

牙源性囊肿上皮增殖活性的研究

孙明磊 廖小宜 王 炼

摘要 目的:研究牙源性角化囊肿、含牙囊肿、根尖囊肿 3 种主要的牙源性囊肿衬里上皮的细胞增殖活性。方法:应用 Ki-67 单克隆抗体免疫组化 LSAB 法对 30 例牙源性囊肿进行免疫组化染色,结果通过计算机图像分析,计算单位面积衬里上皮内(mm^2)阳性细胞数,进行统计学分析。结果:牙源性角化囊肿衬里上皮有较多的 Ki-67 阳性细胞,明显高于含牙囊肿和根尖囊肿;正常口腔粘膜未见 Ki-67 阳性表达。结论:Ki-67 在不同的牙源性囊肿中表达的差异显示了它们具有不同的增殖和分化过程。

关键词 牙源性囊肿 牙源性角化囊肿 Ki-67 增殖活性

Cell Proliferation in Odontogenic Jaw Cyst Epithelium

Sun Minglei, Liao Xiaoyi, Wang Lian

The College of Stomatology, West China University of Medical Sciences

Abstract

Objective: The aim of the study is to investigate the epithelial cell proliferation in the lining of odontogenic cysts with Ki-67 monoclonal antibody. **Methods:** Ki-67 expression was studied in 30 odontogenic cysts (odontogenic keratocysts, $n = 10$; dentigerous cyst, $n = 10$; radicular cysts, $n = 10$), and normal oral epithelium ($n = 10$) by using a biotin streptavidin method on routinely processed paraffin sections after microwave treatment. Ki-67+ cells were counted manually and related to the area of epithelial lining as determined by computer image analyzer. The result was analyzed by using a computer image analyzer to calculate positive cells per square millimeter of the epithelial lining of odontogenic lesions. Data were analyzed by using student test. **Results:** The epithelial lining of odontogenic keratocysts contained the highest number of Ki-67+ cells, most of which were located in the suprabasal layers. The mean value of Ki-67+ cells in odontogenic keratocysts linings ($1812.29 \pm 606.47 \text{ cells/mm}^2$) were significantly higher than that of dentigerous ($944.43 \pm 58.98 \text{ cells/mm}^2$) and radicular cysts ($610 \pm 26.4 \text{ cells/mm}^2$) ($P < 0.01$). Negative reactions were obtained in the normal oral epithelium. **Conclusion:** The results demonstrate that there are differences in Ki-67 expression between epithelial linings of the major odontogenic cysts, which were consistent with odontogenic keratocysts having a greater proliferative capability than dentigerous and radicular cysts. It also indicates differences in proliferation and differentiation processes within these lesions.

Key words: odontogenic cyst odontogenic keratocysts Ki-67 cell proliferation

牙源性囊肿根据发病原理不同主要分为发育性和炎症性两种,不同起源的牙源性囊肿,生物学行为和临床表现也不同。其中牙源性角化囊肿与其他类型牙源性囊肿相比,具有侵袭性的生物学行为、术后较高的复发倾向以及潜在的肿瘤性质,越来越引起重视。国外对牙源性囊肿的增殖动力学研究发现牙源性角化囊肿的衬里上皮具有内源性生长的能力,而其它牙源性囊肿没有¹。细胞增殖

状态与许多病变的临床生物学行为和预后有密切关系。本研究旨在通过观察 Ki-67 在各型牙源性囊肿衬里上皮中的表达规律,探讨其细胞增殖活性的差异。

1 材料和方法

1.1 实验材料

所有材料取自华西医科大学口腔医学院病理学教研室 1985~1996 年间的档案标本。包括牙源性角化囊肿 10 例、含牙囊肿 10 例、根尖囊肿 10 例,另取正常口腔粘膜 10 例作对照。全部标本均经 10% 福尔马林固定,常规石蜡包埋,

4 μm切片。

1.2 方法

采用免疫组化LSAB法,方法按免疫组化室常规进行。试剂盒LSAB Kit、DAB以及Ki-67单克隆抗体均为美国Zymed公司产品,抗体工作浓度1:50。石蜡切片经微波加热处理后,进行免疫组化染色。阳性对照为已知Ki-67阳性的牙源性角化囊肿组织标本,PBS代替一抗为阴性对照。

结果判断:细胞核呈清楚的棕褐色染色者为阳性细胞。为保证染色的重复性和客观性,每张切片至少选择3个区域进行计算机图像分析(MIAS2000图像分析仪,四川大学图像图形研究所),记数衬里上皮内的阳性细胞,计算单位面积(mm²)衬里上皮内阳性细胞数,据此判断Ki-67表达程度。不同组牙源性囊肿Ki-67表达的比较采用t检验。

2 结 果

3种主要的牙源性囊肿中均可见Ki-67阳性表达,正常口腔粘膜中未见Ki-67阳性表达。Ki-67在衬里上皮细胞内的表达主要位于胞核,偶见于胞浆,呈弥散或颗粒状,所有可识别的染色细胞视为阳性。牙源性角化囊肿衬里上皮有明显较多的Ki-67阳性细胞,呈不均匀散在分布,主要分布于基底上层,基底层较少(图1),平均衬里上皮阳性细胞数为1812.29个/mm² ±606.47个/mm²,明显高于含牙囊肿衬里上皮阳性细胞944.43个/mm² ±58.98个/mm²(图2)和根尖囊肿衬里上皮阳性细胞610.0个/mm² ±26.4个/mm²(图3)(P < 0.01)。根尖囊肿与含牙囊肿相比,P > 0.05。

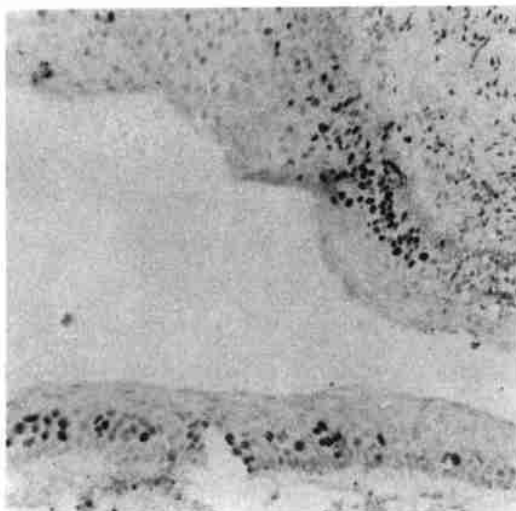


图1 Ki-67在牙源性角化囊肿中的表达,阳性细胞呈棕褐色,基底上层较多,呈不均匀散在分布 LSAB法 ×200

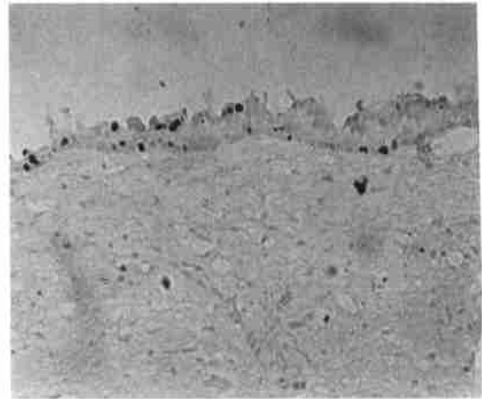


图2 Ki-67在含牙囊肿中的表达,阳性细胞较少,基底层分布较牙源性角化囊肿明显 LSAB法 ×200

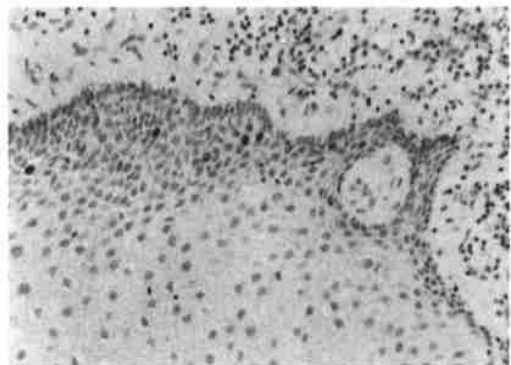


图3 Ki-67在根尖囊肿中的表达,阳性细胞稀少 LSAB法 ×200

3 讨 论

Ki-67是Gerdes等²1983年报道的一种单克隆抗体,其抗原是一种能识别存在于增殖细胞核基质内的与细胞增殖相关的核蛋白,该抗原是一种非组蛋白,有345kD和395kD两种成份,可能在调节细胞增殖方面起作用。已证明Ki-67抗原出现于细胞周期的所有活跃阶段,G₀期除外,因此通过对Ki-67抗原的检测可得到处于非休止时相的细胞数即增殖活性。Ki-67比增殖细胞核抗原(PCNA)更能准确地反映细胞增殖的情况,因此Ki-67阳性细胞记数被认为是评估增殖细胞更准确、方便的一种方法³。以前限制Ki-67应用的主要缺点是该抗体不能用于福尔马林固定石蜡包埋的组织,只能用于新鲜组织冰冻切片或细胞涂片,形态较差。Key等⁴报道了用基因工程方法得到新的单克隆抗体MIB1,可以用于经微波处理的福尔马林固定石蜡包埋组织,这使Ki-67的应用更为方便。本实验使用

(下转第157页)

机械力对人牙周膜成纤维细胞的影响,虽缺乏特异性,但也可说明人牙周膜成纤维细胞整体功能变化的一些情况。本研究发发现机械拉伸可使细胞合成蛋白减少,提示机械应力作用下,细胞外基质成分会发生相应改变,以适应特殊的力学环境。

参考文献

- 1 Ngan P, Saito S, Saito M, et al. The interactive effects of mechanical stress and interleukin-1 on prostaglandin E and cyclic AMP production in human periodontal ligament fibroblasts in vitro: comparison with cloned osteoblastic cells of mouse (MC3T3-E1). Arch Oral Biol, 1990, 35(9): 717 ~ 725
- 2 Yamaguchi M, Shimizu N, Ozawa Y, et al. Effect of tension force on plasminogen activator activity from human periodontal ligament cells. J Periodont Res, 1997, 32(3): 308 ~ 314

- 3 Shimizu N, Yamaguchi M, Gōseki T, et al. Cyclic tension force stimulates interleukin-1beta production by human periodontal ligament cells. J Periodont Res, 1994, 29(5): 328 ~ 333
- 4 Yamaguchi M, Shimizu N, Shibata Y, et al. Effect of different magnitudes of tension force on alkaline phosphatase activity in periodontal ligament cells. J Dent Res, 1996, 75(3): 889 ~ 894
- 5 Howard PS, Kucich U, Taliwal R, et al. Mechanical force alter extracellular matrix synthesis by human periodontal ligament fibroblasts. J Periodont Res, 1998, 33(4): 500 ~ 550
- 6 Bumann A, Carvalho RS, Schwarzer CL, et al. Collagen synthesis from human PDL cells following orthodontic tooth movement. Eur J Orthod, 1997, 19(1): 29 ~ 37
- 7 Carano A, Siciliani G. Effect of continuous and intermittent forces on human fibroblast in vitro. Eur J Orthod, 1996, 18(1): 19 ~ 26

(1999-09-16 收稿, 2001-03-27 修回)

(本文编辑 王 晴)

(上接第 145 页)

的 Ki-67 单克隆抗体 (CLONE: 7B11) 可特异性地检测 345kD 和 395kD 两种蛋白成份,并可应用于石蜡切片。

本研究发发现 Ki-67 在牙源性角化囊肿中的表达明显高于根尖囊肿和含牙囊肿,反映其衬里上皮具有较高的细胞增殖活性。牙源性角化囊肿衬里上皮内 Ki-67 阳性细胞的分布不均匀,有些区域密集,有些区域松散,有些区域甚至没有阳性表达,反映其衬里上皮生长的特点为非均匀性的、多中心性的生长模式,可以解释牙源性角化囊肿特殊的呈浸润性生长的生长方式,而其它非角化颌骨囊肿多为膨胀性生长。由此可见牙源性角化囊肿衬里上皮较高的细胞增殖活性在囊肿生长的过程中起重要作用。相反,根尖囊肿和含牙囊肿中 Ki-67 阳性细胞稀疏,反映出其衬里上皮的细胞增殖活性很低,说明其它因素而非上皮增殖在囊肿生长中起更重要的作用。另外牙源性角化囊肿中 Ki-67 阳性表达主要分布于基底上层,基底层较少,从组织学来看牙源性角化囊肿与其它囊肿相比,基底层细胞比基底上层细胞分化更好一些,并且通过角蛋白 13 免疫组化研究给予支持⁵,表明其上皮可能存在一种特殊的增殖和分化过程。最近,有研究发发现⁶ 牙源性角化囊肿中 Ki-67 阳性表达区中也存在 P53 的阳性表达,表明牙源性角化囊肿中 P53 蛋白代谢有改变,此改变与细胞增殖活性的变化相关。

本研究显示 3 种主要的牙源性囊肿的细胞增殖活性有所不同,其中牙源性角化囊肿具有较高的细胞增殖活性,上皮内存在一种特殊的增殖和分化过程,这可能与其侵袭性的生物学行为有关。

参考文献

- 1 Li TJ, Browne RM, Matthews JB. Expression of epidermal growth factor receptor by odontogenic jaw cysts. Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol, 1993, 423(2): 137 ~ 144
- 2 Gerdes J, Schwab U, Lemke H, et al. Production of a mouse monoclonal antibody reactive with human nuclear antigen associated with cell proliferation. Int J Cancer, 1983, 31(1): 13 ~ 20
- 3 Munakata S, Hendricks JB. Effect of fixation time and microwave oven heating time on retrieval of the Ki-67 antigen from paraffin embedded tissue. J Histochem Cytochem, 1993, 41(8): 1241 ~ 1246
- 4 Key G, Becker MH, Baron B, et al. New Ki-67-equivalent murine monoclonal antibodies (MIB 1-3) generated against bacterially expressed parts of the Ki-67 cDNA containing three 62 base pair repetitive elements encoding for the Ki-67 epitope. Lab Invest, 1993, 68(6): 629 ~ 636
- 5 Matthews JB, Mason GI, Browne BM. Epithelial cell markers and proliferating cells in the odontogenic jaw cysts. J Pathol, 1988, 156(4): 283 ~ 290
- 6 Slootweg PJ. P53 protein and Ki-67 reactivity in epithelial odontogenic lesions. An immunohistochemical study. J Oral Pathol Med, 1995, 24(9): 393 ~ 397

(1999-12-30 收稿, 2000-10-20 修回)

(本文编辑 王 晴)