

例包膜下血肿单独出现。脾内血肿和包膜下血肿在急性期表现为等或略高密度影, CT 平扫时易漏诊, 增强扫描血肿不强化, 与明显强化之脾实质形成鲜明对比, 明确诊断。部分病例平扫仅表现为脾周血肿, 而脾实质损伤未能显示, CT 增强扫描显示较小的或较隐蔽的脾实质损伤。对于仅表现为脾周血肿的腹部外伤患者, 只有排除了脾损伤后, 才能推断血肿是否由邻近器官损伤所引起。

肝脏是仅次于脾脏的腹部闭合性外伤最常累及的实质性脏器, 包括挫伤、撕裂伤、肝内血肿、包膜下血肿等。急性肝脏损伤的 CT 表现与脾损伤大致相似, 增强扫描有利于平扫阴性者损伤灶的检出, 有利于显示损伤类型、部位和范围, 尤其是显示损伤肝组织的血供改变。童广胜等^[3]认为, 受损肝组织血供良好者, 采用保守治疗效果较好, 反之, 血供不佳者, 则保守治疗效果差。因此, 对肝脏损伤患者应尽可能进行螺旋 CT 增强扫描, 了解其血供情况, 为临床确定治疗方案提供依据。

肾、胰损伤在急性腹部闭合性外伤相对较少, 临床表现亦多较隐蔽, 常规检查不易确诊。本组肾、胰损伤共 40 例, 其中 16 例伴随脾或肝损伤, 24 例为肾或胰单发, 临床或者表现为脾、肝损伤的症状, 或者仅表现为腹痛。24 例肾或胰

单发患者的常规 X 线、B 超检查均为阴性, 急诊 CT 检查确诊肾或胰损伤。轻度肾、胰损伤表现为器官体积增大。平扫密度减低, 边缘模糊; 严重损伤时可见轮廓不规则, 实质内可见出血灶; 部分肾损伤平扫仅表现为肾周血肿或肾包膜下血肿, 增强扫描血肿不强化, 肾实质明显强化, 有助于显示肾实质损伤情况。

综上所述, 螺旋 CT 扫描对急性腹部闭合性外伤所致的脾、肝、肾、胰等损伤具有敏感性、特异性, 且能进一步估计损伤的程度, 指导临床制定合适的治疗方案及估计病人的预后。

参考文献:

- [1] 许达生, 陈君禄, 黄兆民, 等. 临床 CT 诊断学—CT 诊断要点、少见征象与误诊分析[M]. 广州: 广东科技出版社, 1998. 260~261.
- [2] 陈星荣, 沈天真, 段承祥, 等. 全身 CT 和 MRI[M]. 上海: 上海医科大学出版社, 1994. 525~657.
- [3] 童广胜, 马建华. 肝脾外伤破裂的 CT 分析(附 39 例报告)[J]. 中国医学影像学技术, 2001, 17(3): 248.

(编辑 张恩健)

外周血 CK-20 mRNA 表达在膀胱癌微转移灶的临床意义

钟惟德, 胡建波, 蔡岳斌, 魏鸿蒿, 高劲松, 刘健康, 刘洁珍, 曾广翘

(广州市第一人民医院泌尿外科, 广东 广州 510180)

摘要:【目的】研究膀胱癌微转移的情况及临床意义。【方法】以细胞角蛋白 20(Cytokeratin ck-20)表达逆转录多聚酶链反应(RT-PCR)检查 91 例膀胱癌微转移灶。【结果】CK-20 mRNA 阳性率为 41%, 其中证实有转移的 20 例中 17 例阳性(85%), 发现无淋巴结转移的 I—II 期患者行 TURBT 术后 15 个月 2 例复发者 CK-20 mRNA 均表达阳性; 25 例健康对照组均为阴性。【结论】外周血 CK-20 mRNA 检测能提高微转移灶的检出率, 对判断患者预后, 指导术后辅助治疗有重要意义。

关键词: 膀胱癌; 角蛋白类; 聚合酶链反应; 微转移

中图分类号: R737.14 文献标识码: A 文章编号: 1000-275X(2002)5S-0123-02

膀胱癌是泌尿系最常见的恶性肿瘤, 其转移途径主要为血行性扩散, 故早期发现膀胱癌患者外周血是否有癌细胞, 可以提高肿瘤转移灶的早期检出率^[1], 降低死亡率, 将使部分组织学无淋巴结转移的患者中具有高度复发和转移倾向得到及时治疗^[2]。细胞角蛋白(cytokeratin, CK)是分布于上皮细胞中间纤维, 由于癌细胞大多保留起源细胞 CK 类型, 由此便可通过测定 CK 来决定癌细胞起源。我们使用细胞角蛋白 20(cytokeratin 20, CK-20)的逆转录-聚合酶链反应(reverse-transcription polymerase chain reaction, RT-PCR)方法, 检测膀胱癌患者外周血微转移情况, 探讨其与预后关系。

1 材料与方 法

1.1 检测对象

膀胱癌 91 例, 男 64 例, 女 27 例, 年龄 45~76 岁。平均 56.5 岁, 符合 1990 年《中国常见恶性肿瘤诊治规范》原发性

膀胱癌诊断标准。其中临床确诊膀胱以外器官转移 18 例, 12 例广泛腹膜转移, 17 例盆腔转移。所有病例均为我市 5 所医院(广州市第一人民医院, 广州医学院第二附属医院, 广州军区总医院, 广州市第二人民医院, 解放军 157 医院)1998~2000 年住院病人。正常对照组 25 例, 男 16 例, 女 9 例, 年龄 33~60 岁, 平均 48.5 岁, 均为本院医护人员。

1.2 标本收集

取受检查新鲜外周血标本 8 mL, 血液标本以枸橼酸钠 0.2 g/L 抗凝低温保存, 迅速送检(1 h 内), 取术中 21 例手术切除膀胱癌组织于细胞保存液中同时低温保存送检。

1.3 细胞 RNA 制备

以淋巴细胞分离液分离单个有核白细胞, 按操作说明提取白细胞总 RNA。用 10 mg/L 琼脂糖凝胶电泳鉴定 RNA 质量。

收稿日期: 2002-07-01

作者简介: 钟惟德(1968-), 男, 福建厦门人, 副教授。

1.4 半巢式 RT-PCR

从Internet GeneBank 上调出CK-20 序列(X73502), 用Oligo 软件分别设计半巢式 PCR 引物: 外引物上游(756-777): 5'-ccaactgatgcagattcggagt-3', 内引物上游(784-804): 5'-gaagccccaacaacgaatac-3', 外引物下游(1003-978): 5'-cctctttgacttcagatgacagac-3'。引物由上海 Sangon 公司合成。第1次扩增片段长度为250 bp, 第2次扩增片段长度为220 bp。取第2轮CK-20 PCR 扩增产物在15 g/L 琼脂糖中电泳, 溴化乙锭染色紫外灯下观察CK-20 mRNA, 阳性者可见220 bp 条带。

1.5 敏感性试验

将不同数量的Bca 细胞按个数分别为 10^3 、 10^2 、10及1的序列加入到 1×10^6 个HepG2 细胞中提取总RNA, 以同样的RT-PCR 方法检测CK-20 mRNA 的阳性表达。

1.6 统计学方法

以 χ^2 检验分析组间差异, 中值水平取 $P=0.05$ 。

2 结果

2.1 CK 20 的检测结果

根据手术和影像学(CT, MRI, IVP)等所得的临床参数, 包括肿瘤大小、盆腔、淋巴结转移, 远处器官转移和肿瘤TMN分期对原发性膀胱癌患者进行分组, 各组外周血中CK-20 mRNA 阳性率见表1。

表1 原发性膀胱癌患者外周血CK-20mRNA 与临床参数的关系
Table 1 The relationship between clinical data and CK-20 mRNA expression in blood samples from patients with PBCa

	n	CK-20 mRNA+(%)	χ^2	P
Lymphaden metastasis				
Present	12	4(33)	0.52	> 0.05
Absent	79	33(41)		
Distant metastasis				
Present	20	17(85)	7.85	< 0.01
Absent	71	20(28)		
TNMstages				
I + II	21	8(40)	0.23	> 0.05
III+ IV	70	29(41)		

2.2 敏感性试验结果

Bca 细胞个数分别为 10^3 、 10^2 、10在 1×10^6 个HepG2 细胞中可检测到CK-20 mRNA 阳性表达, 即最低限能发现 1×10^6 个HepG2 细胞中混有10个Bca 细胞。

3 讨论

癌症患者转移灶的存在与否对肿瘤的分期、复发、预后综合化疗上具有重要指导意义^[3]。微转移的检测可正确评价病人的预后, 有助于提高生存率。角蛋白-20(CK-20)仅限于肠道上皮、尿道上皮和Merkel 细胞而正常血细胞中不表达CK-20^[4]。因此, CK-20 组织特异性强, 满足高灵敏的RT-PCR 法对靶RNA 特殊要求, 可作为膀胱癌外周血癌细胞存在的标志^[6]。利用RT-PCR 法敏感性高、特异强的特点, 选择肿瘤细胞特异性标志进行微转移灶的检测大大提高了检出率^[7]。本组21例组织学未发现淋巴结转移的T1-T2期患者, CK-20 RT-PCR 方法却检出6例外周血癌细胞阳性表达, 纠正了临床对早期肿瘤过分乐观的判断, 提高了膀胱癌细胞微扩散的检出率。临床上未发现淋巴结转移, I-II期行TURBT 术15月的2例复发者, 均为CK-20 mRNA 表达阳性。所以对淋巴结常规组织学检查阴性, 但检测CK-20 RT-PCR 表达阳性者应加强辅助治疗, 密切随访, 及时治疗复发。本实验表明CK-20 RT-PCR 是一高度敏感的检测微转移的方法, 对判断患者预后, 指导术后, 随访及辅助治疗有重要意义。

参考文献:

- [1] Ihm C W, Park S L, Sung S Y, *et al.* Bowenoid epidemotropic metastatic squamous cell carcinoma[J]. J Cutan Pathol. 1996, 23(5): 479.
- [2] Ghossein R A, Rosia J. Polymerase chain reaction on the detection of micrometastase and circulation tumor cells[J]. Cancer, 1996, 78(1): 10.
- [3] Beldegrun A S, Franklin J R, O'donnell M A, *et al.* Superficial bladder cancer; the role of interferon-alpha[J], J Urol, 1998, 159: 1793.
- [4] Murphy W M. Current status of urinary cytology in the evaluation of bladder neoplasms[J]. Hum Pathol, 1990, 21(9): 886.
- [5] Negrin R S, Blame K G. The use of the polymerase chain rection for the decetion of minimal residual malignant disease [J]. Blood, 1991, 78(2): 255.
- [6] Buchumensky V, Klein A, Zemer R, *et al.* Cytokeratin 20; a new marker for early detection of bladder cell carcinoma[J]. J Urol, 1998, 160(6 pt 1): 1971.
- [7] Komeda F, Fukuda Y, Sando T, *et al.* Sensitive detection of circulating hepatocellular carcinoma cells in peripheral venous blood[J]. Cancer, 1995, 75(9): 2214.

(编辑 黄小廷)