

# 肌上皮细胞的表型分化在涎腺发育及多形性腺瘤中的意义

## Differentiation of Myoepithelial Cells in the Development of Salivary Gland and Its Pleomorphic Adenomas

周静萍<sup>1</sup>/刘来奎<sup>2,\*</sup>/江宏兵<sup>2</sup>/陶德韬<sup>2</sup>  
(1. 皖南医学院口腔系, 安徽 芜湖 241001;  
2. 南京医科大学口腔医学院, 江苏 南京 210029)

ZHOU Jing-ping<sup>1</sup>, LIU Lai-kui<sup>2,\*</sup>, JIANG Hong-bing<sup>2</sup>, TAO De-tao<sup>2</sup>  
(1. Department of Stomatology, Wannan Medical College, Wuhu 241001, Anhui, China; 2. College of Stomatology, Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu, China)

**【摘要】**背景与目的: 探讨肌上皮细胞与涎腺发生、涎腺多形性腺瘤发生的关系以及肌上皮细胞的分化状态与肿瘤生物学行为的关系。材料与方法: 采用组织学、免疫组化方法对不同发育阶段(胚 7~8 周、胚 9~10 周、胚 11~14 周、胚 15~20 周)的涎腺胚胎组织及涎腺多形性腺瘤中肌上皮细胞的表型分化及功能状态进行比较分析。结果: 在涎腺发育过程中, 导管腔面及基底层细胞表达 CK19, 偶可表达 CK14, 而不表达肌上皮细胞的标记物  $\alpha$ -SMA, 为非肌上皮来源; 而原始腺泡和闰管中肌上皮细胞的标记物阳性表达, 为肌上皮前体细胞分化而来。在多形性腺瘤中, 非管腔的肿瘤实质中, 梭形细胞、上皮样细胞表达肌上皮细胞标记物 CK14、P63、 $\alpha$ -SMA, 为肌上皮来源, 软骨样成分和粘液样成分偶可表达肌上皮细胞标记物 CK14 和  $\alpha$ -SMA, 可能亦为肌上皮来源。管腔样结构、浆细胞样细胞、透明细胞不表达肌上皮细胞标记物, 可能来自管腔细胞系。结论: 在涎腺发育过程中, 腺泡和闰管来自肌上皮细胞系; 导管系统来自管腔细胞系。以肌上皮分化较好的肿瘤预后较好, 其中可能的原因为肌上皮细胞分化异常, 失去其自身的表型特征, 从而失去抑制肿瘤生长和侵袭的作用。

**【关键词】**肌上皮细胞; 多形性腺瘤; 发育; 分化

中图分类号: R739.87

文献标识码: A

文章编号: 1004-616X(2006)02-0122-04

**【ABSTRACT】**BACKGROUND & AIM: To determine the differentiation of myoepithelial cell (MEC) in the development of salivary glands and its pleomorphic adenomas; and the relation between the differentiation and the biological behavior of these adenomas. MATERIAL AND METHODS: 24 embryonic salivary gland samples in different stages and 31 salivary gland pleomorphic adenomas samples were collected. The development of embryonic salivary gland and pleomorphic adenomas were examined by H&E and CK14, CK19,  $\alpha$ -SMA and P63 markers by immunohistochemistry. The relation between myoepithelial cell differentiation and the biological behavior of the pleomorphic adenomas was also studied. RESULTS: Luminal cell of secretory and excretory duct appeared to have been derived from luminal cell lineage because they mostly expressed CK19, and less extensively CK14, but never  $\alpha$ -SMA. Basal layer of intercalated duct and acinar cell appeared to have been derived from MEC lineage because expressed CK14,  $\alpha$ -SMA, and P63. In pleomorphic adenomas, the markers of MEC were positive in spindle cells, some of the epithelioid cells and also the mucoid or chondroid components. Therefore, they were likely to be derived from MEC lineage. The marker of MEC was negative in plasmacytoid cells, clear cells, and the tubular structure of pleomorphic adenomas. Therefore, they were likely to be derived from luminal cell lineage. CONCLUSION: Acinar cell and intercalated duct appeared to have been derived from MEC lineage, and the structure of duct appeared to have been derived from luminal cell lineage. MEC neoplasms have low-grade invasiveness.

收稿日期: 2005-06-16; 修订日期: 2005-10-20

作者简介: 周静萍(1972-), 女, 安徽省巢湖人, 讲师, 硕士, 研究方向: 肿瘤病理学。Tel: 86-553-3932389, E-mail: kqblzjp@tom.com

\* Correspondence to: LIU Lai-kui Tel: 86-25-85124332, E-mail: laikuiliu@sina.com

【KEY WORDS】 myoepithelial cell; pleomorphic adenomas; development; differentiation

涎腺肿瘤的发病率较高,约占人体肿瘤的2.3%,但其潜在的发生机制尚不明了。研究证明:在涎腺肿瘤中,肌上皮细胞(Myoepithelial cells, MECs)参与了多数涎腺肿瘤的发生,可促进肿瘤细胞分化,合成基底膜和非基底膜成分,分泌肿瘤抑制蛋白 maspin 及各种蛋白酶抑制剂,促使肿瘤细胞局限于细胞外基质中,阻断肿瘤内血管形成及肿瘤细胞侵袭转移<sup>[1,2]</sup>。因此,准确鉴定涎腺肿瘤成分是否为肌上皮来源及其细胞的分化状态,可为阐述涎腺肿瘤的发生机制及预测肿瘤的生物行为及预后提供依据。本研究通过多形性腺瘤及正常涎腺发育过程中,肌上皮细胞的表型分化及功能状态,阐述肌上皮细胞与涎腺良性肿瘤发生的关系以及肌上皮细胞的分化状态与肿瘤生物学行为的关系。

## 1 材料与方法

**1.1 标本的收集与准备** 收集不同发育阶段(胚7~8周6例、胚9~10周6例、胚11~14周6例、胚15~20周6例)的合法流产人胚24个,于2 h内解剖分离颌面部组织,于4%多聚甲醛中固定24 h后,重新修剪所取标本置于以4%多聚甲醛配置的10%的EDTA溶液中,4℃低温条件下脱钙1周至4周,常规脱水、石蜡包埋,切取5 μm的切片备用。同时从临床病例中选择正常成体涎腺组织5例。收集近期经我院病理科病理确诊为多形性腺瘤的病例31例。按1991年WHO涎腺肿瘤组织学分类标准<sup>[3]</sup>对其进行病理诊断分类。

**1.2 免疫组化染色** 本研究采用SP法,所用一抗名称、稀释度及来源见表1。基本步骤如下:标本常规脱蜡、脱二甲苯后3%过氧化氢封闭内源性过氧化物酶,抗原修复后滴加正常山羊血清封闭非特异性反应;分别滴加CK14、CK19、α-SMA、P63一抗于组织切片上,37℃孵育2h加入二抗、三抗、DAB显色,苏木素复染封片后观察。

表1 本研究使用的一抗名称、稀释度及来源

Table 1 Antibodies, dilution, and source used for immunohistochemistry

Antibody	Source	Dilution	Company
CK14	mouse	1:100	Zhongshan(Beijing)
CK19	mouse	1:100	Zhongshan(Beijing)
α-SMA	rabbit	1:200	Boster(Wuhan)
P63	mouse	1:100	Zhongshan(Beijing)

### 1.3 阳性信号的组织定位及对照的设定 细胞

核棕黄色细颗粒状着色者为P63阳性表达;细胞浆呈棕黄色着色者为CK14、CK19、α-SMA阳性反应;以PBS代替一抗作阴性对照。

## 2 结果

**2.1 肌上皮细胞的表型分化与涎腺的发育** 第一阶段(胚7~8周,上皮蕾形成):HE切片光镜下可见上皮条索周围密集的外胚间充质细胞聚集,上皮条索的末端呈蕾状。P63在口腔粘膜及上皮条索细胞核中阳性表达,上皮条索的胞浆中可见CK14阳性,末端蕾状结构中可见α-SMA阳性表达。

第二阶段(胚9~10周,上皮分支、腺小叶形成):上皮条索呈树枝状分支,间充质包绕各分支呈腺小叶样结构。树枝状上皮条索中,靠近基底侧细胞P63为阳性表达,CK14在上皮条索的基底层、腔面弱阳性。上皮条索末端腺小叶样结构中可见P63、α-SMA、CK14阳性(图1)。

第三阶段(胚11~14周,导管形成):树枝状上皮条索中央出现腔隙,形成管腔样结构。管腔基底层细胞中P63、CK14呈现阳性表达,而腔细胞仅见CK14或CK19表达。腺小叶及闰管样结构中可见P63、α-SMA(图2)、CK14阳性。

第四阶段(胚15~20周,细胞分化):各级导管渐趋分化成熟,腺小叶结构整齐,闰管、分泌管、排泄管形成。在腺泡及闰管基底层中P63、CK14、α-SMA阳性表达,腺泡细胞和闰管腔细胞仅表达CK14;分泌管、排泄管基底层细胞中P63、CK14散在阳性,管腔细胞CK14或CK19为阳性反应。

成体颌下腺:在腺泡及闰管基底层,见部分扁平细胞呈现P63、CK14、α-SMA阳性反应。在排泄管、分泌管基底层细胞P63、CK14散在阳性表达,管腔细胞仅表达CK19(图3)。

**2.2 肌上皮细胞的表型分化与涎腺良性肿瘤** 多形性腺瘤的肿瘤成分由管腔样结构和非管腔结构组成。CK14广泛表达于管腔样结构以及非管腔实质中。而非管腔实质中,P63、α-SMA主要表达于梭形细胞、上皮样细胞中;浆细胞样细胞、透明细胞可表达CK19,而P63、α-SMA为阴性(表2)。软骨样成分和粘液样成分偶可表达肌上皮细胞标记物CK14和α-SMA(图4~6)。



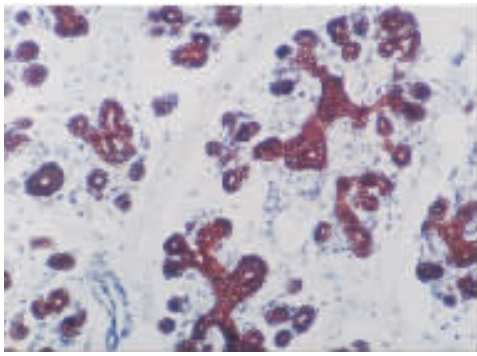


图 1 胚 9 周, CK14 在树枝状上皮条索中呈阳性 (SP, × 100)

Figure 1 Keratin 14 is expressed by branched system of cellular cords in 9 week of the human embryo (SP, × 100)

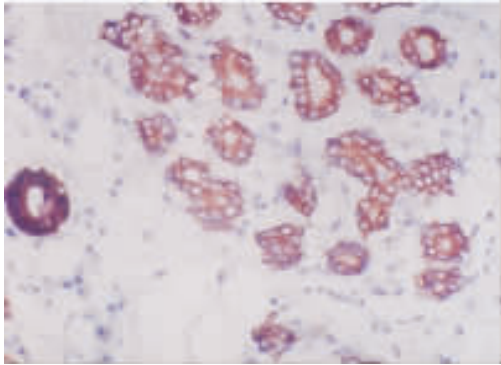


图 2 胚 11 周, 上皮条索末端腺小叶样、闰管样结构中可见  $\alpha$ -SMA 阳性表达 (SP, × 100)

Figure 2 Acini and intercalated ducts structures of terminal bud express immunoreactivity for  $\alpha$ -SMA in 11 week of the human embryo (SP, × 100)

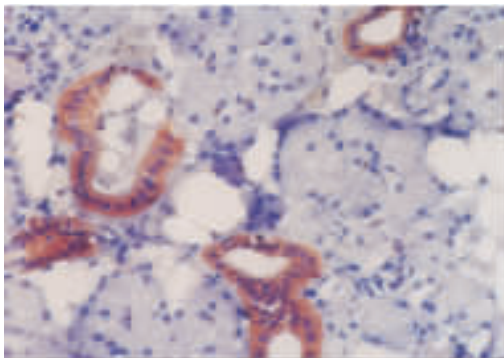


图 3 成体颌下腺, 导管管腔细胞表达 CK19 (SP, × 200)

Figure 3 Keratin 19 is expressed by normal submandibular glands (SP, × 200)

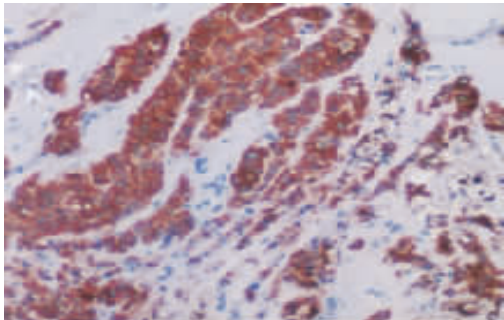


图 4 多形性腺瘤的非管腔结构中, 浆细胞样细胞、透明细胞 CK14 阳性表达 (SP, × 100)

Figure 4 Keratin 14 is extensively expressed by plasmacytoid cells and clear cells in non-luminal structures of pleomorphic adenomas in salivary gland (SP, × 100)

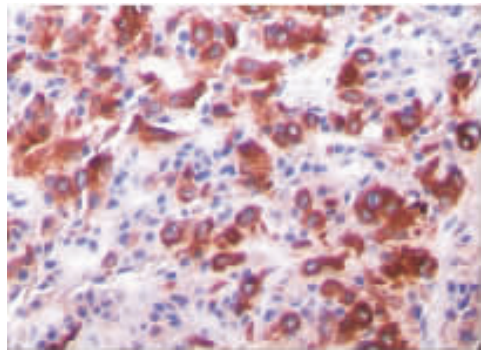


图 5 多形性腺瘤的非管腔结构中,  $\alpha$ -SMA 主要表达于梭形细胞、上皮样细胞中 (SP, × 100)

Figure 5  $\alpha$ -SMA is extensively expressed by spindle cells and epithelioid cells in non-luminal structures of pleomorphic adenomas in salivary gland (SP, × 100)

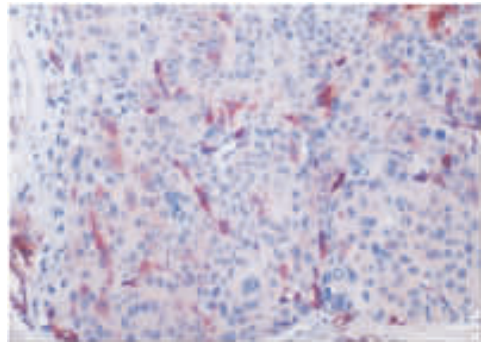


图 6 多形性腺瘤的非管腔结构中 P63 主要表达于梭形细胞、上皮样细胞中; 浆细胞样细胞、透明细胞中 P63 为阴性 (SP, × 200)

Figure 6 P63 is expressed by spindle cells and epithelioid cells in non-luminal structures of pleomorphic adenomas in salivary gland (SP, × 100)

表 2 免疫组化染色 CK14、CK19、 $\alpha$ -SMA、p63 在多形性腺瘤中的分布  
Table 2 Immunohistochemistry expression of CK14, CK19,  $\alpha$ -SMA, p63 in pleomorphic adenomas of salivary gland

Tumor	CK14	CK19	$\alpha$ -SMA	P63
Non-luminal tumor				
Spindle-shaped cell	+	+/-	+	+
Plasmacytoid cell	+	+	-	-
Luminal cell	+	+/-	-	-
Mucoid structure	-	-	+	-
Cartilage-like structure	-	-	+/-	-

+ : positive; - : negative; +/- : positive or negative.

### 3 讨论

**3.1 肌上皮细胞的标记物** 肌上皮细胞参与涎腺发生及腺体的形成, 同时还是多数涎腺肿瘤的主要组成部分。研究发现其分化状态对肿瘤的生物行为具有重要影响。研究认为: 在涎腺发育过程中, 原始的干细胞分化为管腔细胞系 (Luminal cell lineage) 和肌上皮细胞系 (Myoepithelial cell lineage)。而肌上皮细胞系分化形成闰管及腺泡结构, 成体后仅有少量肌上皮细胞位于腺泡和闰管的基层层<sup>[4]</sup>; 管腔细胞系分化为导管结构, 最终形成分泌管和排泄管的基层层和管腔细胞。目前



关于肌上皮细胞的标记已有广泛报道：在正常的涎腺中，肌上皮细胞表达 CK5、CK14，同时导管基底细胞也呈阳性表达，因此二者并非为肌上皮细胞的特异性标记物。MECs 同时还表达  $\alpha$ -SMA ( $\alpha$ -smooth muscle actin,  $\alpha$ -SMA) 及 P63，而腺泡中非肌上皮细胞主要表达 CK7、CK8、CK18、CK19<sup>[5, 6]</sup>。因此本研究中以表达 CK14、 $\alpha$ -SMA、P63，同时 CK19 不表达作为肌上皮细胞的标记。

**3.2 肌上皮细胞在涎腺发育中的意义** 在涎腺发生的早期，上皮枝芽中仅见 P63 强阳性表达，肌上皮细胞的其它标记物阴性，可认为此时的上皮枝芽中主要为涎腺原始干细胞或肌上皮前体细胞。随着胚胎的进一步发育，在腺泡和闰管基底层肌上皮细胞中 P63 始终为阳性表达，同时在分泌管、排泄管基底层细胞中 P63 亦始终表达，本研究支持 Reis-Filho 等<sup>[7]</sup>的观点，P63 可同时作为肌上皮干细胞和管腔干细胞的标记物。

在涎腺发育过程中，上皮条索末端蕾状结构中表达肌上皮标记物 P63、 $\alpha$ -SMA、CK14，随着涎腺发育的成熟，肌上皮细胞分化成熟位于腺泡和闰管的基底层；而上皮条索形成管腔结构，最后形成分泌管、排泄管，此过程中尽管导管的基底层或腔面表达 CK14，但是肌上皮标记物  $\alpha$ -SMA 为阴性。以上结果支持 Ogawa 等<sup>[4, 8]</sup>的观点：原始干细胞分化为肌上皮细胞系，随后平滑肌表型出现，最后上皮表型出现，成为成熟肌上皮细胞，并形成腺泡和闰管结构；管腔细胞系分化形成导管结构。如肌上皮细胞系和管腔细胞系分化障碍，可形成各种涎腺肿瘤。

**3.3 肌上皮细胞在涎腺多形性腺瘤中的意义** 涎腺肿瘤中肌上皮细胞在表达 CK14 之前首先表达  $\alpha$ -SMA，表达 CK14 而平滑肌标记不表达的肿瘤细胞由管腔细胞系发展而来<sup>[4]</sup>。本研究发现在多形性腺瘤中，尽管腺管样结构表达 CK14，但其不表达平滑肌标记物，因此肿瘤中腺管样结构可能为管腔细胞系的分化异常所致，以 CK19 阳性为主，则分化良好，以 CK14 阳性为主则分化较幼稚。与 Ogawa 等<sup>[9]</sup>的结果一致。

在肿瘤外周非管腔成分中，梭形细胞、上皮样细胞表达肌上皮细胞标记物 CK14、P63、 $\alpha$ -SMA，为分化较为成熟的肌上皮细胞，因此，肿瘤的此成分可能是来自肌上皮细胞系；而浆细胞样细胞、透明细胞不表达肌上皮的表型，可能的原因为肌上皮细胞分化较幼稚而不表达其标记物，或其来源于非肌上皮细胞系。有研究认为：多形性腺瘤的非管腔成分如以分化成熟的肌上皮细胞为

主，则其侵袭性弱，不易复发，预后良好；如以分化幼稚的肌上皮细胞或非肌上皮细胞为主，则肿瘤的侵袭性强，此型多形性腺瘤易复发、浸润、恶变<sup>[10, 11]</sup>，本研究结果与此一致。其中可能的原因为肌上皮细胞分化异常，失去其自身的表型特征，从而失去抑制肿瘤生长和侵袭的作用<sup>[1, 2]</sup>。肌上皮细胞的表型分化和功能状态有可能作为预测多形性腺瘤生物学行为和预后的指标之一。

### 参考文献：

- [1] Nguyen M, Lee MC, Barsky SH, *et al.* The human myoepithelial cell displays a multifaceted anti-angiogenic phenotype[J]. *Oncogene*, 2000, 19(20):3 449 - 3 459.
- [2] Navarro RL, Martins MT, de Araujo VC. Maspain expression in normal and neoplastic salivary gland[J]. *J Oral Pathol Med*, 2004, 33(7):435 - 440.
- [3] Seifert G, Sobin LH. Histologic typing of salivary gland tumors [M]. 2nd ed. New York: Springer-Verlag, 1991. 9.
- [4] Ogawa Y, Toyosawa S, Ishida T, *et al.* Keratin 14 immunoreactive cells in pleomorphic adenomas and adenoid cystic carcinomas of salivary glands[J]. *Virchows Arch*, 2000, 437(1):58 - 68.
- [5] Furuse C, Sousa SO, Nunes FD, *et al.* Myoepithelial cell markers in salivary gland neoplasms[J]. *Int J Surg Pathol*, 2005, 13(1):57 - 65.
- [6] Ihrler S, Zietz C, Sendelhofert A, *et al.* A morphogenetic concept of salivary duct regeneration and metaplasia[J]. *Virchows Arch*, 2002, 440(5):519 - 526.
- [7] Reis-Filho JS, Schmitt FC. Taking advantage of basic research: p63 is a reliable myoepithelial and stem cell marker[J]. *Adv Anat Pathol*, 2002, 9 (5):280 - 289.
- [8] Ogawa Y, Yamauchi S, Ohnishi A, *et al.* Immunohistochemistry of myoepithelial cells during development of the rat salivary glands[J]. *Anat Embryol*, 1999, 200(2):215 - 228.
- [9] Ogawa Y, Kitsunobu M, Atsumi Y, *et al.* Plasmacytoid cells in salivary-gland pleomorphic adenomas: evidence of luminal cell differentiation[J]. *Virchows Arch*, 2003, 443(6):625 - 634.
- [10] Margaritescu C, Raica M, Florescu M, *et al.* The ultrastructural aspects of neoplastic myoepithelial cell in pleomorphic adenomas of salivary glands[J]. *J Cell Mol Med*, 2004, 8(3):369 - 381.
- [11] Darvishian F, Lin O. Myoepithelial cell-rich neoplasms: cytologic features of benign and malignant lesions[J]. *Cancer*, 2004, 102(6):355 - 361.

