

路易斯寡糖在口腔黏膜鳞状细胞癌中的表达及其与颈淋巴结转移的关系

吴兰雁 陈谦明 黄 韦 杨名仲 杨 橙 李秉琦

【摘要】 目的 探讨内皮细胞选择素 (E-selectin) 及其配体路易斯寡糖 sialyl Lewis (a)]在口腔黏膜鳞状细胞癌颈淋巴结转移机制中所起的作用。方法 应用免疫组织化学方法检测口腔鳞癌颈清扫术后标本 38 例 E-Selectin 及 sialyl Lewis(a) 的表达情况,并与颈淋巴结转移发生进行统计学分析。结果 在口腔癌原发灶组织中 sialyl Lewis(a) 在颈淋巴结转移组的表达率为 79 % (15/19),高于无转移组 (21 % ,4/19),两组间比较有显著性差异 ($P < 0.01$),E-Selectin 表达在两组间无显著性差异 ($P > 0.05$)。结论 口腔鳞癌细胞 sialyl Lewis(a) 的表达与颈淋巴结转移可能有关,似可作为口腔癌颈淋巴结转移的预测指标。

【关键词】 口腔癌; 转移; 路易斯寡糖

Immunohistochemical Study of Sialyl Lewis(a) Antigen in Oral Squamous Cell Carcinoma: The Association of Sialyl Lewis(a) Expression with Local Lymph Metastasis

WU Lanyan, CHEN Qianming, HUANG Wei, et al. (West China College of Stomatology, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

【Abstract】 Objective The purpose of this study was to screen sialyl Lewis(a) (sLe(a)) in the tumors of patients with oral squamous cell carcinoma (OSCC) and to explore the association of sialyl Lewis(a) expression with local lymph node metastasis. **Methods** Specimen from 38 patients with primary OSCC were obtained and analyzed by immunohistochemical methods. **Results** The expression of sLe(a) protein, but not E-selectin, of OSCCs significantly correlated to the local lymph node metastasis. sLe(a) was expressed in 79 % (15/19) of the metastatic cases compared with 21 % (4/19) of the non-metastasis ones, indicated the association of sLe(a) expression with the local lymph involvement. **Conclusion** High expression of sLe(a) in OSCC may be related to the metastasis of cervical lymph nodes and it seems useful in predicting poor prognosis in OSCC.

【Key words】 oral cancer; metastasis; sialyl Lewis(a)

口腔黏膜鳞状细胞癌(口腔鳞癌)的颈淋巴结转移严重威胁患者的生命。其转移机制的深入探讨及预测患者的转移潜能对于指导临床治疗措施的选择具有重要的意义。路易斯寡糖 sialyl Lewis (a) , sLe(a)]是一种高分子量细胞表面糖蛋白,是内皮细胞选择素 (E-selectin) 的配体,能介导内皮细胞与癌细胞间的黏附作用,从而促进癌细胞转移和扩散^{1,2}。本研究拟通过检测 E-selectin 及其配体 sLe(a) 在口腔鳞癌中的表达,探讨其在口腔鳞癌颈淋巴结转移机制中的作用及在评估预后中的价值。

1 材料和方法

1.1 实验对象

选择 1996 年~2002 年四川大学华西口腔医院颌面外科住院治疗的口腔鳞癌患者 38 例。其中男性 29 例,女性 9 例,

年龄 25~75 岁,平均 53.26 岁;颊癌 13 例,舌癌 12 例,牙龈癌 7 例,口底癌 5 例,腮癌 1 例。所有患者均行原发灶切除及颈淋巴结清扫术,术前未经放疗或化疗。38 例患者经病理检查证实有或无颈淋巴结转移各 19 例。病理诊断根据 WHO 标准,由两名资深口腔病理医师完成。

1.2 实验方法

手术切除标本经石蜡包埋切片,每个标本分别切片 3 张,拟做 HE 及免疫组化染色,免疫组化染色采用 SP 法,所用抗体和方法见表 1,SP 试剂盒来自北京中山生物技术公司,染色中同时设阴性及阳性对照(阳性对照采用结肠癌组织,用 PBS 代替一抗作阴性对照)。

表 1 免疫组化染色抗体及方法

Tab 1 The method and antibody using in the immunohistochemical staining

第一抗体	性质	工作浓度	方法	来源
Mouse Anti-sLe(a) (CA19-9)	单克隆	1:50	SP 法	北京中山生物技术公司
Rabbit Anti-E-Selectin	多克隆	1:100	SP 法	武汉 BOSTER

操作主要步骤如下:常规脱蜡;3% H₂O₂ 室温下作用 15 min,封闭内源性过氧化物酶;微波抗原修复;3%正常羊血清 37 作用 10 min;滴加一抗,37 湿盒内孵育 1 h,室温下孵育 1 h;滴加二抗,37 湿盒内孵育 30 min;S-A/HRP 孵育 30 min;DAB-H₂O₂ 显色;复染封片。

1.3 染色结果判定

++ 阳性细胞数超过 25%; + 阳性细胞数低于或等于 25%; - 几乎不着色。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 统计软件作 ² 检验。

2 结 果

2.1 sLe(a) 染色

在口腔鳞癌原发灶,sLe(a) 阳性产物定位于癌细胞膜及细胞浆,阳性信号强,染色深,但多呈灶性分布(图 1)。sLe(a) 在颈淋巴结转移组的表达率为 79% (15/19),而无转移组表达率为 21% (4/19),两组间比较经 ² 检验具有显著性差异 ($P < 0.01$),说明 sLe(a) 的表达与颈淋巴结转移有关(表 2)。sLe(a) 在高、中、低分化鳞癌组织中均有表达,各组间表达无明显差异 ($P > 0.05$)。癌旁正常黏膜上皮呈阴性染色。

表 2 sLe(a) 在口腔黏膜鳞癌组织中的表达

Tab 2 Expression of sLe(a) in oral squamous cell carcinoma

	sLe(a)			合计
	-	+	++	
转移组	4	13	2	19
非转移组	15	3	1	19
合计	19	16	3	38

* sLe(a) 的表达与颈淋巴结转移发生有关 ($P < 0.01$)

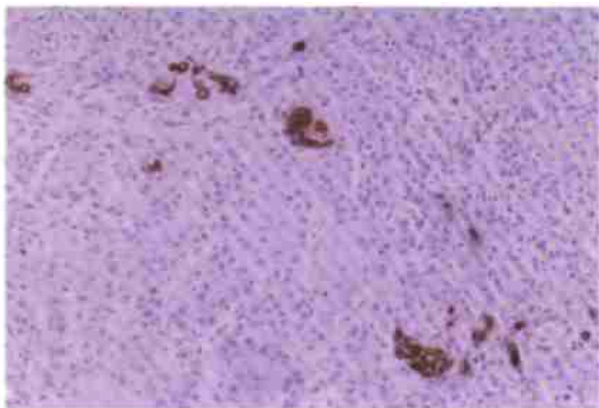


图 1 sLe(a) 在口腔鳞癌原发灶组织中的表达 SP 法 ×200

Fig 1 Expression of sLe(a) in oral squamous cell carcinoma SP × 200

2.2 E-selectin 染色

E-selectin 在口腔鳞癌原发灶组织中的表达信号较弱,且在有或无转移组间表达无显著性差异 ($P >$

0.05)。

3 讨 论

细胞黏附分子是介导细胞间相互作用或细胞与细胞外基质相互作用的糖蛋白,选择素家族是其中之一,是目前国外肿瘤研究的热点之一。在炎性细胞因子如白细胞介素-1(IL-1),肿瘤坏死因子-2(TNF-2)的刺激下,E-selectin 由内皮细胞诱导产生,作为一个受体分子与白细胞及其他细胞与内皮细胞的黏附有关。而 sLe(a) 是一种相对分子质量为 2.1×10^5 的细胞表面糖蛋白,为内皮细胞选择素的配体,能介导内皮细胞与癌细胞间相互作用,从而在肿瘤转移中起关键作用。肿瘤转移是一复杂的、多步骤的过程,有学者提出癌细胞在转移部位形成转移灶的过程与炎症时炎性细胞的游出有类似的机制,肿瘤细胞侵入血管或淋巴管可以许多年处于不活跃状态,而当肿瘤细胞与靶器官上的内皮细胞黏附,特异的内皮细胞受体与肿瘤细胞表面的配体间相互作用,继而,肿瘤细胞得以从内皮细胞间移出血管,进入组织形成转移瘤¹⁻³。Shimono 等^{4,5} 报道了 sLe(a) 在消化道癌的表达,如结肠癌、胰腺癌和食道癌,而且表达 sLe(a) 的结肠癌患者生存率降低。体外细胞培养和基因敲除(knock out)动物实验也证实高表达 E-选择素配体的癌细胞在 E-选择素的介导下,易与内皮细胞早期黏附,从而有较高的转移潜能^{1,6},sLe(a) 表达增高可能与 IL-8 的存在有关⁷,Groves 等⁸ 报道皮肤鳞癌、基底细胞癌组织中,E-selectin 在血管内皮细胞呈强阳性表达,在鳞癌 sLe(x) (选择素另一配体)呈阳性表达,而基底细胞癌呈阴性表达。sLe(a) 在二者均呈阴性表达。认为这一结果可以对基底细胞癌为何较鳞癌转移率低进行解释。

本研究结果 sLe(a) 在颈淋巴结转移组的表达明显较非转移组高,提示高表达 sLe(a) 的口腔鳞癌具有较高的转移潜能,如果活检时通过 sLe(a) 表达的检测对患者转移潜能进行预测,对临床选择最佳的治疗方案,是否做颈清扫术及预后的判断等都具有指导意义。在无转移组中有 4 例患者 sLe(a) 阳性,不排除这些病例也具有较高淋巴结转移潜能,只是患者接受颈清扫术时转移瘤尚未形成,对这些病例的追踪访问将是很有意义的。在转移组口腔鳞癌原发灶组织中,E-selectin 表达未见增高,推测可能在口腔鳞癌颈淋巴结转移过程中,主要是由于癌细胞表面 E-selectin 配体 sLe(a) 增加,而不是 E-selectin 增加,使癌细胞易于与淋巴管内皮细胞黏附,从而使高表达 sLe(a) 的癌细

胞有较高的转移潜能。Takada 等⁹ 通过体外实验观察到培养结肠癌细胞是否与脐静脉内皮细胞上 E-选择素黏附主要取决于 sLe(a)。本研究结果与之符合,而 Farmer 等¹⁰ 根据对头颈部鳞癌 sLe(x) 表达的检测结果,认为转移可能主要取决于转移部位 E-selectin 增多,而不是癌细胞 sLe(x) 产物增加。由于本研究只检测了原发灶 E-selectin 表达情况,尚不能排除转移淋巴结(靶器官)组织中内皮细胞选择素表达有所增加从而在转移过程中起作用。进一步扩大样本量,并在原发瘤和转移瘤同时检测选择素及其配体等相关糖基结构表达,结合细胞培养、动物实验等研究,将有助于进一步阐明选择素/配体在口腔癌转移机制中的作用。

本研究的意义不仅在于通过活检标本 sLe(a) 表达的检测可以推测口腔鳞癌患者颈淋巴结转移的潜在可能性,指导临床医生选择最佳的治疗方案,并预测患者预后;而且,如果选择素/配体相互作用确实与肿瘤浸润血管、淋巴管及远处或淋巴结转移相关,干扰这一相互作用将是抑制转移的有效途径。

参考文献

- 1 Thurin M, Kieber E. SA-Lea and tumor metastasis: the old prediction and recent findings. *Hybrid Hybridomics*, 2002, 21(2): 111-116
- 2 Ugorski M, Laskowska A. sialyl Lewis(a): a tumor associated carbohydrate antigen involved in adhesion and metastatic potential of cancer cells. *Acta Biochemi Pbl*, 2002, 49(2): 303-311
- 3 Insug O, Otvos L, Kieber ET, et al. Role of SA-Le(a) and E-selectin in metastasis assessed with peptide antagonist. *Peptides*, 2002, 23(5): 999-1010
- 4 Shimono R, Mori M, Adazawa K, et al. Immunohistochemical expression of carbohydrate antigen 19-9 in colorectal carcinoma. *Am J Gastroenterol*, 1994, 89(1): 101-105
- 5 Oshiba G, Kijima H, Tanaka H, et al. Frequent expression of sialyl Le(a) in human esophageal squamous cell carcinoma. *Int J Oncol*, 2000, 17(4): 701-705
- 6 Alley WH, Robinson MK, Stephens PE, et al. E-Selectin binds to squamous cell carcinoma and keratinocyte cell lines. *J Invest Dermatol*, 1996, 106(5): 611-615
- 7 Miyamoto M, Shimizu Y, Okada K. Effect of interleukin-8 on production of tumor-associated substances and autocrine growth of human liver and pancreatic cancer cells. *Cancer Immunol Immunother*, 1998, 47(1): 47-57
- 8 Groves RW, Allen MH, Ross EL, et al. Expression of Selectin ligands by Cutaneous squamous cell carcinoma. *Am J Pathol*, 1993, 143(4): 1220-1225
- 9 Takada A, Ohmori K, Yoneda T, et al. Contribution of carbohydrate antigens sialyl Lewis A and sialyl Lewis X to adhesion of human cancer cell to vascular endothelium. *Cancer Res*, 1993, 53(2): 354-361
- 10 Farmer RW, Richtsmeier WJ, Scher RL. Identification of sialyl Lewis x in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Head Neck*, 1998, 20(8): 726-731

(2002-12-16 收稿, 2003-06-07 修回)

(本文编辑 王 晴)

国际内固定研究协会(AO/ASIF)中国首届学习班简讯

国际内固定研究协会(AO/ASIF)成立于1958年,是当今世界上最先进且最系统的创伤固定理论及相关外科技术的科研机构。为加强和中国颌面外科界的学术交流与合作,AO/ASIF于2003年9月3日~5日在浙江杭州举办了首届“AO/ASIF 颅颌面外科培训班”。国际内固定学会颌面外科部主席 Michael Ehrenfeld 教授,中国工程院院士邱蔚六教授任培训班主席。

来自欧洲、美洲、亚洲的8位国际国内著名口腔颌面外科教授进行了内容丰富、生动活泼的授课,其中北京大学口腔医学院张益教授,上海第二医科大学附属第九人民医院沈国芳教授、张陈平教授分别就髁突骨折的治疗、正颌外科以及肿瘤缺损的修复重建作了专题讲授。培训班主要介绍了AO/ASIF 颅颌面外科最新治疗理念和方法,并指导学员进行操作练习。来自全国各地的近50名具有高级职称的学员参加了这次培训班。3天的课程紧凑而丰富,操作练习包括:下颌骨骨折的小钛板固定、拉力螺钉固定以及粉碎性骨折的重建钛板固定;上颌骨骨折的微型钛板固定;鼻-眶-筛区骨折的固定;下颌骨缺损的 UniLock 板固定;以及下颌升支矢状劈开的固定等。培训班让每位学员对教师的讲课质量和操作设计进行评估,结果非常满意。学员在培训班结束后均获得了由国际内固定学会颌面外科部主席 Michael Ehrenfeld 教授和中国工程院院士邱蔚六教授签发的培训证书。中国首届“AO/ASIF 颅颌面外科培训班”获得了学员们的一致好评。2004年将在北京举办第二届“AO/ASIF 颅颌面外科培训班”,欢迎各位医生积极参加。

北京大学口腔医学院 何冬梅