

文章编号:1005-6947(2008)07-0721-04

· 简要论著 ·

# PDCD5 在肝癌组织中的表达及其临床意义

杨盛力, 陈孝平, 张万广, 刘利平, 梁慧芳, 任利

(华中科技大学同济医学院附属同济医院 肝脏外科中心, 湖北 武汉 430030)

**摘要:**目的 探讨 PDCD5 在肝癌组织中的表达及其临床意义。方法 采用免疫组化染色法检测 10 例正常肝组织和 30 例肝癌组织中 PDCD5 的表达。结果 PDCD5 在肝癌组织中低表达, 与肝癌大小、病理分级及有无门静脉癌栓无明显相关性(依次为  $t = 0.365, P = 0.718; r = 0.097, P = 0.611; t = 0.136, P = 0.893$ )。结论 PDCD5 在肝癌中低表达可能与肝癌的发生有关, 也可能是导致肝癌多药耐药的原因之一。

[中国普通外科杂志, 2008, 17(7): 721-724]

**关键词:** 肝肿瘤/病理学; PDCD5; TFAR19; 凋亡; 多药耐药

**中图分类号:** R 735.7

**文献标识码:** B

肿瘤的发生、发展与细胞的增殖、分化和凋亡密切相关, 细胞凋亡还与肿瘤的预后、耐药及治疗有密切的关系。TFAR19 (TF-1 cell apoptosis-related gene 19) 是北京大学人类疾病基因研究中心马大龙等<sup>[1]</sup> 从人白血病细胞株 TF-1 细胞中克隆所得的新凋亡相关基因, 国际人类基因命名委员会建议命名为 PDCD5 (programmed cell death 5), 是我国拥有自主知识产权的新功能基因。研究表明该基因在胃癌<sup>[2]</sup>、肾癌<sup>[3]</sup>、肺癌<sup>[4]</sup>、宫颈癌<sup>[5]</sup>、骨关节炎<sup>[6]</sup>、白血病<sup>[7]</sup> 等许多疾病中表达明显下降。本研究旨在探讨该基因在肝癌组织中的表达及临床意义。

## 1 材料和方法

### 1.1 标本及一般资料

(1) 肝癌组: 收集本院肝脏外科 2004—2007 年病理诊断为肝癌的存档石蜡病理标本 30 例。标本经 10% 福尔马林溶液固定, 常规石蜡包埋。本组男 24 例, 女 6 例; 平均年龄 45.2 (18~70) 岁。乙肝表面抗原阳性者占 63.3%。肝细胞肝癌 23 例, 胆管细胞癌 7 例, 所有患者术前未接受化疗、放疗及免疫治疗。(2) 对照组: 收集肝外

伤、肝血管瘤手术切除的正常肝脏标本 10 例作为对照, 本组男 6 例, 女 4 例; 平均年龄 36 (22~48) 岁。所有标本均经病理组织学检查证实。

### 1.2 免疫组化染色

鼠抗人 PDCD5 单克隆抗体 (浓度为 1.0 g/L) 由北京大学人类疾病基因中心陈英玉教授惠赠, 免疫组织化学试剂盒 SP-9002 购自北京中杉金桥技术有限公司。

将肝癌组织和正常肝组织的石蜡包埋切片脱蜡至水, 磷酸盐缓冲液 (PBS) 洗 10 min。采用 3% 的甲醇过氧化氢溶液孵育切片 10 min 以灭活内源性过氧化物酶, PBS 洗 2 min × 3 次。10 mmol/L Tris, 1 mmol/L EDTA, 置 pH 值为 9.0 的缓冲液中, 用微波 92~98 °C 抗原修复 20 min, 自然冷 30 min, PBS 洗 2 min × 3 次。滴加 10% 山羊血清封闭于 37 °C 1 h。弃去封闭液, 不洗, 滴加一抗 (PDCD5 单克隆抗体 1:200 稀释) 置 4 °C 冰箱过夜。复温, PBS 洗 2 min × 3 次。滴加生物素化二抗 (1:20 稀释的羊抗鼠 IgG-HRP) 37 °C 30 min, PBS 洗 2 min × 3 次。滴加辣根过氧化物酶标记的链霉亲和素孵育 20 min, PBS 洗 2 min × 3 次。加 DAB 镜下控制显色后用自来水中止反应, 苏木素复染, 脱水、透明、封片。采用 Nikon TE2000-U 显微镜观察结果。PBS 代替一抗为阴性对照。镜下以胞浆或胞核内有棕黄色颗粒为阳性。应用 HMIAS-2000 型全自动医学彩色图象分

收稿日期: 2008-01-03; 修订日期: 2008-05-13。

**作者简介:** 杨盛力, 男, 武汉同济医院硕士研究生, 主要从事肝胆外科方面的研究。

**通讯作者:** 杨盛力 E-mail: yangshengli1982@yahoo.com.cn

析系统进行定量处理:取固定光源检测强度,每张切片随机选取3个弥漫阳性的高倍视野( $\times 200$ ),每个视野测量总面积为 $75\ 734.1\ \mu\text{m}^2$ 。分别测得上述3个视野的吸光度值后取平均值。

### 1.3 统计学处理

连续正态分布变量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。正态分布资料中比较两组之间差异用 $t$ 检验,判断相关性用 Pearson 相关系数;非正态分布资料采用 Mann-Whitney 检验,判断相关性用 Spearman 等级相关及 Spearman 秩相关检验。所有数据以 SPSS10.0 进行统计学分析。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 PDCD5 在正常肝组织和肝癌组织中的表达

PDCD5 在正常肝组织和肝癌组织中均呈弥漫性分布,表达主要位于细胞浆。正常肝组织中 PDCD5 的表达明显高于肝癌组织中的表达(图1)。

### 2.2 PDCD5 的表达与肝癌临床病理特征的关系

PDCD5 的表达与肝癌的大小、病理分级、有无门静脉癌栓均无明显相关性(依次为  $t = 0.365$ ,  $P = 0.718$ ;  $r = 0.097$ ,  $P = 0.611$ ;  $t = 0.136$ ,  $P = 0.893$ ;  $P > 0.05$ )(表1)。

表1 PDCD5 的表达与肝癌临床病理特征的关系

临床参数	例数( $n$ )	PDCD5 吸光度值( $\bar{x} \pm s$ )	$t$ 或 $r$ 值	$P$ 值
年龄(岁)				
$\geq 50$	13	0.113 $\pm$ 0.031	0.753	0.458
$< 50$	17	0.122 $\pm$ 0.030		
性别				
男	24	0.120 $\pm$ 0.028	0.619	0.541
女	6	0.111 $\pm$ 0.040		
血清甲胎蛋白(ng/mL)				
$\leq 200$	18	0.119 $\pm$ 0.031	0.249	0.805
$> 200$	12	0.116 $\pm$ 0.030		
肿瘤直径(cm)				
$\geq 5$	20	0.117 $\pm$ 0.029	0.365	0.718
$< 5$	10	0.121 $\pm$ 0.034		
门静脉癌栓				
有	14	0.119 $\pm$ 0.032	0.136	0.893
无	16	0.117 $\pm$ 0.030		
HBsAg				
阳性	19	0.116 $\pm$ 0.032	0.399	0.639
阴性	11	0.121 $\pm$ 0.027		
肿瘤类型				
肝细胞癌	23	0.119 $\pm$ 0.030	0.326	0.747
胆管细胞癌	7	0.115 $\pm$ 0.033		
肿瘤病理分级				
高分化	10	0.116 $\pm$ 0.028	0.097	0.611
中分化	10	0.116 $\pm$ 0.023		
低分化	10	0.123 $\pm$ 0.040		

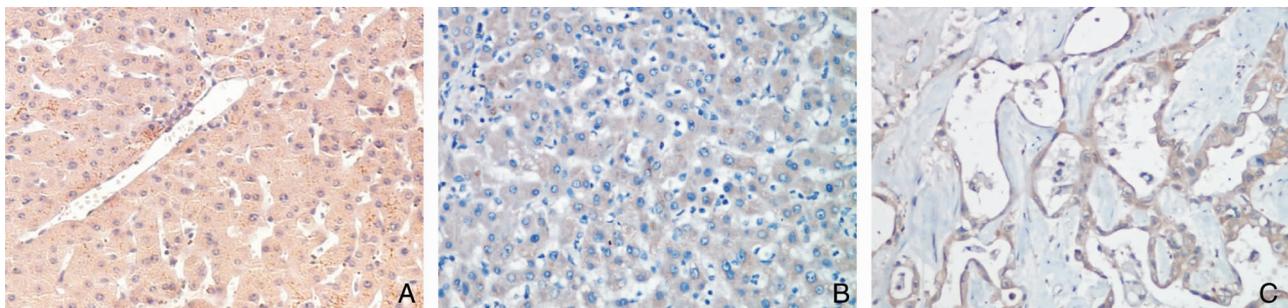


图1 PDCD5在正常肝组织和肝癌组织中的表达(SABC × 200) A:正常肝组织 PDCD5 高表达; B:肝细胞肝癌组织 PDCD5 低表达; C:胆管细胞癌组织 PDCD5 低表达

### 3 讨论

PDCD5 定位于染色体 19q12 ~ q1311, 由 6 个外显子和 5 个内含子组成, 编码 125 个氨基酸的蛋白质, 相对分子质量为  $1.4 \times 10^4$ , 等电点为 5.65, 与其他已知基因无同源性。PDCD5 的 mRNA 在 50 种人类组织中均有表达, 其中胚胎组织表达明显低于成年组织<sup>[1,8]</sup>。研究发现, PDCD5 能促进肿瘤细胞的凋亡和抑制细胞生长, 在细胞凋亡的早期高表达并能快速核转位, 早于细胞膜磷脂酰丝氨酸 (phosphatidylserine, PS) 的外翻和细胞核内 DNA 片段化, 与凋亡早期核染色质结构的功能紊乱密切相关<sup>[9]</sup>。腺病毒介导的 PDCD5 基因转染促进了依托泊苷诱导的 K562 细胞凋亡<sup>[10]</sup>; PDCD5 单克隆抗体导入 HeLa 细胞, 可抑制由足叶乙苷诱导的细胞凋亡<sup>[11]</sup>。这些都说明 PDCD5 在细胞凋亡的过程中发挥着重要作用。然而 PDCD5 促进细胞凋亡的机制迄今尚不明了。酶联免疫吸附试验 (ELISA) 证实 PDCD5 可结合活化的 caspase-3, 并且纯化的 PDCD5 重组蛋白可明显延长活化的 caspase-3 的体外半衰期, 提示 PDCD5 可能作为 caspase-3 正调控分子参与细胞凋亡<sup>[1]</sup>。重组 PDCD5 蛋白可以促进肝线粒体膜通透性转运孔的开放, 导致膜电位降低和细胞色素 C 的释放。这表明 PDCD5 可能通过线粒体损伤加速细胞凋亡<sup>[12]</sup>。

本研究结果显示, PDCD5 在肝癌组织中的表达明显低于正常肝组织。肝癌的发生具有多因素和多阶段的特点, 其中凋亡机制失活是其重要的发病机制之一。故认为, PDCD5 在肝癌组织中的低表达可能是肝癌产生的原因之一。进一步分析显示, PDCD5 的表达与肝癌的大小、病理分级、有无门静脉癌栓均无明显相关性。当然上述结论尚待通过增加样本数加以验证。目前对肝

癌多主张以手术为主的综合治疗。然而作为癌症治疗的三大主要手段之一的化疗, 对肝癌疗效有限的主要原因之一是多药耐药。肝癌耐药机制复杂多样, 除了耐药蛋白高表达以外<sup>[13-14]</sup>, 凋亡抑制途径异常是其原因之一<sup>[15]</sup>。李惠平等<sup>[16]</sup>研究发现人重组 PDCD5 蛋白对化疗药物羟基喜树碱诱导的肝癌细胞凋亡具有促进效应, 且有明确的量效关系。故推测 PDCD5 在肝癌组织中低表达可能是导致肝癌多药耐药的原因之一。

PDCD5 与肝癌的关系还待深入研究。这一举措有望丰富肝癌的产生机制, 为逆转肝癌多药耐药提供新的途径。

致谢: 非常感谢华中科技大学同济医学院公共卫生学院尹平教授对本文统计学方法和数据的审核。

#### 参考文献:

- [1] 马大龙. 新细胞因子及细胞凋亡基因的发现与功能研究[J]. 北京大学学报医学版, 2002, 34(5): 488 - 492.
- [2] Yang YH, Zhao M, Li WM, *et al.* Expression of programmed cell death 5 gene involves in regulation of apoptosis in gastric tumor cells [J]. *Apoptosis*, 2006, 11(6): 993 - 1001.
- [3] 谭万龙, 熊林, 郑少斌, 等. 肾透明细胞癌 PDCD5 表达及与预后的关系[J]. 南方医科大学学报, 2006, 26(9): 1316 - 1318.
- [4] Spinola M, Meyer P, Kammerer S, *et al.* Association of the PDCD5 locus with lung cancer risk and prognosis in smokers [J]. *J Clin Oncol*, 2006, 24(11): 1672 - 1678.
- [5] 刘朝晖, 张岱, 李克敏, 等. PDCD5 蛋白在正常宫颈、宫颈上皮内瘤样病变和宫颈癌中的表达[J]. 北京大学学报医学版, 2004, 36(4): 407 - 410.
- [6] Ruan GR, Qin YZ, Chen SS, *et al.* Abnormal expression of the programmed cell death 5 gene in acute and chronic myeloid leukemia [J]. *Leuk Res*, 2006, 30(9): 1159 - 1165.
- [7] Wang N, Lu HS, Guan ZP, *et al.* Involvement of PDCD5 in the regulation of apoptosis in fibroblast-like synoviocytes of rheumatoid arthritis [J]. *Apoptosis*, 2007, 12(8): 1433 - 1441.

文章编号:1005-6947(2008)07-0724-03

· 简要论著 ·

# 外科手术部位感染的目标性监测

龚瑞娥, 吴安华, 冯丽, 张凤林, 吕一欣, 王曼平

(中南大学湘雅医院 感染控制中心, 湖南 长沙 410008)

**摘要:**目的 探讨影响手术部位感染的相关因素。方法 确定监测手术类别,填写统一表格。由医院感染专职人员对手术患者切口情况进行观察,并在出院后1个月进行电话回访,了解手术切口愈合情况。结果 共调查2399例次手术患者,其中110例次手术部位发生感染,感染率为4.59%。不同手术类别相同危险指数的手术以结、直肠切除术和胆道手术的感染发生最高(10.16%,  $\chi^2 = 53.09$ ,  $P = 0.000$ )。同一类别手术,危险指数越高手术部位感染发生率越高( $\chi^2 = 6.13$ ,  $P = 0.044$ );候手术时间 $\geq 4$  d组手术部位的感染率高于1~3 d组( $\chi^2 = 11.27$ ,  $P = 0.004$ )。切口类型级别高者手术部位感染发生率也高,清洁及清洁-污染类型手术在出院后发生手术部位感染的几率高于其他切口类型手术;围手术期抗菌药物预防用药 $> 72$  h组的手术部位感染率高于 $\leq 48$  h组( $\chi^2 = 7.96$ ,  $P = 0.019$ )。结论 手术部位感染的发生与危险指数相关;缩短候手术时间能降低手术部位感染的发生;加强手术后追踪观察可了解感染发生的真实情况;围手术期长时间应用抗菌药物不仅不能有效预防术后感染反而还会增加感染的发生。

[中国普通外科杂志, 2008, 17(7): 724-726]

**关键词:** 外科伤口感染; 目标性监测; 手术后并发症/预防与控制

**中图分类号:** R 63 **文献标识码:** B

外科手术部位感染是医院感染监控的重点之一。为了解不同手术不同危险因素情况下手术部位的感染率,笔者等参照美国医院感染监测(National

Nosocomial Infections Surveillance, NNIS)的监测方法,结合卫生部感染控制合作项目(Infection Control Cooperation Programme, ICCP)的要求,对2006年6月15日—2007年6月30日在本院实施的6种手术患者的手术部位感染及相关因素进行目标性监测,并对上述患者出院后按要求进行回访。现将调查结果报告如下。

**收稿日期:**2008-03-11; **修订日期:**2008-06-10。

**作者简介:**龚瑞娥,女,中南大学湘雅医院主管护师,主要从事医院感染监控方面的研究。

**通讯作者:**龚瑞娥 E-mail:gre0729@126.com

- [8] Liu H, Wang Y, Zhang Y, et al. TFAR19, a novel apoptosis-related gene cloned from human leukemia cell line TF-1, could enhance apoptosis of some tumor cells induced by growth factor withdrawal [J]. Biochem Biophys Res Commun, 1999, 254(1): 203-210.
- [9] Chen Y, Sun R, Han W, et al. Nuclear translocation of PD-CD5 (TFAR19): an early signal for apoptosis? [J]. FEBS Lett, 2001, 509(2): 191-196.
- [10] 阮国瑞, 陈珊珊, 常艳, 等. 腺病毒介导 PDCD5 基因转移促进依托泊甙诱导的 K562 细胞凋亡[J]. 中国实验血液学杂志, 2007, 15(5): 936-940.
- [11] Rui M, Chen Y, Zhang Y, et al. Transfer of anti-TFAR19 monoclonal antibody into HeLa cells by in situ electroporation can inhibit the apoptosis [J]. Life Sci, 2002, 71(15): 1771-1778.
- [12] 田辉凯, 夏天, 蒋春笋, 等. TFAR19 促进小鼠线粒体膜通透性转运孔的开放[J]. 生物化学和生物物理学报, 2002, 34(3): 279-284.
- [13] 王百林, 杨海燕, 翟淑萍, 等. 多药耐药相关蛋白基因、肺耐药蛋白基因在肝细胞癌中的表达及临床意义[J]. 中国普通外科杂志, 2005, 14(2): 95-99.
- [14] 李高鹏, 叶露, 陈孝平. 多种功能的蛋白超家族——ABC 家族[J]. 中国普通外科杂志, 2007, 16(6): 581-583.
- [15] 金小顺, 耿小平, 朱立新. 肝癌多药耐药的研究进展[J]. 肝胆外科杂志, 2007, 15(3): 234-236.
- [16] 李惠平, 曹志敏, 邵玉霞, 等. 重组人 TFAR19 蛋白对羟基喜树碱诱导人 7721 肝癌细胞凋亡的增敏作用[J]. 北京医科大学学报, 2000, 32(5): 408-410.