

· 研究原著 ·

文章编号 1000-2790(2006)14-1328-03

硒蛋白 P 在结肠癌组织中的表达及其意义

鲁建国¹, 王青¹, 马庆久¹, 宁力², 房青², 褚延魁¹, 杜锡林¹, 杨媛¹, 林晨²

(¹ 第四军医大学唐都医院普通外科, 陕西 西安 710038, ² 协和医科大学肿瘤医院分子肿瘤学国家重点实验室 北京 100021)

Expression and significance of selenoprotein P in colon carcinoma tissues

LU Jian-Guo¹, WANG Qing¹, MA Qing-Jiu¹, NING Li¹, FANG Qing², CHU Yan-Kui¹, DU Xi-Lin¹, YANG Yuan¹, LIN Chen²

¹Department of General Surgery, Tangdu Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an 710038, China, ²State Key Laboratory of Molecular Oncology, Cancer Institute, Peking Union Medical College & Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100021, China

【Abstract】 AIM: To investigate the expression and significance of selenoprotein P in colon carcinoma tissues. **METHODS:** Samples were derived from 30 cases of colon carcinoma, and 30 corresponding normal colon tissues were used as controls. The expression of selenoprotein P in colon carcinoma tissues were investigated by immunohistochemical stain. **RESULTS:** The expression rate of selenoprotein P in colon carcinoma (60.0%) was significantly lower than that of their control normal tissues (80.0%, $P < 0.05$). The expression rate of selenoprotein P in high- and moderate-differentiation cases (86.7%) was higher than that of lower-differentiation tissues (33.3%, $P < 0.05$). The expression rate of selenoprotein P was 58.8% in I-II stage cases, and 61.5% in III stage cases ($P > 0.05$). **CONCLUSION:** The expression which of selenoprotein P is low in colon carcinoma tissues, which is related with differentiation levels of colon carcinoma, but not with TNM stage of tumor.

【Keywords】 Neoplasms/pathology; proteins/analysis; selenium; immunohistochemistry

【摘要】目的: 研究结肠癌组织中硒蛋白 P 的表达及其意义。方法: 选用手术切除结肠癌组织 30 例, 同时另取 30 例正常结肠组织作为对照, 用免疫组化的方法观察硒蛋白 P 在结肠癌组织中的表达。结果: 硒蛋白 P 在结肠癌组织中的阳性表达率 (60.0%) 低于其在正常结肠组织中的表达率 (80.0%), 二者相差有统计学意义 ($P < 0.05$); 硒蛋白 P 在高、中分化病例中表达率 (86.7%) 高于低分化例病例中表达

收稿日期 2006-04-27; 接受日期 2006-05-22

通讯作者: 林晨. Tel: (010) 87788458 Email: clin@public.bta.net.cn

作者简介: 鲁建国, 博士, 副主任医师. Tel: (029) 84777732 Email: lujianguo@fmmu.edu.cn

率 (33.3%) 二者相差有统计学意义 ($P < 0.05$); 硒蛋白 P 在 I ~ II 期病例中表达率为 58.8%, III 期病例中表达率为 61.5% 二者相差无统计学意义 ($P > 0.05$)。结论: 硒蛋白 P 在结肠癌组织中为低表达, 与肿瘤的分化程度有关, 与肿瘤的 TNM 分期无关。

【关键词】 肿瘤/病理学; 蛋白质类/分析; 硒; 免疫组织化学
【中图分类号】 R730.2 **【文献标识码】** A

0 引言

硒是哺乳动物必需的一种微量元素, 缺硒会导致多种病理状态。硒蛋白是微量元素硒发挥生物学功能的主要形式。为了进一步探讨硒蛋白 P 在肿瘤中的作用, 我们利用免疫组化技术观察该抗体在结肠癌中的表达。

1 对象和方法

1.1 对象 结肠癌 30 例, 为第四军医大学唐都医院普通外科 2003-10/2005-05 手术切除标本, 男 17 例, 女 13 例。年龄 45 ~ 79 (平均 61.4) 岁, 高分化 10 例, 中分化 5 例, 低分化 15 例。肿瘤 TNM 分期 I 期 8 例, II 期 9 例, III 期 13 例。另取 30 例原发器官正常结肠组织作为对照。

兔抗人硒蛋白 P 多克隆抗体, 由中国医学科学院肿瘤医院研究所分子肿瘤学国家重点实验室先期制备保存。免疫组化试剂盒购自北京中杉公司。

1.2 方法 ① 将组织蜡块切片, 常规脱腊: 70℃ 烤片 2 h, 二甲苯 10 min × 2 次。水化: PBS 洗 3 min × 2 次。② 30 mL/L H₂O₂ 溶液室温处理 10 min, 双蒸馏水洗 3 min × 3 次。③ 在 0.01 mol/L 枸橼酸盐缓冲液 (pH 6.0) 92 ~ 98℃ 水浴中处理 25 min 修复抗原, 自然冷却到室温。缓冲液洗 3 min × 2 次。④ 分别用正常山羊血清和卵白素室温封闭 2 h。⑤ 滴加稀释的一抗 SeIP 多克隆抗体 (1:50), 37℃ 孵育 4 h。PBS 洗 3 min × 3 次。⑥ 生物素结合的羊抗兔 IgG 二抗和 ABC 复合物室温分别孵育 2 h。⑦ 滴加 DAB 溶液显色, 注意观察颜色变化, 及时终止, 冲洗。⑧ 苏木素复染, 梯度乙醇脱水, 封片。

以免疫组化试剂盒中的阳性片作阳性对照, 以

0.01 mol/L PBS (pH 7.4) 和正常羊血清分别替代一抗和二抗作为阴性对照. 阳性染色为棕黄色, 定位于细胞胞质和细胞膜. 染色阳性细胞数量评分: 0 分 (全片未见着色或少于 5% 细胞散在着色) 1 分 (5% ~ 25% 细胞着色) 2 分 (25% ~ 50% 细胞呈阳性) 3 分 (50% ~ 75% 细胞染色阳性) 4 分 (>75% 细胞染色阳性). 染色强度评分: 0 分 (阴性) 1 分 (弱阳性) 2 分 (中等阳性) 3 分 (强阳性). 染色阳性细胞数量评分与染色强度评分之积为最终染色评分标准: 0 分 (阴性) 0 ~ 4 分 (弱表达) 4 ~ 8 分 (中等表达) 8 ~ 12 分 (强表达).

统计学处理: 采用 SPSS10.0 统计软件包, 用非参数检验, 两个独立样本 Wilcoxon 检验进行统计学分析. $P < 0.05$ 认为存在显著性差异.

2 结果

2.1 硒蛋白 P 在肿瘤及正常对照组织中的表达 免疫组化染色结果见表 1.

表 1 硒蛋白 P 在肿瘤及正常对照组织中的表达

组别	表达强度				染色阳性率 (%)
	0	0~4	4~8	8~12	
结肠癌组织	12	9	7	2	60.0 ^a
正常结肠组织	6	11	9	4	80.0

^a $P < 0.05$ vs 正常结肠组织.

阳性信号为棕褐色或棕黄色, 呈弥漫状或片状分布. 硒蛋白 P 染色主要定位于细胞胞质及胞膜中, 细胞外间质也有部分染色, 而细胞核无染色.

在结肠癌中硒蛋白 P 表达与分化程度有关, 尤其是伴黏液分泌者中低表达明显. 细胞富于黏液成分或杯状细胞无论是正常还是肿瘤中表达均为阴性.

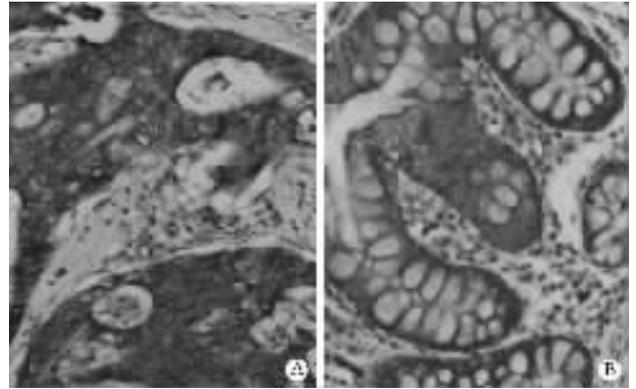
硒蛋白 P 在正常对照组织中的阳性率表达高于结肠癌中的表达 (图 1).

2.2 硒蛋白 P 在肿瘤中的表达与其分化程度及临床分期的关系 见表 2.

3 讨论

目前硒蛋白 P 真正的生物学功能还不清楚, 特别是与肿瘤发生的关系不甚明了. Burk 等^[1]认为硒蛋白 P 可能是自由基的清除剂. 硒蛋白 P 可能由于其抗氧化的保护性作用, 通过消除自由基, 减少 DNA 损伤, 预防突变阻止肿瘤的发生^[2-3]. 其他可能的机制是调节机体免疫系统, 增强机体免疫系统的抗癌活力. 拮抗肿瘤细胞内 cGMP 的增加, 抑制 DNA, RNA

及蛋白质的合成; 抑制肿瘤病变中新生血管生成^[4-6].



A: 结肠癌组织; B: 正常结肠组织.

图 1 硒蛋白 P 的表达 ABC × 200

表 2 硒蛋白 P 在结肠癌组织中的表达与临床病理学因素的关系

病理	n	表达强度				染色阳性率 (%)
		0	0~4	4~8	8~12	
分化程度						
高~中	15	2	6	5	2	86.7 (13/15) ^a
低	15	10	3	2	0	33.3 (5/15)
TNM 分期						
I~II	17	7	5	4	1	58.8 (10/17)
III	13	5	4	3	1	61.5 (8/13)

^a $P < 0.05$ vs 低分化结肠癌组织.

现认为血浆中硒蛋白 P 水平和肿瘤的发生呈负相关. Persson-Moschos 等^[7]发现对应于硒蛋白 P 浓度的 5 个水平, 从低到高, 发生肿瘤的相对危险度分别为 5.2, 2.3, 2.9, 2.2 和 1.0. 硒蛋白 P 水平最低组发生呼吸道和消化道肿瘤的概率分别是硒蛋白 P 高水平组的 6 倍和 3.4 倍, 表明随着硒蛋白 P 浓度增高, 肿瘤发生的危险度降低.

Mork 等^[2]发现, 结直肠腺瘤较邻近正常黏膜硒蛋白 P mRNA 表达下降, 并认为在结直肠腺瘤硒蛋白 P mRNA 表达下调可能是腺瘤到腺癌发展过程中的一个早期事件, 这种下调使硒蛋白 P 表达减少, 导致 DNA 受到氧化损伤, 从而发生基因突变, 引起肿瘤的发生和促进肿瘤的发展, 而且硒蛋白 P 和同属硒蛋白的胃肠谷胱甘肽过氧化物酶在抗氧化细胞抵抗腺瘤-腺癌演变中起到互补作用. Al-Taie 等^[3]证实在结直肠癌中其 mRNA 表达明显减少或缺失, 表明在结直肠癌中可能存在着硒蛋白 P 基因的突变和转录异常.

本结果提示, 硒蛋白 P 表达在结肠癌与正常组织差异显著, 表达与分化程度有关. 伴黏液分泌者中低表达, 细胞富于黏液成分或杯状细胞无论是正常还是肿瘤中表达均为阴性. 或许提示正常肠黏膜杯状细胞分泌功能与硒蛋白 P 表达无关; 同样, 其在结肠癌中的表达与肿瘤分期无关. 在结肠癌硒蛋白 P 低表达, 除了受硒营养状况(血浆中硒蛋白 P 浓度)的影响, 可能存在着硒蛋白 P 基因的突变和转录异常^[3], 失去这一保护性因素, 可能导致了肿瘤的发生.

【参考文献】

[1] Burk RF, Hill KE. Regulation of selenoproteins [J]. *Annu Rev Nutr*, 1993, 13: 65-81.
 [2] Mork H, Al-Taie OH, Bahr K, et al. Inverse mRNA expression of

the selenocysteine-containing proteins GI-GPx and SeP in colorectal adenomas compared with adjacent normal mucosa [J]. *Nutr Cancer*, 2000, 37(1): 108-116.
 [3] Al-Taie OH, Uceyler N, Eubner U, et al. Expression profiling and genetic alterations of the selenoproteins GI-GPx and SePP in colorectal carcinogenesis [J]. *Nutr Cancer*, 2004, 48(1): 6-14.
 [4] Ganther HE. Selenium metabolism and mechanisms of cancer prevention [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2001, 492: 119-130.
 [5] Raich PC, Lu J, Thompson HJ, et al. Selenium in Cancer Prevention: Clinical Issues and Implications [J]. *Cancer Invest*, 2001, 19(5): 540-553.
 [6] Brown KM, Arthur JR. Selenium, selenoproteins and human health: a review [J]. *Public Health Nutr*, 2001, 4(2B): 593-599.
 [7] Persson-Moschos ME, Stavenow L, Akesson B, et al. Selenoprotein P in plasma in relation to cancer morbidity in middle-aged Swedish men [J]. *Nutr Cancer*, 2000, 36(1): 19-26.

编辑 许福明

· 经验交流 · 文章编号 1000-2790(2006)14-1330-01

经支气管微波治疗气道狭窄 28 例

祝新民, 寿丽华, 陈培峰, 许坚红
 (诸暨市人民医院呼吸内科, 浙江 诸暨 311800)

【关键词】 气道狭窄, 微波, 介入治疗
【中图分类号】 R562.12 **【文献标识码】** B

1 临床资料 2004-10/2005-10 我科收治大气道狭窄患者 28 (男 22, 女 6) 例, 年龄 26~43 (平均 42) 岁, 均有不同程度的气急、胸闷及咳嗽, 血气分析提示 I 型呼吸 5 例; 所有患者均通过纤维支气管镜(纤支镜, OLYMPUS BF-P40) 检查确认存在气道狭窄, 并有病理活检确诊. 气管狭窄 7 例, 支气管狭窄 21 例, 右侧 18 例, 左侧 3 例. 经胸片、CT 纤支镜及病理检查诊断为管内恶性淋巴瘤 1 例, 气管内膜结核引起狭窄 3 例, 气管插管后狭窄 2 例, 支气管纤维瘤 2 例, 支气管肺癌 20 例. 使用纤支镜和南京亿高 ECO-100 型多功能微波治疗仪(其频率 2450 MHz, 输出功率 0~150 W, 同轴微波直径约 1.2~1.5 mm) 及单极、双极细针或柱状针治疗. 治疗时常规消毒纤支镜, 患者常规予以利多卡因雾化吸入局麻, 再行环甲膜正中穿刺, 注射 20 g/L 利多卡因 2 mL 行气管内麻醉. 将已消毒好的纤支镜经鼻插入气道, 观察病灶部位, 并吸净分泌物, 有出血则用去甲肾上腺素溶液(9 g/L 氯化钠 50 mL 内含去甲肾上腺素 2 mg) 冲洗吸净. 经纤支镜活检孔插入微波导线, 将尖端插入病灶部位, 微波频率调至 50~70 W, 烧灼时间每次为 5~8 s, 选择多个病灶点烧灼, 多次烧灼使局部病灶组织为黑色坏死焦痂, 每 2~3 d 烧灼一次. 良性病变一般治疗 2~3 次即可. 病变系恶性的可多次烧灼, 最多一例治疗 5 次, 反复烧灼至开口增大, 症状改善. 第二次烧灼时, 可纤支镜插入后用异物钳将坏死焦痂清理干净. 结核疤痕及气管插管引起的狭窄均为完全治愈外, 其他均按 WHO 抗癌联盟评定标准评价疗效, 即完全缓解(CR): 管腔直径 > 原直径的 2/3; 部分缓解(PR): 管腔直径 > 原直径的 1/2; 微效(MR): 管腔直径 < 原

直径的 1/3; 无效(NR): 管腔直径无增大. 结果 2 例气管插管后气管环性狭窄, 经 2 次微波治疗烧灼后无气促症状, 气管环性狭窄完全消失. 疗效评定为完全治愈. 3 例结核疤痕狭窄, 烧灼 3 次后, 气促胸闷症状明显改善, 支气管明显通畅. 23 例肿瘤患者经微波治疗后 CR 17 例, PR 6 例, 有效率达 100%. 其中支气管纤维瘤因发展迅速, 隔日一次, 共烧灼了 5 次, 症状改善, 好转出院. 23 例肿瘤中, 配合化疗 8 例, 达到了较好的效果, 无发生出血和穿孔的并发症.

2 讨论 微波对恶性肿瘤治疗是在微波辐射加热到 41~45℃ 时, 能选择性抑制和杀伤肿瘤细胞. 治疗的原理是以生物组织内部本身作为热源, 利用生物体丰富的极性成分产生不导电的热, 是一种内部加热法. 微波治疗时, 病变组织内的水分子正负极的位置随着微波电场极性的超高速变化而变化, 并引起生物组织的生理、病理反应, 从而达到治疗目的. 微波可抑制肿瘤细胞 DNA 复制、RNA 转录和蛋白质合成, 损伤肿瘤细胞染色体, 抑制有丝分裂, 防止肿瘤细胞增生^[1]. 支气管恶性肿瘤引起的气道严重狭窄如只选择放疗或化疗, 因杀伤肿瘤组织前往往有一个肿胀过程, 可使气道狭窄加重, 因而气促加剧, 而微波治疗可以弥补放疗、化疗之不足. 本组 23 例肿瘤中, 8 例微波治疗配合化疗未发生气促加重. 23 例肿瘤患者微波治疗有效率达到 100%, 和国内文献报告一致^[2].

微波治疗作用于人体并集中微波能量于局部组织, 使其很小范围的高温造成组织凝固坏死, 并使凝固坏死的组织周围小血管痉挛、血管壁肿胀、管腔狭窄及内皮细胞破坏等导致凝固血栓形成, 从而达到止血的目的. 如果疾病本身导致出血, 微波还可局部止血. 微波治疗气道炎性疤痕狭窄效果最佳, 本组有 5 例炎性气道狭窄患者, 经微波烧灼 2~3 次后均达到痊愈的目的. 微波治疗作用较表浅, 不会导致气道穿孔等并发症, 28 例患者中, 无一例发生出血和气管、支气管穿孔. 治疗的患者无较大痛苦, 表明经纤支镜微波治疗各种原因引起的气管、支气管狭窄是安全、有效的治疗方法.

【参考文献】

[1] 刘忠令. 呼吸疾病介入诊疗学 [M]. 北京: 人民军医出版社, 2003: 24-26.
 [2] 赵 岚, 杨淑梅, 孙 钢. 经纤维支气管镜微波治疗支气管肺癌 22 例报告 [J]. *陕西医学杂志*, 1999, 28(11): 690.

编辑 黄良田