

其病死率可以减少 35.3%^[10]。

综上所述,根据笔者的研究表明,临床中经常使用的血液净化方式为单纯血液透析、血液透析合并血液灌流、血液透析滤过,其中 HDF 治疗后尿毒症患者的血 β_2 -MG、PTH 水平和治疗前比较明显下降,这说明依赖弥散、对流和吸附结合作用清除溶质的作用非常明显。HP 利用疏松、多孔、比表面积大的吸附剂清除中、高分子物质,其中对甲状旁腺素清除效果较好,对 β_2 -MG 的吸附效果不明显。单纯血液透析能够对面积大、弥散性强的低分子物质(尿素、肌酐、尿酸等)清除能力强,能够及时的纠正酸碱紊乱和电解质异常,而且能够逐渐恢复患者体内的内环境稳定,但是对于中高分子物质的清除效果不明显,为尿毒症患者选择适宜的血液净化治疗方式提供了临床依据。

参考文献

- 1 罗国鸿.不同血液净化方式对维持性血液透析患者残余肾功能的影响[J].中国老年学杂志,2015,35(17):4958-4959
- 2 陈伟,崔天蕾,谢林仲,等.不同血液净化方式对维持性血液透析患者微炎症状态和营养状态的影响[J].中国老年学杂志,2015,2:379-380
- 3 郭皓,杨向东,鲜万华,等.不同血液净化方式对维持性血液透析

患者微炎症指标及 Fetuin-A 的相关性研究[J].医学与哲学,2014,35(20):29-31,34

- 4 张跃男,白云娟,王晓媛,等.不同血液净化方式对维持性血液透析患者残余肾功能的影响[J].中国医药导报,2015,12:156-159
- 5 师军华,王东红.不同血液净化方式对终末期肾病患者血清抗氧化低密度脂蛋白抗体的影响[J].中国老年学杂志,2014,8:2107-2108
- 6 江伟忠,陈理境,施向东,等.不同血液净化方式对维持性血透患者血清心肌钙蛋白 T/I、 β_2 微球蛋白及白介素-6 水平的影响[J].中国生化药物杂志,2015,35(10):73-75
- 7 张丽琴,凌志雄,孙蝶丽,等.三种血液净化方式在尿毒症患者中的应用效果及护理[J].齐齐哈尔医学院学报,2015,23:3586-3587
- 8 谢娟,李正胜,黄波,等.不同血液净化方式对血透患者微炎症状态的影响[J].贵阳中医学院学报,2014,36(5):92-95
- 9 梁新华,芝敏,张蕾,等.两种不同血液净化方式对慢性肾衰竭尿毒症患者体内毒素清除效果比较[J].陕西医学杂志,2015,(7):819-821
- 10 Jirka T, Cesare S, DiB A, et al. Mortality risk for patients receiving hemodiafiltration versus hemodialysis[J]. Kidney Int, 2006, 70: 1524-1525

(收稿日期:2016-06-16)

(修回日期:2016-07-13)

Shock Protein 40 在肝内胆管癌中的表达及意义

李 宇 王世美 冉文斌 李 姣 陈斌 单 晶

摘 要 目的 观察热休克蛋白 40 (shock protein 40, HSP40) 肝内胆管细胞癌组织、肝细胞癌组织及正常肝组织中的表达,探讨其在肝内胆管细胞癌发生中的作用,为肝内胆管细胞癌的早期诊断和治疗提供一定的指导意义。**方法** 应用免疫组化检测 HSP40 在 30 例肝内胆管细胞癌组织、20 例肝细胞癌组织和 15 例肝细胞癌旁组织中的表达情况;应用酶联免疫吸附实验 (ELISA) 检测相应 30 例肝内胆管细胞癌患者、20 例肝细胞癌患者和 15 例正常健康志愿者体内血清中 HSP40 的含量,ELISA 试剂盒购自 Cusabio 公司。**结果** HSP40 在肝内胆管细胞癌患者中表达量为 502.07 ± 64.53 ,显著高于正常健康志愿者中表达量为 105.31 ± 27.00 ($P < 0.02$);在肝细胞癌患者中表达量为 412.00 ± 53.41 ,并且 HSP40 在肝内胆管细胞癌患者中比肝细胞癌患者中明显较高。**结论** HSP40 在肝内胆管细胞癌中的高表达可能与与其癌变的发生和发展有着重要的关联,可作为肝内胆管细胞癌的辅助诊断指标之一及判断预后的重要指标。

关键词 肝内胆管细胞癌 热休克蛋白 40 免疫组化 酶联免疫吸附反应

中图分类号 R57 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2017.03.041

Expression of Shock Protein 40 in Intrahepatic Bile Duct Carcinoma and Its Clinical Significance. Li Yu, Wang Shimei, Ran Wenbin, et al. Department of Gastroenterology of Chongqing Medical University Second Clinical Medical College in Chengdu, Sichuan 610031, China

Abstract Objective To observe the expression of heat shock protein (40 shock protein, 40 HSP40) in intrahepatic bile duct carcinoma, liver cancer tissue and normal liver tissue, to explore its role in intrahepatic bile duct carcinoma, for the early diagnosis and treatment of liver cancer provide certain guiding significance. **Methods** With immunohistochemical, we detected the expression of HSP40 in 30

cases of intrahepatic bile duct carcinoma tissue, 20 cases hepatocellular carcinoma tissues and 15 cases normal liver tissue. With Enzyme-linked immunosorbent assay, we detected the expression of HSP40 in serum of 30 cases of intrahepatic bile duct carcinoma, 20 cases hepatocellular carcinoma and 15 cases normal liver. **Results** HSP40 in patients with intrahepatic bile duct carcinoma was higher than that in normal healthy volunteers HSP40 in intrahepatic bile duct carcinoma in patients was significantly higher than that in patients with liver cancer. **Conclusion** HSP40 in intrahepatic bile duct carcinoma may be related to high expression which had significant correlation with its occurrence and development of canceration. It can be used as one of the auxiliary diagnosis indexes of intrahepatic cholangiocarcinoma, and one of the important indices for judging prognosis.

Key words Intrahepatic cholangiocarcinoma; HSP40; IHC; ELISA

肝内胆管癌 (intrahepatic cholangio carcinoma, ICC) 也称外周型胆管癌, 作为肝内小胆管癌, 位于二级胆管以上^[1]。病毒性肝炎、肝内胆管结石和感染、原发性硬化性胆管炎以及先天性肝内胆管扩张症等原因都可能造成肝内胆管癌的发生。ICC 对化疗、放疗等不敏感, 预后差; 并且其肿瘤无包膜, 边界不清晰, 一般沿胆管壁呈浸润性生长, 早期易出现淋巴结转移和周边卫星灶, 手术后复发率高, 因此在诊断和治疗上都存在较大的困难^[2]。

热休克蛋白 (heat shock protein, HSP) 首先在处于高温条件下的细胞中被发现的, 当外界因素刺激细胞时, 热休克蛋白便会产生, 对细胞具有保护作用^[3]。此外, 当机体被感染, 或者处于缺血状态时, 热休克蛋白的含量升高; 当细胞发生恶性转化时, 热休克蛋白的表达量也会增加^[4, 5]。热休克蛋白的主要功能是辅助蛋白质的正确折叠, 促进错误折叠蛋白的降解, 使得细胞能够抵抗外界环境的侵害^[6]。最近有文献报道, 在多种肿瘤中存在热休克蛋白的高表达, 高表达的热休克蛋白能够促进细胞的生长或抑制细胞凋亡^[7~9]。热休克蛋白目前已知有 5 个家族成员, 这些家族成员在进化上是高度保守的。HSP40 是该家族中重要一员, 对细胞的存活、生长起到重要作用。其发挥作用的主要方式是通过辅助 HSP70 参与广泛的生理生化过程, 其中包括 DNA 转录、蛋白的运输、细胞生长、细胞增殖等过程^[10]。

材料与方法

1. 检测对象: 由笔者医院病理科提供 2013 年 3 月 ~ 2016 年 3 月 30 例肝内胆管细胞癌组织、20 例肝细胞癌组织和 15 例肝细胞癌旁组织, 根据活检、术后病例诊断为肝内胆管细胞癌。中性甲醛溶液固定制成石蜡切片石蜡包埋, 半薄切片, 保存备用。在患者或者对照人群在初诊入院时同步留取相应 30 例肝内胆管细胞癌患者、20 例肝细胞癌患者血清和 15 例健康志愿者静脉血 2ml, 离心提取上层血清, -80℃ 冻

存待用, 进行检测时冰上溶解, 血液中 HSP40 用 ELISA 试剂盒进行检测。

2. 检测方法: (1) 采用酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测: 每组加入样品 100μl, 进行 3 个重复, 并且设置 8 个标准品做相应的标准曲线, 孵育 1h; 洗涤后加入 100μl 的酶标抗体孵育 1h; 底物显色液孵育 30min; 终止反应, 用 PE 公司酶标仪检测吸光度值; 参考标准曲线计算得出 HSP40 的绝对浓度。(2) 组织标本免疫组化检测患者做病理检测时, 全部标本经 Bouin's 固定液固定 24h 以上, 常规石蜡包埋, 4μm 连续切片。用 HSP40 抗体 (购自 Proteintech 公司) 采用免疫组化法 (SP) 染色和 DAB 显色, 具体操作按 SP 染色步骤进行。免疫组化数据采用 Shimizu 法评分, 阳性细胞百分率: 无阳性细胞计 0 分; 阳性细胞 < 25% 为 1 分; 25% ~ 50% 为 2 分; > 50% 为 3 分, 再按染色强度将无、弱、中、强分别计为 0 ~ 3 分。最后综合两部分得分, 以百分比评分 × 显色强度为最终评分标准, 其中 < 1 定义为阴性; ≥ 1, < 2 定义为弱阳性, ≥ 2 定义为强阳性, ≥ 1 均为阳性。

3. 统计学方法: 应用 SSPS 17.0 和 Graphpad prism 6 软件进行统计学分析和做图。计量数据以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用 *t* 检验, 以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1. 免疫组化结果: 在 30 例肝内胆管癌组织中 26 例为阳性表达 (86.7%), 20 例肝细胞癌组织中 17 例为阳性表达 (85%), 15 例肝细胞癌旁组织中 1 例为弱阳性表达 (6.7%, 表 1)。免疫组化结果显示 HSP40

表 1 免疫组化结果各组织 HSP40 表达情况 (n)

表达情况	肝内胆管癌组织	肝细胞癌组织	肝细胞癌旁组织
阳性	26	17	0
弱阳性	3	3	1
阴性	1	0	14
总计	30	20	15

在肝内胆管癌和肝细胞癌组织呈阳性表达,在癌旁肝组织中阴性表达,而且肝内胆管癌组织中表达较肝细

胞癌组织中高($P < 0.02$,图 1)。

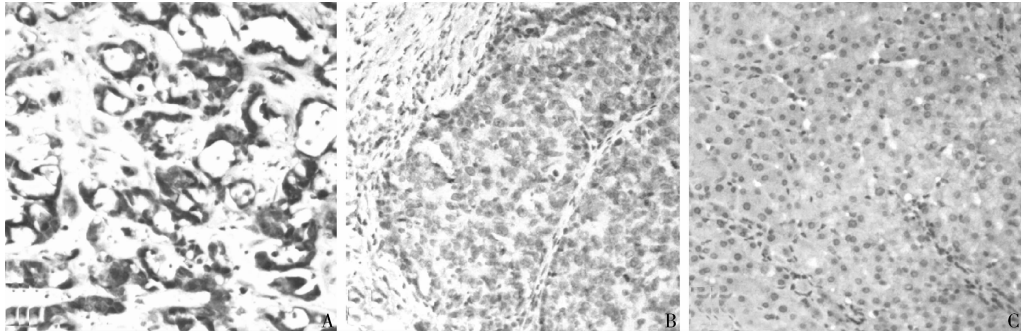


图 1 组织 HSP 表达情况 (DAB, ×100)
A. 肝内胆管癌;B. 肝细胞癌;C. 肝细胞癌旁组织

2. 肝内胆管癌患者、肝细胞癌患者和健康志愿者血清 HSP40 水平比较:肝内胆管癌患者,肝细胞癌患者,健康志愿者三者血清中 HSP40 的表达水平比较:ELISA 试剂盒检测结果显示,肝内胆管癌患者的血清种 HSP40 水平均明显高于肝细胞癌患者和健康志愿者组(表 2)。

表 2 3 组患者血清 HSP40 表达水平比较

组别	检测组病例数(n)	HSP40
肝内胆管癌患者	30	502.07 ± 64.53 *
肝细胞癌患者	20	412.00 ± 53.41
健康志愿者	15	105.31 ± 27.00

与健康志愿者组比较, * $P < 0.05$

3. 方法:HSP40 在肝内胆管细胞癌患者、肝细胞癌患者、健康志愿者血清中的表达情况:将检测到数据用 SPSS 软件进行分析,HSP40 在肝内胆管细胞癌患者,肝细胞癌患者,健康志愿者中的表达有明显差异,在肝内胆管癌患者中表达高于肝细胞癌患者,与健康志愿者组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

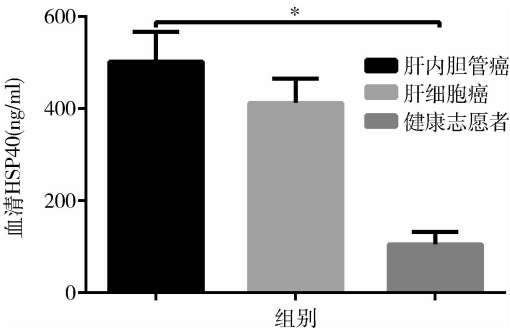


图 2 血清中 HSP40 测定值的统计学分析
* $P < 0.05$

讨 论

肝内胆管细胞癌是胆管上皮细胞癌的一种,其发病与肝内胆管结石、病毒性肝炎、原发性硬化性胆管炎、Caroli 病、寄生虫感染等有关,近年来,其发生率也有明显的升高,占消化道恶性肿瘤的 3%^[11]。细胞与内环境之间存在动态平衡,进而调控细胞的增殖、分化、凋亡等一系列的生理生化过程,肿瘤细胞为获取无限的增殖能力,不断调整细胞内分子的表达变化,从而适应微环境中各种不良刺激^[12,13]。HSP40 在肿瘤细胞的表达升高,能够促进的细胞内一系列的信号转导通路的改变,最终促进肿瘤的发生、发展。热休克蛋白 HSP40 作为分子伴侣,主要参与蛋白质的折叠、三四级构象的形成、以及蛋白质的跨膜转运,在肿瘤中发生高表达,保护作用肿瘤的演进过程^[14~16]。HSP40 是肿瘤的诱发因素,通过调控肿瘤细胞的信号转导过程,促进肿瘤细胞的增殖^[17]。

本研究通过免疫组织化学实验和酶联免疫吸附反应实验检测 HSP40 在肝内胆管癌中的表达情况,发现热休克蛋白 40 在肝内胆管癌和肝细胞癌中阳性表达,在癌旁组织中阴性表达,而且热休克蛋白 40 在肝内胆管癌中的表达要高于肝细胞癌中的表达,结果显示热休克蛋白 40 可以作为肝内胆管癌的一种生物分子检测标志物,可与 CT、MRI、影像检测等临床的检测手段配合使用,能够提供一种更为有效的肝内胆管癌诊断手段,可以作为一种全新的肝内胆管癌检测和诊断的生物标志物,与病理检测相互配合能够有效提高诊断的特异性和准确性,更好的为临床医生诊断提供有价值的生物指标,为肝内胆管癌的早期诊断和分子治疗提供一定的指导意义。

参考文献

- 1 吴志勇, 罗蒙. 肝内胆管癌的新认识[J]. 外科理论与实践, 2009, 14: 135 - 139
- 2 吴胜东, 陆才德. 肝内胆管癌诊治进展[J]. 现代实用医学, 2004, 16: 561 - 563
- 3 Jegu G, Hazoumé A, Seigneuric R, *et al.* Targeting heat shock proteins in cancer[J]. *Cancer Lett*, 2013, 332: 275 - 285
- 4 Lianos GD, Alexiou GA, Mangano A, *et al.* The role of heat shock proteins in cancer[J]. *Cancer Lett*, 2015, 360: 114 - 118
- 5 Summers DW, Wolfe KJ, Ren HY, *et al.* The type II Hsp40 Sis1 co-operates with Hsp70 and the E3 ligase ubr1 to promote degradation of terminally misfolded cytosolic protein[J]. *PLoS One*, 2013, 8: e52099
- 6 张敏, 刘晓民. 热休克蛋白与肿瘤的研究进展[J]. 中华肺部疾病杂志: 电子版, 2013, 6: 60 - 62
- 7 张晨. 热休克蛋白 70 (HSP70) 在肝癌中的表达及其临床意义[J]. 中国当代医药, 2009, 16: 62 - 65
- 8 麦虹, 龙凤宜, 温冠媚, 等. 热休克蛋白 40 mRNA 在卵巢上皮性癌中的表达及意义[J]. 实用妇产科杂志, 2010, 26: 121 - 123
- 9 李玉保, 付旭彬, 鲍恩东. 热休克蛋白研究进展[J]. 畜牧与兽医, 2004: 38 - 40
- 10 Wang H, Fang Y, Wang L, *et al.* Transcriptome analysis of the Bombyx mori fat body after constant high temperature treatment shows differences between the sexes[J]. *Mol Biol Rep*, 2014, 41: 6039 - 6049
- 11 Khan S, Toledano M, Taylor - Robinson S. Epidemiology, risk factors, and pathogenesis of cholangiocarcinoma[J]. *HPB*, 2008, 10: 77 - 82
- 12 李航宇, 孔凡民, 董明, 等. HSP70 和 JNK 信号转导通路在肝癌组织中的表达及意义[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2006, 15: 240 - 245
- 13 Robert Julian B. Functions of heat shock proteins in pathways of the innate and adaptive immune system[J]. *J Immunol*, 2014, 193: 5765 - 5771
- 14 Reidy M, Sharma R, Shastry S, *et al.* Hsp40s specify functions of Hsp104 and Hsp90 protein chaperone machines[J]. *PLoS Genet*, 2014, 10: e1004720
- 15 Galen PV, Kreso A, Mbong N, *et al.* The unfolded protein response governs integrity of the haematopoietic stem - cell pool during stress[J]. *Nature*, 2014, 510: 268 - 272
- 16 Okazawa S, Furusawa Y, Kariya A, *et al.* Inactivation of DNA - dependent protein kinase promotes heat - induced apoptosis independently of heat - shock protein induction in human cancer cell lines[J]. *PLoS One*, 2013, 8: e58325
- 17 Huang L, Yu Z, Zhang T, *et al.* HSP40 interacts with pyruvate kinase M2 and regulates glycolysis and cell proliferation in tumor cells[J]. *PLoS One*, 2014, 9: e92949

(收稿日期: 2016 - 07 - 27)

(修回日期: 2016 - 08 - 25)

IL - 17、IL - 23 在前列腺增生中的表达及临床意义

李云祥 李进铭 柳良仁 魏 强 牛 超 王安果

摘 要 **目的** 探讨 IL - 17、IL - 23 在前列腺增生组织中的表达及临床意义。**方法** 收集 80 例经尿道前列腺电切术(transurethral resection of prostate, TURP)的良性前列腺增生(benign prostatic hyperplasia, BPH)患者的术中前列腺组织标本, 根据组织病理学特征其是否合并组织学炎症(histological prostatitis, HP)分为单纯组和炎症组。意外死亡年轻男性经法医尸检 5 例标本为对照组。术前常规行血 PSA、经直肠 B 超检查及 IPSS 评分等。采用免疫组化法检测 IL - 17 和 IL - 23 在前列腺组织中的表达情况。**结果** 80 例 TURP 切除的前列腺组织标本中, 有 60 例(75%)患者前列腺组织中存在组织学炎症。炎症组的前列腺体积及血清 PSA 显著大于单纯性 BPH 组, 最大尿流率也显著低于单纯性 BPH 组($P < 0.05$)。炎症组的 IL - 17、IL - 23 含量明显高于对照组和单纯组($P < 0.05$), 尤其在合并中重度组织学炎症的 BPH 标本中。随着前列腺组织学炎症分级的升高, IL - 17 和 IL - 23 的表达率也升高, IL - 17、IL - 23 在伴有组织炎症的前列腺增生组织的表达呈正相关($r = 0.502, P < 0.05$)。**结论** IL - 17、IL - 23 与 BPH 组织炎症呈正相关, 提示组织学炎症可能与前列腺组织学增生及临床进展过程相关。

关键词 前列腺增生 组织学前列腺炎 IL - 17 蛋白 IL - 23 蛋白 免疫组化

中图分类号 R446

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2017.03.042

Expression and Significance of IL - 17, IL - 23 in Benign Prostatic Hyperplasia. Li Yunxiang, Li Jinming, Liu Liangren, *et al.* Department of Urology, Nanchong Central Hospital, Sichuan 637000, China

Abstract Objective To study the expression and clinical significance of IL - 17 and IL - 23 in benign prostatic hyperplasia.