

幽门螺杆菌感染与不同胃粘膜病变中 PCNA、bcl-2 表达的关系

熊永炎, 龚玲玲, 汪必成, 徐慧琴, 杨桂芳, 曾俊

摘要:目的 研究不同胃粘膜病变中幽门螺杆菌(Hp)感染与细胞增生、凋亡的关系。方法 采用 SP 免疫组化染色及图像分析方法,对 312 例慢性萎缩性胃炎(CAG)、肠上皮化生(IM)、胃上皮不典型增生(GED)及胃癌(GC)中 Hp 感染与 PCNA、bcl-2 表达和 DNA 含量及倍体进行检测。结果 在 Hp 感染组,从 CAG、IM、GED、GC,PCNA 和 bcl-2 阳性表达率和高表达率均逐渐增高。尤其在 IMIII、GEDI-III 和肠型 GC 中,PCNA 高表达率分别明显或显著高于 IMI-II、GEDI 和 IMIII、GEDI-III ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。其 DNA 含量和倍体分析与 PCNA 的表达一致。Hp 未感染组不同病变中各指标均不显示 Hp 感染组的变化特点。结论 Hp 感染可引起胃上皮细胞增生水平显著增高,凋亡水平明显降低。

关键词:幽门螺杆菌;PCNA;bcl-2;胃粘膜病变;免疫组化

中图分类号:R730.231+.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-8578(2002)06-0436-03

A study on relationship between H. pylori infection and PCNA, bcl-2 expressions in different gastric mucosal lesions

XIONGYong-yan, GONGLin-gling, WANGBi-cheng, et al

Department of Pathology, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan 430071, China

Abstract: **Objective** To study the relationship between H. pylori infection and gastric epithelial cell proliferation as well as apoptosis in different gastric mucosal lesions. **Methods** H. pylori infection, PCNA and bcl-2 expression, DNA content and aneuploidy of CAG, IM, GED and GC in 312 gastric specimens were detected by means of SP immunohistochemical stain and image analysis. **Results** In H. pylori positive cases, positive rates and overexpression rates of PCNA and bcl-2 expression in gastric carcinoma genesis were progressively increased. Overexpression rates of PCNA in IMIII, GEDI-III and intestinal type GC were higher than those in IMI-II, GEDI and IMIII, GEDI-III respectively ($P < 0.05$, $P < 0.01$). The detection results of DNA content and aneuploidy status were in keeping with the expression of PCNA. In H. pylori negative cases, expression of PCNA, bcl-2 and detection results of DNA content, aneuploidy status were different from H. pylori positive cases. **Conclusions** In the gastric carcinoma genesis, H. pylori infection might promote proliferation and decrease apoptosis of gastric epithelial cells. These were imbalance of cell proliferative and apoptotic processes was an important mechanism of human gastric carcinoma genesis implicated in H. pylori infection.

Keywords: H. pylori; PCNA; bcl-2; Gastric mucosal lesions; Immunohistochemistry

正常胃粘膜上皮的完整性有赖于细胞增生与凋亡的动态平衡。本文采用免疫组化及图像分析方法,对 Hp 感染与不同胃粘膜病变中细胞增生和凋亡的水平进行检测,旨在探讨 Hp 致胃癌的可能机制。

1 材料和方法

1.1 病例选择 312 例标本为我院 1997 年~1998 年间纤维胃镜活检或胃大部分切除病例。其中

CAG 65 例、IM 93 例、GED 94 例、GC 60 例。标本均经 10% 中性 Formalin 液固定,石蜡包埋,连续切片。

1.2 染色方法

1.2.1 HE 及组化染色 HE 染色用于常规病理组织学分类、分型及分级。Warthin-Starry 细菌染色用于 Hp 的检测。HID-AB (pH 2.5)-PAS 粘液染色用于 IM 分型及胃癌的组织发生学分类。改良 Feulgen DNA 染色用于 DNA 含量及倍体检测。

1.2.2 SP 免疫组化染色 抗 PCNA、bcl-2 抗体及 SP 试剂盒购于福州迈新生物技术公司,均为即用型。染色方法按 SP 法进行,每批染色均设阳性及阴性对照。

收稿日期:2002-03-22; 修回日期:2002-06-17

基金项目:湖北省自然科学基金资助项目(98J089)

作者单位:430071 武汉大学中南医院病理科

1.3 染色结果的评估

1.3.1 在 Warthin-Starry 染色中, Hp 呈棕褐色、弯曲棒状, 位于胃粘膜表面和/或胃小凹及肿瘤性腺腔内, 散在或密集或成堆分布。

1.3.2 根据组织形态及粘液染色, 将 IM 分为 I(小肠型)、II(不完全型)、III(结肠型) 3 个亚型。GC 分为肠型和弥漫型 2 个亚型。

1.3.3 按照 Ming 等组织学分级标准, 将 GED 分为 I(轻度)、II(中度)、III(重度) 3 级。

1.3.4 对 Feulgen 染色切片, 采用北京航空航天大学工业大学 CMIBAS 图象分析系统, 每例采集约 80 个待测细胞核, 并以同一切片中 50 个小淋巴细胞核作为

正常二倍体对照值, 计算其 DNA 含量及不同倍体 (2C 为正常二倍体, 3C-4C 为增殖倍体, 5C 为异倍体) 的百分数。

1.3.5 SP 免疫组化染色中, 细胞核或细胞浆着棕黄色者为阳性染色。每例随机观察 10 个高倍 (×400) 视野, 计算阳性细胞百分率。阳性细胞占 10% ~ 30% 为低表达, >30% 为高表达。阳性细胞 <10% 或缺乏者为阴性染色。

1.4 统计学处理 采用 χ^2 检验或 $t(u)$ 检验。

2 结果

2.1 Hp 感染与 PCNA、bcl2 在不同胃粘膜病变中的表达关系

表 1 不同胃粘膜病变中 Hp 感染与 PCNA、bcl2 的表达 (例)

	CAG			IMF-II			IMIII			GEDI			GEDI-III			肠型胃癌			弥漫型胃癌			
	-	L	H	-	L	H	-	L	H	-	L	H	-	L	H	-	L	H	-	L	H	
Hp (+)																						
PCNA	18	22	0	1	29	7	1	6	20	0	17	22	0	8	28	0	0	26	0	0	11	
bcl2	28	12	0	6	15	16	4	7	16	5	17	17	1	11	24	4	6	16	1	2	8	
Hp (-)																						
PCNA	11	14	0	2	11	11	1	1	3	0	4	12	0	0	3	0	0	10	0	1	12	
bcl2	12	13	0	5	6	13	1	1	3	3	5	8	0	1	2	2	2	6	4	3	6	

注: -, 阴性表达; L, 低表达; H, 高表达

附表显示, 在 Hp 感染组, IM、GED 和 GC 中 PCNA 阳性表达病例均分别显著高于 CAG ($P < 0.01$)。IMIII 高表达病例显著高于 IMF-II ($P < 0.01$), GEDI-III 明显高于 GEDI ($P < 0.05$), 肠型 GC 亦分别显著高于 IMIII 和 GEDI-III ($P < 0.01$)。在 bcl2 表达上, IM、GED 及 GC 中阳性表达病例均分别显著高于 CAG ($P < 0.01$), 但 IMIII 与 IMF-II、GEDI-III 与 GEDI、GC 与 IMIII 和 GEDI-III 相比, 高表达病例均无明显差异 ($P > 0.05$)。

在 Hp 未感染组, PCNA 和 bcl2 在上述各病变中的表达并不显示 Hp 感染组的表达特点。

2.2 Hp 感染与不同胃粘膜病变中 DNA 含量和倍体的关系

在 Hp 感染组, DNA 含量和倍体在 CAG、IMF-II 和 GEDI 三者间的差异无显著性 ($P > 0.05$); 但 IMIII 与 IMF-II、GEDI-III 与 GEDI 相比, 前者 DNA 含量均显著增高, 2C 含量显著下降, 3C-4C 含量显著上升 (P 均 < 0.01), 在 GEDI-III 中还出现一定量的异倍体 (5C)。GC 中 DNA 含量、3C-4C 及 5C 数量均显著高于 2C 数量明显低于 IMIII 和 GEDI-III ($P < 0.01$)。

在 Hp 未感染组, 除 GC 中 DNA 含量及倍体显著高于其它各病变组外 ($P < 0.01$), IMIII 和 IMF-II、GEDI-III 与 GEDI 比较, 其差异均无显著性 ($P > 0.05$)。

3 讨论

自 Honda 等 1998 年在蒙古沙土鼠经口感染 Hp

成功诱发胃腺癌动物模型后, Hp 与胃癌的相关性进一步得到了确认^[1]。

研究表明, Hp 感染可促进胃粘膜上皮细胞增生。Rokkas 等发现, Hp 感染者胃上皮细胞增生指数较未感染者显著增高, 根除 Hp 后其增生指数较治疗前明显下降, 而未成功根除者细胞增生指数较治疗前无变化^[2]。Safatle-Ribeiro 等提出, 胃部分切除术后多年仍有 Hp 持续感染者, 其胃上皮细胞增生水平明显增加^[3]。Nardone 等发现, Hp 感染可引起胃炎和胃癌患者胃上皮细胞过度增生, DNA 含量异常, 部分病例还出现 c-myc 和 p53 等癌基因、抑癌基因的表达异常^[4]。据认为, Hp 感染者胃上皮细胞中表皮生长因子、转化生长因子及其共同受体⁴/表皮生长因子受体的含量增加, 从而激活核内一些调控基因表达的蛋白质, 促进细胞分裂、增生。Hp 含有的空泡毒素 (VacA) 和毒素相关蛋白 (CagA) 也可直接促进胃粘膜上皮细胞的增生^[5]。

Hp 对胃上皮细胞凋亡的影响许多报道不尽相同。Moss 等认为 Hp 可诱导活体胃上皮细胞凋亡; Maor-Kendler 等发现在 Hp 相关性萎缩性胃炎中细胞凋亡减少 (表现 bcl2 表达增强)^[6,7]。Hp 加速细胞凋亡的机制, 可能与其激活胃粘膜及巨噬细胞中 iNOS (诱导型一氧化氮合成酶) 活性有关。近有研究报告提示, Hp 既可使细胞 bcl2 蛋白表达增加, 也可使 Bak 蛋白水平升高。前者抑制凋亡, 后者促进凋亡。两者同时增加



时则由两者的比值来决定细胞的转归^[7]。

正常胃粘膜上皮细胞增生与凋亡处于动态平衡。胃粘膜上皮细胞的增生可能是对 Hp 诱导细胞凋亡的一种反应,故凋亡的增加可引起细胞的代偿性增生;持续的过度增生能产生更多的抗凋亡细胞,并逐渐增生形成癌前病变甚至最终发展为胃癌^[5,8]。PCNA 是一种能较全面反映细胞增生能力的标志物。bcl-2 蛋白是一种凋亡抑制基因蛋白产物,其表达越高,反映细胞凋亡水平越低。本研究结果显示,在 Hp 感染组,一方面 IM(尤其 IMIII)、GED(尤其 GEDII-III)及 GC 中增生水平显著高于 CAG,肠型 GC 的增生水平显著高于 IMIII 和 GEDII-III;另一方面,IM、GED 及 GC 中 bcl-2 表达分别显著高于 CAG,表明前三种粘膜病变中凋亡水平显著低于后者。上述结果提示,在重要的癌前病变(IMIII 及 GEDII-III)及 GC(尤其肠型)中, Hp 感染者胃上皮细胞增生与凋亡间存在明显的失调。我们认为, Hp 诱导细胞凋亡增加可见于胃粘膜病变早期(如慢性胃炎),当病变进展到癌前病变(如 IMIII、GEDII-III)及 GC 后,上皮细胞增生过程显著增加,凋亡水平明显降低。Hp 所致的胃上皮细胞增生和凋亡的明显失调可能是其致胃癌的重要机制之一。

参考文献:

- [1] Honda S, Fujioka T, Tokieda M, et al. Development of Helicobacter pylori-induced gastric carcinoma in Mongolian gerbils[J]. Cancer Res, 1998, 58 (19): 4255-4258.
- [2] Rokkas T, Liatsos C, Karameris A, et al. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) immunostaining in Helicobacter pylori infection: impact on eradication[J]. Pathol Oncol Res, 1999, 5 (4): 304-308.
- [3] Safatle Ribeiro AV, Ribeiro U Jr, Clarke MR, et al. Relationship between persistence of Helicobacter pylori and dysplasia, intestinal metaplasia, atrophy, inflammation, and cell proliferation following partial gastrectomy[J]. Dig Dis Sci, 1999, 44 (2): 243-252.
- [4] Nardone G, Staibano S, Rocco A, et al. Effect of Helicobacter pylori infection and its eradication on cell proliferation, DNA status, and oncogene expression in patients with chronic gastritis[J]. Gut, 1999, 44 (6): 789-799.
- [5] Rokkas T, Ladas S, Liatsos C, et al. Relationship of Helicobacter pylori to gastric cell proliferation and apoptosis[J]. Dig Dis Sci, 1999, 44 (3): 487-493.
- [6] Jones NL, Shannon PT, Cutz E, et al. Increase in proliferation and apoptosis of gastric epithelial cells in the natural history of Helicobacter pylori infection[J]. Am J Pathol, 1997, 151 (6): 1695-1703.
- [7] Maor-Kendler Y, Gaba YG, Bernheim J, et al. Expression of bcl-2 in autoimmune and Helicobacter pylori-associated atrophic gastritis[J]. Dig Dis Sci, 1999, 44 (4): 680-685.
- [8] Suzuki H, Ishii H. Role of apoptosis in Helicobacter pylori-associated gastric mucosal injury[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2000, 15 (suppl): 46-54.

(贺文校对)

乳腺原发性恶性淋巴瘤 1 例

杨洁清, 周秀荣

关键词: 乳腺; 恶性淋巴瘤; 病理诊断

中图分类号: R737.9 文献标识码: D

文章编号: 1000-8578(2002)06-0438-01

乳腺恶性淋巴瘤较为少见,占乳腺恶性肿瘤的 0.12% ~ 0.5%,占乳腺肉瘤的 10%。可发生在 18 ~ 52 岁,国外是 17 ~ 75 岁,平均 44 岁。现报道 1 例。

患者:女,47 岁。乳房包块伴疼痛 1 月。查:右乳房外下向限触及 3cm × 2cm 肿块,活动、质中、轻压痛。行右乳包块单纯切除术。术后送检标本:约 2cm × 1.5cm 肿物 1 个,有部分包膜,切面灰

黄、颗粒状、质韧。镜下:淋巴细胞样瘤细胞弥漫浸润乳腺小叶,侵及或包绕受压小导管,使其减少,甚至消失。病理性核分裂易见。免疫组化标记:CK(-)、Vim(±)、LCA(+++)、CD20(++)、CD45RO(+)、CD3(-)。病理诊断:(右)乳腺非何杰金氏恶性淋巴瘤(B 细胞来源)。

讨论 乳腺恶性淋巴瘤少见,可以是单侧发病,也有约 1/4 双侧性。临床与预后:比瘤通常表现为乳腺肿块,生长较快,

偶而伴有发热、触痛等症状,而较突出的症状是肿块上方皮肤呈青紫色。多数病例的病变首先局限于乳腺内,后发展为播散性病变致患者死亡。患者身体他处可能已累及,乳腺内病变实际为全身性恶性淋巴瘤的一部分。本例详细检查了身体其他各部位均无异常,亦未发现浅表肿大淋巴结。因此,诊断为乳腺原发性恶性淋巴瘤。对于病变尚局限于乳腺内的病例,目前一般采取扩大乳腺切除术或根治乳腺切除术,行化学药物治疗或辅以局部放疗。有人认为单纯乳腺切除术也可获得同样效果,亦有人认为淋巴瘤的预后与其发生部位有关。发生于淋巴结以外者比发生于淋巴结内者好,但淋巴结外淋巴瘤一旦有了播散,其存活率则比相应类型的淋巴结内淋巴瘤低。但也有人认为,乳腺内的病变范围、腋淋巴结受累与否和采用的治疗方法似乎与患者预后无关。甚至还有人发现患者的存活率与淋巴瘤组织类型也无关系。总之,乳腺原发性恶性淋巴瘤患者的预后难以预测。

(刘红武校对)

收稿日期:2002-01-15; 修回日期:2002-09-18

作者单位:653100 云南玉溪市医院病理科