

[文章编号] 1000-2200(2005)04-0291-02

胆囊癌组织端粒酶活性的检测及其意义

刘会春, 鲁贻民, 谈 炎

[摘要] 目的: 探讨胆囊癌组织中端粒酶活性表达及意义。方法: 采用 TRAP-PAGE 银染法检测 22 例胆囊癌及 28 例慢性胆囊炎新鲜组织中端粒酶活性。结果: 28 例慢性胆囊炎组织中, 无端粒酶活性阳性表达; 22 例胆囊癌组织中, 端粒酶活性表达阳性者 18 例, 阳性率为 81.8%, 两者差异有显著性 ($P < 0.005$)。端粒酶活性表达与胆囊癌的分化程度及淋巴结转移均无关 ($P > 0.05$)。结论: 检测端粒酶活性对胆囊癌诊断有一定参考价值。

[关键词] 胆囊肿瘤; 端粒酶; 胆囊炎

[中国图书资料分类法分类号] R 735.8 [文献标识码] A

Telomerase activity detection in gallbladder carcinoma and its significance

LIU Hui-chun, LU Yi-min, TAN Yi

(Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu 233004, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the significance of the expression of telomerase in chronic cholecystitis and gallbladder carcinoma. **Methods:** The telomerase activity in 22 cases of gallbladder carcinoma and 28 cases of chronic cholecystitis was measured. **Results:** The positive expression rate of telomerase in the cases with gallbladder carcinoma was 81.8%, but no positive reaction was detected in the cases with chronic cholecystitis. The difference was significant ($P < 0.005$). Telomerase activity was not obviously correlated with the differentiation and lymphatic metastasis of gallbladder carcinoma ($P > 0.05$). **Conclusions:** Detecting the activity of telomerase is of reference value for the diagnosis of gallbladder carcinoma.

[Key words] gallbladder neoplasms; telomerase; cholecystitis

胆囊癌是胆道系统常见的恶性肿瘤, 其发病隐匿, 恶性程度高, 多呈浸润性生长, 局部转移早, 缺乏特异性症状和有效诊断手段, 术前确诊率低, 根治切除率低, 复发率高, 预后差。因此, 寻找胆囊癌的有效诊断方法和治疗手段是提高此类患者生存率的重要措施。端粒酶是一核糖核蛋白体, 主要由 RNA 和蛋白质组成, 具有逆转录酶活性。它能以自身的 RNA 组分为模板, 从头合成端粒, 以补偿细胞分裂时染色体端粒的缩短, 使细胞获得永生。在高等生物细胞中, 只有极少数正常体细胞存在端粒酶活性微弱表达, 而恶性肿瘤细胞中端粒酶大多被激活。国内外大量研究证明, 端粒酶在肝癌、结肠癌及胃癌的早期诊断、确定微转移及判断预后等方面起重要作用^[1], 但其在胆囊癌及慢性胆囊炎组织中的表达情况研究较少。我们采用 TRAP-PAGE 银染法检测 22 例胆囊癌及 28 例慢性胆囊炎新鲜组织中端粒酶活性, 以探讨端粒酶活性检测在胆囊癌诊断中的意义。

1 材料与方法

1.1 标本来源 选取 2002~2004 年我院经手术切除且经术后病理证实的 22 例胆囊癌及 28 例慢性胆囊炎新鲜组织标本行端粒酶活性检测。胆囊癌组织中高分化 2 例, 中分化 9 例, 低分化 11 例。有淋巴结转移 17 例, 无转移 5 例。按 Nevin 临床分期, 22 例胆囊癌均为中、晚期病例。

1.2 实验方法 端粒酶活性检测采用 TRAP-PAGE 银染法。试剂: 端粒酶活性检测试剂盒购自 Roche 公司; 丙烯酰胺、N,N'-亚甲基丙烯酰胺、TEMED 购自华美公司; 硝酸银购自上海生物工程技术服务有限公司。标本处理: 取胆囊癌及慢性胆囊炎新鲜组织标本 50~100 mg, 使用手术刀及眼科剪将组织块剪碎后研磨至匀浆状。裂解、孵育、扩增、电泳、银染均严格按说明书进行。端粒酶活性阳性为出现相隔 6 个 bp 的梯形条带。

1.3 统计学方法 采用 χ^2 检验、四格表确切概率法和秩和检验。

2 结果

2.1 良、恶性胆囊组织中端粒酶表达 慢性胆囊炎组织中无端粒酶活性阳性表达; 胆囊癌组织中端粒

[收稿日期] 2004-12-12

[基金项目] 安徽省教育厅自然科学研究资助项目(2002kj228zc)

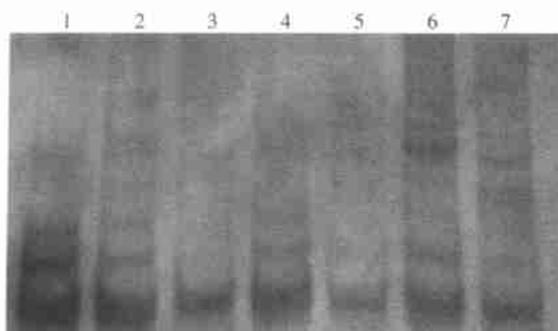
[作者单位] 蚌埠医学院附属医院 肝胆外科, 安徽 蚌埠 233004

[作者简介] 刘会春(1964—), 男, 安徽舒城县人, 主任医师, 副教授, 硕士生导师, 研究方向: 肝胆外科基础与临床。

酶活性表达阳性率为 81.8%，两者差异有显著性 ($P < 0.005$) (见表 1, 图 1)。

表 1 良、恶性胆囊组织中端粒酶活性表达

分组	端粒酶活性		合计	阳性率 (%)	χ^2	P
	阳性	阴性				
慢性胆囊炎	0	28	28	0.0		
胆囊癌	18	4	22	81.8	35.80	< 0.005
合计	18	32	50	36.0		



1, 2, 4, 5 为胆囊癌, 3 为慢性胆囊炎, 6, 7 为阳性对照

图 1 端粒酶活性检测电泳、银染情况

2.2 肿瘤分化与端粒酶活性表达的关系 在高分化、中分化、低分化的胆囊癌组织中端粒酶活性表达阳性差异无显著性 ($P > 0.05$) (见表 2)。

表 2 胆囊癌分化与端粒酶活性表达的关系

肿瘤分化	端粒酶活性		合计	阳性率 (%)	Hc	P
	阳性	阴性				
高分化	1	1	2	1/2		
中分化	7	2	9	7/9	1.98	> 0.005
低分化	10	1	11	90.9		
合计	18	4	22	81.8		

2.3 肿瘤淋巴结转移与端粒酶活性表达的关系 有淋巴结转移和无淋巴结转移的胆囊癌组织中端粒酶活性表达阳性差异无显著性 ($P > 0.05$) (见表 3)。

表 3 肿瘤淋巴结转移与端粒酶活性表达的关系

淋巴结转移	端粒酶活性		合计	阳性率 (%)	P
	阳性	阴性			
有	15	2	17	88.2	
无	3	2	5	3/5	0.210
合计	18	4	22	81.8	

3 讨论

有关端粒酶活性在恶性肿瘤早期诊断中的意义, 国内、外学者已进行了较多研究, 并取得了一些成果。Breslow 等^[2]报道, 在结肠、肺及头颈部肿瘤

中, 约半数癌前期病变及全部原位癌组织中出现端粒酶活性, 但其活性明显低于对应的浸润癌, 而在正常组织及癌旁组织未检出端粒酶活性^[2]。胆囊癌及慢性胆囊炎组织中端粒酶活性检测的意义近年也有报道^[3~5]。

本实验采用 PCR-TRAP 银染技术检测 22 例胆囊癌和 28 例慢性胆囊炎组织中端粒酶活性, 结果显示, 22 例胆囊癌组织中, 有 18 例阳性, 阳性率为 81.8%, 与文献报道接近^[3, 5], 也与其他恶性肿瘤组织如乳腺癌、胃癌、肝癌及大肠癌等相似^[9], 而 28 例慢性胆囊炎组织中均无端粒酶活性阳性表达, 这提示检测端粒酶活性对胆囊癌诊断有一定帮助。

有关端粒酶活性与恶性肿瘤生物学行为之间的关系, 普遍认为在多种恶性肿瘤中端粒酶活性与分化、浸润深度及转移有关^[7, 8]。本实验对端粒酶活性和胆囊癌的分化程度及淋巴结转移情况进行分析。结果显示, 端粒酶活性与两者无显著关系。这一结果与文献报道不相一致^[3, 5], 原因可能与本组病例数较少, 尤其是高分化癌例数少、无淋巴结转移的病例数少有关, 也可能与胆囊癌本身的生物学行为——易发生浸润、转移有关。

由于时间和标本来源的限制, 本实验所用胆囊癌组织标本基本都是中晚期浸润癌, 缺少早期原位癌和胆囊腺瘤标本。因此, 检测端粒酶活性在胆囊癌早期诊断上的意义仍需增加样本量, 尤其是胆囊原位癌和癌前期病变的例数, 以做进一步研究。

[参 考 文 献]

- [1] 林瑶光. 端粒、端粒酶与消化系肿瘤[J]. 临床消化病杂志, 2000, 12(5): 236~238.
- [2] Breslow RA, Shay JW, Graudar AF, et al. Telomerase and early detection of cancer: A National Cancer Institute Workshop[J]. J Natl Cancer Inst, 1997, 89(9): 618~623.
- [3] 许元鸿, 郭仁宣, 何三光, 等. 端粒酶和 p16、RB 基因及增殖细胞核抗原与原发性胆囊癌的关系[J]. 中华医学杂志, 2001, 81(3): 178~179.
- [4] 许元鸿, 郭仁宣, 何三光, 等. 端粒酶、p16、RB 与原发胆囊癌发生和发展的关系[J]. 中华外科杂志, 2000, 38(12): 947.
- [5] 陈壬寅. 端粒酶、p21、p53 与原发胆囊癌关系[J]. 中国误诊学杂志, 2002, 2(11): 1624~1625.
- [6] Tatsumoto N, Hiyama E, Murakami Y, et al. High telomerase activity is an independent prognostic indicator of poor outcome in colorectal cancer[J]. Clin Cancer Res, 2000, 6(7): 2696~2701.
- [7] 余立群, 高艳, 方春华, 等. 端粒酶活性与胃癌关系的临床病理研究[J]. 华中科技大学学报(医学版), 2003, 32(4): 406~408.
- [8] 杨丽萍, 张舒林, 高三友等. 食管癌组织端粒酶活性检测的意义[J]. 肿瘤防治研究, 2002, 29(4): 283~284.