

癌胚抗原分泌性肿瘤患者外周血中癌胚抗原 mRNA 的表达

李荔霞¹, 王晓怀¹, 郑文岭², 王捷², 林金容¹, 周殿元³ 1 广州军区广州总医院¹ 肿瘤科, ² 医学实验科 广东 广州 510010 2 第一军医大学南方医院消化病研究所 广东 广州 510515 3 第一军医大学南方医院消化病研究所 广东 广州 510515

摘要 目的 观察外周血中癌胚抗原 mRNA 分泌性肿瘤标志基因的表达方法 设计特异的引物 采用逆转录 PCR 方法检测正常人及肿瘤病人外周血有核细胞成分中的 CEA mRNA 表达结果 46 例肿瘤患者中有 25 例检出 CEA mRNA 阳性率为 54.35% 正常对照者 12 例均阴性 肿瘤临床分期为 Ⅰ 期的患者血清 CEA mRNA 检出率明显高于 Ⅱ 期的病人 $P < 0.05$ CEA mRNA 阳性率与血清 CEA 水平无显著性关系 $P > 0.05$ 临床有远处转移者 CEA mRNA 阳性率明显高于无远处转移者 $P < 0.05$ 对临床无远处转移征兆而 CEA mRNA 检测阳性的 12 例患者进行半年的随访 3 例出现脏器的转移 结论 外周血标志基因检测是肿瘤微转移检测的灵敏方法 CEA mRNA 阳性率与肿瘤临床分期正相关 与肿瘤的远处转移密切相关 而与血清 CEA 水平无显著性关系 血中标志基因阳性可能提示肿瘤的早期转移
关键词 肿瘤 癌 分泌性内分泌性 基因表达 肿瘤转移 诊断 实验室
中图分类号 R730.43 文献标识码 A 文章编号 1000-2588(2001)3-0192-04

李荔霞, 王晓怀, 郑文岭, 王捷, 林金容, 周殿元 1 广州军区广州总医院 肿瘤科, 2 医学实验科 广东 广州 510010 3 第一军医大学南方医院消化病研究所 广东 广州 510515

LILi-xia¹, WANGXiao-huai¹, ZHENGWen-ling², WANGJie², LINJin-rong¹, ZHOUDian-yuan³
(¹Department of Oncology, ²Department of Medical Research, Guangzhou General Hospital of PLA, Guangzhou 510010, China; ³Institute of Digestive Diseases, Nanfang Hospital, First Military Medical University, Guangzhou 510515, China)

Abstract Objective To observe the expression of the marker gene of carcinoembryonic antigen (CEA)-producing tumors in the peripheral blood of patients with the malignancy and explore its clinical implications. Methods CEA mRNA expression in the nucleated cells in the peripheral blood of 46 patients and 12 healthy subjects was measured by means of reverse transcriptional polymerase chain reaction with designed specific primers. Results Twenty-five (54.35%) patients were found CEA mRNA-positive, but none in the healthy subjects. The positivity rate of CEA mRNA was obviously higher in the tumor patients of stages I and II than in those of stages III and IV ($P < 0.05$), which was closely associated with the presence of distant tumor metastasis, but not with serum CEA levels ($P > 0.05$). Distant metastasis of the primary tumors was found in 3 of 12 CEA mRNA-positive patients during the follow-up for half a year who were previously clear of clinical metastatic evidence. Conclusion The positivity rate of CEA mRNA increases with the development of the malignancies. The presence of the marker gene in the peripheral blood can be indicative of early metastasis of the tumors, and the detection of the marker gene, therefore, is sensitive for diagnosing micrometastasis.
Key words neoplasms; multiple endocrine; gene expression; neoplasm metastasis; diagnosis; laboratory

肿瘤的复发和转移是临床治疗常见而棘手的问题 肿瘤微转移的检测已为众多学者所关注 随着分子生物学特别是逆转录 PCR 技术的发展 因其具有高度的敏感性和特异性 已逐步成为早期发现癌细胞转移的新手段 本研究采用 RT-PCR 技术检测癌胚抗原 mRNA 在探讨其在肿瘤微转移检测中的意义

1 材料和方法

收稿日期: 2000-09-28
基金项目: 广东省自然科学基金(960667) 广东省卫生厅“五个一”工程重点课题
作者简介: 李荔霞(1971-) 女 福建莆田人 2000年毕业于第一军医大学 硕士 医师 电话: 020-36222205-53479

1.1 检测对象

1998年10月至1999年6月我院收治的CEA分泌性肿瘤患者46例 其中男36例 女10例 年龄28~78岁 其中结/直肠癌20例 胃癌11例 肺癌9例 乳腺癌4例 卵巢癌1例 宫颈癌1例 临床分期院期5例 Ⅰ期18例 Ⅱ期10例 Ⅲ期13例 有远处转移者13例 无远处转移者33例 正常者23例 升高者23例 正常对照12例 均为我院健康献血人员

1.2 细胞的收集及总 RNA 的提取

每人抽取5ml新鲜肝素抗凝血 用淋巴细胞分离液进行有核细胞的分离 采用 Trizol 试剂 进行细胞总 RNA 的抽提

1.3 RNA 鉴定

表 2 外周血 CEA mRNA 与肿瘤临床分期的关系

Clinicalstage	灶	Positivecases	Positivityrate(%)
	5	1	20.00
	18	6	66.67*
	10	5	50.00
	13	13	100.00**
Total	46	25	54.35

*孕0.05 增stage ;**孕0.05 增stage

表 3 外周血 CEA mRNA 与血清 CEA 的关系

CEAmRNA	灶	CEA<20 流/L	CEA>20 流/L
Positive	25	14	11
Negative	21	9*	12*

*孕0.05 增patientspositiveofCEAmRNAinperipheralblood

表 4 外周血 CEA mRNA 阳性率与远处转移的关系

Distantmetastases	灶	CEA mRNApositive	孕sitivityrate(%)
Present	13	11	84.62
Absent	33	12	36.36*

*孕0.05 增patientswithtumormetastasis

3 讨论

在肿瘤转移的检测过程中标志基因的选择非常重要... 以肿瘤特异性表达基因作为靶向... 检测的特异性大大增加... 多数常见实体瘤缺乏特异性基因... 实际多选择组织特异性或肿瘤相关性靶基因进行检测... 如 PSA mRNA, AFP mRNA, CEA mRNA 等。

CEA 分泌性肿瘤是临床最常见的一类恶性肿瘤... 发生于几乎所有结直肠... 0% 以上发生于胃... 胰腺... 腺等部位... 也见于肺... 食管... 等... CEA mRNA 几乎能在所有的上皮细胞包括癌细胞中被检测到... 而在非上皮细胞中则不能... 如果在血中检测出 CEA mRNA... 意味着异位的存在... 由此可推断存在有表达 CEA 的肿瘤细胞的可能... CEA mRNA 虽然不是肿瘤特异性抗原... 但已成为 CEA 分泌性肿瘤的标记基因... 以其作为肿瘤标志物进行微转移检测可以在骨髓... 外周血... 淋巴结及腹腔灌洗液... 等进行... 国内尚未见有关报道。

本组 46 例 CEA 分泌性肿瘤病人中检出 CEA mRNA 25 例... 12 例正常对照均阴性... 统计本组不同临床分期病人的 CEA mRNA 阳性率... 发现 期和 期病人的阳性率明显高于 期和 期的... 提示标志基因的阳性检出率与肿瘤的分期成正相关... 遥。

进行统计学分析后发现... EAmRNA 的存在与血清 CEA 浓度无明显关系... CEA 是肿瘤组织分泌的

一种大分子糖蛋白... 正常组织中含量非常低且相对稳定... 血清 CEA 阳性可能与 CEA 从细胞表面释放及被肿瘤组织分泌有关... 它的浓度高低只能提供原发灶的信息... 但不能预测微循环转移... 通常被作为结直肠癌预后的一项指标... 而 CEA mRNA 阳性可直接反映分泌 CEA 的肿瘤细胞的存在... 且因检测方法的高度敏感性易于反映其与肿瘤微转移的密切关系... 遥。

在 46 例病人中... 临床有... 无远处转移者分别为 13 和 33 例... EAmRNA 检出率分别为 84.62% 和 36.36%... 其中 12 例无转移征兆但检出 CEA mRNA 阳性的病人... 经半年的随访... 有 3 例出现脏器的转移... 可见外周血标志基因阳性提示循环可能存在着转移的癌细胞... 然而... 在我们的研究中也存在假阴性现象... 3 例临床有远处转移的病人中... 检出 CEA mRNA 11 例... 可能的解释有... 1) 肿瘤细胞也许是间歇地侵入血液循环... 取样的一次性可能造成疏漏... 2) 由于肿瘤在基因表达上具有异质性... 且上微循环的某种因素... 循环中的肿瘤细胞也许不表达 CEA... 因而有别于组织标本... 遥。故选择单一的标志基因进行微转移的 RT-PCR 检测... 敏感性欠佳... 因此... 有学者... 建议采用多个标志基因进行检测... 可提高 RT-PCR 的敏感度... 遥。

综上所述... 本研究说明外周血标志基因检测是检测肿瘤微转移的一种灵敏方法... 应用 RT-PCR 技术在 CEA 分泌性肿瘤外周血检出 CEA mRNA 与循环中存在转移的癌细胞有关... 血中标志基因阳性提示可能存在肿瘤的早期转移... 遥。

参考文献:

Redding WH, Monaghan P, Imprie SF. Detection of micrometastases in patients with primary breast cancer. Lancet, 1984, 3:1271-3.

Beauchemin N, Benchimol S, Courmoyer D. Isolation and characterization of full-length functional cDNA clones for human carcinoembryonic antigen. Mol Cell Bio, 1987, 7(9):3221-30.

Moreno JG, Croce CM, Fischer R. Detection of hematogenous micrometastasis in patients with prostate cancer. Cancer Res, 1992, 52:6110-2.

Hillaire S, Barbn V, Boucher E. Albumin messenger RNA as a marker of circulating hepatocytes in hepatocellular carcinoma. Gastroenterology, 1994, 106(1):239-42.

Buchill SA, Bradburg MF, Pittman K. Detection of epithelial cancer cells in peripheral blood by reverse transcriptase-polymerase chain reaction. Br J Cancer, 1995, 71(3):278-81.

Gerhard M, Juhl H, Kalthoff H. Specific detection of carcinoembryonic antigen-expressing tumor cells in bone marrow aspirates by polymerase chain reaction. Clin Oncol, 1994, 12(4):725-29.

Mori M, Mimori K, Ueo H. Molecular detection of circulating solid carcinoma cells in the peripheral blood: the concept of early systemic disease. Int J Cancer, 1996, 68:739-43.

Jonas S, Windeatt S, Boateng AO. Identification of carcino-

- embryonic antigen-producing cells circulating in the blood of patients with colorectal carcinoma by reverse transcriptase polymerase chain reaction 咄暂 Gut, 1996, 39: 717-21.
- 咄暂 Mori M, Mimori K, Inoue H, 藻藻藻 Detection of cancer micrometastases in lymph nodes by reverse transcriptase-polymerase chain reaction 咄暂 Cancer Res, 1995, 55: 3417-20.
- 咄0暂 Nakanishi H, Koderai Y, Torii A, 藻藻藻 Detection of carcinoembryonic antigen expressing free tumor cells in peritoneal washes from patients with gastric carcinoma by polymerase chain reaction 咄暂 Jpn Cancer Res, 1997, 88(7): 687-92.
- 咄1暂 Olsson CA, de Virus GM, Buttyan R, 藻藻藻 Reverse transcriptase-polymerase chain reaction assays for prostate cancer 咄暂 Urol Clin North Am, 1997, 24(2): 367-78.
- 咄2暂 Hoon D, Wang Y, Dale P, 藻藻藻 Detection of occult melanoma cells in blood with a multiple-marker polymerase chain reaction assay 咄暂 J Clin Oncol, 1995, 13: 2109-16.
- 咄3暂 Bostick PJ, Chatterjee S, Chi DD, 藻藻藻 Limitations of specific reverse-transcriptase chain reaction markers in the detection of metastases in the lymph nodes and blood of breast cancer patients 咄暂 Clin Oncol, 1998, 16(8): 2632-40.

如何制作合格的正畸寄存模型

刘桂平¹ 袁 瑛² 袁 森³ 第一军医大学南方医院¹ 口腔科袁呼吸科袁广东 广州 510515 西藏军区总医院口腔科袁西藏 拉萨 850000 冤

摘要 对正畸寄存模型的制作要求尧制作过程及注意事项做一简要介绍遥

关键词 牙科材料 口矫正装置

中图分类号 院 783.2 文献标识码 院 文章编号 院 000-2588 院 001 冤 3-0195-01

正畸寄存模型能够反映牙齿尧牙弓尧基骨尧颌盖尧唇系带及咬合关系遥通过模型可以了解牙齿尧颌骨发育是否正常尧测量牙弓的拥挤程度尧作为临床诊断的参考尧也可以作为矫治过程的对照遥制作合格的正畸寄存模型需要一定的技巧袁介绍如下遥

1 正畸寄存模型的制作要求

模型应准确尧清晰尧要包括牙齿尧基骨尧移行皱襞尧颌盖尧唇系带等部位尧还要能反映患者的咬合关系及错位情况遥另外袁模型要整齐美观尧而且对模型底座具有一定的工艺要求遥

2 正畸寄存模型的制作过程

2.1 选择合适的托盘

根据患者牙弓的大小尧形态尧高低等选择大小合适的托盘遥托盘与牙弓内外侧应有 3~4mm 间隙袁以容纳印模材料袁其翼缘不能过长或过短遥在唇颊系带部位也应有相应切迹遥上颌托盘后缘应盖过上颌结节和颤动线袁下颌托盘后缘应盖过最后一个磨牙或磨牙后垫区遥

2.2 取印模和灌注模型

取印模前袁向患者说明注意事项袁患者尽量放松唇颊肌肉袁微低尧闭鼻吸气尧呼气尧调拌所需印模料袁开始取模遥印模取出后袁用冷水冲去表面唾液袁消毒处理后袁灌注石膏模型遥

3 寄存模型的修整

收稿日期 院 000-11-07

作者简介 刘桂平 渊 966- 冤 女 袁 袁 北邱县人 袁 997 年毕业于第一军医大学 袁 管护士 袁 电话 院 20-85141888-87153

3.1 用模型修整器修理

使下颌模型的底面与殆平面平行袁模型座的厚度约为尖牙尖到前庭底总高度的 1/2 袁同时要保证下颌模型座的后壁与底面及牙弓的正中线垂直遥将上下颌模型按照咬殆关系叠合袁使上颌模型的后壁与下颌在同一平面上袁并使上颌模型底面与下颌模型的底面平行遥上下颌模型的侧壁与双尖牙及磨牙的颊尖要保持平行袁下颌模型座的前壁应呈弧形袁与牙弓前部一致遥上颌模型底的前壁呈尖形袁舌尖在中切牙之间袁将上下颌模型的后壁与侧壁之间的夹角磨去袁使其成为一短段夹壁袁壁与原来夹角的平分线垂直遥

3.2 利用成品橡皮托制作带底座的寄存模型

选择大小合适的橡皮托袁将初步修整的模型放入袁模型的前庭沟要与托盘边缘平齐袁模型中线对准橡皮托中线袁两侧要对称遥如石膏模型过高或不平袁先行修整后再放入遥先做上颌模型袁用毛笔抹平模型边缘袁使其整齐平滑袁将上颌基底石膏凝固后袁将下颌模型根据咬殆关系用蜡固定在上颌模型上遥之后用直角板制成下颌基底袁要求上下模型后壁紧贴垂直板袁底面平行袁中线与上颌橡皮托之中线对齐袁同样抹平下颌模型边缘袁石膏凝固后去除橡皮托即成遥

4 制作正畸寄存模型的注意事项

渊 冤 在取模过程中袁选择合适的托盘和调拌合适的印模材料遥印模料太稀会使取模边缘不足袁不能反映基骨情况 渊 冤 印模料太稠则不清晰尧不完整遥渊 冤 在倒模过程中应避免出现气泡遥灌石膏时最好用石膏震荡器 渊 冤 单纯用手操作袁要让石膏从一边慢慢流入遥渊 冤 在修整模型时要细心操作袁认真打磨前庭沟基底部要视牙轴倾斜度而定袁要留有足够的宽度袁以防打磨机或砂纸磨损牙齿的形态遥渊 冤 保持模型干燥袁避免发霉遥