

食管癌及癌前病变组织中hTERT基因的表达

李娟, 王沁, 容渭德

李娟, 兰州医学院医学实验中心 甘肃省兰州市 730000
王沁, 兰州医学院第一附属医院消化科 甘肃省兰州市 730000
容渭德, 渭源县人民医院 甘肃省渭源县 748200
李娟, 女, 1973-04-06 生, 甘肃省渭源县人, 汉族, 1997 年兰州医学院本科毕业, 2003 年兰州医学院硕士研究生毕业, 现在兰州医学院医学实验中心从事医学科研工作。
项目负责人: 李娟, 730000, 甘肃省兰州市, 兰州医学院医学实验中心。
收稿日期: 2003-01-15 接受日期: 2003-02-18

Expressions of human telomerase reverse transcriptase gene in cancer and pre-cancer tissues of esophagus

Juan Li, Qin Wang, Wei-De Rong

Juan Li, Centre for Experimental Medicine, Lanzhou Medical College, Lanzhou 730000, Gansu Province, China
Qin Wang, Department of Gastroenterology, First Affiliated Hospital, Lanzhou Medical College, Lanzhou 730000, Gansu Province, China
Wei-De Rong, Weiyuan People's Hospital, Weiyuan 748200, Gansu Province, China
Correspondence to: Juan Li, Centre for Experimental Medicine, Lanzhou Medical College, Lanzhou 730000, Gansu Province, China.
Received: 2004-01-15 Accepted: 2004-02-18

Abstract

AIM: To investigate the expressions of human telomerase reverse transcriptase (hTERT) gene in cancer and pre-cancer tissues of esophagus and its relation with cellular proliferation antigen Ki-67 and to investigate the value of hTERT in early diagnosis for esophageal cancer as well as predication of prognosis.

METHODS: *In situ* hybridization was adopted to detect the expressions of hTERTmRNA in tissues of esophageal cancer (42 cases), atypical hyperplasia (37 cases), and normal esophagus (12 cases). Ki-67 antigen was detected by immunohistochemical methods.

RESULTS: The positive rates of hTERTmRNA in tissues of normal mucosa, atypical hyperplasia and cancers were 0.0%, 48.6%, and 83.3% while rates of Ki-67 antigen were 0%, 56.8%, and 88.1% respectively. The expressions of hTERTmRNA and Ki-67 were significantly increased in tissues of hyperplasia and cancer, compared with those in the normal tissues ($P < 0.01$); Expressions of hTERTmRNA and Ki-67 antigen between hyperplasia and cancer also had significant differences ($P < 0.01$). Expressions of hTERTmRNA and Ki-67 antigen significantly related to clinical staging of esophageal cancer and metastasis of lymph node ($P < 0.05$). Meanwhile, there was significant relation between expression of hTERTmRNA and Ki-67 antigen ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Over-expression of hTERT gene may play an important role during carcinogenesis and progression of esophageal cancer; Expression of hTERTmRNA is rela-

tive to cellular proliferating activity. The detection of hTERT will be helpful for early diagnosis and prognosis evaluation of esophageal cancer.

Li J, Wang Q, Rong WD. Expressions of human telomerase reverse transcriptase gene in cancer and pre-cancer tissues of esophagus. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2004;12(10):2280-2282

摘要

目的: 探讨肿瘤相关基因端粒酶逆转录酶(hTERT)基因在食管癌及癌前病变组织中的表达及与细胞增生核抗原Ki-67的关系; 探讨hTERT基因对食管癌早期诊断及食管癌预后判定的价值。

方法: 采用原位杂交法检测食管癌组织42例、不典型增生组织37例及正常食管组织12例中hTERTmRNA的表达; 用免疫组化S-P法检测Ki-67抗原表达。

结果: 在正常食管黏膜、不典型增生、食管癌组织中, hTERTmRNA的阳性表达率分别为0%, 48.6%, 83.3%; Ki-67抗原的阳性表达率分别为0%, 56.8%, 88.1%; 癌组织与不典型增生组织中hTERTmRNA与Ki-67抗原阳性表达率较正常食管黏膜差异有显著性($P < 0.01$); 癌组织中hTERTmRNA与Ki-67抗原阳性表达率较不典型增生组织差异有显著性($P < 0.01$); 食管癌组织中hTERTmRNA与Ki-67抗原表达与临床分期、淋巴结转移有关($P < 0.05$); 结果还显示hTERTmRNA和Ki-67抗原表达具有显著相关性($P < 0.05$)。

结论: 端粒酶逆转录酶基因的异常表达在食管癌的发生、发展过程中具有重要作用, hTERTmRNA的表达与细胞增殖活性有关; hTERT基因表达的检测有助于食管癌的早期诊断以及食管癌预后的判定。

李娟, 王沁, 容渭德. 食管癌及癌前病变组织中hTERT基因的表达. *世界华人消化杂志* 2004;12(10):2280-2282

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/2280.asp>

0 引言

端粒酶(Telomerase)是一种核糖核蛋白复合物, 具有逆转录酶活性, 能以自身的RNA为模板合成端粒重复序列, 从而维持染色体的稳定和完整。端粒酶是迄今发现的一种最为广泛和特异的肿瘤标志, 与细胞恶变、肿瘤的发生、发展密切相关^[1]。端粒酶由RNA成分(hTR)、端粒酶相关蛋白1(TP1)和端粒酶逆转录酶

(hTERT)组成, 近来研究发现, hTERT对端粒酶活性调节起重要作用^[2-3]. 我们采用原位杂交法检测hTERT基因在食管癌及癌前病变组织中的表达, 旨在探讨hTERT基因在食管癌发生、发展中的表达意义以及与细胞增生的关系.

1 材料和方法

1.1 材料 食管鳞癌组织 42 例(早期食管癌 9 例, 中晚期食管癌 33 例)、不典型增生组织 37 例(轻度不典型增生 15 例, 中度不典型增生 10 例, 重度不典型增生 12 例), 正常食管组织 12 例; 男 59 例, 女 32 例, 年龄 24-68(平均 47 岁), 患者术前未行任何放疗及化疗. 所有组织均经 40 g/L 甲醛固定, 常规石蜡包埋, 分别行 HE 染色及原位杂交 hTERTmRNA 和免疫组化 Ki-67 抗原检测.

1.2 方法 hTERTmRNA 检测采用原位杂交法, 试剂盒购自北京医科大学病理系, 为生物素标记的 hTERT-cRNA 探针. 以不加探针及 RNA 酶处理切片为空白对照. 切片要避免 Rnase 污染, 载玻片涂 APES 防脱胶, 4 μm 厚切片. Ki-67 抗原检测采用免疫组化法, 鼠抗人 Ki-67 单克隆抗体, S-P 试剂盒购自福州迈新公司. 以 PBS 代替一抗作为阴性对照, 用已知阳性切片作阳性对照. 阳性信号为棕黄色颗粒, 每组每份标本随机选 10 个视野 × 400, 分级: 阴性(细胞不显色); 弱阳性(+ 阳性细胞

数 < 25%); 阳性(++ 阳性细胞数 25-50%); 强阳性(+++ 阳性细胞数 > 50%).

统计学处理 采用 χ^2 检验、Bonferroni 法及 Fisher 精确概率法检验.

2 结果

2.1 hTERTmRNA 与 Ki-67 抗原的表达 正常食管黏膜组织中无 hTERTmRNA 及 Ki-67 抗原表达; 癌组织中 hTERTmRNA 阳性率为 83.3%, Ki-67 抗原阳性率为 88.1%, 多以阳性与强阳性表达为主; 不典型增生组织中 hTERTmRNA 阳性率为 48.6%, Ki-67 抗原阳性率为 56.8%, 多以弱阳性表达为主; 在食管上皮不典型增生组织中, 随不典型增生程度的增加, hTERTmRNA 与 Ki-67 抗原的表达有增高趋势, 在轻度不典型增生组织中 hTERTmRNA, Ki-67 抗原阳性表达率分别为 26.6% 和 40%; 在重度不典型增生组织中 hTERTmRNA, Ki-67 抗原阳性表达率分别为 66.7% 和 75.0%, 且以弱阳性表达为主. 癌组织与不典型增生组织中 hTERTmRNA 及 Ki-67 抗原阳性表达率较正常食管黏膜差异有显著性 ($P < 0.01$); 癌组织中 hTERTmRNA 及 Ki-67 抗原阳性表达率较不典型增生组织差异有显著性 ($P < 0.01$); 轻度不典型增生与重度不典型增生组织间两指标差异有显著性 ($P < 0.01$, 表 1).

表 1 不同食管病变组织中 hTERTmRNA 及 Ki-67 抗原表达情况

分组	n	hTERTmRNA				Ki-67 抗原			
		+	++	+++	合计 (%)	+	++	+++	合计 (%)
正常食管黏膜	12	0	0	0	0 (0.0)	0	0	0	0 (0.0)
不典型增生	37	9	6	3	18 (48.6) ^{bc}	10	7	4	21 (56.8) ^{bc}
轻度	15	4	0	0	4 (26.6) ^d	5	1	0	6 (40.0) ^d
中度	10	3	2	1	6 (60.0)	4	1	1	6 (60.0)
重度	12	2	4	2	8 (66.7)	2	4	3	9 (75.0)
食管癌	42	4	16	15	35 (83.3) ^b	4	15	18	37 (88.1) ^b

^b $P < 0.01$ vs 正常食管黏膜; ^d $P < 0.01$ vs 食管癌; ^c $P < 0.01$ vs 重度.

表 2 hTERTmRNA 与 Ki-67 抗原表达的相关性

hTERTmRNA	Ki-67 抗原		合计
	阳性	阴性	
阳性	50	3	53
阴性	8	30	38
合计	58	33	91

2.2 hTERTmRNA 及 Ki-67 抗原表达的相关性与临床病理的关系 根据患者年龄、性别、肿瘤部位、分化程度、有无淋巴结转移及临床分期进行分组分析, 结果示 hTERTmRNA 与 Ki-67 抗原表达与食管癌的临床分期、淋巴结转移有统计学意义 ($P < 0.05$), 而与其他食管癌临床病理特征无统计学意义 ($P > 0.05$) 在 53 例

hTERTmRNA 阳性的食管组织中有 50 例 Ki-67 抗原阳性, 而 hTERTmRNA 和 Ki-67 抗原均为阴性有 30 例, 经相关性分析: Ki-67 抗原与 hTERTmRNA 表达具有显著相关性 ($P < 0.05$, 表 2).

3 讨论

hTERT 对端粒酶活性调节起重要作用, hTERT 基因的表达与端粒酶活性密切相关, 提示 hTERT 是激活端粒酶的限速酶. 许多恶性肿瘤的发生、发展是一个多步骤、多阶段的过程, 我们发现正常食管黏膜组织中无 hTERTmRNA 的表达, 而不典型增生组织中及食管癌组织中均有 hTERTmRNA 的表达, 癌组织中 hTERTmRNA 的阳性表达率高于不典型增生组织, 多以阳性与强阳性表达

为主;在食管上皮不典型增生组织中,随不典型增生程度的增加,hTERTmRNA的表达有增高趋势,以上结果提示hTERTmRNA的表达上调发生于食管癌变过程的早期阶段,这与Lord *et al*^[4-5]的报道基本一致.因此对癌前病变进行hTERTmRNA的监测有助于食管癌的早期发现.关于端粒酶的活化是否与恶性肿瘤的临床病理因素和预后有关尚存争议.我们发现hTERTmRNA表达与食管癌的临床分期、淋巴结转移有关,此结果与苑昕 *et al*^[6-7]的研究相一致,提示:hTERT基因异常表达可能与肿瘤的演进一致,与肿瘤的生物学行为有一定关系.因此,我们认为端粒酶基因表达有望成为判定食管癌预后的分子生物学指标.

Ki-67抗原是存在于增生细胞核的一种非组蛋白性核蛋白,与细胞增生密切相关.Ki-67抗原在细胞周期的G₁、S、G₂、M期细胞核表达能很好的反映肿瘤增生活性.我们的结果表明,正常食管组织中Ki-67抗原无表达;随食管上皮不典型增生程度的增加,Ki-67抗原的表达逐渐增加,且以弱阳性表达为主;食管癌组织中Ki-67抗原表达显著高于不典型增生组织,以阳性及强阳性表达为主,具有较高增生活性.将91例食管组织中Ki-67抗原与hTERTmRNA表达情况进行分析发现,Ki-67抗原与hTERTmRNA表达具有显著相关性($r=0.975$, $P<0.05$),以上提示hTERTmRNA表达与细胞增生活性有关^[8].hTERT对端粒酶活性调节起重要作用,端粒酶能合成端粒序列使细胞无限增生,而细胞

无限分裂增生是细胞恶性转化的重要生物学特性.因此,认为端粒酶活化是细胞保持持续分裂增生的基础,与细胞的异常增生密切相关,在肿瘤的发生发展中起非常重要的作用.

4 参考文献

- 1 Hahn WC, Meyerson M. Telomerase activation, cellular immortalization and cancer. *Ann Med* 2001;33:123-129
- 2 Xu D, Erickson S, Szeps M, Gruber A, Sangfelt O, Einhorn S, Pisa P, Grandt D. Interferon alpha down-regulates telomerase reverse transcriptase and telomerase activity in human malignant and nonmalignant hematopoietic cells. *Blood* 2000;96:4313-4318
- 3 Du H, Xin XY, Wang J. Attenuation of telomerase activity by an antisense oligonucleotide against hTERT mRNA in ovarian cancer cells. *Disi Junyi Daxue Xuebao* 2000;21:366-368
- 4 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
- 5 Suzuki K, Kashimura H, Ohkawa J, Itabashi M, Watanabe T, Sawahata T, Nakahara A, Muto H, Tanaka N. expression of human telomerase catalytic subunit gene in cancerous and precancerous gastric conditions. *J Gastroenterol Hepatol* 2000;15:744-751
- 6 Yuan X, Zhang B, Ying JM, Jin YY, Hou L. Expression of telomerase genes in human tumors. *ZhongHua Binglixue Zazhi* 2000;29:16-19
- 7 Fu WJ, Shao GX, Jiang YD, Yan YN, Wang H, Chen BQ. Expression of human telomerase reverse transcriptase gene in bladder transitional cell carcinoma and its significance. *Disi Junyi Daxue Xuebao* 2001;22:1412-1415
- 8 Chou SJ, Chen CM, Harn HJ, Chen CJ, Liu YC. In situ detection of hTERT mRNA relates to Ki-67 labeling index in papillary thyroid carcinoma. *J Surg Res* 2001;99:75-83

世界华人消化杂志 2005年由月刊改为半月刊

本刊讯 中国科技期刊引证报告(2003年版):2002年度世界华人消化杂志总被引频次4151,影响因子1.926,即年指标0.424,他引总引比0.45,引用刊数173,扩散因子4.2,被引半衰期2.99,地区分布数26,机构数138,国际论文比0.03,基金论文比0.27.2002年度各学科影响因子较高的3种期刊排名:世界华人消化杂志影响因子1.926,临床医学排名第2位.2002年度总被引频次较高的20种期刊排名:世界华人消化杂志总被引频次4151,排名第1位.世界华人消化杂志被评为中国科技核心期刊,《中文核心期刊要目总览》2004年版内科学类的核心期刊,中国科技论文统计源期刊,2001年度第一届中国百种杰出学术期刊.世界华人消化杂志的英文摘要被美国《化学文摘》,荷兰《医学文摘库/医学文摘》,俄罗斯《文摘杂志》收录.为适应我国消化病学专业基础与临床研究的快速发展,从2005年开始,世界华人消化杂志将由月刊改为半月刊,大16开,160页,每月1,15日出版,50元/期,全年24期,邮发代号82-262,北京报刊发行局发行.(世界胃肠病学杂志2004-06-15)