

文章编号:1005-6947(2006)10-0809-03

· 简要论著 ·

大肠癌患者血清及组织中组织蛋白酶-D活性测定的临床意义

邓联球^{1,2}, 王万川¹, 廖国庆¹

(1. 中南大学湘雅医院 普通外科, 湖南长沙 410008; 2. 湖南省洞口县人民医院 肿瘤外科, 湖南 洞口 422600)

摘要:为探讨组织蛋白酶-D(Cath-D)活性变化与大肠癌发生、发展及预后的关系,笔者检测了大肠癌、慢性结肠炎患者、正常人血清中Cath-D的活性及大肠癌患者手术前后大肠癌组织中Cath-D的活性。结果显示:(1)大肠癌患者癌组织Cath-D活性显著高于慢性结肠炎及正常人肠黏膜组织中的活性(均 $P < 0.01$),慢性结肠炎患者与正常人Cath-D活性比较差异无显著性($P > 0.05$)。(2)伴有淋巴结转移的大肠癌患者,组织中Cath-D活性显著高于不伴有淋巴结转移者($P < 0.05$)。(3)Duke C, D期大肠癌组织中的Cath-D的活性显著高于A, B期($P < 0.01$)。(4)大肠癌患者根治术后血清中Cath-D的活性明显低于术前($P < 0.01$)。结论:Cath-D活性的检测是预测大肠癌分化程度、肿瘤侵袭、转移、临床分期、预后的有效指标。

关键词:结直肠肿瘤/病理学;组织蛋白酶D/血液

中图分类号:R735.3

文献标识码:B

组织蛋白酶-D(Cath-D)是近年来发现的与恶性肿瘤侵袭和转移有关的溶酶体酸性蛋白酶,其活性高低可作为某些恶性肿瘤的预后指标^[1]。本文通过测定大肠癌、慢性结肠炎患者及正常人组织中Cath-D的活性和大肠癌患者手术前后血清Cath-D活性变化,以探讨其临床意义。

1 材料与方法

1.1 研究对象分组

1.1.1 结肠癌组 42例。男29例,女13例;年龄 50.8 ± 10.2 岁(34~67岁)。伴有淋巴结转移者20例。所有患者均行结肠癌根治术。术后病理证实Duke A期6例,B期14例,C期14例,D期8例。高分化腺癌31例,中分化腺癌7例,低分化腺癌4例。

1.1.2 慢性结肠炎组 35例。男19例,女16例;年龄 39 ± 8.1 岁(21~52岁);均为门诊病例,均经肠镜及活检证实诊断。

1.1.3 正常组(正常志愿者) 30例。男17例,女13例;年龄 45 ± 9.4 岁(22~62岁)。

1.2 标本收集

收集湘雅医院胃肠外科2004年6月—2005年6月住院的结肠癌42例,结肠癌患者于结肠癌根治术术前和术后10d分别采静脉血2mL于干燥试管中待测;收集同期门诊35例结肠炎患者静脉血2mL于干燥试管中待测;另取30名自愿者静脉血2mL。所有组织样本采集后,立即置超低温冰柜中保存待测。

1.3 主要试剂和仪器

纯牛脾组织蛋白酶-D、血红蛋白均为Sigma公司产品。冷冻高速离心机(20PR-520型)为日本HITACHI公司产品。紫外可见分光光度计(WFZ800-D2C型)为北京瑞利分析仪器公司产品。

1.4 实验方法

1.4.1 组织匀浆提取液的制备 组织样本经组织粉碎机粉碎后,冷冻高速离心(10 000g, 10min),吸取上清液。接着将上清液离心(10 000g, 30min),再吸取上清液,即为组织匀浆提取液。测其蛋白质浓度后,稀释至2mg/mL备用。

收稿日期:2006-08-15; 修订日期:2006-09-11。

作者简介:邓联球,男,湖南洞口人,中南大学湘雅医院主治医师,主要从事普通外科及肿瘤外科方面的研究。

通讯作者:廖国庆 E-mail:liaoqing@medmail.com.cn。

1.4.2 Cath-D 定量测定法^[1] 取蛋白质浓度为 2 mg/mL 的组织匀浆提取液 150 μ L 2 份,分别加入 pH3.5 的 1.0 mol/L 甲酸液 100 μ L 和 5% 血红蛋白 150 μ L,混合均匀,其中 1 份先加入 3% 醋酸 2 mL 终止反应,而后于 37 $^{\circ}$ C 水浴中温育 5 h,作为样本空白对照;另 1 份,先于 37 $^{\circ}$ C 水浴中温育 5 h,而后加入 3% 醋酸 2 mL 终止反应。然后,再取纯 Cath-D 液 150 μ L 及生理盐水 150 μ L 分别作为标准管及空白管,分别加入 pH3.5 的 1.0 mol/L 甲酸液 100 μ L 和 5% 血红蛋白 150 μ L,混合均匀,于 37 $^{\circ}$ C 水浴中温育 5 h,而后加入 3% 醋酸 2 mL 终止反应。离心 (1 000 g, 20 min),吸取上清液。在波长 280 nm 处测定各管的 OD 值,测定管 OD 值减去样本空白对照组的 OD 值,并在标准的纯牛脾 Cath-D 标准曲线上查对样本组织中的 Cath-D 活性。

1.5 统计学处理

采用 SPSS10.0 统计软件进行统计处理,所有结果均以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,各组间数据比较采用 *t* 检验; $P < 0.05$ 表明有统计学意义。

2 结果

2.1 各组组织样本 Cath-D 活性测定结果

大肠癌患者 Cath-D 活性明显高于慢性结肠炎组及正常组 ($P < 0.01$),慢性结肠炎组与正常组 Cath-D 活性比较,差异无显著性 ($P > 0.05$) (表 1)。

表 1 各组样本中 Cath-D 活性比较 (pmol/mg)

组别	例数	Cath-D
大肠癌	42	49.48 \pm 11.61
慢性结肠炎	30	33.41 \pm 6.11 [†]
正常人	35	30.57 \pm 4.15 [†]

注: \dagger 与结肠癌组比较, $P < 0.01$

2.2 大肠癌患者 Cath-D 活性与淋巴结转移的关系

大肠癌组伴有淋巴结转移者, Cath-D 活性明显高于不伴有淋巴结转移者 ($P < 0.05$) (表 2)。

表 2 大肠癌患者 Cath-D 活性与淋巴结转移的关系 (pmol/mg)

淋巴结转移	例数	Cath-D	<i>P</i> 值
有转移	20	56.09 \pm 14.93	<0.05
无转移	22	45.87 \pm 5.25	

2.3 大肠癌组织中 Cath-D 活性与临床分期的关系

Dukes (C + D) 期患者组织中 Cath-D 活性明显高于 Dukes (A + B) 期患者,两者差异有显著性 ($P < 0.01$) (表 3)。

表 3 大肠癌组织中 Cath-D 活性与临床分期的关系

Dukes 分期	例数	Cath-D	<i>P</i> 值
A + B	20	43.16 \pm 4.79	<0.01
C + D	22	55.65 \pm 15.17	

2.4 大肠癌患者手术前、后血清 Cath-D 活性比较

大肠癌患者手术后血清中 Cath-D 的活性明显低于手术前 ($P < 0.01$) (表 4)。

表 4 大肠癌患者手术前后血清 Cath-D 活性比较

组别	例数	Cath-D	<i>P</i> 值
术前	42	57.13 \pm 14.79	<0.01
术后	42	44.06 \pm 5.11	

3 讨论

Cath-D 是一种含天冬氨酸的蛋白酶,正常情况下存在于细胞溶酶体内,广泛地分布在不同的组织细胞和癌细胞中。因 Cath-D 对基底膜的多种组织成分如纤维黏连蛋白、层黏连蛋白、各种类型胶原、蛋白黏多糖的核心蛋白等均有降解破坏作用。研究提示, Cath-D 在肿瘤侵袭、转移中起重要作用^[2-3]。

本组实验结果显示,大肠癌患者 Cath-D 活性明显高于慢性结肠炎患者及正常人 (均 $P < 0.01$);慢性结肠炎患者与正常人 Cath-D 活性比较,差异无显著性 ($P > 0.05$)。伴有淋巴结转移者,大肠癌组织中 Cath-D 活性 (56.09 \pm 14.93) 明显高于不伴有淋巴结转移者^[4] ($P < 0.05$);Dukes (C + D) 期患者组织中 Cath-D 活性明显高于 Dukes (A + B) 期,差异有显著性 ($P < 0.01$)。上述结果提示: Cath-D 具有破坏细胞天然屏障的作用,其活性增高与大肠癌的分化程度、恶性程度、肿瘤侵袭、转移、临床分期和预后密切相关。

由于大肠癌的复发转移主要与癌细胞浸润至浆膜及在血管、淋巴管内形成癌栓有关,而 Cath-D 基因蛋白的异常表达可促进肿瘤细胞的增殖和肿

文章编号:1005-6947(2006)10-0811-04

· 简要论著 ·

胃肠道肿瘤患者围手术期肠内营养的应用及疗效分析

陈子华, 陈志康, 张其建, 葛杰, 袁伟杰, 黄波

(中南大学湘雅医院 普通外科, 湖南 长沙 410008)

摘要: 观察肠内营养(EN)和肠外营养(PN)支持对胃肠道肿瘤患者围手术期的影响和作用, 评价肠内营养支持的意义。方法 选择胃肠恶性肿瘤患者240例, 随机进入EN组和PN组(每组120例), 两组营养支持采用等热量、等氮量, 分别于营养支持前后观测营养状况指标, 临床指标和血生化指标。结果 两组患者手术前后营养状况指标、血生化指标无明显差异; 与PN组相比, EN组静脉炎的发生率较低, 肛门排气时间较短, 平均住院费用较低($P < 0.05$)。结论 与PN相比, EN在改善胃肠道肿瘤患者围手术期营养方面具有同等效果, 且较经济、简便, 是一种安全、有效的方法。

关键词: 肠内营养; 肠外营养; 胃肠肿瘤; 胃手术期

中图分类号: R735; R459.3

文献标识码: B

胃肠道肿瘤患者术前大多存在不同程度的营养不良, 而围手术期的营养支持对病人的术后恢复和术后综合征的治疗有重要意义。由于肿瘤治疗的时限性, 术前能完全纠正营养不良的可能性也不

大, 另外, 消化道肿瘤手术后往往都存在数目不等的胃、肠间的吻合、重建, 肠内营养对吻合口的愈合能力, 术后并发症的发生情况, 患者的耐受情况及病人恢复状况, 均是临床医生所必须考虑的。本文通过前瞻性、随机性的临床研究, 观察不同营养支持途径对改善患者术后营养状况和恢复的影响, 探讨围手术期肠内营养的可行性、可靠性及其临床疗效, 报告如下。

收稿日期: 2006-04-20; **修订日期:** 2006-08-16。

作者简介: 陈子华, 男, 湖南长沙人, 中南大学湘雅医院主任医师, 主要从事胃肠道疾病方面的研究。

通讯作者: 陈志康 E-mail: chen_zk74@hotmail.com。

瘤内血管、淋巴管的生成, 表明存在上述基因蛋白异常表达的癌细胞具有较强的浸润肠壁、血管、淋巴管的能力, 易引起术后的复发转移^[5-6]。本研究表明: 大肠癌患者行根治术后血清中Cath-D的活性明显低于手术前($P < 0.01$)。因此, 对此类患者, 术后动态监测血清中Cath-D的活性, 可能有利于早期发现肿瘤复发和/或转移。

参考文献:

- [1] Hawkins RA, Tesdale AL, Killen ME, *et al.* Prospective evaluation of prognostic factors in operable breast cancer[J]. *Br J Cancer*, 1996, 74(9):1469-1478.
- [2] Jorma I, Stephen W, Tapi V, *et al.* Cathepsin D expression detected by immunohistochemistry has independent prognostic value in axillary node-negative breast cancer[J]. *J Clin Oncol*, 1993,

11(1):36-39.

- [3] Matsuo K, Kobatashi L, Tsukuba T, *et al.* Immunohistochemical localization of cathepsin D and E in human gastric cancer: a possible correlation with local invasive and metastatic activities of carcinoma cells[J]. *Hum Pathol*, 1996, 27(2):184-190.
- [4] Gaci Z, Bouin-Pineau MH, Gaci M, *et al.* Prognostic impact of cathepsin D and cerbB-2 oncoprotein in a subgroup of node-negative breast cancer patients with low histological grade tumors[J]. *Int J Oncol*, 2001, 18(4):793-800.
- [5] Manuel Del Casar J, Vizoso FJ, Abdel-Laa Q, *et al.* Prognostic value of cytosolic cathepsin D content in respectable gastric cancer[J]. *J Surg Oncol*, 2004, 86(1):16-21.
- [6] Liaudet-Coopman E, Beaujoui M, Derocq D, *et al.* Cathepsin D: newly discovered functions of a long-standing aspartic protease in cancer and apoptosis[J]. *Cancer Lett*, 2006, 237(2):167-179.