

临床研究 ·

# 口腔鳞癌组织中 I 型胶原和层粘连蛋白含量测定的临床意义

刘 刚 李金荣 李祖兵 阎军峰

**摘要** 目的:探讨口腔鳞癌组织中 I 型胶原(Col I)及层粘连蛋白(LN)含量的变化与临床病理参数的关系。方法:应用放射免疫技术测定 30 例口腔鳞癌及 6 例正常口腔粘膜组织抽提液中 Col I 及 LN 的含量,并对其与临床病理参数的关系进行统计学分析。结果:肿瘤组织中 Col I 及 LN 含量分别为  $1.83 \pm 0.21 \mu\text{g/ml}$  和  $1.02 \pm 0.11 \mu\text{g/ml}$ ,而正常组织分别为  $2.87 \pm 0.45 \mu\text{g/ml}$  及  $1.98 \pm 0.23 \mu\text{g/ml}$ ,两组比较,分别为  $P < 0.05$  和  $P < 0.01$ ;肿瘤组织中 Col I 和 LN 含量的变化与病理分级及肿瘤部位无关,而与是否有颈淋巴结转移和浸润方式有关。结论:测量口腔鳞癌组织中 Col I 和 LN 含量对判断口腔鳞癌有无转移和预后有一定价值。

**关键词** 口腔鳞癌 I 型胶原 层粘连蛋白 浸润方式 转移

## Measurement of Content of Collagen Type I and Laminin in Tissue of Oral Squamous Cell Carcinoma and Its Clinical Significance

Liu Gang, Li Jinrong, Li Zubing

College of Stomatology, Hubei Medical University

Yan Junfeng

The Police Hospital of Hubei

### Abstract

**Objective:** To investigate the relationship between the content of collagen type I (Col I) and laminin (LN) in tissue of oral squamous cell carcinoma and the clinicopathological parameters. **Methods:** 30 patients with oral squamous cell carcinoma came into the study, 6 normal mucosa tissue came from patients who underwent orthogathic operations. The extraction solution was prepared by homogenizing of cancer and normal mucosa tissue in extraction buffer. The content of Col I and LN in tissue of oral squamous cell carcinoma were measured by radioimmunoassay and represented by amount of per milliliter extraction solution. Mode of invasion (MI) was divided into 4 types basing on the relationship between normal and cancer tissue. The results of measurement of content of Col I and LN were expressed using  $\bar{x} \pm s$ , whose correlation with clinicopathological parameters was evaluated by using Student *t* test. **Results:** The MI classification showed that type I consisted of 4 cases, and type II comprised 12 cases. 5 and 9 cases belonged to type I and type II respectively. The content of LN and Col I in tumor tissue were  $1.02 \pm 0.11 \mu\text{g/ml}$  and  $1.83 \pm 0.21 \mu\text{g/ml}$  respectively, and the content of LN and Col I in normal tissue were  $1.98 \pm 0.23 \mu\text{g/ml}$  and  $2.87 \pm 0.45 \mu\text{g/ml}$  respectively. There was significant difference between the content of Col I and LN in normal and tumor tissue, and the content of Col I and LN in normal tissue was much higher than that in cancer tissue ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). No relationship was found between the variation of Col I and LN content and location and pathological grade of squamous cell carcinoma ( $P > 0.05$ ), but it was found the content of LN and Col I in patients with neck lymph node metastasis were greater than that in patients without metastasis ( $P < 0.05$ ). Content of LN and Col I also showed negative relationship with the MI index. **Conclusion:** The assay of LN and Col I in tumor might be useful for diagnosis of metastasis of oral squamous cell carcinoma, and moreover, the relationship between Col I and LN and MI also gives the suggestion that Col I and LN may play some roles in preventing the invasion of oral squamous cell carcinoma.

本课题部分由湖北省自然科学基金资助

作者单位:430070 湖北医科大学口腔医学院(刘 刚,李金

荣,李祖兵),湖北武警总队医院(阎军峰)

**Key words:** oral squamous cell carcinoma

collagen type      laminin      mode of invasion      metastasis

肿瘤细胞发生转移必须两次穿越基底膜,而型胶原(collagen type, Col)和层粘连蛋白(laminin, LN)是基底膜的主要成份。近年的研究表明:Col和LN与癌细胞浸润和转移过程密切相关<sup>1</sup>,癌细胞对基底膜的粘附、降解及破坏是浸润和转移的重要环节,在肿瘤进程中Col和LN的含量不断发生变化。为了进一步明确口腔鳞癌组织中Col和LN含量的变化与临床病理参数的关系,本研究采用放射免疫技术测定了口腔鳞癌组织抽提液中Col和LN的含量。

## 1 材料和方法

### 1.1 研究对象

口腔鳞癌标本取自1997年5月~1998年9月在湖北医科大学口腔医院接受手术并经病理证实为鳞癌的患者,共30例,其中男21例,女9例,年龄29~65岁,平均42岁。按部位分:舌癌15例,颊癌8例,牙龈癌3例,口底癌4例。另外6例正常口腔粘膜取自正颌手术患者。

### 1.2 口腔鳞癌浸润方式(mode of invasion, MI)分型

口腔鳞癌浸润方式分型见参考文献<sup>2</sup>。

### 1.3 组织抽提液的制备<sup>3</sup>

所有标本离体后30 min内置液氮中速冻10 min后贮存于-70℃冰箱备用。组织在样品缓冲液(含10 mmol/L Tris/HCl, pH6.8; 20%甘油; 2% SDS)中匀浆,离心取上清。

### 1.4 Col、LN的放射免疫测定

Col及LN放射免疫测定试剂盒由海军医学研究所生物技术中心提供,测定按试剂盒操作程序,按每毫升组织抽提液中Col及LN的量计算含量。

### 1.5 统计学处理

结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间均数比较采用*t*检验。

## 2 结果

### 2.1 MI分型

30例口腔癌MI分型结果:Ⅰ型4例;Ⅱ型12例;Ⅲ型5例;Ⅳ型9例。

### 2.2 肿瘤组织及正常组织中Col及LN的含量

口腔鳞癌组织中Col及LN含量分别为1.83 μg/ml ± 0.21 μg/ml及1.02 μg/ml ± 0.11 μg/ml,正常组织中Col及LN含量分别为2.87 μg/ml ± 0.45 μg/ml及1.98 μg/ml ± 0.23 μg/ml,鳞癌组织中Col及LN含量明显低于正常组织,两组比较*P*值分别为*P* < 0.05和*P* < 0.01。

### 2.3 肿瘤组织中Col及LN含量与病理分级及肿瘤部位的关系

30例不同病理分级的口腔鳞癌组织Col和LN含量比较,结果显示,不同分级的口腔鳞癌组织中Col及LN含量无显著性差异(组间比较*P* > 0.05)(表1)。

表1 30例不同病理分级口腔鳞癌组织中Col及LN含量比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	Col 含量(μg/ml)	LN 含量(μg/ml)
高分化	15	1.74 ± 0.18	1.03 ± 0.07
中分化	10	1.87 ± 0.23	0.97 ± 0.12
低分化	5	1.89 ± 0.21	0.94 ± 0.21

30例不同部位的口腔鳞癌组织中Col和LN的含量比较显示,口腔鳞癌组织中Col及LN含量与肿瘤部位无关(组间比较*P* > 0.05)(表2)。

表2 30例不同部位口腔鳞癌组织中Col及LN含量比较( $\bar{x} \pm s$ )

部位	例数	Col 含量(μg/ml)	LN 含量(μg/ml)
舌	15	1.64 ± 0.12	1.05 ± 0.09
颊	8	1.87 ± 0.19	0.91 ± 0.05
牙龈	3	1.92 ± 0.21	1.15 ± 0.13
口底	4	1.69 ± 0.09	1.11 ± 0.08

### 2.4 不同浸润方式的口腔鳞癌组织中Col及LN含量

30例不同浸润方式的口腔鳞癌组织中Col和LN含量比较,结果表明,随着癌组织向周围正常组织侵袭的加重,癌组织中Col和LN的丧失逐渐增多,其差异有显著性(组间比较*P* < 0.05)(表3)。

表3 30例不同浸润方式的口腔鳞癌组织中Col及LN含量的比较( $\bar{x} \pm s$ )

MI	例数	Col 含量(μg/ml)	LN 含量(μg/ml)
Ⅰ	4	3.51 ± 0.31	2.14 ± 0.19
Ⅱ	12	2.45 ± 0.24	1.43 ± 0.16
Ⅲ	5	1.66 ± 0.13	1.11 ± 0.08
Ⅳ	9	0.87 ± 0.08	0.57 ± 0.07

### 2.5 肿瘤组织中Col及LN含量与颈淋巴结转移的关系

30例口腔鳞癌患者中颈淋巴结转移组与非转移组癌组织中Col和LN含量比较显示,9例出现颈淋巴结转移的口腔鳞癌组织中Col及LN含量

显著低于没有颈淋巴结转移的口腔鳞癌组织(组间比较  $P < 0.05$ ) (表4)。

表4 颈淋巴结转移组与非转移组口腔鳞癌组织中 Col 及 LN 含量的比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	Col 含量( $\mu\text{g/ml}$ )	LN 含量( $\mu\text{g/ml}$ )
有转移	9	1.47 $\pm$ 0.11	0.71 $\pm$ 0.07
无转移	21	2.09 $\pm$ 0.20	1.21 $\pm$ 0.13

### 3 讨 论

肿瘤组织发生远隔转移必须要突破基底膜屏障,而 LN 和 Col 是基底膜的主要成份,两者在胚胎的发生、细胞分化和支持组织结构方面均起着重要作用。另外, LN 与 Col 的表达能基本上反映基底膜的状态,因此 LN 和 Col 与恶性肿瘤的侵袭和转移的关系也受到越来越多的学者重视<sup>4,5</sup>。顾湘等<sup>6</sup>应用免疫组化法证实正常口腔上皮组织中,上皮下基底膜 Col 及 LN 完整连续呈线型分布,而在鳞癌组织中,癌巢周 Col 及 LN 染色则发生局部中断缺损,甚至完全消失。肿瘤组织在发生发展过程中,位于周边的肿瘤细胞能合成一系列蛋白水解酶,如基质金属蛋白酶类(matrix metalloproteinases, MMPs)来溶解所遇到的基底膜屏障,导致基底膜的连续性破坏,基底膜成份表达降低。本研究的结果也显示正常口腔粘膜组织中 Col 及 LN 含量明显高于鳞癌组织,表明肿瘤发生和生长过程中需不断溶解基底膜向周围浸润。

本研究表明,口腔鳞癌组织中 Col 和 LN 的含量与颈淋巴结转移密切相关。转移的发生需突破基底膜屏障,而基底膜的溶解由蛋白酶完成,因此,本实验结果提示在有转移的鳞癌中,蛋白水解酶的分泌量增多和(或)蛋白酶的活性增高。Kujukawa 等<sup>7</sup>及 Bramhall 等<sup>8</sup>分析了口腔鳞癌及胰腺癌 MMP2 的表达时发现:有转移的癌组织中 MMP2 是癌细胞和(或)间质细胞分泌的主要的溶解基质的蛋白酶,这也从反面提示了转移癌组织中 Col 及 LN 含量减少的原因,表明 Col 及 LN 破坏加重是促进癌细胞发生转移的原因之一。另外,有学者发现 Col 和 LN 的含量变化与肿瘤浸润方式相吻合,肿瘤的浸润方式能较客观反映肿瘤的进展及转移发生的可能性<sup>9</sup>,因此从侧面提示 Col 和 LN 含量是预测口腔鳞癌颈淋巴结转移的可靠指标之一。

本研究未发现鳞癌组织中 Col 及 LN 含量与病理分级及肿瘤部位的相关性。这在一定程度上提示了病理分级并不能反映肿瘤组织与正常组织间的相互关系,因此不能完全反映肿瘤的进展情况。口腔不同部位的鳞癌转移率不同,但本研究未发现不同部位鳞癌组织的 Col 和 LN 含量有差异,可能的原因是,基底膜的破坏与否并不一定是肿瘤发生转移的唯一条件,肿瘤细胞自身的转移潜能和肿瘤组织血管淋巴管的密度,以及不同部位肿瘤所处的微环境均是影响转移的因素。因此有必要进一步结合其它相关因素来研究口腔不同部位鳞癌转移率的差异的根本原因。

本研究结果显示有颈淋巴结转移的口腔鳞癌组织中 Col 及 LN 含量均较无淋巴结转移鳞癌组织有显著降低,因此,测量口腔鳞癌组织中 Col 和 LN 的含量对判断口腔鳞癌转移及预后有一定价值。

### 参考文献

- Liotta LA. Tumor invasion and metastases: role of the extracellular matrix: Rhoads memorial award lecture. *Cancer Res*, 1986, 46(1): 1~8
- Kumagai S, Kojima S, Imai K, et al. Immunohistologic distribution of basement membrane in oral squamous cell carcinoma. *Head Neck*, 1994, 16(1): 51~57
- Tokuraku M, Sato H, Murakami S, et al. Activation of the precursor of gelatinase A/72 KD type collagenase/MMP-2 in lung carcinomas correlates with the expression of membrane-type matrix metalloproteinase (MT-MMP) and with lymph node metastasis. *Int J Cancer*, 1993, 64(6): 355~361
- Liotta LA, Rao CN, Barsky, et al. Tumor invasion and the extracellular matrix. *Lab Invest*, 1983, 49(8): 636~641
- Naguchi M, Kohama G, Hiratsuka H, et al. Clinical significance of laminin deposition and T-cell infiltration in and cancer. *Head Neck*, 1993, 15(2): 125~130
- 顾湘,沈子华,刘蜀凡,等.口腔鳞癌基底膜免疫组化和定量分析. *中华口腔医学杂志*, 1997, 32(4): 233~235
- Kujukawa J, Saguri Y, Shima I, et al. Expression of matrix metalloproteinase-2 related to lymph node metastasis of oral squamous cell carcinoma. *Anatomic Pathol*, 1993, 99(13): 1899~1906
- Bramhall SR, Stamp GWH, Punn J, et al. Expression of collagenase (MMP2), stromelysin (MMP3) and tissue inhibitor of the metalloproteinases (TIMP1) in pancreatic and ampullary disease. *Br J Cancer*, 1996, 73(8): 972~977
- 卢利,王兆元,王玉新,等.舌鳞癌浸润和转移的相关病理因素分析及临床意义. *中华口腔医学杂志*, 1997, 32(5): 291~293