DOI: 10.16016/j.1000-5404.1997.03.014

54例膀胱移行细胞癌中 ras p21-ras和 CEA的表达及其与预后的关系

郭乔楠* 柳凤轩 贺光友 (第三军医大学附属西南医院病理科) 重庆, 630038

提 要 目的: 观察 ras癌基因产物 p21-ras蛋白及癌胚抗原 CEA在膀胱移行细胞癌(TCC)中的表达及与病理分级间的关系, 并探讨其在预后判断中的意义。方法: 采用免疫组织化学 ABC法对存档的膀胱 TCC 54例石蜡标本中 p21-ras及 CEA的表达进行检测, 同时取膀胱癌旁不典型增生(Ⅰ-Ⅱ级) 12例及切除标本残端正常的膀胱粘膜标本 14例作对照。所得结果皆经秩和检验及秩和相关分析。结果: p21-ras在膀胱 TCC各级中表达阳性率分别为Ⅰ级 85.7%, Ⅱ级 76.9%, Ⅲ级 42.8%; 而 CEA在膀胱 TCC各级中表达阳性率分别为Ⅰ级 21.4%, Ⅱ级 38.5%, Ⅲ级 85.7%。p21-ras与膀胱 TCC预后间关系非常显著($P < 0.01$), 而 CEA与膀胱 TCC预后间关系显著($P < 0.05$)。结论: p21-ras阳性率随膀胱 TCC的病理分级增高而降低, 而 CEA阳性率随膀胱 TCC的病理分级增高而增加, p21-ras阳性率与预后呈正相关, CEA阳性率与预后呈负相关。结合上述两种参数对膀胱 TCC预后进行判断, 其准确性要高于单凭 p21-ras或 CEA表达情况进行分析。

关键词 膀胱, 肿瘤/病理学; 免疫组化; p21; CEA预后

中图法分类号 R737.14

膀胱移行细胞癌(Transitional cell carcinoma of bladder, TCC)是泌尿系统中一类较常见的恶性肿瘤。复发率及死亡率均较高, 危害性大。对其进行早期诊断及探讨预后影响因素仍然是目前研究的热点。p21-ras蛋白是 ras基因表达产物, 对膀胱 TCC中 ras基因的改变已有一些研究[1], 但对其表达产物 p21-ras蛋白表达分布却有不同结果。尤其是 p21-ras蛋白表达对预后的判断意义尚有分歧。本实验应用免疫组织化学方法对膀胱 TCC中 p21-ras的表达分布情况进行观察, 并结合癌胚抗原 CEA的表达情况试图探讨其对预后的判断意义。

1 材料与方法

1.1 材料

收集我院 1978年~199 1年因膀胱 TCC住院并有随访结果的手术切除标本 54例(Ⅰ级 14例, Ⅱ级 26例, Ⅲ级 14例)。膀胱癌旁粘膜不典型增生(Ⅰ-Ⅱ级) 12例, 另选切除标本残端的正常膀胱粘膜标本 14例作对照。抗 ras-p21-ras单克隆抗体由上海肿瘤研究所提供, CEA单克隆抗体及 ABC试剂盒均为 Vector公司产品。

1.2 方法

1.2.1 组织学观察 所有 HE切片均经复查, 膀胱 TCC按 WHO三级法标准分级(Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ)。

1.2.2 免疫组化染色 切片厚 5μm, ABC法常规免疫组化染色。(抗 ras-p21-ras单克隆抗体稀释为 1:30, 抗 CEA单克隆抗体稀释为 1:100), 方法简述如下: ① 0.3% H_2O_2-甲醇液, 10 min; ② PBS清洗, 3× 5 min; ③ 10%正常马血清, 10 min; ④ 加入一抗, 4℃冰箱过夜; ⑤ PBS清洗, 3× 5 min; ⑥ 加入生物素标记的二抗(1:200), 孵育 30 min; ⑦ PBS清洗, 3× 5 min; ⑧ 加入抗生物素-过氧化物酶结合物(1:200), 室温孵育 30 min; ⑨ PBS清洗, 3× 5 min; ⑩ DAB显色, 显微镜下控制显色强度; ⑪ 水洗, 苏木素复染, 脱水, 中性树胶封片, 常规设立阴性对照、阳性对照及空白对照。

1.2.3 p21-ras和 CEA定位定量观察标准 阳性反应为棕黄色, p21-ras和 CEA染色分别按其染色强弱和有无划分为-、±、+、++、+++。因 p21-ras在正常粘膜中可表达为弱阳性, 在计算 p21-ras阳性例数时"±"不计为阳性。而 CEA在正常粘膜中为阴性, 所以计算 CEA阳性数时,"±"计为阳性。

1.2.4 统计学处理 等级资料作秩和检验及秩和相关分析。

2 结果

2.1 一般临床资料

54例膀胱 TCC患者中男性 48例, 女性 6例, 年龄最大者 77

* 郭乔楠, 女, 33岁, 讲师, 博士

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

岁,最小者 24岁,平均 58岁。病程最短者 7 d,最长者 9年,平均 13个月。患者术前未经过任何抗肿瘤治疗。随访最短时间为 11个月,最长为 14年。总死亡率为 38.0%,复发率为 16.3% (总复发死亡率为 54.3%)。

2.2　p21-ras在膀胱 TCC中的表达及与预后的关系

p21-ras阳性表达率在不典型增生中为 91.6%,膀胱 TCC中阳性表达率为 66.3%。

p21-ras在正常膀胱粘膜中为阴性或弱阳性,阳性染色多位于上皮的浅表层;在不典型增生中,阳性染色几乎位于上皮的全层。在 TCCⅠ-Ⅲ级中 p21-ras阳性颗粒为全胞浆分布或胞浆局部分布或胞膜附近分布,见图 1。肿瘤组织的不同区域 p21-ras表达不同,阳性染色多位于分化较好的、层次较少的乳头中。ras-p21-ras的分布情况与膀胱 TCC的病理分级间的关系及与预后间的关系见表 1。

经秩和检验,病理分级与 p21-ras表达有相关性 ($P < 0.01$)。p21-ras阳性率随病理分级的增高而降低。4组中除不典型增生组与Ⅰ级组间相差不显著外,TCCⅠ、Ⅱ、Ⅲ级间差异有显著意义 ($P < 0.05$)。

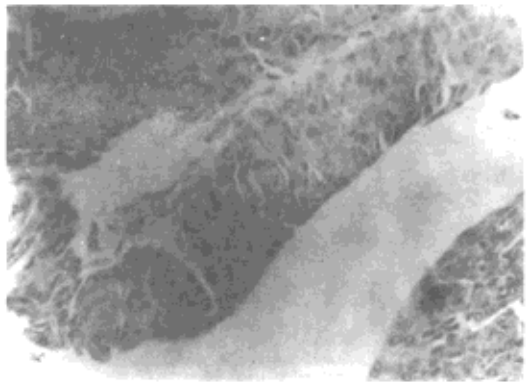


图 1　膀胱 TCC中 p21-ras的表达　(ABC×200)
膀胱 TCCⅡ级乳头中见胞浆、胞膜阳性染色(→所示),苏木素复染

Fig 1　Expression of oncogene protein p21-ras in TCC gradeⅡ　(ABC×200)
The positive granules were in the cytoplasm stained and membrane of the TCCⅡ cells (→) counted by hematoxylin

表 1　p21-ras表达与膀胱 TCC病理分级及预后的关系

Tab 1　Relationship among ras p21-ras expression and pathological grade with prognosis of bladder TCC

Pathological grade	*n*	p21-ras positive					Prognosis	
		n	Intension				Recurrence	Death	Total
			±	+	++	+++	*n*	(%)	(%)
Dysplasia	12	11(91.6)	0	3	2	6	0(0)	0(0)	0
TCC									
Ⅰ	14	12(85.7)	1	0	0	12	1(7.1)	0(0)	7.1
Ⅱ	26	18(76.9)	6	7	3	8	4(15.4)	4(15.4)	30.8
Ⅲ	14	6(42.8)	0	2	2	2	3(21.4)	7(50.0)	71.4

经秩和相关分析,p21-ras阳性率与预后呈正相关 ($P < 0.001$),即 p21-ras阳性率越高,预后越好。

2.3　CEA在膀胱 TCC中的表达与预后的关系

CEA在正常膀胱粘膜中全部为阴性。在膀胱 TCC中,阳性颗粒呈混合型分布 (图 2)。CEA阳性率随病理分级增高而增加,不典型增生阳性率比Ⅰ级高,但统计学检验差异不显著 ($P > 0.05$),Ⅰ、Ⅱ级间也差异不显著,但与Ⅲ级间差异非常显著 ($P < 0.01$)。CEA分布情况与膀胱 TCC的病理分级间的关系及与预后间的关系见表 2。

CEA在不典型增生中的阳性率为 33.3%,在膀胱 TCC中为 46.3%。

表 2　CEA表达与膀胱 TCC病理分级及预后的关系

Tab 2　Relationship among CEA expression and pathological grade with prognosis of bladder TCC

Pathological grade	*n*	CEA p21-ras positive					Prognosis	
		n	Intension				Recurrence	Death	Total
			±	+	++	+++	*n*	(%)	(%)
Dysplasia	12	4(33.5)	3	1	0	0	0(0)	0(0)	0
TCC									
Ⅰ	14	3(21.4)	2	0	1	0	1(7.1)	0(0)	7.1
Ⅱ	26	10(38.5)	3	3	1	3	4(15.4)	4(15.4)	30.8
Ⅲ	14	12(85.7)	0	2	3	7	3(21.4)	7(50.0)	71.4

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

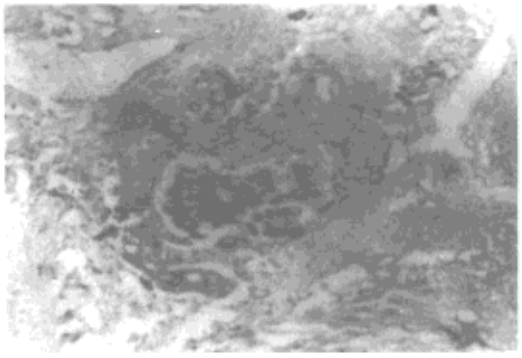


图2 膀胱 TCC中 CEA的表达 (ABC× 200)
膀胱 TCCⅢ级中见部分细胞膜、细胞浆中 CEA阳性染色(→所示),苏木素淡复染

Fig 2 Expression of CEA in TCC grade Ⅲ. (ABC× 200)
The positive granules were in the cytoplasm and membrane of the TCCⅢ, counter stained by dematoxylin

经秩和相关检验,CEA阳性率与膀胱 TCC预后呈负相关($P < 0.05$)。

3 讨论

许多研究表明 ras癌基因通过多种机制参与多种肿瘤的发生[2]。人膀胱 TCC p21-ras的免疫组化观察在国内外有少数报道。其结果互不相同,Viola等认为 p21-ras在不典型增生和 TCCⅢ级中过度表达[3]。王泽认为 p21-ras表达主要是早期膀胱肿瘤的表现[4]。我们的结果与王泽相接近。p21-ras的过度表达在不典型增生中较高,并与膀胱 TCC病理分级呈负相关。进一步证实了 p21-ras过度表达是膀胱 TCC发生的早期事件。

CEA是一种癌胚抗原,在许多肿瘤中可见,是分子量为20万道尔顿的糖蛋白。胚期存在于胃肠、肝、胰等器官,上述脏器肿瘤连同肺、乳腺肿瘤血中 CEA均升高。膀胱癌组织中 CEA含量比正常组织高40倍。当前对膀胱 TCC的 CEA标记国内外均有报道,其阳性率差异较大,我们的结果与国内文献基本一致,CEA阳性率随病理分级的增高而增高。

p21-ras与预后的关系尽管各家意见尚不一致[6,7],但 CEA对判断预后的价值大多持肯定态度。通过对本组54例膀胱 TCC中 p21-ras和 CEA表达的观察与分析,我们认为 p21-ras表达与预后呈正相关,CEA表达与预后呈负相关,结合上述两种参数对膀胱 TCC预后进行判断,其准确性要高于单凭 p21-ras或 CEA表达情况进行分析。且 p21-ras在不典型增生及Ⅰ级中过度表达率高,有助于膀胱 TCC的早期诊断。

参考文献

1 Knowles M A. Molecular genetics of bladder cancer. Br J Urol, 1995; 75(Suppl 1): 57
2 Gulbis B, Galand P. Immunodetection of the p21-ras-ras products in human normal and preneoplastic tissue and solid tumors: A review. Hum Pathol, 1993; 24(12): 1271
3 Viola M V. Ras oncogene p21-ras expression is increased in premalignant lesions and high grade bladder carcinoma. J Exp Med, 1985; 161(9): 1213
4 王 泽.人体膀胱肿瘤癌基因 ras产物 p21-ras表达和 DNA倍体研究.中华肿瘤杂志,1991; 13(2): 245
5 程荣璇,李晓明,崔赛球. CEA标记在膀胱移行细胞癌中的意义.临床与实验病理学杂志,1988; 4(2): 95
6 Theodorescu D. Commentory on genetic prognostic markers for transitional cell carcinoma of the bladder: from microscopes to molecules [Comment]. J Urol, 1996; 155(1): 2
7 Lopez-Beltran A, Croghan G A, Croghan I *et al*. Prognostic factors in bladder cancer. A pathologic immunohistochemical and DNA flow-cytometric study. Am J Clin Pathol, 1994; 102(1): 109

(收稿: 1996-12-20;修回: 1997-04-13)
(编辑 冯崇英)

Expression of p21-ras oncogene and CEA and its relationship to prognosis in 54 cases of transitional carcinoma of the bladder

Guo Qiaonan, Liu Fengxuan, He Guangyo (Department of Pathology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 630038)

Abstract Objective: To investigate the expression of ras p21-ras protein and CEA in the tissue of transitional carcinoma of the bladder (TCC) and its relationship to prognosis. Methods: The expression of p21-ras and CEA in 54 formalin-fixed and paraffin-embedded TCC specimens was determined with immunohistochemical method. Meanwhile, that in 12 specimens of dysplastic tissues adjacent to the carcinous tissue (grade I-II) and 14 specimens of normal bladder tissue was determined likewise to serve as the control. The

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

data were analyzed by rank- sum and rank correlation tests. **Results:** The p21-ras positive rate in TCC was 85.7%, 76.9% and 42.8% for grade I, II and III respectively while the CEA positive rate was 21.4%, 38.5% and 85.7% respectively. Both p21-ras and CEA were significantly correlated with the prognosis of TCC ($P < 0.01 \sim 0.05$). **Conclusion:** The positive rate of p21-ras is decreased while that of CEA increased with the increase of pathological grade of TCC and the combination of the two factors to judge the prognosis of TCC is more accurate than using anyone alone.

Key words bladder; TCC; p21-ras; CEA; prognosis

B超在急腹症诊断中的应用——附200例分析

B-ultrasound diagnosis of acute abdominal disease—— 200 cases analysis

叶 红* 秦乾元 冯晓凤** (第三军医大学附属西南医院超声诊断科) 重庆, 630038

B超检查快速、简便、诊断及鉴别诊断技术也日趋成熟。我们用于急腹症的辅助诊断,符合率为92.5%,接近发达国家93%以上的诊断水平[1]。

1 资料和方法

收集1996年2月至1996年7月期间以急性腹痛或腹部外伤进行超声检查的200例病例,女126例,男74例,年龄5~69岁,平均37岁。使用 Aloka SSD-650型实时超声诊断仪,探头频率3.5 MHz按常规进行腹部及相应脏器的多切面检查。盆腔检查仍需膀胱充盈。个别争论病例采用膀胱灌注充盈法。

2 结果

200例中124例经手术及病理证实,余76例经其它检查确诊,见附表。

附表 200例急腹症 B超检查结果

疾病类型	例数	B超诊断符合例数	符合率(%)
胆结石并急性炎症	52	52	100
急性胆囊炎	9	8	88.9
肝恶性肿瘤并破裂	3	3	100
胆道蛔虫	3	2	66.7
急性阑尾炎并周围脓肿	6	4	66.7
急性胰腺炎	16	13	81.3
肠梗阻	3	2	71.4
脾外伤性破裂	7	5	71.4
泌尿系结石	53	52	98.1
肾外伤性破裂	9	8	88.9
异位妊娠	35	32	91.4
卵巢囊肿蒂扭转	4	4	100
合计	200	185	92.5

3 讨论

急性腹痛是临床中病因较为复杂症状群,常需要及时而正确地做出诊断,以尽快给予适当的治疗。B超检查是较为有效的方法。

本组病例可归纳为以下几类:

(1)急性炎症。本组52例胆囊炎合并结石,其中39例为结石嵌顿于胆囊颈部,胆囊增大,囊壁毛糙,胆囊内见密集小光点在腔内呈悬浮状[2]。若合并胆管结石,声像图显示为近端胆管扩张。若胆囊结石合并炎症穿孔。声像图显示有不规则无回声区。

急性胰腺炎16例。超声显示胰腺肿大,边缘饱满、边界模糊,整个胰腺呈弥漫性不均质低回声,探头压向胰腺时有明显压痛,腺体内有不规则小暗区及低回声区,或出现腹腔内液体聚积。对于急性胰腺炎的诊断要结合临床生化检查指标,尤其是胰淀粉酶的变化。但需要注意,胰淀粉酶升高与超声检查显示不完全平行,超声的表现可出现在淀粉酶升高之后,而当淀粉酶恢复正常时,超声图像上仍有胰腺形态及回声改变。

(2)急性出血。如3例肝肿瘤破溃。超声显示,肿瘤为单发较大且肿物某侧有破溃缺口回声表现,腹腔内探及少量无回声区,胆囊也有轻度水肿表现。本文35例宫外孕,主要诊断依据是子宫以外的部位见到不规则混合性或低回声团块,该团块是妊娠囊破裂后,在附件区形成巨大血肿所致,同时妊娠囊破裂后出入盆腔在子宫直肠凹陷处(陶氏腔)形成积血。若宫腔内积血,宫腔内有减低回声区出现。

(3)急性梗阻。本组泌尿系结石62例。如结石卡在第一狭窄处,通常会在扩张的输尿管中见到伴有声影的强回声光团。如结石卡在输尿管第二狭窄处,通常探查不到结石声像,可通过

(下转230页)

* 叶红,女,28岁,学士,进修生,深圳南方医疗研究中心 B超室 深圳, 518029
** 深圳市人民医院超声诊断科 深圳, 518029

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