

介入化疗对宫颈鳞状细胞癌细胞凋亡和增殖的影响 *

龚 沂 蔡丽萍 易为民

江西医学院第一附属医院妇科 (南昌市 330006)

摘要 目的:探讨介入化疗对宫颈鳞癌的细胞凋亡和增殖的影响。方法:选取宫颈鳞癌患者 30 例,介入化疗前后子宫组织,采用 DNA 缺口原位末端标记法(TUNEL)检测细胞凋亡,用凋亡指数(AI)表示;免疫组化染色 SP 法检测 Ki67 指数表达增殖变化,用 LI 表示;计算凋亡/增殖比例(AI/LI),并取 30 例正常宫颈上皮组织作为对照。结果:1)介入化疗后 AI 明显高于介入化疗前($P<0.05$)。2)介入化疗后 LI 明显低于介入化疗前($P<0.05$)。3)介入化疗前 AI/LI(0.1293 ± 0.079)低于对照组($0.203\ 3\pm0.055$),介入化疗后 AI/LI($0.995\ 6\pm0.976$)高于对照组,介入化疗后 AI/LI 明显高于介入化疗前,均有统计学意义($P<0.05$)。结论:介入化疗能诱导宫颈癌细胞的凋亡,抑制宫颈癌细胞的增殖;AI/LI 能表示细胞凋亡和增殖之间平衡。

关键词 介入化疗 宫颈鳞状细胞癌 凋亡指数 Ki67 指数

中图分类号:R737.33 **文献标识码**:A **文章编号**:1000-8179(2005)06-0308-03

The Effect of Intra-arterial Infusion Chemotherapy on Apoptosis and Proliferation in Squamous Carcinoma of the Cervix

Gong Yi Cai Liping Yi Weimin

Department of Gynecology, The First Affiliated Hospital of Jiangxi Medical College, Nanchang

Abstract **bjective:** To investigate the effect of intra-arterial infusion chemotherapy on apoptosis and proliferation in squamous carcinoma of the cervix. **Methods:** Cervical tissues in normal cervix group, cervical cancer group before intra-arterial infusion chemotherapy and after intra-arterial infusion chemotherapy were examined and 30 cases were involved in each group. Apoptosis index (AI) was detected by DNA in situ terminal-deoxynucleotidyl transferase mediated nick end labeling (TUNEL). Ki67 labeling index (LI) was detected by SP immunohistochemical technique. The rate of AI/LI was analyzed. **Results:** 1) Apoptosis index (AI) in cervical cancer group before intra-arterial infusion chemotherapy was significantly lower than that after intra-arterial infusion chemotherapy ($P<0.05$). 2) Ki67 labeling index (LI) in cervical cancer group before intra-arterial infusion chemotherapy was significantly higher than that after intra-arterial infusion chemotherapy ($P<0.05$). 3) The rate of AI/LI in cervical cancer group before intra-arterial infusion chemotherapy was lower than that in normal cervix group, the rate of AI/LI in cervical cancer group after intra-arterial infusion chemotherapy was higher than that in normal cervix group. The rate of AI/LI in cervical cancer group after intra-arterial infusion chemotherapy was higher than that before intra-arterial infusion chemotherapy ($P<0.05$). **Conclusion:** Interventional chemotherapy can induce apoptosis of human cervical cancer cells and inhibit the proliferation. The rate of AI/LI can express the balance of cell apoptosis and proliferation.

Key words Intra-arterial infusion chemotherapy Cervical cancer

Apoptosis index (AI) Ki67 labeling index (LI)

* 本文课题受江西省自然科学基金资助(编号:F980509)

宫颈癌是最常见的妇科恶性肿瘤之一,传统治疗方式为手术和放疗,化疗多用于治疗中晚期或复发性宫颈癌,处于辅助和姑息治疗的地位。近年来有不少学者应用介入化疗治疗宫颈癌,并取得了一定的临床疗效^[1,2],使介入动脉化疗成为一种有效的宫颈癌辅助治疗方法。本研究通过检测介入化疗前后宫颈癌组织凋亡指数(AI)、Ki-67 指数(LI),探讨介入化疗对细胞凋亡和增殖的影响,从而为介入化疗进行更深入的基础研究,为宫颈癌临床治疗方案的制定、介入化疗疗效的判定和预后提供客观的依据。

1 材料与方法

1.1 临床资料

选取 1999 年 1 月至 2003 年 7 月本院收治经病理活检确诊的宫颈鳞癌患者 30 例,年龄 31~66 岁,平均 46.73±8.80 岁,患者行介入化疗前均未接受任何治疗,且符合:1)FIGO 分期在Ⅱb 期及以上;2)肝肾功能良好;3)心电图、胸片正常;4)血常规 WBC≥4.0×10⁹/L;5)凝血酶原时间正常;6)无其他内外科合并症。

1.2 分组

30 例患者均经病理诊断,分别于化疗前后取宫颈肿瘤组织,为化疗前组和化疗后组;另取 30 例正常宫颈上皮组织作为对照组。按照 WHO 病理分级标准分为:G₁ 级组 6 例,G₂ 级组 14 例,G₃ 级组 10 例。按照 FIGO 临床分期标准分组为:Ⅱb 期组 12 例,Ⅲa 期组 8 例,Ⅲb~Ⅳ期组 10 例(其中Ⅲb 期 9 例,Ⅳ期 1 例)。

1.3 主要试剂

Ki-67(ZM-0166)即用型单克隆抗体(北京中山生物技术有限公司);原位细胞凋亡检测试剂盒(德国 Boehringer Mannheim 公司)。

1.4 方法

经确诊的宫颈鳞状细胞癌患者,取肿瘤组织上约 0.3cm×0.3cm×0.3cm 大小,用 10%福尔马林液固定后送病理科常规包埋,制成蜡块。然后患者行 Seldinger 穿刺介入化疗后 7~14 天,再次同上法取组织制成蜡块。

每例蜡块连续切片 3 张,厚度 3~5μm,分别进

行 TUNEL 检测、免疫组织化学(SP 法)检测 Ki67 及 HE 染色。免疫组化染色用已知阳性切片作对照,阴性对照由 PBS 代替一抗。TUNEL 阳性用细菌的核酸酶使之产生 DNA 链缺口,阴性对照用 50μl 试剂 2 代替 TUNEL 反应混合溶液。另取 30 例良性病变行全子宫切除术正常宫颈上皮组织作为对照。

1.5 结果判定

Ki-67 指数 (Ki67 Labeling index Ki-67 LI):细胞核中有棕黄色颗粒为阳性,随机观察 10 个高倍视野,每个视野连续计数 100 个细胞的阳性细胞数,以平均数为 Ki-67 指数(Ki67 Labeling Index,LI)。

凋亡细胞计数:细胞核中有棕黄色颗粒为阳性,即凋亡细胞。随机观察 10 个高倍视野,每个视野连续计数 100 个细胞的凋亡细胞数,以平均数为凋亡指数(Apoptotic Index,AI)。

1.6 统计学分析

应用计量资料以平均值标准差表示,采用 *t* 检验、方差分析;应用 SPSS10.0 软件进行统计分析。

2 结果

2.1 介入化疗前后各组 AI、LI 和 AI/LI 的比较

介入化疗前、后 AI、LI 均明显高于正常;介入化疗后 AI 明显高于介入化疗前,介入化疗后 LI 明显低于介入化疗前。介入化疗前 AI/LI 低于对照组,介入化疗后 AI/LI 高于对照组,见表 1。

表 1 各组 AI、LI 和 AI/LI 的比较 $\bar{x} \pm s$

组别	AI	LI	AI/LI
对照组	2.54±0.87	13.03±4.76	0.203 3±0.055
化疗前组	5.77±0.97*	53.93±20.82*	0.129 3±0.079*
化疗后组	11.65±2.36**	18.13±11.61**	0.995 6±0.976**

与对照组比较 **P*<0.05;与化疗前组比较 ***P*<0.05

2.2 病理分级与介入化疗前后 AI、LI 和 AI/LI 影响

AI、LI 在介入前、后随病理分级的增高逐渐增高;AI/LI 在不同病理分级间无统计学意义,见表 2。

2.3 临床分期对介入化疗前后 AI、LI 和 AI/LI 影响

AI、LI 在介入化疗前、后随临床分期的增高逐渐增高,AI/LI 在不同临床分期间无统计学意义,见表 3。

表 2 病理分级与介入化疗前后 AI、LI 和 AI/LI 的比较 $\bar{x} \pm s$

组别	例数	介入前			介入后		
		AI	LI	AI/LI	AI	LI	AI/LI
G ₁ 组	6	4.43±0.74	33.83±16.68	0.151 7±0.053 2	8.42±1.26	8.83±3.54	1.045 0±0.287 7
G ₂ 组	14	5.84±0.67*	55.00±22.19*	0.138 7±0.107 7	11.73±1.16*	16.50±11.55	1.280 1±1.359 6
G ₃ 组	10	6.48±0.59*	64.50±11.65*	0.102 7±0.016 5	13.49±2.11**	26.00±10.22*	0.567 6±0.157 3

与 G₁ 级组比较 **P*<0.05;与 G₂ 级组比较 ***P*<0.05

表 3 临床分期对介入化疗前后 AI、LI 和 AI/LI 的比较 $\bar{x} \pm s$

组别	例数	介入化疗前			介入化疗后		
		AI	LI	AI/LI	AI	LI	AI/LI
Ⅱb 组	12	5.17±0.97	44.42±22.23	0.157 9±0.115 0	10.64±2.28	12.08±7.59	1.335 6±1.315 4
Ⅲa 组	8	5.98±0.77*	55.00±21.55	0.121 0±0.039 8	11.38±1.80*	18.00±12.67	0.997 9±0.860 4
Ⅲb~Ⅳ组	10	6.33±0.76*	64.50±13.63	0.101 5±0.021 5	13.09±2.33*	25.50±11.41*	0.585 8±0.201 5

与Ⅱb 期组比较 * $P<0.05$

3 讨论

正常宫颈组织和宫颈癌组织均存在不同程度的细胞凋亡。宫颈高分化鳞状细胞癌组织中,凋亡细胞主要分布于角化珠周围及间质内。低分化鳞状细胞癌组织中,凋亡细胞相对增多,分布于癌组织及间质内。AI 随病理学分级升高而增高,提示宫颈癌分化越差,细胞凋亡越多,介入治疗后,凋亡细胞增多。提示介入化疗能通过诱导细胞凋亡来达到治疗的目的。研究表明,在子宫内膜癌、乳腺癌中,高度恶性癌往往比低度恶性癌出现更多的细胞凋亡^[3,4]。陈春林等^[5]对宫颈癌患者进行介入化疗后发现病理分级明显好转,表现为介入化疗前低分化为主而介入治疗后以高分化为主;对不同类型、不同期别子宫内膜癌行介入治疗后,发现部分患者在病理学上癌细胞全部消失^[6]。

正常子宫颈组织中,仅鳞状上皮的基底层可见阳性,高分化鳞状细胞癌组织中,阳性细胞主要分布于癌细胞团底外围。低分化鳞状细胞癌组织中,阳性细胞增多,大部分癌细胞核均呈现较强的阳性染色。Ki-67 指数随病理学分级升高而增高,提示宫颈癌分化越差,Ki-67 指数越高,细胞异常增殖越旺盛,侵袭力越强,转移能力也随之增强。介入化疗后阳性细胞减少,提示介入化疗能通过抑制细胞增殖来达到治疗的目的。傅伟明等^[7]研究指出 Ki-67 抗原能准确反映出肿瘤的性质,并能发现病理分级较低却有较高增殖能力的恶性肿瘤。

由于细胞增殖与凋亡对肿瘤生长都具有影响,因此有些学者提出采用一种混合指数(compound index)来反映肿瘤细胞的增殖活性。Ioffe 等^[8]发现凋亡指数(AI)及 AI/MI、AI/Ki67 的比率和子宫内膜的恶变过程具有相关性。本文结果表明:介入化疗前组的 AI/LI 低于对照组,介入化疗后组的 AI/LI 明显高于对照组,均有统计学意义。介入化疗后,AI/LI 比治疗前明显增高($P<0.05$),与 AI 呈同步变化。提示不同病理分级、不同临床分期间 AI/LI 无统计学意义。

Sultana 等^[9]发现化疗后有效者凋亡指数(AI)显著高于无效者,Ki-67 指数(LI)显著低于无效者。朱雪琼等^[10]认为化疗前细胞 PCNA 指数(PI)高者化疗

疗效好,化疗后缓解者 AI 或 AI/PI 值均明显增高,且高于化疗后未缓解者水平。Lera J 等^[11]对喉癌的研究发现,Ki67 指数及治疗前凋亡指数低的患者,癌的复发率较低、生存率较高;多因素分析表明肿瘤范围和治疗前凋亡指数是两个重要的预后因素。作者认为,AI、LI、AI/LI 可作为判定介入化疗疗效的客观依据,但是否可作为判断预后的指标及其与复发和转移的关系,尚待进一步观察。

参考文献

- 1 巫岳鹏,梅卓贤,何科,等.术前术后介入治疗 30 例宫颈浸润癌[J].中国肿瘤临床,2003,30(4):280~282
- 2 Benedetti-Panici P, Greggi S, Colombo A, et al. Neoadjuvant Chemotherapy and radical surgery versus exclusive radiotherapy in locally advanced squamous cell cervical cancer[J]. J Clin Oncol, 2002, 20(1): 179~188
- 3 Saegusa M, Kamata Y, Isono M, et al. Bcl-2 expression id correlated with a low apoptotic index and associated with progesterone receptor immunoreactivity in endometrial carcinomas [J]. J Pathol, 1996, 180(3): 275~282
- 4 Mustonen M, Raunio H, Pääkkö P, et al. The extent of apoptosis is inversely associated with Bcl-2 expression in premalignant and malignant breast lesion[J]. Histopathology, 1997, 31(4): 347~354
- 5 陈春林,梁立治,刘佩鸣,等.介入治疗在中晚期妇科恶性肿瘤中应用的临床研究[J].中国实用妇科与产科杂志,2000,16(11):667~669
- 6 陈春林,刘萍,马奔,等.子宫内膜癌介入治疗前后癌组织的病理学改变[J].中国实用妇科与产科杂志,2003,19(7):417~419
- 7 傅伟明,Heinz-Hermann Hugo.增殖性抗原 Ki-67、增殖细胞核抗原、Ki-SI 在幕上星型细胞瘤的诊断价值比较 [J]. 中华病理学杂志,1997,26(3):170~170
- 8 Ioffe OB, Papadimitriou JC, Drachenberg CB. Correlation of proliferation indices, apoptosis, and related oncogene expression (bcl-2 and c-erbB-2) and P53 in-proliferative, hyperplastic, and malignant endometrium[J]. Hum Pathol, 1998, 29(10): 1150~1159
- 9 Sultana H, Kigawa J, Kanamori Y, et al. Chemosensitivity and P₃₃-Bax pathway-mediated apoptosis in patients with uterine cervical cancer[J]. Ann Oncol, 2003, 14(2): 214~219
- 10 朱雪琼,岳天孚,惠京,等.局部晚期宫颈癌新辅助动脉化疗疗效的评价[J].实用肿瘤杂志,2002,17(6):373~375
- 11 Lera J, Lara PC, Perez S, et al. Tumor proliferation P₃₃ expression, and apoptosis in laryngeal carcinoma [J]. Cancer, 1998, 83 (12): 2493~2501

(2004-09-23 收稿)

(2004-12-23 修回)

(杨红欣校对)