Ⅳ型胶原及Ⅳ型胶原酶与涎腺腺样囊性癌生物学特性的关系研究

史宏男 何荣根 林国础

摘要 用免疫组织化学ABC 法, 观察 25 例涎腺腺样囊性癌(ACC)患者的癌组织中Ⅳ型胶原以及Ⅳ型胶原酶的表达与分布, 探讨其与ACC 侵袭和转移的关系。结果显示, Ⅳ型胶原主要分布在基底膜上以及部分筛状假囊、腺管和肿瘤细胞浆内, Ⅳ型胶原酶分布在肿瘤细胞浆内及周围。经统计学检验, 发现筛状- 管状型ACC, TNM 早期和无转移者, Ⅳ型胶原多阳性表达, Ⅳ型胶原酶多阴性表达; 而实体型ACC, TNM 晚期和转移者, Ⅳ型胶原多阴性表达, Ⅳ型胶原酶多阳性表达。本研究结果表明, Ⅳ型胶原低表达和Ⅳ型胶原酶的高表达可作为判定ACC 临床恶性程度的指征, 是ACC 侵袭和转移的关键因素之一。

关键词 涎腺腺样囊性癌 Ⅳ型胶原 Ⅳ型胶原酶

肿瘤的侵袭和转移是肿瘤细胞与细胞外基质(ECM)相互作用的结果[1]。ECM 包括基底膜(BM)成分和间质。正常基底膜是均一的、连续的细胞外结构, 由Ⅳ型胶原构成三维网状骨架, 上面连接着层粘连蛋白(LN), 纤维粘连蛋白(FN)等[2]。肿瘤细胞粘附 ECM 后, 分泌各种水解酶, 如血纤维蛋白溶解酶原激活物(PAS)、组织蛋白酶(cathepins)、胶原酶(collagenase)、粘蛋白酶(proteoglycanases), 尤其是Ⅳ型胶原酶作为专一性降解基底膜的酶越来越引起关注[2]。

涎腺腺样囊性癌(ACC)是口腔颌面部常见病, 易广泛侵袭和早期血道转移, 本研究运用Ⅳ型胶原的单克隆抗体和Ⅳ型胶原酶的多克隆抗体, 应用免疫组化技术分析Ⅳ型胶原及Ⅳ型胶原酶在 25 例ACC 组织标本中的表达, 并阐述其在ACC 侵袭和转移中的作用和意义。

1 材料和方法

1.1 组织标本

材料取自上海第二医科大学附属第九人民医院口腔颌面外科 1992～1994 年间手术切除的 25 例ACC 标本。按UICC(1987 年)分类的 TNM 分期: Ⅰ期 3 例, Ⅱ期 3 例, Ⅲ期 5 例, Ⅳ期 10 例。WHO (1991 年)病理分型: 筛状型 7 例, 管状型 8 例, 实体型 10 例。按转移分类: 有肺或淋巴转移 8 例, 无转移 17 例。

1.2 免疫试剂

抗Ⅳ型胶原单抗: DAKO 1∶75; 抗Ⅳ型胶原酶多抗: Liotta 实验室赠 1∶400; ABC Kit: Vector 公司生产。

1.3 免疫组织化学方法

采用ABC 方法。所有标本切成 4 μm 厚的石蜡切片, 56℃溶蜡, 二甲苯脱蜡, 逐级酒精水化。0.25% 胰蛋白酶 37℃消化 30 min, 0.03% H_2O_2 甲醇 30 min 阻断内源性过氧化物酶, 异种动物血清 10 min。4 种一抗 4℃过夜, 再分别加二抗 IgG 及ABC 试剂, 期间均以 PBS 洗涤 3 次, 每次 3 min, DAB 显色 5 min, 苏木素复染 3 min, 常规脱水, 透明, 树胶封片, 光镜观察。阳性为棕色, 以同片小血管壁为阳性对照, 以 PBS 代替一抗作阴性对照。

2 结 果

2.1 Ⅳ型胶原及Ⅳ型胶原酶在ACC 中的表达

Ⅳ型胶原表达, 主要分布在基底膜部, 以及筛孔、假囊、腺管内, 阳性率为 48% (12/25) (见图 1, 2)。Ⅳ型胶原酶主要在肿瘤细胞胞浆阳性表达, 阳性率为 56% (14/25), 见图 3, 4。

2.2 Ⅳ型胶原及酶与病理分型关系

Ⅳ型胶原在筛状- 管状型ACC 中阳性率为 66.7% (10/15), 实体型ACC 阳性率 20% (2/10), 有显著差异($P < 0.05$)。Ⅳ型胶原酶在筛状- 管状型ACC 阳性率 40% (6/15), 实体型ACC 阳性率 80% (8/10), 有显著差异($P < 0.05$), 见表 1。Ⅳ型

本课题获国家自然科学基金(39470755)资助

作者单位: 200065 上海第二医科大学附属第九人民医院口腔颌面外科(史宏男现在上海铁道大学附属甘泉医院口腔颌面外科)

胶原阳性率与Ⅳ型胶原酶阴性率相近。

表 1 Ⅳ型胶原及胶原酶与病理分型的关系

病理分型	n	Ⅳ型胶原		Ⅳ型胶原酶	
		(+)	(-)	(+)	(-)
筛状型	7	6	1	1	6
管状型	8	4	4	5	3
实体型	10	2	8	8	2

2.3 Ⅳ型胶原及酶与 TNM 分期的关系

Ⅳ型胶原在Ⅰ, Ⅱ期阳性率为 80% (8/10), Ⅲ, Ⅳ期阳性率 26.7% (4/15), ACC 不同分期阳性率有显著性差异($P < 0.01$)。Ⅳ型胶原酶在Ⅰ, Ⅱ期阳性率为 30% (3/10), Ⅲ, Ⅳ期阳性率为 73.3% (11/15), 阳性率有显著性差异($P < 0.05$), 见表 2。Ⅳ型胶原阳性率与Ⅳ型胶原酶阴性率相近。

表 2 Ⅳ型胶原及胶原酶与 TNM 分期关系

TNM 分期	n	Ⅳ型胶原		Ⅳ型胶原酶	
		(+)	(-)	(+)	(-)
Ⅰ	7	6	1	1	6
Ⅱ	3	2	1	2	3
Ⅲ	5	3	2	4	1
Ⅳ	10	1	9	7	3

2.4 Ⅳ型胶原及酶与转移关系

Ⅳ型胶原在有转移 ACC 中阳性率 12.5% (1/8), 无转移 ACC 中阳性率 64.7% (11/17), 有显著差异($P < 0.05$); Ⅳ型胶原酶在有转移 ACC 中阳性率 87.5% (7/8), 阴性率 12.5% (1/8), 无转移 ACC 中阳性率 41.2% (7/17), 阴性率 58.8% (10/17), 具有显著差异($P < 0.05$)。Ⅳ型胶原阳性率与Ⅳ型胶原酶相近。

3 讨 论

恶性肿瘤细胞转移首先遇到系列自然屏障如基底膜, 其穿过这些屏障的能力依赖于其分泌能降解基质和基底膜成分酶的能力[4]。一般来讲, 正常组织和良性肿瘤的基底膜都是完整, 而恶性肿瘤基底膜不连续或缺失、断裂。李一伟等[4] 认为浸润性胃癌基底膜断裂、缺损, 且癌分化越低, 缺损越重, Barsky 等[5] 在乳腺癌中也观察到类似的结果。正常组织的基底膜由上皮细胞合成, 癌组织中的基底膜由肿瘤细胞合成, 缺损与组织分化有关。

本研究发现Ⅳ型胶原与病理分型、TNM 分期及转移有关。Santo 等[6] 认为筛状型、管状型恶性程度较低, 其Ⅳ型胶原阳性率比实体型高。TNM 分期Ⅰ, Ⅱ期阳性率明显多于Ⅲ, Ⅳ期, 无肺转移的阳性率明显高于有转移者, 说明Ⅳ型胶原的完整表达是 ACC 生物学的一个重要特征。

分泌蛋白水解酶是癌细胞侵袭转移的关键性步骤之一, 在众多的水解酶中, Ⅳ型胶原酶作为针对Ⅳ型胶原的特异性水解酶而备受注目。Ⅳ型胶原酶是金属蛋白酶(metal loproteinase)之一[7], 至少有 3 种不同形式, 分子量分别是 72 kD, 92 kD, 100 kD。本实验用的是抗 72 kD Ⅳ型胶原酶多抗。Montegudo 等[8] 发现Ⅳ型胶原酶在浸润性乳腺癌中阳性率为 89%, 在淋巴结转移灶中为强阳性。Grigioni 等[9] 发现低分化肝癌中Ⅳ型胶原酶含量明显高于高分化肝癌。Autio 等[10] 在研究卵巢癌中发现, 恶性程度越高, Ⅳ型胶原酶分泌越多。口腔鳞癌伴淋巴结转移者Ⅳ型胶原酶 76.9% 阳性表达[11]。Ⅳ型胶原酶在各种肿瘤中的作用已基本达成了共识。

本研究发现Ⅳ型胶原酶分泌与 ACC 病理分型、TNM 分期和转移均有关。分化较差的实体型 ACC, TNM 的Ⅲ, Ⅳ期及有转移者的阳性表达均明显高于筛状、管状型 ACC, Ⅰ, Ⅱ期及无转移者。Ⅳ型胶原高表达的 ACC, 大都Ⅳ型胶原酶低表达, 而Ⅳ型胶原低表达, 则是Ⅳ型胶原酶大量分泌的结果。说明Ⅳ型胶原酶在涎腺腺样囊性癌的分化、侵袭和转移方面都有重要意义, 可以作为一个判定恶性程度的标志。

(本文图见中心插页 9)

4 参考文献

1 Liotta LA. Tumor invasion and metastasis-role of the extracellular matrix. Cancer Res, 1986, 46: 1

2 Tryggvason K, Hoyhtya M, Salo T. Proteolytic degradation of extracellular matrix in tumor invasion. Biochem Biophys Acta, 1987, 907: 191

3 Pauli BV, Knudson W. Tumor invasion: a consequence of destructive and compositional matrix alteration. Hum Pathol, 1988, 19: 628

4 李一伟, 沈云英. 胃癌细胞外基质与癌分化、浸润和转移的关系. 肿瘤, 1990, 10(2): 153

5 Barsky SH, Sanford H, Buchner A, et al. Loss of Basement membrance components by invasive tumors but not by the benign counterparts. Lab Invest, 1983, 49: 140

(下转第 222 页)

Effect of Complete Dentures on the Blood Flow and Blood Cell Velocity of Alveolar Mucosal Microcirculation

Xiao Maochun

College of Stomatology, West China University of Medical Sciences

Den Jun

Department of Stomatology, the People's Hospital of Sichuan Province

Abstract

The Purpose of this study was to determine the effects of complete dentures on alveolar mucosa microcirculation. The alveolar mucosal microcirculation of 17 edentulous subjects was measured by videomicroscope. The variance of the alveolar mucosa microcirculation before and after insertion of the dentures was compared. The results showed that: 7 days after wearing complete dentures, the mucosal blood flow and blood cell velocity of maxillary anterior alveolar ridge crest decreased significantly ($P < 0.05$), those of labial region of maxillary anterior alveolar ridge increased significantly ($P < 0.05$), 14 days after wearing complete dentures, the mucosal blood flow and blood cell velocity almost recovered the levels before wearing the dentures. The results can be relative to adjustment the occlusion in the early period of wearing the complete dentures and not wearing the complete dentures at night.

Key words: complete denture alveolar mucosa microcirculation

(上接第 219 页)

6 Szanto PA, Luna MA, Tortoledo ME, et al. Histologic grading of adenoid cystic carcinoma of the salivary gland. Cancer, 1984, 54: 1062

7 Duffy MJ. 蛋白溶解酶在癌症侵袭和转移中的作用. 国外医学肿瘤分册, 1992, 19: 287

8 Montegudo C, Garbisa S, Errico A, et al. Immunohistochemical distribution of the type Ⅳ collegenas in normal, benign and malignant breast cancer. Am J Pathol, 1990, 136: 585

9 Grigioni WF. Evaluation of hepatocellular carcinoma aggressiveness by a panel of extracellular antigenes. Am J Pathol, 1991, 138: 647

10 Autio H, Karttunen T, Hurskainen T, et al. Expression of 72 kilodalton type Ⅳ collagenase in benign and malignant ovarian tumors. Lab Invest, 1993, 69: 312

11 Kusukana J, Sasaguri Y, Shima T, et al. Expression of matrix metalloproteinase-2 related to lymph node metastasis of oral squamous cell carcinoma. Am J Clin Pathol, 1990, 99: 18

(1997-01-10 收稿)

Role of Type Ⅳ Collagene and Type Ⅳ Collagenase in the Invasion and Metastasis of ACC

Shi Hongnan, He Ronggen, Lin Guochu

Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Affiliated Ninth People's Hospital, School of Stomatology, Shanghai Second Medical University

Abstract

Using immunohistochemical ABC method, the authors studied the distribution of type Ⅳ collagen and type Ⅳ collagenase in 25 cases ACC. The result showed type Ⅳ collagen was found in vascular and epithelial basement membrance, and in partly cyst of sieve-like and tubular pattern, and in cytoplasm of tumor cell. Type Ⅳ collagenase was detected in membrance and cytoplasm of tumor cell. Expression of type Ⅳ collagen and type Ⅳ collagenase were correlted with pathologic type, TNM stage and metastasis. Much postive staining of type Ⅳ collagen was found in sieve-tubular pattern, early stage of TNM and without metastasis, but much postive staining of type Ⅳ collagenase was found in soild pattern, later stage of TNM and metastasis. The result suggested that the loss of type Ⅳ collagen and over-expression of type Ⅳ collagenase may be markers of malignance of ACC.

Key words: salivary adenoid cystic carcinoma type Ⅳ collagen type Ⅳ collagenase