

细胞外基质黏附分子表达与成釉细胞瘤生物学特性的关系

张 彬¹, 陶 谦², 黄洪章¹, 潘朝斌¹

(中山大学 1.附属第二医院口腔颌面外科, 广东 广州 510120; 2.光华口腔医学院口腔颌面外科, 广东 广州 510055)

摘 要:【目的】探讨细胞外基质黏附分子层粘连蛋白(LN)和纤粘连蛋白(FN)与成釉细胞瘤复发和侵袭的关系。【方法】采用免疫组织化学 LABC 方法检测 28 例成釉细胞瘤组织中 LN 和 FN 的表达。【结果】在 28 例成釉细胞瘤中, LN 和 FN 在基底膜的阳性表达率分别为 46.4%和 39.3%, 复发性成釉细胞瘤 LN 和 FN 在基底膜的阳性表达率明显低于原发性成釉细胞瘤($P < 0.01$)。LN 和 FN 的表达形式相似, 阳性着色部位均位于基底膜及部分肿瘤细胞的胞浆, 在基底膜连续着色的部位, 靠近基底膜的肿瘤外周细胞胞浆染色较强, 中央内层细胞胞浆染色弱或无, 而在基底膜着色缺失的部位, 靠近基底膜的肿瘤外周细胞胞浆染色弱或缺失。【结论】LN 和 FN 在基底膜表达缺失与成釉细胞瘤的复发密切相关, 可能是成釉细胞瘤局部侵袭的机制之一。

关键词: 成釉细胞瘤; 层粘连蛋白; 纤粘连蛋白; 免疫组织化学

中图分类号: R739.82

文献标识码: A

文章编号: 1672-3554(2006)01-0038-03

Relationship Between Expression of Laminin and Fibronectin and Biological Behavior of Ameloblastoma

ZHANG Bin¹, TAO Qian², HUANG Hong-zhang¹, PAN Chao-bin¹

(1. Department of Oral Maxillofacial Surgery, the Second Affiliated Hospital, 2. Department of Oral Maxillofacial Surgery, Guanghua College of Stomatology, SUN Yat-sen University, Guangzhou 510120, China)

Abstract:【Objective】To investigate the relationship of expression of laminin and fibronectin with invasion and recurrence of ameloblastoma. 【Methods】Immunohistochemical LABC method was used in detecting the expression of laminin and fibronectin in 28 cases of ameloblastoma. 【Results】The total positive expression rates of laminin and fibronectin in the basement membrane were 46.4% and 39.3%. The positive expression rates of laminin and fibronectin in basement membrane of secondary ameloblastoma were significantly higher than those of primary ameloblastoma ($P < 0.01$). The positive expression of laminin and fibronectin was mainly located in the basement membrane and the cytoplasm of some cells. The stained density of the outer layer cells near to continuous basement membrane was higher than that of the inner layer cells, but the stained density of the outer layer cells near to discontinuous basement membrane was predominantly low or deleted. 【Conclusion】Absent expression of laminin and fibronectin in basement membrane could be associated with recurrent potentiality of ameloblastoma, and may be a reason of invasion in ameloblastoma.

Key words: ameloblastoma; laminin; fibronectin; immunohistochemistry

[J SUN Yat-sen University (Med Sci), 2005, 27(1):38- 40, 46]

肿瘤侵袭是肿瘤细胞与细胞外基质成分相互作用的结果, 与肿瘤复发和转移等生物学行为密切相关^[1]。层粘连蛋白(laminin, LN)和纤粘连蛋白(fibronectin, FN)是细胞外基质黏附分子和基底膜的主要成分, 在肿瘤侵袭过程中, 它们参与调节肿

瘤细胞的黏附及构成阻碍肿瘤侵袭和转移的组织屏障, 由此可见, 肿瘤组织中 LN 及 FN 的变化与肿瘤侵袭和复发密切相关^[2-4]。成釉细胞瘤(ameloblastoma, AM)具有局部侵袭性和术后易复发等特殊生物学行为。目前有关 LN 和 FN 与成

收稿日期: 2005-06-21

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30471896); 广东省自然科学基金资助项目(04300240)

作者简介: 张 彬(1965-), 男, 江苏徐州人, 博士, 副主任医师; 黄洪章, 教授, 导师, 通讯作者。E-mail: huanghongzhang@tm.com

釉细胞瘤生物学特性关系的研究较少。本研究应用免疫组化方法检测成釉细胞瘤组织 LN 及 FN 的表达, 并探讨它们的表达与成釉细胞瘤复发的关系。

1 材料与方 法

1.1 检测对象

28 例成釉细胞瘤石蜡包埋标本全部选自中山大学附属第二医院口腔颌面外科 1995-2002 年间手术的患者, 由两位高级职称的病理医师复片, 排除诊断不统一者, 其中男性与女性各 14 例, 年龄 9~65 岁, 平均年龄 39 岁。复发和原发性成釉细胞瘤分别为 16 例和 12 例, 原发性成釉细胞瘤患者均随访 2 年以上未复发。初发时 X 线片上肿瘤的平均大小为 2.96 cm×4.04 cm, 其中复发性为 2.94 cm×4.09 cm, 原发性为 3.00 cm×3.96 cm。发生于下颌骨 20 例, 上颌骨 2 例, 颧下窝 2 例, 颅底 2 例, 颧、额骨各 1 例。病理分型: 滤泡型 5 例, 丛状型 5 例, 棘皮瘤型 6 例, 单囊型 2 例, 基底细胞型 2 例, 鳞状细胞型 1 例, 颗粒细胞型 1 例, 未分型 6 例。初发时的手术方式: 刮治术(保守治疗) 17 例, 方块切除及颌骨部分切除(0.5 cm 以外, 根治性治疗) 11 例。复发与原发性成釉细胞瘤的诊断标准: 复发性: 患者既往有一次或一次以上的手术治疗史, 本次与既往发病均经病理证实为成釉细胞瘤; 原发性: 患者首次发病及病理诊断为成釉细胞瘤。经检验, 原发复发间治疗方式及肿瘤大小无差别。

1.2 检测方法

常规 4 μm 厚切片, 多聚赖氨酸包被载玻片, 备染。免疫组织化学方法采用链霉素-生物素(LSAB)免疫酶标染色法, 一抗兔抗人 Laminin(LN, BA0087)和 Fibronectin(FN, BA0052)购自 Boster 公司, 参照说明书进行染色。

1.3 结果判定标准

在成釉细胞瘤组织中 LN 和 FN 的阳性染色以肿瘤周围基底膜着色为主, 呈棕黄色, 部分肿瘤细胞的细胞质亦着色。基底膜着色连续或基本连续线状(包绕瘤团周径 3/4 以上)为 级; 基底膜着色呈间断包绕瘤团周径 1/4~3/4 为 级; 基底膜着色包绕瘤团多处间断、周径 1/4 以内或缺失为 级。级为阳性表达, 、 级为阴性表达^[9]。

试验用已知阳性片作阳性对照, 用 PBS 代替第一抗体作为阴性对照。

1.4 统计学处理

所有数据处理均采用 SPSS/PC 10.0 软件包在微机上分析。用卡方检验和 Fisher's 精确概率检验对结果进行统计分析, 检验水准 =0.05。

2 结 果

LN 和 FN 的阳性产物均呈明亮的棕黄色染色, 其在成釉细胞瘤的表达见表 1。在 28 例成釉细胞瘤中, LN 和 FN 阳性表达率分别为 46.4%(13/28)和 39.3%(11/28), 阴性表达率分别为 53.6%(15/28)和 60.7%(17/28)。LN 和 FN 的表达形式相似, 阳性着色部位均位于基底膜及部分肿瘤细胞的胞浆, 在基底膜连续着色的部位, 靠近基底膜的肿瘤外周细胞胞浆染色较强, 中央内层细胞胞浆染色弱或无(图 1A, 1B), 而在基底膜着色缺失的部位, 靠近基底膜的肿瘤外周细胞胞浆染色弱或缺失(见图 1C, 1D)。在 LN 和 FN 阳性表达的病例中均各有 2 例复发, 分别占阳性表达病例数的 15.4%(2/13)和 18.2%(2/11), 而阴性表达病例的复发比率分别为 93.3%(14/15)和 82.4%(14/17), 阴性表达病例的复发比率均明显高于阳性表达者($P < 0.01$); LN 和 FN 在复发性 AM 的阳性表达率(均为 2/16)均明显低于原发性 AM(11/12、9/12), $P < 0.01$ 。

表 1 LN 和 FN 蛋白在成釉细胞瘤中的表达(28 例)

Table 1 Expression of laminin and fibronectin in ameloblastoma detected with immunohistochemistry

Groups	n	LN		FN	
		Positive	Negative	Positive	Negative
Secondary AM	16	2	12	2	12
Primary AM	12	11	1	9	2
Total	28	13	12	11	13

Compared positive with negative, LN: $\chi^2 = 14.2423$, $P < 0.001$; FN: $P = 0.0062$

3 讨 论

纤黏连蛋白(FN)和层黏连蛋白(LN)是细胞外基质粘附分子和基底膜的主要成分, 均为多结构域糖蛋白。一方面 FN 和 LN 作为黏附分子与广泛存在于各种细胞表面的相应受体结合, 调节细胞与基质之间的黏附, 影响肿瘤细胞的移动。另一方面它

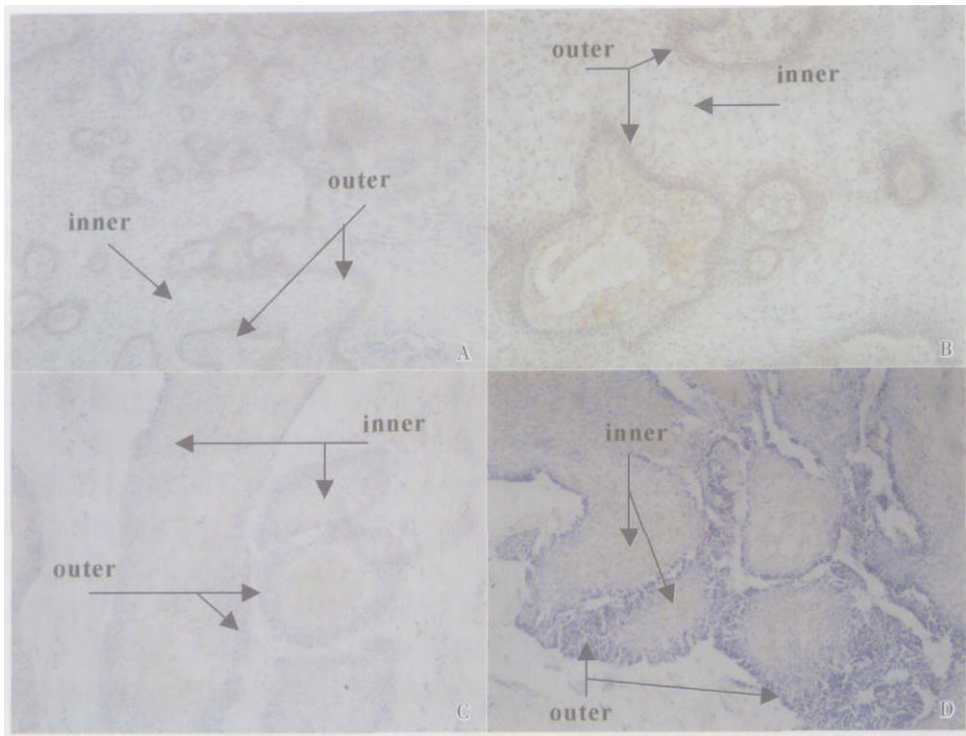


图 1 免疫组化检测 LN 和 FN 在成釉细胞瘤中的表达

Fig.1 Expression of laminin and fibronectin in ameloblastoma detected with immunohistochemistry

A, B: the stained density of the outer layer cells near to continuous basement membrane was higher than that of the inner layer cells in the expression of laminin and fibronectin (A: laminin, B: fibronectin); C, D: the stained density of the outer layer cells near to discontinuous basement membrane was predominantly low or deletion in the expression of laminin and fibronectin (C: laminin, B: fibronectin), LABC method, hematoxylin stain (×200)

们与 型胶原(Col)等形成基底膜,构成阻碍肿瘤侵袭和转移的屏障。目前对二者在肿瘤侵袭不同阶段的作用及具体机制尚不清楚。有研究认为 LN-5 可通过形成新的基底膜区使角化细胞保持稳定,抑制其移动^[6]。Giannelli 等^[2]运用免疫组织化学方法对 LN 在口腔鳞癌侵袭和转移的作用进行了研究,发现 Laminin-1 (LN-1)、Laminin-5(LN-5)在侵袭性鳞癌基底膜的表达不连续、不规则,而在原位癌及癌前病变的表达连续正常,说明 LN 表达的降低或缺失促进了癌细胞的迁移,与口腔鳞癌的侵袭和转移有关。在对成釉细胞瘤的研究也发现,LN-5 2 的表达主要位于肿瘤团块的周边细胞,肿瘤上皮岛周围基底膜区表达较弱或呈片块状,显示基底膜的不连续性,提示 LN-5 在基底膜表达的中断与成釉细胞瘤的进行性生长和侵袭行为有关^[7]。另外,在研究 FN 与肿瘤生物学行为的关系时也发现,神经胶质瘤 FN 的表达与肿瘤的恶性程度及分级呈负相关^[8];在侵袭性乳腺癌, FN 阴性表达者的复发率明显高于阳性表达者^[3]。

细胞瘤的手术方式及肿瘤大小相似,但 LN 和 FN 在成釉细胞瘤基底膜阴性表达病例的复发比率均明显高于阳性表达者,复发性成釉细胞瘤 LN 和 FN 的阳性表达率明显低于原发性成釉细胞瘤,说明 LN 和 FN 在基底膜表达缺失与成釉细胞瘤的复发密切相关,提示成釉细胞瘤 LN 和 FN 在基底膜表达的缺失,导致阻碍肿瘤侵袭转移的屏障丧失,可能与其局部侵袭生长有关。有学者通过对成釉细胞瘤凋亡和增殖的研究发现^[9],AM 具有较高的存活能力,抗凋亡增殖的部位在肿瘤的外层(周边),促进凋亡分化的部位在肿瘤的内层(中央),认为成釉细胞瘤的外周细胞增殖活跃,在其发生、发展及侵袭过程中起重要的作用。本研究中也发现,LN 和 FN 阳性表达率分别为 46.4%和 39.3%,阳性着色部位均位于基底膜及部分肿瘤细胞的胞浆,在基底膜连续着色的部位,靠近基底膜的肿瘤外周细胞胞浆染色较强,中央内层细胞胞浆染色弱或无,而在基底膜着色缺失的部位,靠近基底膜的肿瘤外周细胞胞浆染色弱或缺失。以上结果提示,成釉细胞瘤 LN

- dose is important [J]. *Thorac Cardiovasc Surg*, 1999, 117(3):515- 520.
- [10] McCORMACK, FRANCIS X. Structure, processing and properties of surfactant protein A [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1998, 1408(2-3):109- 131.
- [11] CROUCH E, WRIGHT J R. Surfactant protein a and d and pulmonary host defense [J]. *Annu Rev Physiol*, 2001, 63:521- 554.
- [12] LINKE M, ASHBAUGH A, KOCH J, et al. Surfactant protein A limits pneumocystis murina infection in immunosuppressed C3H/HeN mice and modulates host response during infection[J]. *Microbes Infect*, 2005, 7(4):748- 759.
- [13] PAUL D A, GREENSPAN J S, DAVIS D A, et al. The role of cardiopulmonary bypass and surfactant in pulmonary decompensation after surgery for congenital heart disease[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 1999, 117(5):1025- 1026.
- [14] GRIESE M, WILNHAMMER C, JANSEN S, et al. Cardiopulmonary bypass reduces pulmonary surfactant activity in infants[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 1999, 118(2): 237- 244.
- [15] RUMALLA V, CALVANO S E, SPOTNITZ A J, et al. The effects of glucocorticoid therapy on inflammatory responses to coronary artery bypass graft surgery [J]. *Arch Surg*, 2001, 136(9): 1039- 1044.

(编辑 张敏瑞)

(上接第 40 页 from page 40)

和 FN 表达下调,尤其是外周瘤细胞 LN 和 FN 表达的下调或缺失,导致细胞与基质之间的连接紊乱,促进肿瘤细胞移动,利于外周细胞向周围侵袭,这可能是成釉细胞瘤局部侵袭生长的又一个原因,具体机制有待进一步研究。

LN 和 FN 已被许多学者建议作为评估肿瘤预后的重要指标^[3,4]。在 LN 和 FN 阴性表达的成釉细胞瘤标本中,基底膜着色包括 级和 级,大多数瘤细胞的胞浆染色并非全阴性,有的呈中等阳性染色,有的呈弱阳性染色,有的弱阳性与阴性染色相混杂。这种结果反映了肿瘤发生和发展过程中 LN 和 FN 的不稳定表达。

参考文献:

- [1] 彭挺生,丘钜世,吴惠茜,等. 基质金属蛋白酶-2,9 及其抑制剂在骨肉瘤中表达的意义[J]. *中山大学学报(医学版)*, 2003, 24(2):132- 135.
- [2] GIANNELLI G, MILILLO L, MARINOSCI F, et al. Altered expression of integrins and basement membrane proteins in malignant and pre-malignant lesions of oral mucosa[J]. *J Biol Regul Homeost Agents*, 2001, 15(4): 375- 380.
- [3] TAKEI H, IINO Y, HORIGUCHI J, et al. Immunohistochemical fibronectin staining pattern and prognosis in invasive breast carcinoma[J]. *Oncology*, 1995, 52(2):

106- 111.

- [4] RICCI E, CAVALOT A L, SANVITO F, et al. Differential expression and topography of adhesion molecules in laryngeal and oropharyngeal carcinomas[J]. *Acta Otolaryngol*, 2002, 122(2): 234- 240.
- [5] 杨 芳,朱世柱,李红钢,等. 型胶原、层黏连蛋白在甲状腺肿瘤组织中的表达[J]. *华中科技大学学报:医学版*, 2003, 32(5):544- 546.
- [6] YUEN H W, ZIOBER A F, GOPAL P, et al. Suppression of laminin-5 expression leads to increased motility, tumorigenicity, and invasion[J]. *Exp Cell Res*. 2005, 309(1):198- 210.
- [7] SAOL T, KAINULAIUEN T, PARIKKA M, et al. Expression of laminin-5 in ameloblastomas and human fetal teeth[J]. *J Oral Pathol Med*, 1999, 28(8):337- 342.
- [8] OZ B, KARAYEL F A, GAZIO N L, et al. The distribution of extracellular matrix proteins and CD44S expression in human astrocytomas[J]. *Pathol Oncol Res*, 2000, 6(2):118- 124.
- [9] SANDRA F, NAKARMURA N, MITSUYASU T, et al. Two relatively distinct patterns of ameloblastoma: an anti-apoptotic proliferating site in the outer layer (periphery) and a pro-apoptotic differentiating site in the inner layer(centre) [J]. *Histopathology*, 2001, 39(1): 93- 98.

(编辑 刘清海)