

文章编号:1005-6947(2005)01-0029-03

· 实验研究 ·

凋亡的死亡信号受体途径在胆囊癌发生发展中的作用

徐立宁, 邹声泉

(华中科技大学同济医学院附属同济医院 普通外科, 湖北 武汉 430030)

摘要:目的 研究凋亡的死亡信号受体途径在胆囊癌发生和发展中的作用。方法 应用SP免疫组化法研究胆囊癌组织中死亡信号受体途径的激活分子FasL蛋白的表达水平及其特征;并运用TUNEL法原位检测肿瘤周围浸润的淋巴细胞的凋亡数量。结果 胆囊癌、胆囊腺瘤、胆囊上皮不典型增生和慢性胆囊炎组织中FasL蛋白的阳性率分别为84.6%(22/26), 83.3%(15/18), 100%(3/3)和55%(11/20)。FasL蛋白表达在胆囊癌明显高于慢性胆囊炎($P < 0.05$)。浸润淋巴细胞发生凋亡的数量,在FasL蛋白阳性[FasL(+)]的胆囊癌组织中极显著高于FasL蛋白阴性[FasL(-)]的胆囊癌组织($P < 0.01$);在FasL(+)的低分化胆囊癌组织中高于FasL(-)的低分化胆囊癌组织($P < 0.05$);在FasL(+)的Nevin I, II, III期胆囊癌组织中高于FasL(-)的Nevin I, II, III期胆囊癌组织($P < 0.01$)。结论 凋亡的死亡信号受体途径参与了胆囊癌的发生发展过程。

关键词: 胆囊肿瘤/病因学; 细胞凋亡; 死亡信号受体途径

中图分类号: R735.8; R329.2 文献标识码: A

The action of death signal receptor pathway of apoptosis in the development of gallbladder carcinoma

XU Li-ning, ZOU Sheng-quan

(Department of General Surgery, Tongji Hospital, Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China)

Abstract: **Objective** To study the action of death signal receptor pathway of apoptosis in the development of gallbladder carcinoma. **Methods** Streptavidin-biotin-peroxidase immunohistochemistry technique was used to study the expression of Fas L in gallbladder carcinoma tissues, and TUNEL method for in situ detection of the number of apoptotic infiltrating lymphocytes around the tumor. **Results** The positive rates of Fas L in gallbladder carcinoma, gallbladder adenoma, dysplasia of gallbladder epithelium and chronic cholecystitis were 84.6% (22/26), 83.3% (15/18), 100% (3/3) and 55% (11/20), respectively. The positive rate of Fas L in gallbladder carcinoma was significantly higher than in chronic cholecystitis ($P < 0.05$). The number of apoptotic infiltrating lymphocytes in gallbladder carcinoma of Fas L (+) was significantly higher than in gallbladder carcinoma of Fas L (-) ($P < 0.01$). The number of apoptotic infiltrating lymphocytes in poorly-differentiated gallbladder carcinoma of Fas L (+) was significantly higher than in poorly-differentiated gallbladder carcinoma of Fas L (-) ($P < 0.05$). The number of apoptotic infiltrating lymphocytes in Nevin I, II, III gallbladder carcinoma of Fas L (+) was significantly higher than in Nevin I, II, III gallbladder carcinoma of Fas L (-) ($P < 0.01$). **Conclusions** The death signal receptor pathway of apoptosis plays a role in the development of gallbladder carcinoma.

Key words: GALLBLADDER NEOPLASMS/etiol; APOPTOSIS; DEATH SIGNAL RECEPTOR PATHWAY

CLC number: R735.8; R329.2 **Document code:** A

基金项目: 国家863课题重大资助项目(2002AA214061)。

收稿日期: 2004-08-09; **修订日期:** 2004-11-29。

作者简介: 徐立宁(1974-),男,河南濮阳人,华中科技大学同济医学院附属同济医院博士研究生,主要从事胆胰外科方面的研究。

通讯作者: 徐立宁 电话:027-83660894(O); E-mail: chaoyue528@sohu.com。

越来越多的研究证实,细胞凋亡在恶性肿瘤的发生发展中起着重要作用,而死亡信号受体途径是介导凋亡的重要途径之一,其激活分子——死亡分子(Fas L)在多种肿瘤组织中高度表达^[1,2,3]。本研究通过检测胆囊癌组织中死亡信号受体途径的激活分子FasL的表达水平和胆囊癌组织中浸润的淋

巴细胞的凋亡情况,以探讨死亡信号受体途径在胆囊癌发生发展中的作用。

1 对象与方法

1.1 病例分组及资料

1.1.1 胆囊癌组 收集同济医院近年手术切除的胆囊癌存档标本26例。男12例,女14例;年龄27~78(平均58.6)岁;高分化11例,低分化15例;Nevin分期I,II,III期13例,IV,V期13例。

1.1.2 胆囊单纯性腺瘤组 18例。男9例,女9例;年龄19~78(平均45.9)岁。

1.1.3 胆囊上皮不典型增生组 因胆囊结石手术,术后病检发现胆囊上皮不典型增生3例。皆为女性,年龄40~65(平均49)岁。

1.1.4 慢性胆囊炎组 20例。男8例,女12例;年龄22~76(平均43.7)岁。

所有标本均经常规甲醛固定和石蜡包埋,经4 μm 连续切片检查证实诊断。

1.2 检测项目

1.2.1 FasL蛋白的检测 FasL多抗为美国Santa Cruz公司产品,工作浓度均为1:50。FasL蛋白染色方法为SP免疫组织化学法。用已知的FasL蛋白阳性的结肠癌组织作阳性对照,以PBS液替代一抗作阴性对照。FasL蛋白以细胞膜(或浆)棕黄色或棕褐色染色为阳性。结果判断:无细胞染色(-),有细胞染色(+)

1.2.2 肿瘤周围浸润的淋巴细胞的凋亡检测 用TUNEL法原位检测细胞凋亡。细胞凋亡原位检测试剂购自北京中山生物技术有限公司。每张切片随机挑选10个高倍镜视野(400倍),计算在高倍镜视野下浸润的淋巴细胞发生凋亡的数量的置信区间。

1.3 统计学方法

采用 χ^2 检验、Fisher's精确概率检验和 t 检验。

2 结果

2.1 FasL蛋白的表达

FasL蛋白在胆囊癌(图1)、胆囊腺瘤、胆囊上皮不典型增生和慢性胆囊炎的阳性率分别为84.6%(22/26),83.3%(15/18),100%(3/3)和55%(11/20);胆囊癌阳性率高于慢性胆囊炎,差异有显著性意义($P < 0.05$)(附表)。

2.2 浸润淋巴细胞的凋亡

浸润淋巴细胞发生凋亡的数量在FasL(+)的胆囊癌组织中(图2)高于FasL(-)者,差异有非常显著意义($P < 0.01$);在FasL(+)的低分化胆囊癌组织中凋亡数明显高于FasL(-)者,差异有显著意义($P < 0.05$);在FasL(+)的NevinI,II,III期胆囊癌组织中淋巴细胞凋亡数高于FasL(-)的NevinI,II,III期胆囊癌组织,差异有非常显著意义($P < 0.01$)(附表)。在胆囊腺瘤组织和慢性胆囊炎组织中未见到浸润淋巴细胞的凋亡。

图1 胆囊癌组织中FasL蛋白的表达(SP \times 200)

图2 胆囊癌组织的凋亡(TUNEL \times 400)

附表 FasL 在胆囊癌中的表达和淋巴细胞凋亡情况

组织类型	总例数	FasL 阳性例数	淋巴细胞的凋亡(FasL +)	淋巴细胞的凋亡(FasL -)
胆囊癌	26	22	4.32 ± 0.91	2.00 ± 0.81
高分化	11	9	3.11 ± 1.33	1.50 ± 0.98
低分化	15	13	5.15 ± 1.04 ²⁾	2.50 ± 0.98
Nevin I, II, III	13	10	3.90 ± 1.44	1.67 ± 0.66
Nevin IV, V	13	12	4.67 ± 1.17 ³⁾	3.00 ± 0.00
不典型增生	3	3	3.67 ± 2.35	0
胆囊腺瘤	18	15	0	0
慢性胆囊炎	20	11 ¹⁾	0	0

注:1)与胆囊癌比较, $P < 0.05$; 2)与高分化癌比较, $P < 0.05$; 3)与I,II,III期比较, $P < 0.01$

3 讨论

Fas/FasL 属于肿瘤坏死因子受体/神经生长因子受体及其配体超家族中的成员。FasL 为 II 型膜蛋白,它是 Fas 的天然配体。FasL 通过与 Fas 交联而介导表达 Fas 的细胞发生凋亡^[4]。大量实验研究^[1,2,3]表明,各种癌细胞株表达的 FasL 均能诱导表达 Fas 的淋巴细胞凋亡,而且 FasL 的表达随着肿瘤恶性程度的增高而逐渐增高,肿瘤周围浸润的淋巴细胞的数量及其凋亡的数量也都随着肿瘤恶性程度的增高而逐渐增高,提示肿瘤也可能为免疫豁免区。这样,保护自身正常组织免受自身免疫破坏的机制同样被肿瘤组织用于清除企图攻击肿瘤细胞的淋巴细胞,从而减少了肿瘤细胞被杀伤的机会,最终导致肿瘤细胞过度增殖^[5,6,7]。

本研究结果显示,FasL 蛋白的阳性率在胆囊癌组织中高于慢性胆囊炎组织 ($P < 0.05$);浸润的淋巴细胞发生凋亡的数量在 FasL (+) 的胆囊癌组织中高于 FasL (-) 的胆囊癌组织 ($P < 0.01$);在 FasL (+) 的低分化胆囊癌组织中高于 FasL (-) 的低分化胆囊癌组织 ($P < 0.05$);在 FasL (+) 的 Nevin I, II, III 期胆囊癌组织高于 FasL (-) 的 Nevin I, II, III 期胆囊癌组织 ($P < 0.01$)。差异有非常显著意义。提示胆囊癌细胞表达的死亡信号受体途径的激活分子 FasL 通过诱导在癌组织浸润的淋巴

细胞的凋亡从而使癌细胞逃避了机体的清除;其上调表达在胆囊癌的分化和转移过程中扮演重要角色。本实验结果证实凋亡的死亡信号受体途径参与了胆囊癌的发生、发展过程。

参考文献:

- [1] 李子禹,邹声泉. FasL 在肝门部胆管癌免疫逃逸机制中作用的研究[J]. 中华肝胆外科杂志, 2002, 8(4): 255 - 256.
- [2] Zheng HC, Sun JM, Wei ZL, *et al.* Expression of Fas ligand and caspase - 3 contributes to formation of immune escape in gastric cancer[J]. World J Gastroenterol, 2003, 9(7): 1415 - 1420.
- [3] 郑凯,何建沫. Fas/fasl 在胃癌中的表达及其意义[J]. 中国普通外科杂志, 2001(5): 462 - 464.
- [4] Green DR. Apoptotic pathways: The roads to ruin [J]. Cell, 1998, 94(6): 695 - 698.
- [5] Muller L, Kiessling R, Rees RC, *et al.* Escape mechanisms in tumor immunity: an update [J]. J Environ Pathol Toxicol Oncol, 2002, 21(4): 277 - 330.
- [6] 周彦明,朱有全,薛左良,等. CyclinD1 在胆囊癌中的表达及其与临床病理因素的关系. 中国普通外科杂志, 2003(2): 110 - 112.
- [7] Benchetrit F, Gazagne A, Adotevi O, *et al.* Cytotoxic T lymphocytes: role in immunosurveillance and in immunotherapy [J]. Bull Cancer, 2003, 90(8-9): 677 - 685.