

# 食管癌前病变中端粒酶的检测及意义

于会生,郑国升,孙金珍,郜群熬,许迎霞,刘红凌,李 华,任冬霞,李素敏,黄明周

于会生,郑国升,孙金珍,许迎霞,刘红凌,李华,第一人民医院消化内科  
河南省洛阳市 471002

郜群熬,李素敏,第一人民医院检验科 河南省洛阳市 471002

任冬霞,黄明周,第一人民医院病理科 河南省洛阳市 471002

河南省科委基金资助课题, No.203029

项目负责人:于会生,471002,河南省洛阳市第一人民医院消化内科.

lysdyrmmy@163.net

电话:0379-3998700

收稿日期:2002-10-08 接受日期:2002-10-18

## 摘要

目的:检测食管癌前病变组织端粒酶活性,结合病理细胞学检查,观察端粒酶活性改变对预后的影响.

方法:用以PCR为基础的端粒重复序列扩增法检测端粒酶活性.胃镜检查过程中发现可疑病变107例,活检留取组织标本,同时送病理细胞学和端粒酶检查.对癌前病变患者胃镜监督随访2 a.

结果:首次胃镜检查诊断食管癌36例,32例端粒酶阳性,癌前病变71例,13例端粒酶阳性,从食管慢性炎症 轻度非典型增生 中度非典型增生 重度非典型增生,各阶段端粒酶阳性率分别为6.1%(2/33),15.3%(2/13),33.3%(5/15),40%(4/10),中—重度非典型增生患者阳性率显著增高.对癌前病变患者随访过程中,8例拒绝随复查胃镜,1例移居外地,1例意外死亡,61例完成随访,12例端粒酶阳性患者5例癌变3例愈合,49例阴性患者2例癌变24例愈合,两组预后存在显著差异, $P=0.002$ .

结论:食管癌前病变中,部分端粒酶阳性,阳性率与组织分型相关.随访中绝大多数癌变患者表现为端粒酶阳性,端粒酶活性增加将标志食管癌的发生.

于会生,郑国升,孙金珍,郜群熬,许迎霞,刘红凌,李华,任冬霞,李素敏,黄明周. 食管癌前病变中端粒酶的检测及意义. 世界华人消化杂志 2003;11(3):342-343  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/342.htm>

## 0 引言

端粒酶是一种核糖核蛋白酶(ribonucleoprotein enzyme),能够合成端粒重复序列(TTAGGG)补充到染色体末端,稳定端粒的长度.端粒酶活性上调(up-regulation)与细胞永生、肿瘤发生密切相关<sup>[1-6]</sup>.我们采用以PCR为基础的端粒重复序列扩增法(PCR-TRAP)测定食管癌前病变中的端粒酶活性,并胃镜随访观察这组患者的临床转归.

## 1 材料和方法

1.1 材料 1999-11/2002-05 洛阳市第一人民医院胃镜

室检查食管黏膜可疑病变107例,男55例,女52例,年龄23-85(平均58.7).食管黏膜白斑1例,黏膜红斑8例,黏膜糜烂35例,黏膜溃疡(伴或不伴糜烂)25例,增生隆起(伴或不伴糜烂、溃疡)38例,其中34例伴有不同程度的食管狭窄.发现可疑病变当即经胃镜活检钳取第1,3块置30 g/L 甲醛液固定保存,送病理细胞学检查;第2,4块置PBS溶液保存,1 h内送端粒酶活性检测处理.端粒酶试验试剂盒由华美生物工程公司提供;PTC-51B型PCR循环仪;DDL-5冷冻离心机;SLT SPECTRA酶标仪等.

1.2 方法 采用PCR-TRAP法检测端粒酶活性<sup>[7]</sup>,组织样本(50 mg),PBS溶液洗1次,4 10 000 r/min离心1 min,沉淀再洗涤、离心,弃洗液,加裂解液,置冰浴30 min,4 14 000 r/min离心20 min,取上清2  $\mu$ L做PCR反应模板.在PCR反应管中各加入反应混合物45  $\mu$ L,混匀,加入液体石蜡30  $\mu$ L,离心数秒,置25 水浴30 min.取出即可在PCR仪上循环.循环结束后,各孔加入100  $\mu$ L杂交反应液B第1次反应,37 恒温反应60 min,洗板,加显色剂A,B各一滴,37 避光显色10 min,加终止液,在酶标仪上测得A值,判断端粒酶活性.存在癌前病变的患者都制定随访计划.按照病灶的内镜下表面和病理结果确定随访时间间隔.一般2-3 mo首次复查胃镜,之后6 mo复查1次胃镜.对于高度可疑食管癌的患者,短期复查(2-4 wk).

统计学处理 采用 $\chi^2$ 检验, $P<0.05$ 作为有显著意义的统计学标准.

## 2 结果

在病理科经专业医师对标本石蜡包埋、切片、HE染色,二位副主任医师以上职称的病理医师读片判断病理结果.诊断食管癌36例,其中鳞状细胞癌32例、腺癌2例、黏液细胞癌1例、未分化癌1例,早期癌5例、中晚期癌31例.诊断食管癌前病变71例,其中慢性炎症33例,慢性炎症伴轻度非典型增生13例,伴中度非典型增生15例,伴重度非典型增生10例.36例食管癌患者中,端粒酶阳性32例,阴性4例,阳性率88.9%.71例癌前病变患者中,端粒酶阳性13例,阴性58例,总的阳性率18.3%,癌前病变患者按病理组织分型端粒酶阳性率分别是:慢性炎症6.1%(2/33),轻度非典型增生15.4%(2/13),中度非典型增生33.3%(5/15),重度非典型增生40%(4/10).食管癌、重度非典型增生、中度非典型增生分别与慢性炎症相比有显著统计学差

异,  $P=0.001$ ,  $P=0.018$ ,  $P=0.022$ . 对癌前病变患者实行胃镜监督随访, 其中3例失去联系, 7例拒绝复查胃镜, 完成计划胃镜监督随访61例, 占89.7%, 其中端粒酶阳性12例, 阴性49例. 随访时间1-26 mo. 复查胃镜有27例完全恢复正常, 其中端粒酶阳性3例, 阴性24例; 有24例好转或无变化, 其中端粒酶阳性3例, 阴性21例; 病变加重3例, 其中端粒酶阳性1例, 阴性2例; 恶变7例, 其中端粒酶阳性5例, 阴性2例. 二组患者随访结果相比有显著性统计学差异,  $P=0.002$ . 在随访的头3 mo内有4例确诊为食管癌, 且均表现为端粒酶阳性.

### 3 讨论

端粒酶是一种特殊的DNA聚合酶, 端粒酶激活是细胞永生化的重要标志. 端粒酶活性在癌前病变中的研究已见很多报道<sup>[8-11]</sup>, 大多采用手术切除标本进行检查, 经胃镜活检对食管癌及癌前病变进行端粒酶活性检测国内未见文献报道. 我们采用活检标本, 用以PCR为基础的端粒重复序列扩增法检测食管癌及癌前病变中端粒酶的活性, 显示在食管癌、重度非典型增生、慢性炎症组织中端粒酶阳性率分别为88.9%、40%、6.1%. 这一结果与国内外文献<sup>[12-15]</sup>报道一致, 说明食管活检标本检测端粒酶活性的可行性. 癌前病变中检测端粒酶活性的主要目的在于观察端粒酶活性增加的患者是否增加癌变的危险, 活检标本检测方法对这一目标实现有重要价值<sup>[3,13,16]</sup>. 我们对检测的这部分癌前病变患者进行胃镜监督随访, 2 a多时间内12例阳性患者5例癌变, 而49例阴性患者仅2例癌变, 而且阳性患者仅个别患者病灶恢复, 阴性组多数患者病灶恢复正常, 二组比较存在显著统计学差异. Morales、Tahara对检测患者随访观察发现相似的结果<sup>[3,17]</sup>. 可以看出端粒酶活性检测能够对病灶预后提供更准确的信息, 是癌前病变判断预后的重要因素.

在癌前病变中端粒酶出现阳性是一个值得思考的问题. 采用原位杂交方法检测癌前病变中端粒酶逆转录酶(hTERT)mRNA的表达, 在组织切片上清晰看到从轻度到重度非典型增生组织, hTERT mRNA表达的范围增加、染色加重<sup>[3,10,12,18,19]</sup>. 现在认为细胞癌变是一个多因素多阶段复杂过程, 在致癌因素的作用下, 细胞内抑癌基因、致癌基因、细胞因子等一系列复杂变化使hTERT活性增加, hTERT是端粒酶活性的限速酶, 他的活性增加使端粒酶活性上调<sup>[3,5,6,20,21]</sup>. 我们通过对患者的随访观察客观看到端粒酶阳性的癌前病变患者癌变率高, 同时我们注意到少数端粒酶阳性患者经恰当处理后, 病灶逐渐愈合, 说明端粒酶活性增加是细胞异型性达到一定程度的结果, 符合端粒酶活性受多种因子调节的观点. 另一方面, 食管癌发生存在多点位、多中心起源<sup>[22]</sup>, 我们采用PCR-TRAP方法检测端粒酶

活性所采用的标本与病理检查不是同一块标本, 可能有肿瘤细胞隐伏其中而出现阳性结果. 因此对于端粒酶阳性的癌前病变患者必需严格随访.

### 4 参考文献

- 1 Shibuya K, Fujisawa T, Hoshino H, Baba M, Saitoh Y, Suzuki M, Hiroshima K, Ohwada H. Increased telomerase activity and elevated hTERT mRNA expression during multistage carcinogenesis of squamous cell carcinoma of the lung. *Cancer* 2001;92: 849-855
- 2 Lord RV, Salonga D, Danenberg KD, Peters JH, DeMeester TR, Park JM, Johansson J, Skinner KA, Chandrasoma P, DeMeester SR, Bremner CG, Tsai PI, Danenberg PV. Telomerase reverse transcriptase expression is increased early in the Barrett's metaplasia, dysplasia, adenocarcinoma sequence. *J Gastrointest Surg* 2000;4:135-142
- 3 王淑珍. 端粒酶与癌前病变. 中国肿瘤临床与康复 1999;6:84-85
- 4 Morales CP, Lee EL, Shay JW. In situ hybridization for the detection of telomerase RNA in the progression from Barrett's esophagus to esophageal adenocarcinoma. *Cancer* 1998;83:652-659
- 5 王伟, 刘俊平. 端粒酶和肿瘤. 世界华人消化杂志 2002;10:683-688
- 6 陈兵, 刘为纹, 房殿春. 端粒酶研究概况. 世界华人消化杂志 2001; 9:441-446
- 7 Kim NM, Piatyszek MA, Prowse KR, Harley CB, West MD, Ho PL. Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer. *Science* 1994;266:2011-2015
- 8 Lancelin F, Anidjar M, Villette JM, Soliman A, Teillac P, Le Duc A, Fiet J, Cussenot O. Telomerase activity as a potential marker in preneoplastic bladder lesion. *BJU Int* 2000;85:526
- 9 张玲, 张伟国, 刘正. 端粒酶端粒酶蛋白催化亚基(hTERT)mRNA在口腔鳞癌形成过程中的表达. 华西口腔医学杂志 1999;17:307-309
- 10 Koyanagi K, Ozawa S, Ando N, Mukai M, Kitagawa Y, Ueda M, Kitajima M. Telomerase activity as an indicator of malignant potential in iodine-nonreactive lesions of the esophagus. *Cancer* 2000;88:1524-1529
- 11 张登学, 张翠萍, 顾华丽, 唐晓燕, 刘海灵. 食管癌端粒酶活性的研究. 中华消化杂志 1999;19:300
- 12 张蕾, 温洪涛, 张云汉, 宋一民, 李靖若, 马冰. 食管黏膜不典型增生组织中端粒酶活性的定量及定性检测. 河南医科大学学报 2001;36: 531-532
- 13 Inai M, Kano M, Shimada Y, Sakurai T, Chiba T, Imamura M. Telomerase activity of the Lugol-stained and unstained squamous epithelia in the process of oesophageal carcinogenesis. *Br J Cancer* 2001;85:1006-1013
- 14 陈惠新, 凌红, 李韶光, 曾宏, 刘集鸿, 童志勇. 端粒酶在胃癌及癌前病变组织中的表达及其意义. 临床消化病杂志 2001;13:21-22
- 15 许争峰, 胡娅莉, 王迅美, 戴鲁琴, 韩克, 束泽宝. 端粒酶在宫颈癌及癌前病变活检标本中的表达及意义. 中国优生与遗传杂志 2000;8:24-39
- 16 杨仕明, 房殿春, 罗元辉, 鲁荣, 刘为纹. 胃癌及癌前组织中端粒酶活性的检测及其临床意义. 中华医学杂志 1998;78:207-209
- 17 Tahara H, Nakanishi T, Kitamoto M, Nakashio R, Shay JW, Tahara E, Kajiyama G, Lde T. Telomerase activity in human liver tissue: comparison between chronic liver disease and hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 1995;55:2734-2736
- 18 方向明, 于皆平, 罗和生. 大肠癌hTERT和P16表达与端粒酶活性的关系. 世界华人消化杂志 2002;10:12-14
- 19 王维, 罗和平, 余保平. 胃癌及癌前病变中hTERT基因和c-myc蛋白的表达意义. 世界华人消化杂志 2002;10:258-261
- 20 Yao XX, Yin L, Sun ZC. The expression of hTERT mRNA and cellular immunity in gastric cancer and precancerosis. *World J Gastroenterol* 2002;8:586-590
- 21 Nakayama J, Tahara H, Tahara E, Saito M, Ita K, Nakamura H, Nakanishi T, Tahara E, Ide T, Ishikawa F. Telomerase activation by hTERT in human normal fibroblasts and hepatocellular carcinomas. *Nat Genet* 1998;18:65
- 22 Kuwano H, Baba K, Ikebe M, Adachi Y, Toh Y, Sugunachi K. Histopathology of early esophageal carcinoma and squamous epithelial dysplasia. *Hepatogastroenterology* 1993;40:222-225