

世界华人消化杂志

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2004 年 2 月 15 日 第 12 卷 第 2 期 (Volume 12 Number 2)



2/2004

名誉总编辑

潘伯荣

总编辑

马连生

世界华人消化杂志被评为中国科技核心期刊,
2003年百种中国杰出学术期刊,
《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.
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.

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2004 年 2 月 15 日 第 12 卷 第 2 期 (总第119期)

述 评	253 肝炎病毒蛋白对肝细胞基因组转录调节及信号转导机制的影响 成军
胃 癌	258 胃癌线粒体DNA拷贝量的变化 韩琤波, 李凡, 杨雪飞, 毛晓韵, 吴东瑛, 辛彦 262 胃癌前病变p21 ^{ras} , c-erbB-2, p53表达与中医证候的关系 胡玲, 劳绍贤 266 胃癌淋巴结转移预测的多因素分析 黄宝俊, 徐惠绵, 赵雨杰, 王天骄, 田大彤, 陈峻青
肝 癌	271 人鼠嵌合Fab抗体通用表达载体的构建和抗人肝癌相关抗原HAb18G嵌合Fab抗体的表达 邢金良, 杨向民, 张思河, 姚西英, 梁瑞安, 陈志南 276 肝癌细胞H ₂₂ 与树突状细胞杂交瘤苗的实验研究 张娟, 张锦堃, 卓少宏 280 肝细胞癌hOGG1 mRNA及其蛋白的表达 周秀敏, 林菊生, 章金艳, 张莉, 周鹤俊 283 小鼠AFP-CTLA4融合蛋白真核表达载体的构建及鉴定 田耕, 易继林
病毒性肝炎	286 丙型肝炎病毒核心蛋白结合视黄醇脱氢酶11蛋白 成军, 李克, 王琳, 陆荫英, 刘妍, 钟彦伟 291 丙型肝炎病毒非结构蛋白5A结合蛋白37小鼠同源基因的克隆化及结构分析 成军, 李克, 王琳, 陆荫英, 刘妍, 钟彦伟 298 新生儿HBe Ag在HBV宫内感染中的作用 邵中军, 门可, 徐剑秋, 徐德忠, 闫永平, 张景霞 302 应用抑制性消减杂交技术筛选TAHCCP2的反式调节基因 王建军, 刘妍, 成军, 杨倩, 纪冬, 党晓燕, 徐志强, 王春花 306 基因表达谱芯片筛选NS5ATP3转染细胞差异表达基因 刘妍, 杨倩, 成军, 王建军, 纪冬, 党晓燕, 王春花 311 基因表达谱芯片技术筛选NS5A-TP4蛋白反式调节基因 杨倩, 成军, 刘妍, 王建军, 洪源, 张树林 315 HCV包膜糖蛋白E2基因的克隆、蛋白表达及纯化 杜德伟, 贾战生, 秦鸿雁, 刘秋平, 周永兴, 韩 骅 319 应用表达谱芯片技术对NS5ATP7反式调节基因的研究 张健, 刘妍, 成军, 王琳, 邵清, 梁耀东, 李强, 刘 敏 323 应用表达谱芯片技术筛选NS5ATP9反式调节基因的研究 李强, 梁耀东, 成军, 王琳, 王建军, 张健, 刘妍, 程明亮 327 乙型肝炎病毒和丙型肝炎病毒反式调节靶基因的抑制性消减杂交和基因芯片分析结果的比较 成军, 刘妍, 洪源, 王建军, 杨倩, 王琳 332 多对型特异性引物巢式PCR检测湖南省乙肝病毒基因型 温志立, 谭德明
基础研究	336 人肝素酶基因正反义腺病毒表达载体的构建及鉴定 蔡永国, 房殿春, 杨仕明, 罗元辉, 杨孟华, 王东旭 339 正常与硬化肝组织基因表达差异的初步分析 刘连新, 陈志宏, 武林枫, 李宏伟, 刘芝华, 姜洪池, 王秀琴, 吴 旻 344 癌基因对大鼠肝卵圆细胞分化和转化的影响 廖 冰, 薛 玲, 何萍, 赵国强, 车丽洪 347 中药抗纤软肝颗粒抑制PDGF诱导的肝星状细胞MEK-1和c-fos表达 杨 玲, 朱清静, 笪邦红, 张赤志

	<p>351 实验性肝硬化大鼠小肠血红素氧合酶的表达 田德安, 周晓黎</p> <p>355 胃黏膜保护剂预防幽门螺杆菌培养上清液所致小鼠胃黏膜损伤 崔梅花, 胡伏莲, 董欣红</p> <p>359 结肠充气CT对检测大肠肿瘤的敏感性和特异性 王毅, 龚水根, 张伟国, 陈金华, 张连阳, 陈金萍</p> <p>363 胃溃疡大鼠胃泌素、生长抑素和GD细胞的变化 孙凤莲, 宋于刚, 覃汉荣</p> <p>367 当归多糖对大鼠乙酸性结肠炎的保护作用 刘少平, 董卫国, 余保平, 罗和生, 于皆平, 吴东方</p> <p>371 达纳康对大鼠溃疡性结肠炎细胞因子的影响 周燕红, 于皆平, 何小飞, 余细球</p>
临床研究	<p>376 恶性腹水基质金属蛋白酶活性分析 孙晓敏, 董卫国, 余保平, 罗和生, 于皆平</p> <p>379 慢性浅表性胃炎脾胃湿热证与水通道蛋白4蛋白表达的关系 周正, 劳绍贤, 黄志新, 张向菊, 黄烈平, 匡忠生</p> <p>382 肠易激综合征患者肠黏膜肥大细胞的变化 王静, 梁列新, 张志雄, 李国华, 钱伟, 侯晓华</p> <p>385 MRI评估肝硬化再生结节和退变结节 徐海波, 孔祥泉, 熊茵, 冯敢生</p>
焦点论坛	<p>390 卵巢巨大巧克力囊肿误诊为结核性腹膜炎7 a 1例 冯莉娟, 张桂英, 陈凤英, 晏仲舒</p> <p>391 乙型肝炎病毒DNA聚合酶末端蛋白研究进展 陈国凤, 成军, 张玲霞, 李莉</p> <p>393 乙型肝炎病毒DNA 多聚酶P结构域研究进展 陈国凤, 成军, 王琳, 张玲霞, 李莉</p> <p>397 乙型肝炎病毒和丙型肝炎病毒对转录因子ATF-1的调节 王春花, 成军, 郎振为, 王建军, 刘妍, 杨倩, 党晓燕</p> <p>401 乙型和丙型肝炎病毒与胱冬肽酶3的关系 纪冬, 成军, 王建军, 刘妍, 杨倩, 党晓燕, 王春花</p> <p>403 乙型和丙型肝炎病毒对转录因子Nur77的调节 成军</p> <p>406 乙型肝炎病毒和丙型肝炎病毒对层粘连蛋白表达的调节 王建军, 成军, 刘妍, 杨倩, 纪冬, 王春花</p> <p>408 转录因子C/EBPb的生物学功能 成军</p> <p>412 活性氧簇与肝炎病毒的关系 梁耀东, 成军, 吴君, 程明亮</p> <p>414 趋化因子与病毒性肝炎的关系 陆荫英, 成军, 张玲霞</p> <p>417 病毒性肝炎发病机制中环氧合酶的作用 刘敏, 成军, 张树林</p>
文献综述	<p>420 乙型肝炎病毒DNA整合的机制及后果 成军</p> <p>428 基质金属蛋白酶及其抑制物与实验性肝纤维化 郑伟达, 王小众</p> <p>432 建议将亚临床型肝性脑病更名为轻微型肝性脑病 贾林</p> <p>434 右叶部分肝移植临床解剖进展 刘静, 高毅, 钟世镇</p> <p>439 肝素酶: 抗肿瘤转移的新靶点 陈陵, 杨仕明, 房殿春, 王东旭</p> <p>443 肠道上皮特异性基因CDX2 宋艳, 李凌</p> <p>446 细胞凋亡与肝移植免疫耐受 刘静, 汪爽, 高毅, 孙尔维</p> <p>450 自身免疫性肝炎诊断与治疗 欧强, 谭德明</p> <p>454 VEGF在肝癌中作用 邓靖宇, 何生</p>
研究快报	<p>459 胰腺癌组织中COX-2和Bcl-2蛋白的表达及其意义 刘希双, 李玉军, 田宇彬, 张翠萍, 孙显路, 魏良洲, 薛会光, 刘思良</p> <p>461 3种富集胃癌患者外周血中胃癌细胞方法的比较 陈健, 郭俊明, 金之瑾, 肖丙秀</p> <p>464 肠缺血再灌注对小肠屏障、吸收、通透和传输功能的影响 黎君友, 孙丹, 吕艺, 晋桦, 胡森, 盛志勇</p> <p>467 MUC5AC蛋白在大肠肿瘤中的表达及意义 卜晓东, 李俐, 黄培林, 樊克武, 赵建华</p> <p>469 卵巢巨大巧克力囊肿误诊为结核性腹膜炎7 a 1例 冯莉娟, 张桂英, 陈凤英, 晏仲舒</p> <p>471 肛管直肠原发性恶性黑色素瘤临床病理特点 赵尔增, 张建中, 岳茂兴</p> <p>473 细胞周期蛋白D1 RT-PCR ELISA的建立及其初步应用 陈兵, 张雪, 府伟灵, 常杭花, 刘为纹, 徐采朴, 史景泉</p> <p>476 胃肠激素与不同类型反流所致食管炎的相关性 王雯, 李兆申, 许国铭, 张志坚, 林克荣</p> <p>477 尼美舒利对结肠癌细胞ICAM-1 mRNA表达的影响 刘伟, 张超</p>

临床经验

- 480 腹腔镜次/全结肠切除术治疗结肠慢传输性便秘4例 张连阳, 刘宝华, 陈金萍, 文亚洲
- 481 内镜下氩离子凝固术治疗胃肠息肉 毛振彪, 黄介飞, 陆静娴, 俞智华, 倪润洲
- 483 肝硬化门脉系统食管侧支血流动力学与血浆内皮素的关系 肖际东, 李瑞珍, 周平, 朱文晖
- 485 大黄与促肝细胞生长素联合治疗重型肝炎 黄以群, 林珍辉, 纪树梅, 王喻, 王崇国
- 487 5 km长跑对新兵胆囊排空及胃肠激素的影响 李小丽, 郝悦, 杨凤江, 邹勤, 李智力, 李晓春
- 488 药物性肝病41例 苏淑慧, 王春平, 李迎新, 冯永毅
- 490 数字化成像结肠双对比造影检查345例 何发清, 官泳松, 王小林, 郭兵文, 孙龙
- 492 胃十二指肠隐匿性穿孔的诊断与治疗4例 詹世林, 吴良平, 蒲森水
- 494 胃癌及癌前病变中胃黏膜上皮细胞增生及凋亡相关基因蛋白表达 孟华, 刘丽娜, 吕申
- 497 胃十二指肠疾病与幽门螺杆菌感染的相关性分析 周惠萌, 范欣敏
- 499 原发性胆汁性肝硬化37例临床分析 董正芳, 程留芳
- 501 射频消融联合局部热化疗治疗特殊部位肝脏恶性肿瘤 田伏洲, 陈涛, 蔡忠红, 陈琪
- 503 卵巢巨大巧克力囊肿误诊为结核性腹膜炎7 a 1例 冯莉娟, 张桂英, 陈凤英, 晏仲舒

封面故事

- 371 达纳康对大鼠溃疡性结肠炎细胞因子的影响
周燕红, 于皆平, 何小飞, 余细球 世界华人消化杂志 2004; 12(2): 371-375
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v12/i2/371.htm>

国际会议

- 13th United European Gastroenterology Week, UEGW
October 15-20, 2005
- American College of Gastroenterology Annual Scientific Meeting
October 28-November 2, 2005
- ISGCON 2005
November 11-15, 2005
isgcon2005@yahoo.co.in
www.isgcon2005.com
- Advanced Capsule Endoscopy Users Course
November 18-19, 2005
www.asge.org/education
- II Latvian Gastroenterology Congress
November 29, 2005
gec@stradini.lv
www.gastroenterologs.lv
- 2005 CCFA National Research and Clinical Conference - 4th Annual Advances in the Inflammatory Bowel Diseases
December 1-3, 2005
c.chase@imedex.com
www.imedex.com/calendars/therapeutic.htm
- 10th World Congress of the International Society for Diseases of the Esophagus
February 22-25, 2006
isde@sapmea.asn.au
www.isde.net

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名
陈可冀 题写版权刊名
(半月刊)

创刊 1993-01-15
改刊 1998-01-25
出版 2004-02-15
原刊名 新消化病学杂志

名誉总编辑 潘伯荣 社长总编辑 马连生

编辑部主任 张海宁 中文编辑 潘伯荣 张海宁

英文编辑 张海宁 排版校对 张敏 张勇 李琪

编辑 世界华人消化杂志编辑委员会
030001, 山西省太原市双塔西街77号

出版 世界胃肠病学杂志社
100023, 北京市2345信箱
E-mail: wcjd@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>

电话: 010-85381901
传真: 010-85381893

印刷 北京科信印刷厂

发行 国内: 北京报刊发行局
国外: 中国国际图书贸易总公司
(100044, 北京市399信箱)

订购 全国各地邮电局

邮购 世界胃肠病学杂志社发行部
(100023, 北京市2345信箱)
电话: 010-85381901
传真: 010-85381893

世界华人消化杂志被评为中国科技核心期刊, 2003年百种中国杰出学术期刊, 《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. 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.

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表世界胃肠病学杂志社和本刊编委会的观点, 除非特别声明. 本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换.

2005年版版权归世界胃肠病学杂志社所有

ISSN 1009-3079
CN 14-1260/R

邮发代号
82-262

国外代号
M 4481

国内定价
每期24.00元 全年576.00元

广告经营许可证
1401004000050

www.wjgnet.com

胃癌淋巴结转移预测的多因素分析

黄宝俊, 徐惠绵, 赵雨杰, 王天骄, 田大彤, 陈峻青

黄宝俊, 徐惠绵, 陈峻青, 中国医科大学附属第一医院肿瘤外科
辽宁省沈阳市 110001
赵雨杰, 王天骄, 中国医科大学生物芯片中心 辽宁省沈阳市 110001
田大彤, 辽宁省妇婴医院妇产科 辽宁省沈阳市 110005
黄宝俊, 男, 1972-02-25 生, 辽宁省沈阳市人, 汉族. 2000 年中国医科大学
肿瘤学硕士, 2002 年博士生, 主要研究胃癌的转移与综合治疗.
辽宁省自然科学基金项目, No. 20022069
项目负责人: 徐惠绵, 110001, 辽宁省沈阳市和平区南京北街 155 号, 中国
医科大学附属第一医院肿瘤外科. cum xu@hotmail.com
电话: 024-25909581
收稿日期: 2003-06-06 接受日期: 2003-08-25

Multivariate analysis of predicting lymph node metastasis in gastric cancer

Bao-Jun Huang, Hui-Mian Xu, Yu-Jie Zhao, Tian-Jiao Wang,
Da-Tong Tian, Jun-Qing Chen

Bao-Jun Huang, Hui-Mian Xu, Jun-Qing Chen, Department of Oncology,
The First Affiliated Hospital, China Medical University, Shenyang
110001, Liaoning Province, China
Yu-Jie Zhao, Tian-Jiao Wang, Biochip Center, China Medical University,
Shenyang 110001, Liaoning Province, China
Da-Tong Tian, Department of Obstetrics and Gynecology, Liaoning Pro-
vincial Fetomaternal Hospital, Shenyang 110001, Liaoning Province, China
Supported by the Natural Science Foundation of Liaoning Province,
No. 20022069
Correspondence to: Dr. Hui-Mian Xu, Department of Oncology, The
First Affiliated Hospital, China Medical University, 155 Nanjing Bejie,
Shenyang 110001, Liaoning Province China. cum xu@hotmail.com
Received: 2003-06-06 Accepted: 2003-08-25

Abstract

AIM: To analyze the factors influencing lymph node metastasis in gastric cancer and to screen the indicators that could predict more exactly the extent of lymph node metastasis before surgery.

METHODS: The mRNA expression of heparanase, MMP-7, VEGF-C, S100A4, hRad17, hTERT, CDH1, KAI1 and nm23H1 genes were examined in 62 gastric cancer tissues by reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR). In combination with clinicopathological features, univariate and multivariate analyses were carried out in order to screen the factors affecting lymph node metastasis of gastric carcinoma.

RESULTS: All the genes above were expressed more or less in gastric cancer tissues. With regard to the positive rate, S100A4 and hTERT were the highest (both 96.8%) and CDH1 was the lowest (64.5%). Multivariate analysis with binary logistic regression showed that lymphatic invasion and heparanase mRNA expression were independent factors that judged whether there was lymph node metastasis, and the odds ratios [Exp (B)] were 21.137 (95% CI 2.115-211.211) and 9.768 (95% CI 1.582-60.300) respectively. When predicting the extent of the lymph node metastasis

(the number of lymph node metastasis of no more than 6 was regarded as the fewer and lighter; no less than 7 as the more and heavier), MMP-7, hTERT and CDH1 genes mRNA expression and Lauren type of carcinoma were the independent factors ($P=0.037, 0.009, 0.021$ and 0.012 respectively), Exp (B) was 8.046, 9.159, 0.087 and 10.068 respectively. The area of serosa involvement was also an important factor.

CONCLUSION: Heparanase mRNA expression and lymphatic invasion of gastric cancer tissue correlate with lymph node metastasis positively. The degree of lymph node metastasis is more serious in patients with diffusive histological type, area of serosa involvement more than 20 cm^2 and MMP-7, hTERT mRNA overexpression, and CDH1 loss of expression in gastric cancer. Above examinations before surgery are indicated to arrive at an optimum treatment scheme.

Huang BJ, Xu HM, Zhao YJ, Wang TJ, Tian DT, Chen JQ. Multivariate analysis of predicting lymph node metastasis in gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2004;12(2):266-270

摘要

目的: 通过对影响胃癌淋巴结转移因素的分析, 探讨较准确预测胃癌有无淋巴结转移及其程度的标志。

方法: 采用 RT-PCR 技术检测 62 例胃癌患者原发癌组织中 Heparanase, MMP-7, VEGF-C, S100A4, hRad17, hTERT, CDH1, KAI1 和 nm23H1 基因的 mRNA 表达, 结合系统的临床病理检查指标, 运用 Binary Logistic regression 进行多因素分析, 寻找影响胃癌淋巴结转移的客观标志。

结果: 上述基因在胃癌组织中均有不同程度表达, 其中 S100A4 和 hTERT 阳性率最高 (96.8%), CDH1 表达阳性率最低 (64.5%)。多因素分析表明淋巴管癌栓 ($P=0.009$) 和 Heparanase 表达 ($P=0.014$) 是判断有无淋巴结转移的独立因素, 相对危险度分别为 21.137 和 9.768。在预测胃癌淋巴结转移程度上 (小于或等于 6 个为轻度转移, 大于或等于 7 个为重度转移), Lauren 分型和 MMP-7, hTERT, CDH1 基因表达是独立因素 ($P=0.012, 0.037, 0.009, 0.021$), 其相对危险度分别为 10.068, 8.046, 9.159, 0.087, 浆膜受侵面积亦是重要的影响因素。

结论: 胃癌组织中 Heparanase 高表达、淋巴管癌栓阳性者, 有淋巴结转移的可能性较大; 而组织学为弥漫型、浆膜受侵面积大于 20 cm^2 、原发癌灶中 MMP-7、hTERT 高表达、CDH1 低表达者, 淋巴结转移程度相对较重。术前检测上述基因 mRNA 表达并确定 Lauren 分型, 术中结合

胃浆膜受侵面积, 对制定治疗方案有指导意义。

黄宝俊, 徐惠绵, 赵雨杰, 王天骄, 田大彤, 陈峻青. 胃癌淋巴结转移预测的多因素分析. 世界华人消化杂志 2004;12(2):266-270

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/266.asp>

0 引言

胃癌是我国人群中发病率和死亡率均占第一位的恶性肿瘤, 转移扩散是影响预后的首要原因^[1-6]. 近年来对胃癌侵袭、转移分子机制的研究日趋深入^[7-11], 以期寻求新的有效治疗措施, 然而外科手术仍为其主要的治疗手段, 合理的淋巴结清除是手术治疗成功的关键之一^[12]. 但目前尚缺乏客观、有效的判定淋巴结转移及其程度的术前指标. 因此, 从分子水平深入研究胃癌淋巴结转移规律, 寻找预测胃癌淋巴结转移的客观标志, 具有重要临床价值. 文献^[13-15]报道 Heparanase, MMP-7^[3, 16], VEGF-C^[17-19], S100A4^[20], hRad17^[21-22], hTERT^[10-11, 23], CDH1^[4-5, 24], KAI1^[25]和 nm23H1^[7, 26]基因的表达变化分别与不同肿瘤转移关系密切, 尤与淋巴结转移关系密切, 但多为单个或几个基因的研究分析, 尚有一定局限性. 我们运用 RT-PCR 技术, 同时、并行检测多个相关基因在胃癌组织中的表达, 结合临床病理特征, 进行多因素分析, 寻找影响胃癌淋巴结转移更加客观的指标, 以期术前做出较为准确的预测.

1 材料和方法

1.1 材料 2001-09/2002-09 中国医科大学附属第一医院肿瘤外科胃癌患者 62 例, 其中男 41 例, 女 21 例, 年龄 28-77(58 ± 1.7) 岁, 术前均未经化、放疗. 取新鲜癌组织置液氮中速冻 30 min 后, -80 °C 深低温冰箱冻存, 其余标本行系统病理检查.

1.2 方法 按说明书用 Trizol 试剂(Invitrogen 公司)提取癌组织总 RNA, 并用紫外分光光度计定量、测纯度. 取 A₂₆₀/

A₂₈₀ ≥ 1.80 的标本, 采用 AMV 酶反转录试剂盒(Promega 公司)合成第一链 cDNA, 以 1 μg 总 RNA 为模板, Oligo(dT)₁₈ 为引物, 42 °C 反应 1 h. 利用 Primer Premier5 软件设计 Heparanase, MMP-7, VEGF-C, S100A4, hRad17, hTERT, CDH1, KAI1, nm23H1 及 GAPDH 和 beta actin 基因 RT-PCR 引物, 分别将上、下游引物设计在不同外显子上, 并将引物 T_m 值设在 55 °C, 以保证扩增条件的一致性. 具体序列、产物长度及定位见表 1. 分别取 cDNA 溶液 4 μL 进行 PCR 扩增, 94 °C 变性 4 min, 经 30 个循环(94 °C 35 s、58 °C 45 s、72 °C 60 s), 72 °C 延伸 7 min. 反应体系为: MgCl₂ 1.5 mmol/L, dNTP 200 μmol/L, 引物各 0.5 μmol/L, Taq DNA 聚合酶(华美公司)1.2 MU/20 L. 取各基因扩增产物 4 μL 进行梯度聚丙烯酰胺凝胶电泳(30 g/L 浓缩胶和 80 g/L 分离胶), 银染色检测结果, 干燥后扫描图片存图, 详细步骤参见文献^[22]. 应用 Chemi Imager 5500 自动电泳凝胶成像分析仪测定各基因扩增条带的灰度值(A), 计算各基因 mRNA 表达指数(I), $I = A_{\text{基因}} / A_{\text{actin B}}$, 因 beta actin 在不同组织中表达量相对恒定, 银染后扩增条带为黑色, 而该系统检测灰度值时, 条带越暗(即产量越高)值越低, 故表达指数与各基因 mRNA 在不同组织中的含量呈负相关关系.

统计学处理 胃癌淋巴结转移单因素分析采用 χ^2 检验(fisher's exact test), 多因素分析采用 Binary Logistic regression model, 以 P < 0.05 为差异具有显著性, 以上分析均用 SPSS10.0 软件完成.

2 结果

2.1 胃癌组织不同基因的表达 S100A4 和 hTERT 表达阳性率最高(96.8%), 其次为 hRad17(91.9%), KAI1(91.9%), Heparanase (88.7%), MMP-7(86.0%), nm23H1(80.6%)和 VEGF-C(70.0%), 而 CDH1 表达阳性率最低(64.5%). 图 1

表 1 各基因 RT-PCR 引物、产物长度及扩增条件

基因	引物		产物长度	产物定位
	正义	反义		
hTERT	5' - ggcgacatggagaacaagc - 3'	5' - aggtgagactggctctgatgg - 3'	340 bp	9-12exon
VEGF-C	5' - gaggctggcaacataacaga - 3'	5' - ccttgagagaggcactgt - 3'	321 bp	2-4exon
hRad17	5' - aaaatcaagaggtccaag - 3'	5' - cctgagtaagagcgtgt - 3'	335 bp	11-14exon
S100A4	5' - cctggatgtgatggtgtc - 3'	5' - tcttctctgggctgcttat - 3'	278 bp	1-2exon
heparanase	5' - agaaagacggctaagatg - 3'	5' - atagggttaaccgcaagta - 3'	588 bp	8-11exon
MMP-7	5' - agatgtggagtgccagatgt - 3'	5' - tagactgtctaccatccgtcc - 3'	358 bp	1-3exon
KAI1	5' - agcctgtatcaaaagtcaccaa - 3'	5' - gcagaagcccttcctcaca - 3'	571 bp	2-7exon
CDH1	5' - ccccataccagaacacctcg - 3'	5' - accgcttcctcatagtcaa - 3'	742 bp	12-16exon
nm23H1	5' - cgcttctgtgggtctgaaa - 3'	5' - tgtgtgtctgccctctgt - 3'	377 bp	2-5exon
Actin B	5' - gatgaccagcatcatgtttg - 3'	5' - tggagtgaaggtatgttcg - 3'	491 bp	2-4exon
GAPDH	5' - cgaccactttgtcaagctca - 3'	5' - aggggtctacatggcaactg - 3'	227 bp	7-9exon

为不同基因在同一患者胃癌组织中表达的RT-PCR电泳图片, 其中hTERT, S100A4, Heparanase, MMP-7, KAI1, nm23H1表达相对较强, 而VEGF-C、hRad17、CDH1表达相对较弱。

2.2 胃癌淋巴结转移的单因素分析 1997年国际抗癌联盟(UICC)制定了胃癌新的TNM分期系统, 将胃癌转移淋巴结分级(pN)标准以转移淋巴结个数的量化指标为依据分成pN₀(0个), pN₁(1-6个), pN₂(7-15个), pN₃(15个以上), 王振宁 et al^[27]研究发现新TNM分期系统既显示了与预后的一致性, 又较好地反映了胃癌的生物学行为, 因此我们进一步将pN分级划为轻重两组: 小于

或等于6个为轻度转移, 大于或等于7个为重度转移。根据各基因的平均表达指数, 将表达水平分为高、低两组。将基因表达高低及病理因素分别与淋巴结转移情况进行单因素分析。结果表明原发癌组织低分化、小淋巴结孤立型淋巴结、淋巴管癌栓阳性及Heparanase、hTERT高表达者, 淋巴结转移阳性率增加, VEGF-C高表达亦与淋巴结转移呈正相关, 但无统计学意义; 癌组织低分化、Lauren分型为弥漫型、浆膜受侵面积大于20 cm²、小淋巴结孤立型淋巴结者, MMP-7, VEGF-C, hRad17, hTERT高表达和CDH1, KAI1低表达者, 淋巴结转移程度相对较重, 转移数量多在7个以上(表2)。

表2 胃癌淋巴结转移情况的单因素分析

相关因素	淋巴结转移				淋巴结转移程度			
	阴性	阳性	χ^2	P	轻	重	χ^2	P
正常+反应	1	2			3	0		
浆膜分型								
结节	5	15	1.869	0.393	13	7	4.492	0.106
腱状+多彩弥漫	5	34			18	21		
浆膜受侵								
≤ 10	8	29			24	13		
面积(cm ²)			1.06	0.589			7.5	0.024
11-19	2	12			8	6		
≥ 20	1	10			2	9		
大体型			0.069	0.793			2.733	0.098
局限	3	12			11	4		
浸润	8	39			23	24		
生长方式			0.072	0.789			1.794	0.18
团块+巢状	8	35			26	17		
弥漫	3	16			8	11		
分化程度			4.225	0.04			8.315	0.004
高/中	6	12			15	3		
低	5	39			19	25		
Lauren分型			3.172	0.075			11.182	0.001
肠型	8	22			23	7		
弥漫型	3	29			11	21		
侵透浆膜			0.152	0.697			2.625	0.105
-	8	34			26	16		
+	3	17			8	12		
转移淋巴结								
大结节融合	5	18			14	9		
分型			14.631	0.001			11.952	0.003
小淋巴结孤立	0	27			9	18		
一般型	6	6			11	1		
淋巴管			6.495	0.011			2.087	0.149
-	10	25			22	13		
癌栓								
+	1	26			12	15		
MMP-7			0.203	0.652			8.028	0.005
低	6	24			22	8		
高	5	27			12	20		
Heparanase			5.984	0.014			1.694	0.193
低	9	21			19	11		
高	2	30			15	17		
S100A4			0.553	0.457			1.95	0.167
低	8	31			24	15		
高	3	20			10	13		
VEGF-C			3.666	0.056			5.93	0.015
低	10	31			27	14		
高	1	20			7	14		
hTERT			3.93	0.047			18.356	0.00018
低	9	25			27	7		
高	2	26			7	21		
hRad17			0.031	0.86			4.753	0.029
低	7	31			25	13		
高	4	20			9	15		
nm23H1			0.418	0.518			0.712	0.399
低	7	27			17	17		
高	4	24			17	11		
KAI1			0.801	0.371			5.846	0.016
低	6	35			18	23		
高	5	16			16	5		
CDH1			0.001	0.99			7.16	0.007
低	8	37			20	25		
高	3	14			14	3		

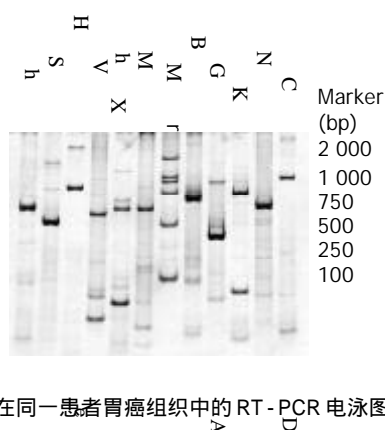


图1 不同基因在同一患者胃癌组织中的 RT-PCR 电泳图.

2.3 胃癌淋巴结转移的多因素分析 考虑存在混杂因素

表3 胃癌有无淋巴结转移及其程度的 Logistic 回归分析

淋巴结转移	相关系数(χ)	回归系数(b)	标准误(Sx)	统计量 Wald 值	显著性 P	相对危险度 Exp(B)	95.0% CI for EXP(B)	
							Lower	Upper
有	淋巴管癌栓	3.051	1.174	6.794	0.009	21.137	2.115	211.211
	Heparanase	2.279	0.929	6.022	0.014	9.768	1.582	60.300
无	hTERT	1.563	0.946	2.731	0.098	4.775	0.748	30.500
	常数项	-4.511	1.846	5.968	0.015	0.011		
程度	浆膜受侵面积	1.15	0.592	3.77	0.052	3.157	0.989	10.074
	Lauren 分型	2.309	0.915	6.37	0.012	10.068	1.675	60.504
	MMP-7	2.085	1	4.348	0.037	8.046	1.133	57.123
	VEGF-C	1.537	0.982	2.448	0.118	4.649	0.678	31.872
	hTERT	2.215	0.852	6.756	0.009	9.159	1.724	48.652
	CDH1	-2.444	1.063	5.291	0.021	0.087	0.011	0.697
	常数项	-4.113	2.579	2.545	0.111	0.016		

3 讨论

淋巴结转移、复发是影响胃癌预后的主要因素,而无转移的淋巴结尚具有重要的免疫监视作用.因此,术前、术中准确判断淋巴结转移范围和程度,施行合理的淋巴结清除术,对提高疗效具有十分重要意义.目前影响胃癌淋巴结转移因素的报道多停留在病理形态学水平,或仅涉及一个(或几个)分子指标,且多应用免疫组化、原位杂交等检测技术,术前应用受到一定的限制^[1, 3-4, 6, 10, 13, 16, 18, 22, 24, 28-29].为了使胃癌淋巴结清除范围更趋于合理,我们将病理因素和基因表达相结合,从临床应用角度出发,在方法和实验设计上做了改进.采用 RT-PCR 技术,操作相对简单,而且术前胃镜检查时即可获得标本;所选指标均是文献报道与肿瘤淋巴转移关系密切的基因,代表性强;病理因素与基因表达相结合,单因素与多因素序贯分析,结果更加全面、可靠;引物设计时分别将上、下游引物设计在不同外显子上,并将引物 Tm 值均设在 55℃,可保证扩增的真实性和条件的一致性,免去多个基因检测需要多次 PCR 的烦琐,便于临床推广应用.

有无淋巴结转移的单因素分析发现,原发癌组织低分化、淋巴管癌栓阳性、小结节孤立型转移淋巴结及 Heparanase, hTERT 高表达者,淋巴结转移阳性率

的影响,进一步将有统计学意义的单因素结果进行二维 Logistic 回归分析.结果显示淋巴管癌栓($P=0.009$)和 Heparanase 表达($P=0.014$)是判断有无淋巴结转移的独立因素,若淋巴管癌栓阳性或 Heparanase 高表达,则有淋巴结转移的危险分别增加 21.137 和 9.768 倍.而淋巴结转移程度的分析结果表明:Lauren 分型, MMP-7, hTERT 和 CDH1 表达是独立预测因素($P=0.012, 0.037, 0.009, 0.021$),若原发癌组织为弥漫型, MMP-7, hTERT, CDH1 高表达者,其转移淋巴结数大于或等于 7 个的危险分别增加 10.068, 8.046, 9.159 和 0.087 倍.其中浆膜受侵面积和 VEGF-C 表达虽无统计学意义($P=0.052, 0.118$),但也是较重要的预测因素,其相对危险度分别为 3.157 和 4.649 (表 3).

增加,这与文献[13-14, 23, 28]报道一致.但经多因素分析发现,只有淋巴管癌栓和 Heparanase 与淋巴结转移呈正相关关系,淋巴管癌栓阳性者有淋巴结转移的风险增加 21.1 倍,肝素酶高表达者淋巴结转移阳性的风险增加 9.7 倍.癌细胞首先要侵入淋巴管形成癌栓,而后才能引流到区域淋巴结形成转移灶,因此淋巴管癌栓阳性者有淋巴结转移的可能性显著增加.肝素酶是一种内切糖苷酶,能够降解细胞外基质和脉管基底膜的主要成分硫酸肝素和硫酸肝素多糖,是癌细胞侵袭和转移过程中的首要步骤.肝素酶在正常组织中的表达严格限于胎盘和淋巴源性器官,这是否影响其表达与胃癌淋巴结转移特异性相关尚需进一步研究探讨. Takaoka et al^[13]研究发现在胃癌组织中肝素酶 mRNA 和蛋白质表达具有一致性,因此检测肝素酶 mRNA 水平可以反应其蛋白质的高低.

淋巴结转移程度的单因素分析发现,癌组织低分化、Lauren 分型为弥漫型、浆膜受侵面积大于 20 cm²、小结节孤立型淋巴结者, MMP-7, VEGF-C, hRad17, hTERT 高表达和 CDH1, KAI1 低表达者,淋巴结转移程度相对较重.而多因素分析发现,组织学类型、MMP-7, hTERT 和 CDH1 表达是独立影响因素,相对危险度分

别为 10.068, 8.046, 9.159 和 0.087; 浆膜受侵面积亦是较重要的影响因素($P = 0.052$), 可能与例数较少有关。浆膜受侵面积大于 20 cm^2 者, 往往病期较晚; 而组织学为弥漫型者, 癌细胞的生物学行为恶性度往往较高, 均体现出高转移潜能, 我们认为浆膜受侵面积和组织学类型是影响胃癌淋巴结转移程度较为确切的大体指标。MMP-7 能够降解 IV 型胶原、蛋白多糖、laminin、elastin 等, 其与胃癌、结直肠癌、食管癌、胰腺癌、肺癌转移关系密切^[3, 16, 30]。端粒酶活性增高与多种肿瘤的病理因素及淋巴转移相关, 人端粒酶催化亚基(hTERT)在端粒酶表达中起决定性作用, hTERT 基因表达水平与端粒酶活性一致^[10-11, 23]。E-钙黏附素(CDH1)与连环素结合形成复合体介导同种细胞间黏附反应, 研究发现许多人类肿瘤中 CDH1 表达下调与淋巴结转移和肿瘤侵袭性密切相关^[4, 24]。我们运用多因素分析筛选发现 MMP-7, hTERT 和 CDH1 是影响胃癌淋巴结转移程度的标志基因, 我们还将进一步研究其相应蛋白质表达与胃癌淋巴结转移程度的相关性, 以期寻求新的有效治疗靶点。

总之, 淋巴管癌栓和肝素酶是预测胃癌有无淋巴结转移的特异性指标; MMP-7, hTERT, CDH1 和 Lauren 分型、浆膜受侵面积是预测胃癌淋巴结转移严重程度的敏感性指标。由此推测肝素酶可能是在胃癌淋巴结转移的始动阶段起重要作用, 而 MMP-7, hTERT 和 CDH1 是在胃癌淋巴结转移的加速阶段起重要作用。术前 RT-PCR 检测胃原发癌组织中上述基因 mRNA 表达并确定 Lauren 分型, 术中结合胃浆膜受侵面积, 对制定治疗方案有一定指导意义。

4 参考文献

- Zhang S, Li L, Lin JY, Lin H. Imbalance between expression of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in invasiveness and metastasis of human gastric carcinoma. *World J Gastroenterol* 2003;9:899-904
- 黄海力, 吴本俨, 尤经纬, 申明识. 进展期胃癌病理和预后影响因素的关系. *世界华人消化杂志* 2003;11:1297-1301
- 孙晋民, 郑华川, 杨雪飞, 辛彦, 张荫昌. 基质金属蛋白酶-7 表达与胃癌临床病理生物学行为的关系. *世界华人消化杂志* 2003;11:1310-1313
- Zhou YN, Xu CP, Han B, Li M, Qiao L, Fang DC, Yang JM. Expression of E-cadherin and beta-catenin in gastric carcinoma and its correlation with the clinicopathological features and patient survival. *World J Gastroenterol* 2002;8:987-993
- 周永宁, 徐采朴, 韩彪, 王金穗, 房殿春, 彭贵勇, 杨建民, 刘海. 胃癌 E-钙黏蛋白表达与临床病理学的关系. *世界华人消化杂志* 2002;10:1121-1124
- 王耕, 杨道华, 孙勤, 代全武, 惠震, 陈立新, 易建华, 朱礼国. 胃癌组织若干癌相关基因的表达与淋巴转移的关系. *世界华人消化杂志* 1999;7:803-804
- 孙秀菊, 孙开来, 付浩, 王舒宝, 陈峻青. 胃癌细胞 nm23H1 基因表达与体内外侵袭力的关系. *世界华人消化杂志* 2003;11:10-13
- Shao JC, Wu JF, Wang DB, Qin R, Zhang H. Relationship between the expression of human telomerase reverse transcriptase gene and cell cycle regulators in gastric cancer and its significance. *World J Gastroenterol* 2003;9:427-431
- Zhang H, Wu J, Meng L, Shou CC. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptors KDR and Flt-1 in gastric cancer cells. *World J Gastroenterol* 2002;8:994-998
- 王维, 罗和生, 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
- 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
- 陈峻青. 胃癌外科治疗的现状与未来. *中国实用外科杂志* 1999;19:30-31
- Takaoka M, Naomoto Y, Ohkawa T, Uetsuka H, Shirakawa Y, Uno F, Fujiwara T, Gunduz M, Nagatsuka H, Nakajima M, Tanaka N, Haisa M. Heparanase expression correlates with invasion and poor prognosis in gastric cancers. *Lab Invest* 2003;83:613-622
- Tang W, Nakamura Y, Tsujimoto M, Sato M, Wang X, Kurozumi K, Nakahara M, Nakao K, Nakamura M, Mori I, Kakudo K. Heparanase: a key enzyme in invasion and metastasis of gastric carcinoma. *Mod Pathol* 2002;15:593-598
- Endo K, Maejara U, Baba H, Tokunaga E, Koga T, Ikeda Y, Toh Y, Kohnoe S, Okamura T, Nakajima M, Sugimachi K. Heparanase gene expression and metastatic potential in human gastric cancer. *Anticancer Res* 2001;21:3365-3369
- Liu XP, Kawauchi S, Oga A, Tsushimi K, Tsushimi M, Furuya T, Sasaki K. Prognostic significance of matrix metalloproteinase-7 (MMP-7) expression at the invasive front in gastric carcinoma. *Jpn J Cancer Res* 2002;93:291-295
- Duff SE, Li C, Jeziorska M, Kumar S, Saunders MP, Sherlock D, O'Dwyer ST, Jayson GC. Vascular endothelial growth factors C and D and lymphangiogenesis in gastrointestinal tract malignancy. *Br J Cancer* 2003;89:426-430
- Amioka T, Kitadai Y, Tanaka S, Haruma K, Yoshihara M, Yasui W, Chayama K. Vascular endothelial growth factor-C expression predicts lymph node metastasis of human gastric carcinomas invading the submucosa. *Eur J Cancer* 2002;38:1413-1419
- Mattila MM, Ruohola JK, Karpanen T, Jackson DG, Alitalo K, Harkonen PL. VEGF-C induced lymphangiogenesis is associated with lymph node metastasis in orthotopic MCF-7 tumors. *Int J Cancer* 2002;98:946-951
- Rosty C, Ueki T, Argani P, Jansen M, Yeo CJ, Cameron JL, Hruban RH, Goggins M. Overexpression of S100A4 in pancreatic ductal adenocarcinomas is associated with poor differentiation and DNA hypomethylation. *Am J Pathol* 2002;160:45-50
- Sasaki H, Chen LB, Auclair D, Moriyama S, Kaji M, Fukai I, Kiriya M, Yamakawa Y, Fujii Y. Overexpression of Hrad17 gene in non-small cell lung cancers correlated with lymph node metastasis. *Lung Cancer* 2001;34:47-52
- 黄宝俊, 赵雨杰, 徐惠绵, 张玉魁, 王绍成, 徐莹莹. hRad17 mRNA 在胃癌中表达的意义. *中华肿瘤杂志* 2003;25:160-162
- Hara H, Yamashita K, Shinada J, Yoshimura H, Kameya T. Clinicopathologic significance of telomerase activity and hTERT mRNA expression in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2001;34:219-226
- 戴冬秋, 陈峻青, 徐惠绵, 王舒宝, 赵凤凯, 王梅先. E-钙黏附素及 α -链接素的表达与胃癌生物学行为及淋巴结转移规律的关系. *中华肿瘤杂志* 2001;23:35-38
- Muneyuki T, Watanabe M, Yamanaka M, Shiraishi T, Isaji S. KAI1/CD82 expression as a prognostic factor in sporadic colorectal cancer. *Anticancer Res* 2001;21:3581-3587
- Chow NH, Liu HS, Chan SH. The role of nm23-H1 in the progression of transitional cell bladder cancer. *Clin Cancer Res* 2000;6:3595-3599
- 王振宁, 徐惠绵, 王舒宝, 陈峻青. 胃癌新 TNM 分期与其生物学行为及预后的关系. *中华外科杂志* 2000;38:493-495
- 徐惠绵, 陈峻青, 王舒宝. 胃癌的淋巴结转移规律及其意义. *中国肿瘤临床* 2001;28:465-468
- 张声, 李莉, 林华, 林建银. 胃癌淋巴结转移相关因素的多元分析. *中华肿瘤杂志* 2001;23:399-402
- Sasaki H, Yukiue H, Moiriyama S, Kobayashi Y, Nakashima Y, Kaji M, Kiriya M, Fukai I, Yamakawa Y, Fujii Y. Clinical significance of matrix metalloproteinase-7 and Ets-1 gene expression in patients with lung cancer. *J Surg Res* 2001;101:242-247



Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

