

错配修复基因产物 hMSH2 在涎腺良恶性组织的表达

程 斌, 陈小华, 李汝瑶, 秦蓉晖, 林正梅

(中山医科大学口腔医学院口腔内科, 广东 广州 510055)

摘要:【目的】观察错配修复基因产物 hMSH2 在涎腺良恶性组织中的表达。【方法】应用免疫组化技术检测正常和炎症涎腺、多形性腺瘤、粘液表皮样癌、腺样囊性癌和腺癌组织的 hMSH2 表达。【结果】hMSH2 在正常和炎症涎腺组织导管上皮细胞的胞核、胞浆阳性表达, 在腺样囊性癌和腺癌肿瘤细胞的胞核呈强阳性表达, 但在多形性腺瘤、粘液表皮样癌组织不表达。【结论】部分涎腺肿瘤组织出现错配修复基因产物 hMSH2 的表达异常。

关键词: 涎腺肿瘤; 碱基错配; 错配修复基因产物 hMSH2

中图分类号: R781.7 文献标识码: A 文章编号: 1000-257X(2000)04-0271-03

Human Mismatch Repair Gene (hMSH2) Expression in Benign and Malignant Lesions of Salivary Gland

CHENG Bin, CHEN Xiao-hua, LI Ru-yao, QIN Rong-hui, LIN Zheng-mei

(Department of Oral Medicine, College of Stomatology, Sun Yat-sen University of Medical Sciences Guangzhou 510055, China)

Abstract: 【Objective】To investigate the expression of human mismatch repair gene product hMSH2 in benign and malignant lesions of salivary gland. 【Method】Immunohistochemical technique was used to detect hMSH2 expression in normal and inflammatory tissues, pleomorphic adenoma, mucoepidermoid carcinoma, adenoid cystic carcinoma and adenocarcinoma of salivary gland. 【Results】The positive expression of hMSH2 protein was detected in nuclei and cytoplasm of duct epithelial cells of normal and inflammatory salivary gland. Adenoid cystic carcinoma and adenocarcinoma exhibited strongly staining in the nuclei of tumor cells, but pleomorphic adenoma and mucoepidermoid carcinoma showed negative immunoreactivity. 【Conclusion】hMSH2 expressed defectively in a subset of salivary gland tumors which may play a role in pathogenesis.

Key words: salivary gland neoplasms; base pair mismatch; mismatch repair hMSH2

DNA 错配修复基因(mismatch repair, MMR)产物是一组核蛋白,能修复各种因素所致的DNA碱基错配、小片段插入或缺失、小环(loop)形成等形式的DNA损伤和基因结构异常,在维持基因组结构稳定性、降低基因突变率、保证遗传信息忠实性等方面起重要作用^[1]。我们在研究MMR之一的hMSH2在口腔鳞癌组织表达(结果另文发表)的过程中,观察到hMSH2在口腔粘膜下小涎腺导管上皮细胞的胞浆中表达,这一现象提示hMSH2可能在涎腺疾病中起一定作用。

1 材料与方法

1.1 病例资料

本院近两年存档石蜡组织,包括正常粘膜下小涎腺3例、炎症涎腺组织6例、多形性腺瘤3例、恶性肿瘤6例(粘液表皮样癌、腺样囊性癌和腺癌各2例)共18例。其部位分布为小涎腺10例、腮腺3例、颌下腺3例和舌下腺2例。

收稿日期: 1999-12-30

基金项目: 国家自然科学基金(39700159); 省卫生厅基金(A1998231); 香港杨震基金会资助项目

作者简介: 程 斌(1964-)男,海南琼海人,博士,副教授

1.2 主要试剂

一抗 MSH2(Ab-2)为鼠抗人 hMSH2 的 IgG1k 单抗(clone FE11, Cat # NA27, Oncogene Research Product), 抗原表位为 hMSH2 蛋白的羧基端, 工作稀释度 1:50。蛋白酶 K、LSAB[®] + Kit 等均购自 Dako 公司。

1.3 主要实验步骤

采用结合微波、酶抗原修复的 LSAB 法。其中微波抗原修复按常规进行, 酶抗原修复为蛋白酶 K (1:80)室温(18 °C~30 °C, 下同)消化 5 min, 一抗室温孵育 1 h, 其余步骤按 LSAB[®] + Kit 说明书进行。正常结肠和结肠癌组织切片作阳性对照, PBS 代替一抗作阴性对照。

2 结果

2.1 正常和炎症涎腺组织

hMSH2 在浆液性腺泡的细胞核呈阳性表达, 胞浆阴性表达; 粘液性腺泡的胞核、胞浆和肌上皮细胞均为阴性表达。个别闰管、大部分分泌管和部分排泄管的导管上皮细胞胞核、胞浆呈阳性表达, 尤以近管腔面为明显, 胞核表达强度高于胞浆(图 1)。炎症区内增生的导管上皮细胞胞核、胞浆和浸润的淋巴细胞胞核见 hMSH2 阳性表达, 炎症区外存留的涎腺组织 hMSH2 表达类似于正常涎腺组织。

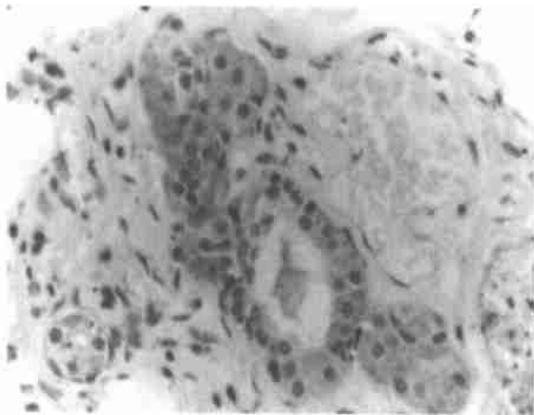


图 1 hMSH2 在正常涎腺导管上皮细胞胞核、胞浆表达

Fig. 1 Expression of hMSH2 in nuclei and cytoplasm of duct epithelial cells of normal salivary gland (LSAB 10×40)

2.2 涎腺肿瘤组织

多形性腺瘤的肿瘤性上皮组织和粘液样组织、

软骨样组织的细胞胞核、胞浆均未见 hMSH2 表达。粘液表皮样癌只有个别表皮样细胞胞核表达 hMSH2, 其余的表皮样细胞、粘液样细胞和中间细胞胞核、胞浆均为阴性表达。腺样囊性癌的大部分肿瘤细胞胞核见 hMSH2 强阳性表达, 其胞浆为阴性表达, hMSH2 的表达在肿瘤的“筛孔状”和小团块结构中最为明显(图 2)。腺癌的大部分癌细胞胞核也呈 hMSH2 强阳性表达, 但胞浆为阴性表达(图 3)。

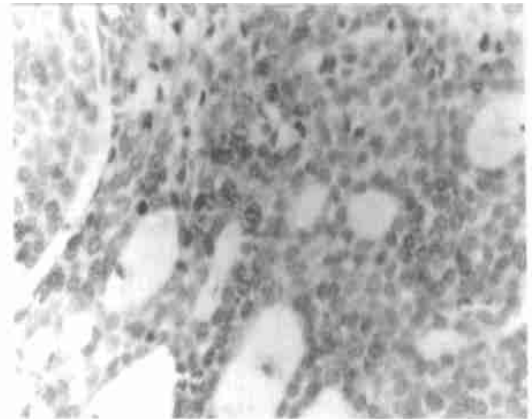


图 2 hMSH2 在涎腺腺样囊性癌肿瘤细胞胞核表达

Fig. 2 Expression of hMSH2 in nuclei of tumor cells of adenoid cystic carcinoma (LSAB, 10×40)

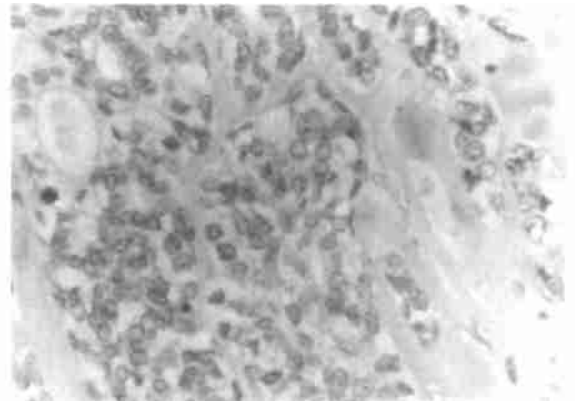


图 3 hMSH2 在涎腺腺癌肿瘤细胞胞核表达

Fig. 3 Expression of hMSH2 in nuclei of tumor cells of adenocarcinoma (LSAB 10×40)

3 讨论

MMR 基因家族由位于 2p22-21 的 hMSH2 与 hMLH1、hMSH3、hMSH6/GTBP、hPMS1、hPMS2 等 6 个目前已克隆的 MMR 基因组成。由于 hMSH2-hMSH6/GTBP 异二聚体(heterodimer)的形成及其与 DNA 链错配碱基的结合, 是启动 DNA

错配修复过程的分子开关 (molecular switch)^[2,3]; 遗传性非息肉性结直肠癌 (hereditary non-polyposis colon cancer, HNPCC) 等遗传性肿瘤和胃癌、肺癌等散发性肿瘤的 MMR 基因异常中, hMSH2 的突变居首位^[4], 因此, hMSH2 作为基因看护者 (caretaker) 在遗传和散发性肿瘤发生发展过程中所起的作用, 是近年的研究重点之一^[5]。近期研究已发现表达 hMSH2 的口腔、口咽癌化疗敏感性更高, hMLH1、hMSH6/GTBP 低表达是头颈部肿瘤发病的危险因子^[6,7], 提示口腔颌面肿瘤 MMR 基因及其产物的表达, 与肿瘤的化疗敏感性、预后等临床病理指标的关系, 值得深入研究。

本研究初步发现: ①hMSH2 蛋白在正常涎腺的部分腺泡、导管上皮细胞胞核、胞浆表达, 说明涎腺组织与消化道组织、睾丸、卵巢等组织一样, 也是 hMSH2 的靶组织之一。②hMSH2 在正常涎腺的导管上皮细胞胞浆中表达, 但在导管上皮来源的多形性腺瘤、腺样囊性癌等良恶性肿瘤的导管上皮细胞胞浆未见表达, 其意义和机理不明。迄今除 Lo-Muzio 等^[8] 观察到 10 例/20 例 (50%) 口腔鳞癌细胞胞浆出现 hMSH2 的阳性表达以外, 其它的研究结果均认为 hMSH2 在正常组织和肿瘤组织的细胞核内表达^[9~11]。与涎腺组织的其他组成成分相比, 导管尤其是分泌管 (纹管) 上皮细胞胞浆包含相当丰富的线粒体; 线粒体 DNA 和核内基因组 DNA 一样, 存在着复杂的基因功能活动, 因此本结果可能提示, 涎腺导管上皮细胞的线粒体也是 hMSH2 作用的靶部位。另外, Polyak 等^[12] 近期报道 7 例/10 例 (70%) 结肠癌组织及其细胞系出现线粒体基因组的体细胞突变; 本研究则观察到 hMSH2 在涎腺肿瘤组织胞浆表达丧失, 推测涎腺肿瘤发生发展过程中, 其线粒体 hMSH2 和线粒体基因组均可能发生了体细胞突变, 这有待进一步的研究予以证实。③hMSH2 在涎腺腺样囊性癌和腺癌表达, 而在多形性腺瘤和粘液表皮样癌呈阴性表达。El-Naggar 等^[13] 报道, 4 例/27 例 (14.8%) 涎腺良性肿瘤和 1 例/19 例 (5%) 恶性肿瘤分别出现基因组的微卫星不稳定 (microsatellite instability, MSI) 现象, 提示了部分涎腺良恶性肿瘤组织出现 MMR 系统基因及其产物结构和功能异常。本研究结果直接证实了部分涎腺良恶性肿瘤组织出现 hMSH2 的表达异常, 并与其 MSI 密切相关。

参考文献:

- [1] Kolodner R. Mismatch repair: mechanisms and relationship to cancer susceptibility [J]. *TIBS*, 1995, 20(10): 397.
- [2] Karran P. Appropriate partners make good matches [J]. *Science*, 1995, 268(5219): 1857.
- [3] Gradia S, Acharya S, Fishel R. The human mismatch recognition complex hMSH2-hMSH6 functions as a novel molecular switch [J]. *Cell*, 1997, 91(7): 995.
- [4] Peltomaki P, Vasen H F A. Mutations predisposing to hereditary nonpolyposis colorectal cancer: database and result of a collaborative study [J]. *Gastroenterology*, 1997, 113(4): 1146.
- [5] Kinzler K W, Vogelstein B. Landscaping the cancer terrain [J]. *Science*, 1998, 280(5366): 1036.
- [6] Fujieda S, Tanaka N, Sunaga H, *et al*. Expression of hMSH2 correlates with in vitro chemosensitivity to CD-DP cytotoxicity in oral and oropharyngeal carcinoma [J]. *Cancer Lett*, 1998, 132(1~2): 37.
- [7] Wei Q, Eicher S A, Guan Y, *et al*. Reduced expression of hMLH1 and hGTBP/hMSH6: a risk factor for head and neck cancer [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 1998, 7(4): 309.
- [8] Lo-Muzio L, Nocini P, Mignogna M D, *et al*. Immunocytochemical detection of hMSH2 and hMLH1 expression in oral SCC [J]. *Anticancer Res*, 1999, 19(2A): 933.
- [9] Leach F S, Polyak K, Burrell M, *et al*. Expression of the human mismatch repair gene hMSH2 in normal and neoplastic tissues [J]. *Cancer Res*, 1996, 56(2): 235.
- [10] Ercoli A, Ferrandina G, Raspaglio G, *et al*. hMSH2 and GTBP expression in advanced stage epithelial ovarian cancer [J]. *Br J Cancer*, 1999, 80(10): 1665.
- [11] Jin T X, Furihata M, Yamasaki I, *et al*. Human mismatch repair gene (hMSH2) product expression in relation to recurrence of transitional cell carcinoma of the urinary bladder [J]. *Cancer*, 1999, 85(2): 478.
- [12] Polyak K, Li Y B, Zhu H, *et al*. Somatic mutations of the mitochondrial genome in human colorectal tumours. *Nat Genet*, 1998, 20(3): 291.
- [13] El-Naggar A K, Hurr K, Kagan J, *et al*. Genotypic alterations in benign and malignant salivary gland tumors: histogenetic and clinical implications [J]. *Am J Surg Pathol*, 1997, 21(6): 691.

(编辑 黄小延)