

宫颈鳞状上皮细胞癌岩藻糖基的表达及意义

袁建寰¹, 陈惠祯², 黄凤英¹, 陈剑虹³, 熊艳²

(1. 惠州市中心医院妇科, 广东惠州 516001; 2. 武汉大学中南医院妇瘤科, 湖北武汉 430071;
3. 中山大学附属第一医院妇产科, 广东广州 510080)

摘要:【目的】探讨人宫颈鳞状上皮细胞癌组织的岩藻糖基(Fucose)化水平及其意义。【方法】采用凝集素组织化学染色技术,以能与糖链 α -Fuc 特异性结合的生物素标记的荊豆凝集素检测了 100 份宫颈鳞状上皮细胞癌组织、150 份宫颈不典型增生组织及 50 份正常宫颈组织的 Fuc 表达,应用图像分析系统定量分析其表达水平。【结果】Fuc 在非癌组织中无表达,在宫颈癌组织中的表达率为 76%,Fuc 在细胞分化程度低、临床分期晚、有转移、复发及预后差的患者中高表达。【结论】Fuc 的表达可作为反映宫颈癌恶性潜能和患者预后的一项新的指标。

关键词: 岩藻糖; 荊豆凝集素; 宫颈肿瘤; 组织化学染色

中图分类号: R737.33 文献标识码: A 文章编号: 1000-257X(2002)5S-0029-02

各种糖链末端含有岩藻糖基(fucose Fuc)的抗原,如唾液酸化路易斯-X 抗原(sialyl Lewis-X antigen, SLe^X, 即 CD15s)和唾液酸化岩藻糖基路易斯-X 抗原(sialyl Fucose Lewis-X antigen, SDLe^X, 即 CD15sd)等,均是血管内皮细胞表达的雌、孕激素选择素(E/P selectin)的配体(ligand)^[1,2]。高转移潜能的结肠癌和肺细胞的胞膜上有丰富的 Le^X、SLe^X和 SDLe^X等含 Fuc 的抗原,可通过“Fuc 抗原-selectin”模式实现与内皮细胞的粘附和转移^[1,2]。有关 Fuc 抗原与妇科肿瘤的关系国内外尚未见报道。为探讨宫颈鳞状上皮细胞癌(cervical squamous carcinoma, CSC)组织内 Fuc 抗原水平与 CSC 细胞的生物学特性及患者预后的相关性,我们借助能与糖链末端 α -Fuc 特异性结合的生物素标记的荊豆凝集素(biotinylated ulex europeaus agglutinin, BUEA)对 Fuc 抗原在 CSC 组织的表达进行了研究。

1 材料与与方法

1.1 材料

选取武汉大学中南医院肿瘤科和广东省惠州市中心医院妇科 1992 年 1 月至 1996 年 12 月期间行宫颈癌根治术的 100 份鳞癌手术标本(术前未接受放疗或化疗),其中高、中、低分化者分别为 35 例、28 例、37 例。临床分期参照 FIGO 1995 年蒙特利尔(Montreal)会议妇科肿瘤学会(Society of Gynecologic Oncology)标准,其中 I a 期 26 例、I b 期 32 例、II a 期 28 例、II b 期 14 例。有淋巴结转移者 32 例。患者平均年龄 48.5 岁(29 岁~73 岁)。术后成功随访 68 例。50 份正常宫颈组织,取自子宫肌瘤手术患者。轻、中、重度非典型增生标本各 50 份,取自宫颈活检患者。标本 4 μ m 厚切片,70 $^{\circ}$ C 烘烤 36 h 后备用。

BUEA 及 SP 试剂盒由美国 Pierce 公司生产,武汉大学医学院病理学教研室提供 HPIAS-2000 型图像分析系统并协助处理实验图像。

1.2 凝集素组化染色

程序按试剂盒操作说明书进行。阳性判断为细胞膜或胞浆出现棕黄色或黄色着色。

1.3 图象分析

在固定光路及光强度下,以 OLYMPUS 显微镜及摄影仪将各切片图像(200 倍)扫描入计算机,采用 HPIAS-2000 高清晰度彩色病理图文分析系统,各标本选取 5 个完整而不重叠的视野,进行吸光灰度值(G)测定,计算出平均灰度值(M_G),按以下关系自动测算出各标本的阳性染色吸光光密度值(S)=阳性面积/测定面积 \times M_G,S 值即 BUEA 的阳性染色强度,量化代表 Fuc 在 CSC 组织的表达强度。

1.4 统计学处理

应用 SAS 软件,将各切片的 S 值根据需要行 F、q、t 或 χ^2 检验,比较不同组别 Fuc 表达强度(S 值)的差异性, P<0.05 为差异有显著性。

2 结果

2.1 Fuc 在不同组织中的表达及染色特征

200 份非癌组织中 Fuc 染色均阴性;100 份 CSC 组织中有 76 份癌细胞呈不同程度的 Fuc 染色阳性,但癌巢旁的非癌细胞中 Fuc 染色均为阴性。阳性染色部位主要位于癌细胞的胞膜上,而胞浆无 Fuc 表达或略有表达,细胞核完全无阳性着色。

2.2 Fuc 的表达与 CSC 临床及病理特征的相关性

①Fuc 的表达随临床分期的增加而增强;②细胞分化程度越差, Fuc 的表达越强;③有淋巴结转移、复发者 Fuc 的表达强于未发生淋巴结转移和无复发者,提示 Fuc 的表达强度与 CSC 的恶性程度呈正相关,结果见表 1。

2.3 SLe^X 的表达与患者预后的相关性

以 S=10 为标准,将术后成功随访的 68 例 CSC 患者划分为 Fuc 高表达组(n=30)和低表达组(n=38),按 Kaplan-Meier 法分别绘制生存曲线,见图 1。Fuc 高表达组 3 年和 5 年生存率分别为 71%和 52%,显著低于 Fuc 低表达组的 94%和 83%。采用 Log-rank 法作时序检验, $\chi^2=3.98$, P<0.05。

3 讨论

糖链末端含有 Fuc 的抗原主要是 Le 类抗原及各种唾液

收稿日期: 2002-06-21

作者简介: 袁建寰(1972-),男,广东惠阳人,硕士,主治医师。

表1 Fuc的表达与CSC临床及病理特征的相关性

病理与临床特征	n	Fuc 阳性率		阳性染色吸光光密度(S)统计		
		n	(%)	S($\bar{x} \pm s$)	F、t、q	P
FIGO 分期	100					
< I b 期(A 组)	58	41	(71)	12.7±3.5	t=3.15	0.01
≥ II a 期(B组)	42	35	(83)	19.1±5.1		
癌细胞分化程度	100			F=4.81	0.01	
高分化(A 组)	35	20	(57)	13.0±4.7	q _{A,B} =1.68	0.01
中分化(B 组)	28	22	(79)	18.5±5.0		
低分化(C 组)	37	34	(92)	23.9±5.7	q _{B,C} =1.93	0.01
转移情况	100					
有淋巴结转移	32	28	(88)	23.1±4.7	t=1.82	0.01
无淋巴结转移	68	48	(71)	16.8±5.6		
手术后复发(n=68)						
有	16	14	(88)	23.2±4.8	t=1.76	0.01
无	52	34	(65)	15.2±5.7		

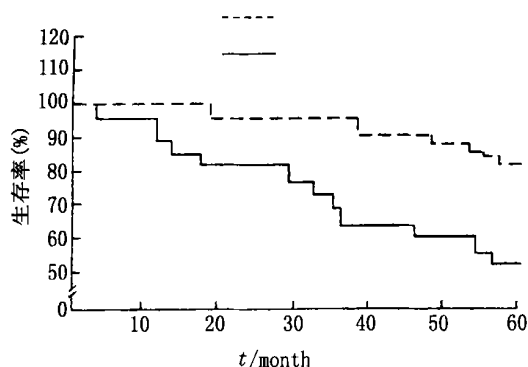


图1 Fuc的表达与CSC患者预后的相关性

酸化(sialyl) Le^a类抗原(SLe^a)。其亚型很多,如 Le^a, SLe^a, Le^b, SLe^b, Le^r, SLe^r, Le^x, SLe^x, Le^y, SLe^y等,其结构相似, Fuc位于糖链末端;其生物学功能也相似,均为选择素的配体^[1,2]。Fuc类抗原虽然亚型很多,但其在血清中的含量极微,难以检测^[1,3]。而本法则可真实地反映肿瘤组织的Fuc类抗原的总体水平。

Fuc类抗原的合成由一系列糖基转移酶(transferase)催化(catalysis)。其中 α 1,3岩藻糖基转移酶(α -1,3-fucosyltransferase, α 1,3-Fuc T)是催化合成的最后一步^[4]。我们曾采用免疫组化和原位杂交技术对SLe^x及其合成酶 α 1,3Fuc-T的编码mRNA在CSC的表达进行研究,发现无论是CSC胞膜SLe^x的表达,还是胞浆中编码 α 1,3Fuc-T的mRNA的表达,均与CSC的淋巴结转移密切相关^[5]。高转移潜能的人结肠癌传代细胞系(passage cell line, PCL)LSI74T的细胞膜上有丰富的SLe^x,移植在裸鼠身上后很容易与裸鼠的内皮细胞上的E、P选择素结合而牢牢吸附在内皮细胞的表面,然后穿过内皮层并在某一组织处聚集、繁殖、形成转移病灶。以苯甲基-氮-乙酰半乳糖胺(MAN)加入LSI74T培养基中,可观察到其SLe^x表达减少,与表达E-selectin内皮细胞的粘附力显著下降。经此处理后的LSI74T细胞在裸鼠身上的肝转移率显著下降^[4]。在人结肠癌变异PCL

中, KM12胞膜上能与选择素的粘蛋白型侧链结合的SDLe^x的表达与其浸润能力成正相关。以MAN干扰SDLe^x的合成,则KM12的浸润能力下降^[6]。在所有L-selectin与配体的结合试验中,均发现含硫糖的化合物如肝类、硫酸脑苷酯等,均可抑制L-selectin与配体的结合。神经氨酸酶处理后的P-selectin与配体的结合能力也急剧下降^[4]。有关Fuc类抗原与选择素的深入研究,预计可为阻断肿瘤的转移多提供一条思路。

本实验观察到细胞分化程度低,临床分期晚,发生复发和预后差的患者Fuc高表达,提示Fuc与CSC的恶性潜能成正相关。因此,我们认为直接检测CSC组织Fuc的表达水平可较准确地预测其恶性潜能与预后, Fuc可作为反映CSC生物学行为、判断患者预后和指导临床治疗的一项有价值的新指标。

参考文献:

- [1] Fukuda M. Possible roles of tumor-associated carbohydrate antigens [J]. Cancer Res 1996, 56(5): 2237.
- [2] Miyake M, Taki T, Hitomi S, et al. Correlation of expression of H/Ley/Leb antigens with survival in patients with carcinoma of the lung [J]. New Engl J Med, 1992, 327(1): 14.
- [3] Nikison O. Carbohydrate antigens in human lung carcinomas [J]. APMIS, 1992, 100(27Suppl): 149.
- [4] Brockhausen I. Pathways of O-glycan biosynthesis in cancer cells [J]. Biochem Biophys Acta, 1999, 1473(1): 67.
- [5] 袁建襄, 陈惠祯, 黄凤英, 等. 唾液酸化路易斯-X 抗原在人宫颈癌组织表达及其临床意义 [J]. 现代妇产科进展, 2001; 10(4): 258.
- [6] Ito H, Hiraiwa N, Sawada Kasugai M, et al. Altered mRNA expression of specific molecular species of fucosyl and sialyltransferase in human colorectal tissues [J]. Int J Cancer, 1996, 71: 556.

(编辑 黄小廷)