

胸腔积液中粘蛋白 1 表达的临床意义 *

周龙 李瑶 熊国亮 雷建平

(江西省胸科医院 南昌 330006)

摘要:目的:评价 MUC1mRNA 在非小细胞肺癌患者和非肿瘤患者胸腔积液中表达的临床意义。方法:应用逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)技术,对 30 例肺癌患者、20 例非肿瘤患者的胸腔积液中的 MUC1mRNA 表达进行检测。结果:非肿瘤患者的胸腔积液中未检测到 MUC1mRNA 的表达。肺癌患者胸腔积液中 MUC1mRNA 的敏感性为 30%(9/30),特异性为 100%。胸腔积液中 MUC1mRNA 的表达与肺癌组织类型密切相关, $P<0.05$;与患者年龄、性别、吸烟与否,肿瘤生长部位无明显相关, $P>0.05$ 。结论:应用 RT-PCR 法检测肺癌患者胸腔积液中 MUC1mRNA 的表达,具有一定的临床参考价值。

关键词:癌;粘蛋白类;基因表达;胸腔积液

Abstract:Objective: To evaluate the clininal significance of MUC1 mRNA expression in the pleural effusion of non-small cell lung cancer patients and non-cancer patients.Methods: Using RT-PCR to detect MUC1 mRNA expression in the pleural effusion in 30 patients with lung cancer, 20 patients with non-cancer .Results: MUC1 mRNA expression were found in the pleural effusion in 9/30 patients with lung cancer, and not found in non-cancer patients. Sensitivity of MUC1 mRNA expression were 30%(9/30), Specific of MUC1 mRNA expression were 100%. MUC1 mRNA expression in the pleural effusion was closely related to cell differentiation of cancer, $P<0.05$,but was not related to age, sex, smoking or not, site of tumor, $P>0.05$.Conclusions: MUC1 mRNA expression may be found with RT-PCR method in the pleural effusion of non-small cell lung cancer patients,it has a clinical reference value.

Key Words:cancinoma; mucins; gene expression; pleural effusion

中图分类号:R 734.2

文献标识码:B

文献编号: 1671-4040(2008)05-0052-02

肺癌是目前常见恶性肿瘤之一,而胸腔积液是其临床常见合并症,肺癌的胸水发生率为 7%~28.9%。恶性胸腔积液主要通过胸水细胞学检查,但阳性率为 45%~60%^[1]。近年,许多学者尝试利用基因技术检查某些蛋白的异常表达,以提高恶性胸水的诊断率。MUC1(粘蛋白 1)是一种高分子量的糖蛋白^[2],正常情况下主要表达于分泌性器官的细胞膜顶端,如唾液腺、乳腺、肺泡,呈顶端表达,极性分布^[3-4]。在 90%以上实体瘤中,MUC1 也异常表达^[5]。利用 MUC1 在上皮组织中分布、在间叶组织中不表达的特性,已有在肺癌病人血液、淋巴结、骨髓中检测出 MUC1 的报道^[6-8],并发现血液、淋巴结、骨髓 MUC1 的表达与肺癌微转移有关。本研究在国内外有关实验的基础上应用 RT-PCR 技术检测肺癌病人胸腔积液中 MUC1 的表达,评价其临床意义。现报道如下:

1 材料与方法

1.1 标本来源 收集 2006 年 3 月~2008 年 3 月我院住院病人的胸腔积液共 50 例,其中 30 例为经组织病理或细胞学确诊的非小细胞肺癌患者,男性 16 例,女性 14 例,中位年龄 58.8 岁,腺癌 16 例,鳞癌 10 例,大细胞癌 4 例;20 例为结核性胸膜炎患者。

1.2 试剂 总 RNA 提取试剂购自北京百泰克生物技术有限公司;逆转录试剂盒购自 Fermentas 公司;PCR 试剂购自北京天为时代公司;DNA MARKER 购自天根生化北京有限公司。

1.3 引物设计 内引物 MUC1 基因位于人染色体 1q21,参照基因序列设计引物^[9]。外引物 A: 5'-CGTCGTG GACATTGATGGTACC-3'; 外引物 B: 5'-GGTACCTCCTC TCACCTCCTCCAA-3' ; 产物为 287bp。β-肌动蛋白(β-action) 作为内对照标准 ,C: 5'-TCATCACC ATTGGCAATGAG-3'; D: 5'-CACTGTGTTGGCGTACAGG T-3' ; 产物为 154bp。

1.4 方法 以无菌操作方法获得患者 250mL 以上胸水于 EDTA-Na₂ 无菌抗凝瓶中,半小时内进行离心,弃上清液,沉淀物行细胞学和 RT-PCR 检测。一组离心后直接进行细胞涂片。另一组取上述沉淀物 1.0mL,15 000 转 /min 离心 5min,吸弃上清液,用 TE 缓冲液 1.0mL 洗涤沉淀物,15 000 转 /min 离心 5min,吸弃上清液,再用 TE 缓冲液洗涤一次,15 000 转 /min 离心 5min,吸弃上清液;于 2h 内进行总 RNA 的提取,纯度要求 A₂₆₀/A₂₈₀>1.75;按逆转录试剂盒及 PCR 试剂盒说明进行,得到循环产物备用;取 5μL 反应产物,琼脂糖凝胶电泳检测,以 287bp 处显带为 MUC1mRNA 阳性。

1.5 统计学处理 用四格表确切概率法 χ^2 检验, $P<0.05$ 为显著差异。

2 结果

2.1 MUC1 基因的 RT-PCR 分析结果 30 例非小细胞肺癌患者的胸腔积液,MUC1mRNA 表达呈阳性者 9 例,其中男性 5 例,女性 4 例;腺癌 8 例,其它类型 1 例。20 例非肿瘤患者的胸腔积液,未检测出 MUC1mRNA 的表达。MUC1 对恶性胸腔积液诊断的敏感性为 30%,特异性为 100%。肺癌病人胸腔积液的 MUC1 得到 287bp 的扩增条带,与设计的大小相符。非肿瘤病人的标本未见显带。肺癌患者胸腔积液中 MUC1mRNA 的表达与非肿瘤患者之间存在显著差异性($P<0.05$)。

2.2 细胞学与粘蛋白表达的关系 本试验显示肺癌患者的胸腔积液细胞学的敏感性为 56.7%(17/30),高于粘蛋白的检出率。

2.3 MUC1mRNA 的表达 肺癌患者胸腔积液中 MUC1mRNA 的表达与组织类型密切相关,腺癌合并胸腔积液者 MUC1 表达率 50%(8/16),高于其他组织类型表达率 7%(1/14),差异有显著性($P<0.05$),而与患者年龄、性别、吸烟史、肿瘤生长部位无明显关联($P>0.05$)。见表 1。

* 江西省卫生厅资助课题(审批号 20041143)

低分子肝素联合血栓通注射液治疗进展性缺血性脑卒中的临床观察

沈鑫 李军荣 李圣华
(江苏省南京市江宁医院 南京 211100)

关键词:缺血性脑卒中;进展性;低分子肝素;血栓通注射液

中图分类号:R 743.3

文献标识码:B

文献编号:1671-4040(2008)05-0053-02

进展性缺血性脑卒中是指发病后神经功能缺损症状较轻,但在 48h 内逐渐进展或呈阶梯式加重,直至出现严重的神经功能缺损症状,其病死率和病残率均较高,起病后症状的持续性进展,也是近年来医患矛盾的诱因之一。国外研究表

明进展性脑卒中的发病率为 9.65%~37%^[1]。因此寻找有效的治疗方法尤其重要。我科自 2005 年 9 月~2007 年 9 月应用低分子肝素(国药准字 J20040118)配合血栓通加用肠溶阿司匹林治疗进展性缺血性脑卒中,取得一定疗效。现报告如下:显关联($P>0.05$)。

表 1 MUC1mRNA 表达与肺癌临床病理生理特征的关系 例

项目	n	MUC1 阳性	MUC1 阴性	χ^2	P
组织学类型	腺癌	16	8	6.52	<0.05
	其它类型	14	13		
年龄	≥55 岁	21	7	0.3647	>0.05
	<55 岁	9	2		
性别	男性	16	5	0.0235	>0.05
	女性	14	4		
吸烟史	有	16	6	0.9158	>0.05
	无	14	3		
肿瘤部位	周围型	21	6	0.0652	>0.05
	中央型	9	3		

3 讨论

肺癌是目前常见恶性肿瘤之一,而胸腔积液是其临床常见合并症。本试验组细胞学阳性率为 56.7%,与文献报道的阳性率 45%~60%^[1]接近。肺癌引起胸水的原因较多,主要有:肿瘤直接侵犯;肿瘤压迫或血管、淋巴管肿瘤栓塞;胸水蛋白浓度较高,使胶体渗透压较高;全身情况差致低蛋白血症。尚可因胸水中间皮细胞增生活跃或胸水浸泡,使良性间皮细胞在形态上与恶性细胞不易区别而出现假阳性。故给临床诊断恶性胸腔积液带来一定困难。

粘蛋白 1 的高表达主要见于唾液腺和消化道、呼吸道及乳腺、生殖道等上皮细胞来源的恶性肿瘤^[5]。已有学者用 RT-PCR 检测 MUC1mRNA 在肺癌患者淋巴结、骨髓、血液中及乳腺癌患者淋巴结中的表达,判断肺癌、乳腺癌的微转移灶^[10,11]。Slerno^[12]应用 RT-PCR 方法检测 NSCLC 淋巴结 MUC1 mRNA,结果显示 10⁷ 个细胞中混有 1 个 NSCLC 瘤细胞,即可检测到 MUC1mRNA 的表达。说明用敏感性极高的 RT-PCR 检测 MUC1mRNA 表达是可行的。

本实验显示:RT-PCR 技术检测肺癌患者胸腔积液中 MUC1mRNA 的表达,具有较高特异性。但肺癌患者胸腔积液中 MUC1mRNA 的表达率为 30%,低于胸水细胞学的阳性率 56.7%,考虑其原因有:试验用胸水量较大,初次标本离心难以达到低温要求;实验过程中对温度、试剂浓度等要求较高;mRNA 易降解;外部 mRNA 影响实验结果;胸水中大量红细胞造成影响。肺癌患者胸腔积液中 MUC1mRNA 表达与肺癌临床病理生理特征的关系与 MUC1mRNA 在肺癌患者血液、淋巴结、骨髓中的表达特点一致^[13],都与组织类型密切相关($P<0.05$),与患者年龄、性别、吸烟史、肿瘤生长部位无明

粘蛋白检测对恶性胸腔积液,特别是腺癌所致胸腔积液,有一定的临床意义,可以做为一项参考的免疫学指标,RT-PCR 法与普通细胞学涂片相比,实验步骤繁琐,试剂价格高也是其缺点之一。与胸水细胞学比较,尚无明显优势,不能替代胸水细胞学检查方法,其临床价值尚需大样本的检验。

参考文献

[1]林江涛,庞海燕,杜鹃,等.胸膜活检联合胸水脱落细胞学检查在恶性胸腔积液诊断中的运用[J].内科急危重症杂志,2001,7(1):6-8
[2]Messegue M,Pellicer A,Simon C.MUC1 and endometrial receptivity [J].Mol Human Reproduction,1998,4(12):1 089-1 093
[3]Ciborowski P, Fimm OJ. Nonglycosylated tandem repeats of MUC1 facilitate of breast tumor cell to normal human lung tissue and immobilized extracellular matrix protein (ECM)in vitro:potential role in metastasis[J].Clin Exp Metastasis,2002,19(4):339-343
[4]Saton S ,Hinoda Y,Heyashi T ,et al . Enhancement of metastatic properties of pancreatic cancer cell by MUC1 gene encoding an antiadhesion molecule [J]. Int J Cancer ,2000 ,88(4) :507-511
[5]Morse MA. Formation of MUC1 metabolic complex is conserve in tumor-derived and normal epithelial cells [J].Curr Opin Mol Ther, 2001,3(1):102-103
[6]Beregini E,Varangot M,Aizen B,et al. The importance of MUC1 cellular localization in patient with breast carcinoma [J].Eur J Cancer,2000,36(6):717-721
[7]Inata J,Hattori N,Yokoymama A,et al.Circulating KI-6/MUC1 mucin carrying sialyl Lewisa oligosaccharide is an independent prognostic factor in patient with lung adenocarcinoma[J].Int J Cancer, 2007, 120(12):2 643-2 645
[8]王洲,刘相燕,张林,等.纵隔淋巴结隐匿性微转移对肺癌预后影响的前瞻性研究[J].中华胸心血管外科杂志,2003, 19(4) :225-227
[9]Ho SB,Niehans GA,Lyftogt C,et al.Heterogenity of mucin gene expression in normal and neoplastic tissues [J].Cancer Res,1993,53(3):641-650
[10]牛中喜,周清华,徐鹏,等.非小细胞肺癌患者淋巴结、外周血、骨髓微转移的 MUC1 基因诊断临床意义 [J]. 中国癌症杂志,2004,14(6) :225-227
[11]Joseph Zaretsky,Itay Barnea ,Yael Aylon,et al.MUC1 gene overexpressed in breast cancer:structure and transcriptional activity of the MUC1 promoter and role of estrogen receptor alpha (ER- γ) in regulation of the MUC1 gene expression [J].Molecular Cancer, 2006,5:57-61
[12] Slerno CT,Frizelle S,Niehans GA,et al.Detection of occult micrometastases in non-small cell lung carcinoma by reverse transcriptase polymerase chain reaction[J].Chest,1998,53:641
[13]Passlick B,Izbiski JR, Kubushek B. Detection of disseminated lung cancer cells in lymph nodes impact on staging and prognosis [J].Ann Thonac Surg,1996,61(1):177-181

(收稿日期:2008-06-29)