

- [3] Bata-Csorgo Z, Hammerberg C, Voorhees JJ, et al. Flow cytometric identification of proliferative subpopulation within normal human epidermis and the localization of the primary hyperproliferative population in psoriasis[J]. *J Exp Med*, 1993, 178(4):1271-1281.
- [4] 张远贵, 许伟石, 史济湘. 类肝素对大鼠深Ⅱ度烫伤创面愈合的影响[J]. *中华整形烧伤外科杂志*, 1998, 14(2):100-103.
- [5] Bingol-Kologlu M, Tanyel FC, Muftuoglu S, et al. The preventive effect of heparin on stricture formation after caustic esophageal burns[J]. *J Pediatr Surg*, 1999, 34(2):291-294.
- [6] 陈玉林, 方勇, 衣承东, 等. 细胞免疫与烧伤创面愈合的实验研究[J]. *中华整形烧伤外科杂志*, 1997, 13(5):326-329.
- [7] 黄康, 陈玉林. 创面愈合评价指标进展[J]. *中国修复重建外科杂志*, 2001, 15(2):126-129.
- [8] 吕洛, 魏少敏, 林惠芬, 等. 积雪草提取物对皮肤细胞生物学特征的影响[J]. *日用化学工业*, 2003, 33(1):19-21.
- [9] 崔文华, 刘光亮, 李尧宾, 等. 积雪草治疗烧伤的止痛、防瘢痕疗效观察[J]. *中国临床康复*, 2002, 6(6):839.
- [收稿日期] 2004-08-04 [修回日期] 2004-09-10
[本文编辑] 尹茶

• 临床研究 •

卵巢上皮癌组织及腹腔液中 CK7 mRNA 表达的意义

Expression of CK7 mRNA in epithelial tissue of ovarian neoplasm and in ascites

仲建新^{1*}, 张弘², 邓艳¹, 魏群², 史锦云¹, 施公胜³

(1. 南通医学院附属医院妇产科, 南通 226001; 2. 消化实验室; 3. 病理科)

[摘要] 目的: 探讨 CK7 mRNA 在检测卵巢上皮癌腹腔液微转移的价值。方法: 用 RT-PCR 法检测 39 例卵巢上皮癌组织及腹腔液中 CK7 mRNA 的表达, 腹腔液常规作细胞学检查; 同时检测 26 例良性卵巢上皮性肿瘤及 16 例正常卵巢组织及腹腔液作对照。结果: 癌组织及其腹腔液中的 CK7 mRNA 的阳性率分别为 100% 和 89.7%, 两者差异无显著性, 与腹腔液细胞学检查结果 (61.5%) 具有显著差异 ($P < 0.05$); I ~ II 期卵巢上皮性癌腹腔液的 CK7 mRNA 的阳性率为 84.6%, 明显高于其细胞学检查结果 (30.8%, $P < 0.05$) 及良性肿瘤组 (26.9%, $P < 0.01$); III ~ IV 期卵巢上皮性癌腹腔液的 CK7 mRNA 的阳性率为 92.3%, 高于其细胞学的阳性率 (76.9%, $P < 0.05$)。结论: 卵巢上皮癌腹腔液中 CK7 mRNA 的表达是检测腹腔液中癌细胞微转移的有效方法, 结合腹腔液的细胞学检查, 更有助于诊断。

[关键词] 卵巢肿瘤; 腹腔液; CK7 mRNA; 肿瘤转移

[中图分类号] R 737.31 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 0258-879X(2004)12-1387-03

由于现代医学的发展, 诸多恶性肿瘤的预后有了很大改善, 但卵巢癌由于易扩散、复发及缺乏有效的早期诊断方法, 近 20 年来 5 年生存率无明显提高。因此及早发现卵巢癌的微转移癌细胞, 对预防复发及转移, 指导临床治疗, 改善临床预后非常重要。本研究应用 RT-PCR 法, 检测正常卵巢、良、恶性卵巢上皮性肿瘤组织及腹腔液中 CK7 mRNA 的表达, 旨在寻找一种早期、特异、灵敏的诊断方法, 现报告如下。

1 材料和方法

1.1 研究对象 收集 2001 年 8 月至 2003 年 12 月在我科行卵巢肿瘤手术患者术后病理证实的新鲜标本及腹水或腹腔冲洗液。其中良性卵巢上皮性肿瘤 26 例, 包括浆液性囊腺瘤 18 例, 黏液性囊腺瘤 8 例; 卵巢上皮性癌 39 例, 浆液性囊腺癌 23 例, 黏液性囊腺癌 12 例, 子宫内膜样癌 3 例, 透明细胞癌 1 例。39 例卵巢上皮性癌按 FIGO 分期 I 期 9 例, II 期 4 例, III 期 16 例, IV 期 10 例。另收集 16 例正常卵巢组织及腹腔冲洗液。

1.2 标本的收集与保存 术中探查时取腹水 (或腹腔冲洗液) 200 ml, 3 000 r/min 离心; 取沉渣, 一半送细胞学检查, 另一半 -80℃ 冷冻保存。切取肿瘤组织约 40 g, 一半送病理学检查, 另一半 -80℃ 冷冻保存待用。子宫肌瘤手术时取部分卵巢组织及腹腔冲洗液作为对照。

1.3 RT-PCR 检测 CK7 mRNA 用天平分别称取正常卵巢、良、恶性卵巢肿瘤组织 50 mg, 腹腔液离心沉淀标本进行细胞计数, 调节细胞密度为 $10^6 \sim 10^7$ /ml。然后均采用 TRIzol 一步法抽提各标本的总 mRNA, 按说明书操作, 并于紫外分光光度计上检测其光密度值 (D)。结果显示 D_{260}/D_{280} 大于 1.80, 提示 RNA 的纯度良好。CK7 mRNA 基因引物序列参照文献 [1], 采用 Primer 3 软件设计, 引物序列为: CK7 正义 5'-CAC CAT GTC CAT CCA CTT CA-3', 反义 5'-CTT GAT CT GCT CGC TCT CCT-3', 每例标本均用管家基因 β -actin 作为内参照, 引物均由上海生物工程公司合成, RT-PCR 采用晶美生物工程有限公司 Robus TI RT-PCR 试剂盒, 按说明书操作。逆转录反应条件: 56℃ 45 min 逆转录合成 cDNA。PCR 反应条件: 预变性 94℃ 3 min; 变性 94℃ 30 s, 退火 55℃ 30 s, 延伸 72℃ 30 s, 循环 40 次; 最后 72℃ 延伸 5 min, 得到反应终产物。用 1.3% 琼脂糖凝胶电泳, 溴化乙锭染色, 紫外线灯下观察。

1.4 病理学检查 甲醛固定标本, 石蜡包埋切片, H-E 染色

[基金项目] 南通市科技局社会发展基金资助项目 (S1031)。

[作者简介] 仲建新 (1965-), 男 (汉族), 硕士, 副教授、副主任医师。

*Corresponding author. E-mail: ntzjx@pub.nt.jsinfo.net

检查。

1.5 细胞学检查 离心沉渣涂片后作 H-E 染色细胞学检查,涂片中找到癌细胞即为细胞学阳性。

1.6 统计学处理 STATA6.0 软件进行 Fisher 精确检验。

2 结果

2.1 CK7 mRNA 在正常卵巢组织及卵巢上皮肿瘤中的表达

2.1.1 正常卵巢组织及良、恶性卵巢上皮肿瘤组织及其腹腔液中 CK7 mRNA 的 RT-PCR 表达 紫外线灯下观察,CK7 mRNA 呈现出 292 bp 条带, β -actin 呈现出 491 bp 条带,卵巢上皮癌组织 CK7 mRNA 表达阳性,出现 2 个条带;良性卵巢上皮肿瘤组织及正常卵巢组织 CK7 mRNA 表达阴性,仅出现内对照条带(图 1)。恶性卵巢上皮肿瘤患者腹腔液中出现 CK7 mRNA 表达阳性,部分良性卵巢上皮肿瘤患者腹腔液中可出现 CK7 mRNA 表达阳性,而正常腹腔液组织中 CK7 mRNA 表达阴性(图 2)。

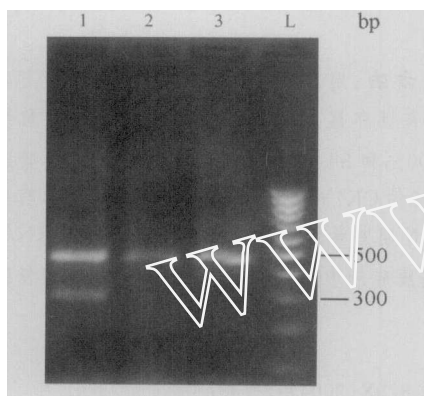


图 1 RT-PCR 检测正常卵巢、良、恶性卵巢上皮肿瘤组织 CK7 mRNA 的结果

1:卵巢上皮癌组织;2:良性卵巢上皮肿瘤组织;
3:正常卵巢组织;L:DNA ladder

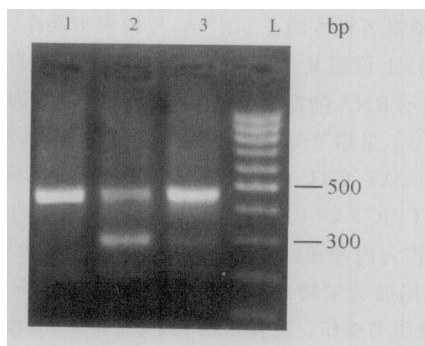


图 2 RT-PCR 检测正常卵巢、良、恶性卵巢上皮性肿瘤腹腔液中 CK7 mRNA 的结果

1:正常卵巢组织;2:良性卵巢上皮肿瘤组织;
3:卵巢上皮癌组织;L:DNA ladder

2.1.2 正常卵巢组织和良、恶性卵巢上皮性肿瘤组织及其腹腔液中 CK7 mRNA 阳性率的比较 CK7 mRNA 在正常卵巢、良、恶性卵巢上皮性肿瘤组织中的表达分别为 0、34.6%(9/26)、100%(39/39),有显著性差异($P < 0.01$);

CK7 mRNA 在正常卵巢、良、恶性卵巢上皮性肿瘤腹腔液中的表达分别为 0、26.9%(77/26)、89.7%(35/39),亦有显著性差异($P < 0.01$)。

2.2 恶性卵巢上皮性肿瘤腹腔液中的 CK7 mRNA 及细胞学检查结果 卵巢上皮性癌腹腔液的 CK7 mRNA 的阳性率为 89.7%(35/39),明显高于细胞学检测的阳性率 61.5%(24/39, $P < 0.05$);I~II 期卵巢上皮性癌腹腔液的 CK7 mRNA 的阳性率为 84.6%(11/13),高于细胞学的阳性率 30.8%(4/13),差别有显著性意义($P < 0.05$);III~IV 期卵巢上皮性癌腹腔液的 CK7 mRNA 的阳性率为 92.3%(24/26),高于细胞学的阳性率 76.9%(20/26),差别有显著性意义($P < 0.05$);I~II 期卵巢上皮性癌腹腔液的 CK7 mRNA 的阳性率低于 III~IV 期,但无统计学意义。

3 讨论

临床资料表明,肿瘤细胞在淋巴结、外周血、骨髓及体液中的微转移是导致肿瘤转移和复发的主要原因,检测肿瘤细胞的微转移,则是较早发现肿瘤转移,指导临床治疗的重要方法。由于微转移的肿瘤细胞致极少,现有的病理形态学及免疫组织化学法很难取得理想的检测结果。近由于 RT-PCR 技术的应用,大大提高了肿瘤微转移检测的敏感性和特异性,RT-PCR 检测肿瘤细胞是通过扩增肿瘤细胞“标志性”靶 RNA 来证实肿瘤细胞的存在^[2];卵巢恶性肿瘤,特别是卵巢上皮癌脱落或游离的癌细胞常常出现在腹水或腹腔冲洗液中,即使在早期病例亦然^[3],因此选择恰当的靶 RNA 是决定从卵巢上皮癌腹水或腹腔冲洗液中检出微转移癌细胞是否准确的重要因素。国内外学者应用免疫组化法对原发性及转移性卵巢腺癌的研究表明,CK7 在原发性卵巢腺癌中完全表达,而在结直肠癌转移至卵巢的组织中均不表达,因此,CK7 常作为原发性卵巢癌与转移性卵巢癌鉴别诊断的标志分子^[4,5]。

本实验应用灵敏度极高的 RT-PCR 法检测正常卵巢、良、恶性卵巢上皮性肿瘤组织 CK7 mRNA 的表达,结果表明 CK7 mRNA 在正常卵巢组织全部阴性,良性肿瘤组织中阳性率为 34.6%,而在恶性卵巢上皮性肿瘤组织中全部阳性。这与上述文献报道相近。因此 CK7 mRNA 可作为卵巢上皮癌的特异性标志物。关于卵巢正常组织向恶性组织转变过程中 CK7 表达模式如何转变尚待研究,但应该是一个渐变过程,本实验中阳性细胞出现在良性卵巢肿瘤中,似乎说明 CK7 在癌前期细胞中已开始表达,提示用 RT-PCR 法检测 CK7 mRNA 的表达,不仅可用于检测卵巢癌细胞,还可检测癌前期细胞,对卵巢癌及早筛查与预防起积极作用。

本研究结果表明 CK7 mRNA 的表达,无论是正常组、良性组还是恶性组,在腹腔液中的阳性率与手术标本的阳性率并无明显区别,与文献报道^[6]一致,这说明,CK7 mRNA 在腹腔液中的表达情况可间接反映其在组织中的表达情况,从而通过检测腹腔液中 CK7 mRNA 的表达,可较可靠地诊断卵巢上皮癌。

卵巢上皮癌腹水中 CK7 mRNA 的阳性率为 89.7%,与

文献报道^[6,7]一致,明显高于细胞学的 61.5%;在 23 例腹水细胞学阳性的病例中,CK7 mRNA 均为阳性;15 例腹水细胞学阴性的病例中,有 12 例 CK7 mRNA 阳性;另有 1 例腹水细胞学阳性,而 CK7 mRNA 阴性,可能与标本的保存时间较长有关,因为其 RNA 样本的管家基因亦未出现;同时 I~II 期卵巢上皮癌腹水中 CK7 mRNA 的阳性率为 84.6%,明显高于良性组的 30.8%及细胞学的 22.2%;并且 I~II 期卵巢上皮癌腹腔液的 CK7 mRNA 的阳性率为 84.6%,低于 III~IV 期 92.3%,虽无意义,但说明卵巢上皮性癌腹腔液中微转移癌细胞有随临床期别的进展而增加的趋势。本研究结果表明:用 RT-PCR 法检测 CK7 mRNA 在卵巢上皮癌腹水中的表达,能发现卵巢癌腹水中的微转移癌细胞,其灵敏度显著高于细胞学检查。总之,应用 RT-PCR 法在卵巢上皮性肿瘤腹水或腹腔冲洗液中测定 CK7 mRNA 的表达,检测腹水中的微转移癌细胞敏感性高,特异性强,方法简单易行,优于细胞学检查;两者结合,结果更准确,值得临床推广。

参考文献

[1] Rosenberg M, Fuchs E, Le Beau MM, et al. Three epidermal

and one simple epithelial type II keratin genes map to human chromosome 12[J]. *Cytogenet Cell Genet*, 1991, 57(1):33-38.

[2] Datta YH, Adams PT, Drobyski WR, et al. Sensitive detection of occult breast cancer by the reverse-transcriptase polymerase chain reaction[J]. *J Clin Oncol*, 1994, 12(3):475-482.

[3] 曹泽毅主编. 中华妇产科学[M]. 北京:人民卫生出版社, 1999. 1882-1889.

[4] Jang KY, Kang MJ, Lee DG, et al. Utility of thyroid transcription factor-1 and cytokeratin 7 and 20 immunostaining in the identification of origin in malignant effusions[J]. *Anal Quant Cytol Histol*, 2001, 23(6):400-404.

[5] Cathro HP, Stoler MH. Expression of cytokeratins 7 and 20 in ovarian neoplasia[J]. *Am J Clin Pathol*, 2002, 117(6):944-951.

[6] 黄啸, 范建玄, 蔡树模, 等. CK7 等单抗在鉴别原发与转移性卵巢癌腹水中的意义[J]. *中国癌症杂志*, 2000, 10(6):510-513.

[7] McCluggage WG, Anderson NH, Patterson A, et al. SM047 immunoreactivity in peritoneal fluids[J]. *Cytopathology*, 2003, 14(1):32-36.

[收稿日期] 2004-07-05

[修回日期] 2004-11-13

[本文编辑] 贾泽军, 邓晓群

• 临床研究 •

新辅助治疗对非小细胞肺癌手术及术后恢复的影响

Effect of neoadjuvant therapy on operation and post-operation recovery of patients with non-small cell lung cancer

滕雅民, 程培俊, 郑培莉 (上海市中西医结合医院胸外科, 上海 200082)

摘要 **目的:**了解新辅助治疗对非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)手术及术后恢复的影响。**方法:**本院 2000 年 1 月到 2003 年 7 月收治的 80 例 NSCLC 患者,随机分为常规手术组和新辅助治疗组各 40 例,新辅助治疗采用 CTX+DDP+ADM 方案,治疗后 3~4 周进行手术。比较两组手术切除情况及术后并发症、住院天数、胸管拔除时间。**结果:**新辅助治疗组手术全切切除率明显优于常规手术组($P<0.05$),但住院天数、拔除胸管时间、术后感染的发生率明显高于对照组($P<0.01$)。**结论:**新辅助治疗对于患者术后恢复存在一定的影响,明显延长了患者的恢复时间,增加了术后感染的发生可能。

关键词 癌, 非小细胞肺; 新辅助治疗; 手术后期间

[中图分类号] R 734.2

[文献标识码] B

[文章编号] 0258-879X(2004)12-1389-02

肺癌是一种严重危害人类健康的恶性肿瘤,其治疗主要采用以手术为主的综合治疗方式。新辅助治疗自 1994 年^[1]提出后,为临床上一些失去手术机会的中晚期肺癌患者带来了机会。新辅助治疗又称诱导化疗或术前化疗,指手术或放疗之前给予全身化疗,降低 III 期患者的病期,消除微小转移灶,能一定程度上减少术中和术后远处播散的机会,减少术后复发转移,延长生存期,并能最大限度地保存肺功能。但是,新辅助治疗对于手术及术后恢复的影响却未见较多具体报道。我们自 2000 年起便开展了对于 III 期非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)的新辅助治疗,并对此进行了临床对照研究,现报告如下。

1 资料和方法

1.1 临床资料 选择本院 2000 年 1 月到 2003 年 7 月收治

的 III 期 NSCLC 病例 80 例,男性 64 例,女性 16 例。年龄 52~76 岁,中位年龄 63 岁。参照 1997 年 UICC 的 TNM 分期标准^[2],其中 IIIa 期 47 例,IIIb 期 33 例。根据随机数字表随机分为常规手术组和新辅助治疗组,每组 40 例,两组在性别、年龄及病情分期等方面均无显著差异。

1.2 治疗方法 新辅助治疗组化疗方案采用 CTX 600~800 mg/m²、DDP 80~100 mg/m²、ADM 40~50 mg/m²,一次静脉给药。21 d 为 1 个周期,用药 2 个周期。化疗后经 3~4 周的间歇后手术。对照组为常规手术。术前常规留置导尿,手术采用全麻,根据肿瘤大小、浸润及转移情况进行根治性切除或姑息性切除,有远处转移、胸内病变范围过于广泛、全

[作者简介] 滕雅民(1955-),男(汉族),主治医师。