

caspase-3、Ki-67 在膀胱移行细胞癌中的表达及临床意义

韩 锋,李庆文,张青川,张家俊

[摘要] 目的:探讨凋亡同胱氨酸蛋白-3(caspase-3)、增殖细胞核抗原 Ki-67 在膀胱移行细胞癌(bladder transitional cell carcinomas, BTCC)的表达及其与肿瘤分级、分期之间的关系。**方法:**采用免疫组织化学 SP 法,对 55 例 BTCC 和 10 例正常膀胱黏膜 caspase-3 和 Ki-67 的表达进行检测,分析两者在膀胱癌组织和非膀胱癌组织中的表达及表达水平与 BTCC 病理学分级、临床分期的关系。**结果:**caspase-3 在正常膀胱黏膜中的阳性表达率为 90.0%,膀胱癌组织中的阳性表达率为 47.3%,两者阳性表达率差异有统计学意义($P < 0.05$),同时发现 caspase-3 的阳性表达率随膀胱癌的组织分化程度的降低而表现出下降的趋势,差异有统计学意义($P < 0.05$)。Ki-67 在正常膀胱黏膜中没有发现阳性表达病例,在膀胱癌中的阳性表达率为 52.7%,差异有统计学意义($P < 0.01$),Ki-67 的阳性表达率随肿瘤组织分化程度的降低和临床分期的增高表现出上升趋势,且差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论:**caspase-3 参与了 BTCC 的发生过程,可以作为评价 BTCC 侵袭性的一个指标。Ki-67 的阳性表达率增高与 BTCC 的发生、发展可能有一定关系。

[关键词] 膀胱肿瘤; caspase-3; Ki-67; 免疫组织化学

[中国图书资料分类法分类号] R 737.14

[文献标识码] A

Expression and significance of caspase-3 and Ki-67 in bladder transitional cell carcinomas

HAN Feng, LI Qing-wen, ZHANG Qing-chuan, ZHANG Jia-jun

(Department of Urology, The First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233004, China)

[Abstract] Objective: To investigate the expression of caspase-3 protein and Ki-67 in bladder transitional cell carcinomas (BTCC) and its relationship with the grading and staging of the tumor. **Methods:** The expression of caspase-3 protein and Ki-67 in 55 cases of bladder transitional cell carcinomas and 10 cases of normal bladder mucosas were determined by immunohistochemistry (SP method). **Results:** The positive expression of caspase-3 in BTCC (47.3%) was significantly lower than that in normal bladder mucosas (90.0%). The expression level of caspase-3 was positively correlated with the histological grades of BTCC ($P < 0.05$). No positive expression of Ki-67 was observed in normal bladder mucosas, while it was 52.7% in BTCC ($P < 0.01$). The expression of Ki-67 was related positively with the histological grade and negatively with the tumor stage of BTCC ($P < 0.05$). **Conclusions:** Caspase-3 is closely correlated with the tumorigenesis of BTCC, and may act as a useful marker of invasion of BTCC. Increased expression of Ki-67 maybe related with the genesis and development of BTCC.

[Key words] bladder neoplasms; caspase-3; Ki-67; immunohistochemistry

膀胱移行细胞癌(bladder transitional cell carcinomas, BTCC)是我国泌尿系最常见的恶性肿瘤,在我国泌尿外科肿瘤的发生率和病死率均占第一位。大量研究表明,膀胱癌和其他肿瘤一样,其发生、发展也是一个细胞增殖的过程,涉及内容复杂,其中基因表达异常和细胞凋亡的失衡在膀胱癌发病中起重要作用,因此,检测膀胱癌的增殖活性和细胞凋亡的失衡对于判断其恶性程度、预见其生物学行为和选择适当的治疗方案都有着重要意义。门冬氨酸特异的胱氨酸蛋白酶-3(caspase-3)是凋亡过程中主要的酶切效应因子,对凋亡的完成起着至关重要的作用。细胞增殖核抗原 Ki-67 可准确反映细胞增殖的情况,从而反映出癌细胞的恶性行为。本研究旨在通过免疫组织化学方法检测 caspase-3 蛋白及

Ki-67 在 BTCC 组织中的表达情况,探讨它们表达的临床意义。

1 材料与方法

1.1 材料 蚌埠医学院病理学教研室 2005 年 4 月至 2007 年 4 月手术切除的膀胱肿瘤石蜡标本 55 例,经病理检查均证实为 BTCC,所选病例均为初发病例,且术前未进行化疗和(或)放疗。其中男 42 例,女 13 例;年龄 34 ~ 65 岁。按 1973 年 WHO 肿瘤病理分级标准^[1]: G1 15 例, G2 22 例, G3 18 例。临床分期: Tis ~ T1 为浅表性,共 27 例; T2 ~ T4 为浸润性,共 28 例。另外选择前列腺增生等非肿瘤患者的膀胱黏膜标本 10 例作为对照。标本经过 4% 多聚甲醛固定,石蜡标本 4 μm 厚连续切片,经 42 $^{\circ}\text{C}$ 烘烤备用。

1.2 方法 免疫组织化学 SP 法检测 caspase-3 及 Ki-67 在 BTCC 组织和非肿瘤患者的膀胱黏膜中的

[收稿日期] 2009-03-05

[作者单位] 蚌埠医学院第一附属医院 泌尿外科,安徽 蚌埠 233004

[作者简介] 韩 锋(1975 -),男,硕士,主治医师。

表达。caspase-3 兔抗人单克隆抗体、Ki-67 鼠抗人单克隆抗体、免疫组织化学试剂盒均购于北京中杉金桥生物技术公司。以已知的 caspase-3 和 Ki-67 阳性表达片作阳性对照,以 PBS 作阴性对照。

1.3 免疫组织化学染色结果判断 caspase-3 染色判断:胞质染为黄色至棕黄色者为阳性细胞,根据阳性细胞数所占百分率分 3 级,阳性细胞 < 10% 为阴性(-), > 10% 为阳性(+), > 30% 为强阳性(++)。Ki-67 染色判断:细胞核上有黄色至棕色颗粒着色为阳性标志,光镜下随机观察 5 个视野,计数高倍镜下每个高倍视野中平均阳性细胞数,阳性细胞百分比 < 10% 为(-), > 10% ~ 30% 为(+), > 30% 为(++)。



图 1 caspase-3 的染色结果
A: 在正常膀胱黏膜染色; B: 在 BTCC G1 中的染色; C: 在 BTCC G2 中的染色; D: 在 BTCC G3 中的染色

表 1 正常膀胱黏膜和 BTCC 中 caspase-3 表达结果比较(n)

分组	n	caspase-3			阳性率 (%)	u_c	P
		-	+	++			
正常膀胱黏膜	10	1	5	4	90.0	2.53	< 0.05
BTCC	55	29	17	9	47.3		
病理分级						6.80 [△]	< 0.05
G1	15	4	7	4	73.3		
G2	22	12	6	4	45.5		
G3	18	13	4	1	27.8		
临床分期						1.57	> 0.05
Tis ~ T1	27	12	8	7	55.6		
T2 ~ T4	28	17	9	2	39.3		

△示 Hc 值

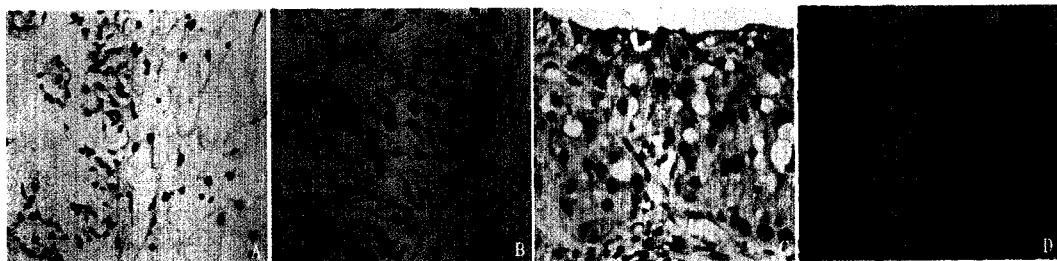


图 2 Ki-67 的染色结果
A: 在正常膀胱黏膜染色; B: 在 BTCC G1 中的染色; C: 在 BTCC G2 中的染色; D: 在 BTCC G3 中的染色

2.3 caspase-3 与 Ki-67 在 BTCC 中表达的相关性 caspase-3 和 Ki-67 在 BTCC 中的表达无相关关系 ($P > 0.05$) (见表 3)。

1.4 统计学方法 采用秩和检验和等级相关分析。

2 结果

2.1 caspase-3 在 BTCC 中的表达 caspase-3 阳性染色位于细胞质,表现为棕黄色或棕褐色。caspase-3 在 BTCC 中的阳性表达率为 47.3%,正常膀胱黏膜组织阳性表达率为 90.0%,差异有统计学意义 ($P < 0.05$); caspase-3 阳性表达率随组织分化程度的降低而降低,在 G1、G2、G3 BTCC 组织中的阳性表达率分别为 73.3%、45.5% 和 27.8%,三者差异有统计学意义 ($P < 0.05$); caspase-3 在浅表性和浸润性组织中阳性表达率分别为 55.6% 和 39.3%,差异无统计学意义 ($P > 0.05$) (见图 1、表 1)。

2.2 Ki-67 在 BTCC 中的表达 Ki-67 定位于细胞核, Ki-67 阳性染色表现为组织中胞核着色呈黄色至棕黄色。正常膀胱黏膜组织中未发现 Ki-67 的阳性表达, Ki-67 在 BTCC 中的阳性表达率为 52.7%,差异有统计学意义 ($P < 0.01$); Ki-67 的阳性表达率随着 BTCC 组织分化程度的降低而升高, G1、G2、G3 分别为 33.3%、45.5% 和 77.8%,三者差异有统计学意义 ($P < 0.05$); Ki-67 在浅表性和浸润性 BTCC 的阳性表达率分别为 37.0% 和 67.9%,差异有统计学意义 ($P < 0.05$) (见图 2、表 2)。

3 讨论

肿瘤发生、发展与多种因素有关,细胞凋亡的失衡是重要环节。caspase-3 是介导细胞凋亡的一类蛋白水解酶,是凋亡执行的关键效应分子,广泛表达

表 2 正常膀胱黏膜和 BTCC 中 Ki-67 表达结果比较 (n)

分组	n	Ki-67			阳性率 (%)	u_c	P
		-	+	++			
正常膀胱黏膜	10	10	0	0	0	2.92	<0.01
BTCC	55	26	16	13	52.7		
病理分级							
G1	15	10	4	1	33.3	9.06 ^Δ	<0.05
G2	22	12	6	4	45.5		
G3	18	4	6	8	77.8		
临床分期							
Tis ~ T1	27	17	6	4	37.0	2.24	<0.05
T2 ~ T4	28	9	10	9	67.9		

Δ 示 Hc 值

表 3 caspase-3 与 Ki-67 在 BTCC 中表达的相关性

caspase-3	Ki-67		合计	r_s	P
	+	-			
+	13	13	26	-0.052	>0.05
-	16	13	29		
合计	29	26	55		

于正常人体组织及多种肿瘤组织中。Hasegawa 等^[2]在研究壳聚糖对膀胱癌细胞生长的抑制作用时发现,壳聚糖处理过的癌细胞内 caspase-3 活性增强,并观察到凋亡标志——DNA 碎裂。Hoshi 等^[3]研究 caspase-3 在胃癌组织中的表达情况后,发现癌旁正常组织 caspase-3 的阳性表达率显著高于胃癌和非典型增生, caspase-3 在胃癌中的表达与胃癌的分化程度有关。Jonges 等^[4]用 SP 法检测正常结直肠黏膜和腺癌的 caspase-3 阳性表达率,结果腺癌与正常结直肠黏膜比较, caspase-3 的表达有明显差异,且 caspase-3 表达与结直肠癌组织学类型和 Dukes 分期无关,而与组织学分级有明显相关性,从而揭示 caspase-3 在结直肠癌的发生、发展过程中起主要作用。本研究从蛋白表达水平上初步检测了 BTCC 和正常膀胱黏膜组织中 caspase-3 的表达,结果表明,在正常膀胱黏膜组织中 caspase-3 阳性表达强度多为中度阳性和强阳性,说明 caspase-3 可能参与了正常膀胱黏膜组织的生理活动,对维持其正常功能非常重要。与正常膀胱黏膜组织相比,膀胱癌组织的 caspase-3 表达明显下调,这可能与 caspase-3 的丧失能抑制肿瘤细胞的凋亡、促进肿瘤细胞的生长有关,提示 caspase-3 表达下调参与了膀胱癌的发生过程。同时 caspase-3 在分化差的膀胱癌组织中表达明显下降,说明是肿瘤异常分化所致, caspase-3 参与了细胞凋亡失衡的过程。并提示癌细胞分化程度高,细胞凋亡调控机制障碍程度轻,反之亦然。

Burton 等^[5]研究认为膀胱癌的组织分化越差, caspase-3 的表达水平越低,且差别有统计学意义,可以作为肿瘤浸润标记,与本研究结果吻合。

Ki-67 作为一种增殖细胞核抗原,与细胞有丝分裂密切相关。它在 G1 后期开始出现,在 S 期和 G2 期逐渐升高, M 期达到高峰,有丝分裂后迅速降解消失,半衰期仅为 1 h 或更短,且不表达于 DNA 修复状态的细胞。研究表明, Ki-67 的表达与恶性肿瘤的组织学分级、临床分期呈显著正相关^[6-7]。本研究结果显示,在 BTCC 组织中 Ki-67 的阳性表达,与正常膀胱黏膜组织差异有统计学意义,说明正常黏膜上皮细胞处于增殖活性较低状态,而癌细胞的增殖活性处于较高状态,提示 Ki-67 可作为区分正常膀胱黏膜组织和恶性肿瘤组织的有效指标。同时,分化越低的肿瘤 Ki-67 阳性表达率越高,表明在 BTCC 发生的过程中癌细胞生长失调, DNA 合成紊乱,反映出癌细胞的恶性行为,说明 Ki-67 能较准确地反映 BTCC 的增殖和分化情况。另外,随着临床分级增加,即肌层浸润深度及淋巴结转移的增加, Ki-67 阳性表达率呈上升趋势,且均有统计学意义,提示增殖活性的改变与肿瘤的进展和侵袭转移过程有关。上述结果表明, Ki-67 的表达情况不仅能客观反映 BTCC 的增殖活性,并可能与癌细胞恶性进展、浸润性生长及发生转移的潜在危险性有关。

本研究发现,虽然 Ki-67 在 caspase-3 表达阳性的组织中的表达率低于在 caspase-3 表达阴性组织表达率,但差异无统计学意义,提示 caspase-3 在 BTCC 的发生、发展可能主要表现在细胞凋亡的异常,而与细胞增殖、细胞周期的调控异常关系不明显。但是由于两者之间存在功能上的内在相关性^[8],可以推测,联合检测 caspase-3 和 Ki-67 在 BTCC 的表达可以为其诊断提供一个新的途径。本实验 caspase-3 和 Ki-67 在 BTCC 中表达无相关关系,但由于样本量小,使研究受到一定限制,其意义尚需更多、更系统的研究证实。

[参 考 文 献]

- [1] Lopez-Beltran A, Montironi R. Non-invasive urothelial neoplasms; according to the most recent WHO Classification [J]. Eur Urol, 2004, 46(2): 170-176.
- [2] Hasegawa M, Yagi K, Iwakawa S, et al. Chitosan induces apoptosis via caspase-3 activation in bladder tumor cell [J]. Jpn J Cancer Res, 2001, 92(4): 459-466.
- [3] Hoshi T, Sasano H, Kato K, et al. Immunohistochemistry of Caspase-3/cpp32 in human stomach and its correlation with cell proliferation and apoptosis [J]. Anticancer Res, 1998, 18(6A): 4347-4353.
- [4] Jonges LE, Nagelkerke JF, Ensink NG, et al. Caspase-3 activity as a prognostic factor in colorectal carcinoma [J]. Lab Invest, 2001, 81(5): 681-688.

唐氏综合征发生与母亲年龄和环境因素的关系

廖亚平, 鲍明升, 李忠文, 吴涛, 唐宝定

[摘要] 目的:探讨唐氏综合征(Down's syndrom, DS)发生与母亲年龄和环境因素的关系。**方法:**常规外周血淋巴细胞培养, 染色体G显带核型分析。对DS患儿母亲年龄及其接触环境因素的情况进行分析。**结果:**145例患儿中出生时母亲年龄<35岁者126例(86.90%), 其母亲均不同程度接触过不同种类的物理、化学因素。**结论:**DS患儿的母亲年龄有年轻化趋势, 其发病与接触有害的环境因素有关。应加大优生优育环境因素重要性的宣传力度, 扩大产前筛查和产前诊断的年龄和地域范围。

[关键词] 唐氏综合征; 年龄; 环境

[中国图书资料分类法分类号] R 394

[文献标识码] A

Association of maternal age and environmental factors with the risk of delivering a child with Down's syndrome

LIAO Ya-ping, BAO Ming-sheng, LI Zhong-wen, WU Tao, TANG Bao-ding

(Department of Cell Biology, Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233030, China)

[Abstract] Objective: To investigate the association of maternal age and environmental factors with the risk of delivering a child with Down's syndrome (DS). **Methods:** The peripheral blood lymphocytes of the mother of the children with DS were cultured to prepare human G-banding chromosome examples for karyotype analysis, and the association of the maternal age and environmental factors with the risk of delivering a child with DS was analyzed. **Results:** One hundred and twenty-six of the 145 mothers of children with DS (86.90%) were below the age of 35. All the mothers had contacted with harmful physical or chemical factors to different degree before pregnancy. **Conclusions:** The age of the mother delivering a child with DS tends to be younger, which is probably due to the harmful environmental factors. Popularizing prepotency knowledge and enlarging the scope of prenatal screening and prenatal diagnosis may decrease the incidence of DS.

[Key words] Down's syndrome; age; environment

唐氏综合征(Down's syndrom, DS)又称21三体综合征或先天愚型,是发病率最高的常染色体病,新生儿发病率为1/600~1/800,平均在150次妊娠中有1次发生机会^[1]。该征的主要临床特征为智力低下,其发生与母亲年龄以及不良环境因子有关。本文就母亲年龄及其它可疑发病因素与DS关系作一探讨。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2000~2007年皖北地区经我室细

胞遗传学检查确诊的DS患儿145例,其中132例核型为47, XX(XY), +21; 6例嵌合体46, XX(XY)/47, XX(XY), +21; 罗伯逊易位型7例。男86例,女59例;年龄5天至10岁。来自农村94例,城市51例。生母资料齐全,患儿的表型、智力、发育等阳性体征以及患儿母亲的年龄、职业、孕产次、居住条件、家族史、有毒物质接触情况都有较详细的咨询记录。患儿父母也都有细胞遗传学检查记录。

1.2 分析方法 细胞遗传学检查采用目前国内普遍应用的外周血淋巴细胞培养法。常规制片和G带处理及油镜下计数与核型分析。每例计数30个中期分裂相,嵌合体加倍计数。核型分析系统采用美国VideoTessT-Karyo染色体核型分析系统。

2 结果

2.1 DS与母亲年龄的关系 145例患儿出生时母亲年龄≤20岁2人(1.38%), 21~25岁53人(36.55%),

[收稿日期] 2009-03-09

[基金项目] 安徽省高校省级自然科学基金资助项目(KJ2008B97ZC); 蚌埠医学院自然科学基金资助项目(BY0709)

[作者单位] 蚌埠医学院细胞生物学教研室,安徽蚌埠233030

[作者简介] 廖亚平(1977-),男,硕士,讲师。

[5] Burton PB, Anderson CJ, Corbishly CM. Caspase-3 and p27 as predictors of invasive bladder cancer[J]. N Engl J Med, 2000, 343(19):1418-1420.

[6] 李平, 黄昌明, 张祥福, 等. DeR3和Ki-67在胃癌的表达及临床意义[J]. 福建医科大学学报, 2004, 38(1):39-42.

[7] 林岷, 江忠清, 游彩玲, 等. Ki-67抗原在宫颈鳞癌的表达和临床意义[J]. 中国现代医学杂志, 2003, 13(12):9-11.

[8] 牛兆山, 纪祥瑞. 子宫内腺癌组织Ki-67蛋白和caspase-3表达及意义[J]. 齐鲁医学杂志, 2007, 22(6):209-214.