



图3 盐酸麻黄碱的最佳褶合光谱
1. 氢化可的松 2. 盐酸麻黄碱 3. 混合组分

表2 样品含量测定结果 (%)

样品批号	氢化可的松	盐酸麻黄碱
20030616	98.58	98.85
20030702	97.42	97.05
20030725	97.30	97.26

3 讨论

褶合光谱法的优点在于它不仅充分估价了整个光区的吸收度信息,而且更着眼于捕捉物质对光吸收特性的变化信息²。褶合光谱法采用全光谱数据,一条吸收曲线可以得到成百上千条褶合曲线,提供定量分析的信息量大,在干扰组分的褶合曲线过

零点波长处测定待测组分含量³。对双组分定量而言,褶合光谱法可自动定位在其中一组分褶合曲线贡献为零的波长处,计算另一组分对混合物褶合曲线的贡献,从而达到不经分离同时测定两组分含量的目的⁴。

为了获得最佳测试结果,在进行褶合光谱分析时将测得的吸收曲线进行波长范围的截取和波长间隔的选择是非常重要的,本文经实验选取波长为200~260 nm,间隔2 nm,结果满意。氢化可的松在水中不溶,可用无水乙醇溶解稀释⁵,经实验测定氯化钠和羧甲基纤维素钠溶液在模拟样品溶液中,在波长200~260 nm范围内无紫外吸收。

4 参考文献

1 胡晋红. 医院制剂质量检验. 北京:人民军医出版社, 1999. 136
2 金文祥,金翠英,光新兰等. 褶合光谱法测定复方蔡替芬健甲液中主要药物的含量. 第二军医大学学报, 2000, 21(10):927-928
3 光新兰,金文祥,王瑞菊. 褶合光谱法测定治癩三号中主药的含量. 武警医学, 2002, 13(4):197-199
4 张艳,汪建民,茅志安等. 褶合光谱法测定复方替硝唑含漱剂的含量. 药学实践杂志, 1999, 17(2):106-107
5 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 二部. 北京:化学工业出版社, 2000. 480

(2004-02-19 收稿, 责任编辑 郭青)

原发性肝癌雄激素受体表达的临床病理研究

杨淑云 李海霞 刘彩萍 (武警山西总队医院病理科,太原 030006)

摘要 目的 探讨原发性肝癌患者雄激素受体的改变对肝癌发生发展的影响。方法 应用放射配体结合分析法(RBA)对36例行手术切除的肝癌组织、癌周组织及外周血白细胞雄激素受体(Androgen receptor, AR)的含量进行测定,同时用放射免疫法(RIA)测定肝癌患者及正常人血浆雄激素(睾酮T)的水平,结合临床病理资料进行统计分析。结果 (1)癌组织与癌周组织相比,AR含量明显升高($P < 0.01$),且与肿瘤直径大小有关;(2)高分化的肝癌组织AR含量明显高于低分化者($P < 0.01$);(3)肝癌患者血浆睾酮水平增加不明显($P > 0.05$),但白细胞AR表达明显升高($P < 0.01$)。结论 肝癌的发生可能与癌组织中AR含量升高有关,AR的含量与肿瘤的大小及分化程度存在相关性。

关键词 肝癌 雄激素受体

Clinicopathological study on expression of androgen receptor in hepatocellular carcinoma

YANG Shuyun, LI Haixia, and LIU Caiping. Department of Pathology, Shanxi Provincial Corps Hospital, Chinese People's Armed Police Forces, Taiyuan 030006, China

作者简介:杨淑云,女,1969年出生。大专学历,主治医师。主要从事临床病理学工作。

Abstract Objective To study the changes in levels of androgen receptor (AR) in patients with hepatocellular carcinoma. **Methods** Radioligand binding assay (RBA) was adopted to measure the androgen re-

ceptor (AR) in cancer tissue and adjacent nontumor tissue and peripheral blood leucocytes in 36 patients with hepatocellular carcinoma. Hormone radioimmunoassay(RIA) was performed to determine serum testosterone level in patients and normal subjects. **Results** (1) The content of AR in the tumor samples was significantly higher than that in the surrounding nontumor liver tissue ($P < 0.01$), and had a relationship with the size of the tumor; (2) The content of AR in the high differentiated phenotype was higher than that in the less differentiated phenotype ($P < 0.01$); (3) The level of serum testosterone in patients was slightly elevated ($P > 0.05$), but the content of AR in leucocytes was significantly increased ($P < 0.01$). **Conclusion** The occurrence of hepatocellular carcinoma is probably correlated with higher content of AR, whereas the content of AR is related to the size and differentiation degree of the tumor

Key words Hepatocellular carcinoma Androgen receptor

受体是介导生长调节因子及激素作用的关键大分子,其在肿瘤发生、发展中的作用日益受到关注。动物实验表明,肝癌鼠的雄激素受体(Androgen receptor, AR)升高,同肝癌的其他标记物一样,AR是肝癌产生和发展的标记物之一,并且与肝癌术后的复发有关¹⁻³。关于肝癌时雄激素及其受体的改变与临床病理特征的研究,作者尚未见国内报道。本研究探讨肝癌患者雄激素及AR改变,结合临床病理资料进行统计分析,旨在阐明肝癌的发生、发展规律,并为肝癌的内分泌治疗探索新的路子。

1 资料和方法

1.1 一般资料 标本取自36例原发性肝癌患者,男27例,女9例,年龄29~68岁,平均(50.6±12.5)岁,肿瘤直径≤5 cm者17例, >5 cm者19例,所有患者均经病理证实为原发性肝细胞癌。另取36例年龄、性别与肝癌组相匹配的献血员空腹静脉血作为对照组。

1.2 主要试剂 3H-R1881(美国Dupont公司)放化纯度100%,放射比度87 Ci/mmol,放化浓度1 mCi/ml; R1881(美国Dupont公司); Dextran T70、T500(Pharmacia药厂); 闪烁液:1,4-双-5-苯基恶唑基-苯(POPOP) 0.4 g, 2,5-二苯基恶唑(PPO) 4.0 g, Triton X-100 200 ml,二甲苯800 ml; Tris缓冲液; 睾酮试剂盒(九鼎公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 标本的处理 手术切除后立即取材,取肿瘤

中心组织1块,以及距肿瘤边缘5 cm以外,外观正常的肝组织1块,用冰冷的生理盐水冲洗,吸干后切成小块,液氮冻存。

1.3.2 肝细胞液AR的检测 取冷冻组织约1 g,加入10倍体积的磷酸盐缓冲液(pH 7.3),在冰水浴中以500 r/min制备匀浆,匀浆液在4℃、转速为3 000 r/min的状态下离心30 min,取出上清液加入葡聚糖包裹的活性炭(DCC)悬浮液1 ml,混匀反应10 min,再以175 000 g离心15 min,吸取上清液,用Nagase等³建立的放射配体结合法进行检测。

1.3.3 血浆雄激素(睾酮,T)及外周血白细胞AR的检测 取肝癌组空腹静脉血8 ml,肝素抗凝,1 500 r/min离心15 min,取血浆用放射免疫测定法检测睾酮(T)水平;用赵瑛等⁴方法分离白细胞、测定白细胞AR。用相同的方法检测对照组血浆睾酮(T)水平及白细胞AR水平。

1.4 统计学处理 所有数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS10.0软件进行t检验及方差分析。

2 结果

2.1 不同直径的癌组织、癌周组织AR水平、血浆T及白细胞AR的测定结果 见表1。癌组织与癌周组织相比,AR含量明显升高($P < 0.01$),且与肿瘤直径大小有关。肝癌患者血浆睾酮水平轻度增加($P > 0.05$),但白细胞AR表达明显升高($P < 0.01$)。

表1 不同直径的癌组织、癌周组织AR水平、血浆T及白细胞AR的测定结果 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	AR(fmol/mg 蛋白)		血浆 T (nmol/L)	白细胞 AR (位点/细胞)
		癌组织	癌周组织		
肝癌组	36	12.08 ±2.98	7.27 ±2.83	6.63 ±3.26	1116 ±68
肿瘤直径 ≤ 5 cm	17	13.79 ±2.85	8.03 ±2.78	6.87 ±2.98	1279 ±72
肿瘤直径 > 5 cm	19	10.43 ±2.62	6.96 ±2.10	6.32 ±2.86	976 ±65
对照组	36	-	-	5.56 ±2.73	659 ±32

注:与肿瘤直径>5 cm者比较, $P < 0.01$;与癌周组织比较, $P < 0.01$;与对照组比较, $P < 0.01$

2.2 肿瘤分化程度与 AR 水平的关系 见表 2。高分化的肝癌组织 AR 含量明显高于低分化者 ($P < 0.01$)。

表 2 肿瘤分化程度与 AR 水平的关系 ($\bar{x} \pm s$)

肿瘤分化程度	n	AR(fmol/ mg 蛋白)	
		癌周组织	癌组织
高分化	13	15.83 \pm 3.02	8.12 \pm 2.37
中分化	9	12.78 \pm 2.95	6.98 \pm 2.41
低分化	14	8.37 \pm 2.83	6.85 \pm 2.78

注:与高分化组比较, $P < 0.05$;与高分化或中分化组比较, $P < 0.01$

3 讨论

动物实验及临床研究证明,肝肿瘤的发生与性激素受体的介导有关,性激素的改变或口服避孕药可诱发肝癌⁵。本研究结果显示,肝癌及癌周组织中均可检测到 AR,与 Nagasue 等³的报道一致。肝癌组织 AR 的含量明显高于癌周组织 ($P < 0.01$),并且与肿瘤直径的大小存在相关性,这提示,肝癌的发生与 AR 含量的升高有关;肿瘤直径大小与 AR 改变存在相关性提示了雄激素可能仅在肿瘤发生的初级阶段起主要作用,当肿瘤发展到晚期,肿瘤细胞分化不成熟,AR 含量也逐渐减少。这种 AR 含量与肿瘤大小的相关性可部分解释临床上一些肝癌患者抗雄激素治疗无效的原因。本实验结果进一步显示,高、中分化的癌组织 AR 含量明显高于低分化者 ($P < 0.01$),且与癌旁组织相比均差别显著 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),这一结果有以下可能性:(1)AR 参与影响肿瘤的形成与发展,但其主要作用可能仅在细胞突变的初期;(2)低分化的癌细胞由于分化不成熟,其合成 AR 的能力有所减弱或 AR 的表达水平降低;(3)肝癌组织 AR 含量高于癌周组织可能是雄激素诱导的结果,也可能是肝癌组织 AR 合成增加所致。国外学者应用相应的内分泌疗法作为部分晚期肝癌患者综合治疗的方法之一,Nagasue 等⁶用抗雄激素制剂环丙氯地孕酮(Cyproterone acetate, CPA)治疗 16 例不能切除的肝癌患者,3 例获得较明确的效果;Forbes 等⁷用抗雄激素制剂治疗 25 例肝癌术后复发者,仅 5 例肿瘤体积缩小,症状减轻。对此我们

认为,在应用肝动脉导管化疗以及内分泌治疗前,应先明确肿瘤的大小及分化程度,因肿瘤直径越大或分化程度越低,AR 含量越少⁸,抗雄激素治疗的疗效越不理想。

本实验结果还显示,肝癌患者与正常对照组比较,雄激素(T)水平仅轻度升高,而白细胞 AR 含量却明显增加 ($P < 0.01$),并且癌组织 AR 含量与外周血白细胞 AR 呈正相关关系 ($r = 0.357$, $P < 0.05$),这提示,测定白细胞 AR 可间接反映肝组织 AR 的改变,对于鉴别诊断或疗效判断有一定临床意义。有关雄激素及其受体对肝癌发生、发展影响的分子生物学机制尚待进一步研究。

4 参考文献

- 1 王在国. 肝癌的综合治疗. 世界华人消化杂志, 2000, 8 (6): 443
- 2 Weimann A, Varnholt HJ, Lang H *et al*. Retrospective analysis of prognostic factors after liver resection and transplantation for cholangiocellular carcinoma. Br J Surg, 2000, 87(5): 1182
- 3 Nagasue N, YU L, Yukaya H *et al*. Androgen and oestrogen receptors in hepatocellular carcinoma and surrounding liver parenchyma: impact on intrahepatic recurrence after hepatic resection. Bri Surg, 1995, 82(3): 542
- 4 赵 瑛, 刘志民, 邵福源 等. 人外周血白细胞雄激素受体的鉴定及意义. 中华核医学杂志, 1995, 15(1): 51
- 5 Boix L, castells A, Bruix J *et al*. Androgen receptors in hepatocellular carcinoma and surrounding liver: relationship with tumor size and recurrence rate after surgical resection J Hepatol, 1995, 22(8): 616
- 6 Nagasue N, Kohno H, Chang YC *et al*. Androgen and estrogen receptors in hepatocellular carcinoma and the surrounding liver in women. Cancer, 1989, 63(2): 112
- 7 Forbes A, Wilkinson ML, Iqbal MJ *et al*. Desponse to cyproterone acetate treatment in primary hepatocellular carcinoma is related to full in free 5a - dihydrotestosterone. Eur J Cancer Clin Oncol 1987, 23(1): 1 659
- 8 王国俊, 孙中杰, 马清涌 等. 术前经导管肝动脉化疗栓塞在原发性肝癌治疗中的价值. 肝胆外科杂志, 2001, 9 (1): 71

(2004 - 04 - 08 收稿, 责任编辑 尤伟杰)