阳性反应程度不完全相同, 就是同一病例的不同部位也不尽相同。肝细胞浆中的抗原分布以核周明显, 多数有围核分布的特点; 肝癌细胞内 NS_3抗原分布以弥漫全胞浆型为主, 尤以胞膜下明显。NS_3抗原阳性细胞的分布可分为散在、灶性和弥漫型。肝癌组织与癌旁肝组织中 NS_3抗原表达强度无明显差别。NS_3抗原的表达与病理改变无明显联系。

2.2 肝癌及癌旁组织中 c-erbB-2癌基因的表达

46例肝癌组织及其 38例癌旁肝组织中 c-erbB-2癌基因蛋白的检出率分别为 47.8% 和 44.7%, 两者间差异不显著 ($P > 0.05$)。c-erbB-2蛋白主要位于肝细胞和肝癌细胞内, 汇管区少

* 周子成, 男, 55岁, 教授, 主任医师

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

数间质细胞亦有阳性染色,该抗原在细胞内的分布有三型:膜型、胞浆型和混合型,以混合型为主。阳性染色细胞多呈灶性和弥漫分布。癌细胞内的 c-erbB-2阳性染色强于癌旁肝细胞。

2.3 HCC患者 HCV感染与 c-erbB-2基因表达的关系 如附表所示,癌组织中癌基因 c-erbB-2的蛋白表达阳性率与该患者的 HCV感染无关($P > 0.05$)。

附表 HCC患者 HCV感染与癌组织 c-erbB-2蛋白表达的关系

分 组	n	c-erbB-2	
		(+)	(-)
HCV(+)	15	7	8
HCV(-)	31	15	16

3 讨论

HCV为正链 RNA病毒,其复制经由一个负链 RNA[2],目前尚无其整合入宿主基因组的证据。故进一步揭示 HCV与 HCC发生的可能机理对了解 HCV的可能致癌性具有重要价值。

本实验结果证实我国西南地区肝癌和癌旁组织中存在 HCV NS3抗原,该抗原的保守性仅次于 HCV核心抗原,用作免疫病理诊断可能较理想。其定位与文献[3,4]报道的结果类似。

原癌基因 c-erbB-2与表皮生长因子基因有同源性,其编码蛋白具酪氨酸蛋白激酶活性,在细胞增殖与分化调控中起重要作用。肝癌发生的分子机理可能与 c-erbB-2的激活密切相关[5]。本实验对 HCV不同感染状态的 HCC组织标本进行 c-erbB-2蛋白的免疫组化染色发现,HCV感染与 c-erbB-2蛋白表达无关,提示 HCV的致癌可能与 c-erbB-2癌基因的激活无关。究其原因,可能与 HCV RNA不存在逆转录,没有整合入宿主基因组的可能,激活癌基因的作用就不存在,这于 HBV致 HCC的机理有不同之处。

关键词 肝肿瘤;基因表达; c-erbB-2
中图法分类号 R735.7

参考文献

1 Yang Jianmin, Liu Weiwen. HCV infection in primary hepatic carcinoma and liver cirhosis: A comparative study on serum anti-HCV and HCV RNA. J Gastroenterol Hepatol 1993; 8(suppl): S182
2 Gerber M A. Shieh YSC, Shim K S *et al*. Detection of replicative hepatitis C virus setuences in hepatocellular carcinoma. Am J Pathol 1992; 141(6): 1271
3 Haruna Y, Hayashi N, Hiramatsu N *et al*. Expression of hepatitis C virus in hepatocellular carcinoma. Cancer 1994; 73: 2253
4 Hiramatsu N, Hayashi N, Haruna Y *et al*. Immunohistochemical detection of hepatitis C virus-infected hepatocytes in chronic liver disease with monoclonal antibodies to core, envelope and NS3 region of the hepatitis C virus genome. Hepatology 1992; 16(3): 306
5 苏 勤,刘彦仿. c-erbB-2蛋白和表皮生长因子受体在肝脏病变中的表达.中华病理学杂志, 1995; 24(2): 93

(收稿: 1996-07-08;修回: 1996-11-06)
(编辑 冷怀明)

血管内皮细胞的滤膜培养方法

The method of culturing artery endothelial cell on filter

许蜀闽* 王培勇 孙秉庸 (第三军医大学基础部病理生理学教研室、高原医学研究室)重庆, 630038

提 要 目的:建立、稳定内皮细胞滤膜培养的模型。方法:分组比较不同明胶浓度处理滤膜,不同种植密度及孵育时间,不同孔径滤膜对内皮细胞生长的影响,从而确定滤膜培养的各实验条件。结果:不同明胶浓度处理滤膜、不同种植密度,不同孵育时间对内皮细胞生长的影响差异显著($P < 0.01$)不同孔径滤膜对内皮细胞生长的影响差异不显著($P > 0.05$)。结论:用 1‰明胶处理滤膜, $10^5/cm^2$的种植密度及孵育 2 d即可获得较好结果。

血管内皮细胞覆盖全身所有心血管腔,具很多生理功能[1],对它的研究也日益深入。细胞培养是人们已熟悉的研究内皮细胞的方法。培养中常用的载体为玻璃,塑料制品。我们用滤膜为载体有其优越性,因为滤

* 许蜀闽,女, 24岁,助理实验师

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