

[文章编号] 1000-2200(2005)03-0203-03

67 kDa 层粘连蛋白受体在胆囊癌中的表达及意义

鲁贻民, 刘会春, 刘金新

[摘要] 目的: 研究 67 kDa 层粘连蛋白受体(67LR) 在胆囊癌中的表达情况与其生物学行为之间的关系。方法: 应用免疫组织化学 SP 法检测 40 例胆囊癌、21 例慢性胆囊炎及 9 例胆囊腺瘤组织中 67LR 的表达。结果: 胆囊癌组织中 67LR 阳性表达率为 52.50%, 明显高于慢性胆囊炎($P < 0.01$), 而与胆囊腺瘤差异无显著性($P > 0.05$)。67LR 阳性表达率淋巴结转移者明显高于无淋巴结转移者($P < 0.005$)。结论: 67LR 可能在促进胆囊腺瘤恶变以及胆囊癌细胞获得浸润、转移能力等方面起作用。

[关键词] 胆囊肿瘤; 层粘连蛋白受体; 免疫组织化学

[中国图书资料分类法分类号] R 735.8 [文献标识码] A

Expression of 67 kDa laminin receptor in gallbladder carcinomas and its significance

LU Yi-min, LIU Hui-chun, LIU Jin-xin

(Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu 233004, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the correlation of the expression of 67 kDa laminin receptor(67LR) with its biological behavior of gallbladder carcinoma. **Methods:** The 67LR protein expression in 40 cases of gallbladder carcinoma, 21 cases of chronic cholecystitis and 9 cases of gallbladder adenoma were detected by immunohistochemistry SP method. **Results:** The positive expression rate of 67LR was 52.50% in the cases with gallbladder carcinoma, which was significantly higher than that with chronic cholecystitis($P < 0.01$), whereas no significant difference was detected between the cases with gallbladder adenoma or carcinoma($P > 0.05$). The positive expression rate of 67LR in gallbladder carcinoma with lymph node metastasis was significantly higher than that without metastasis($P < 0.005$). **Conclusions:** 67LR may play an important role in both premalignant transformation of gallbladder adenoma and acquisition of the invasive and metastasis ability.

[Key words] gallbladder neoplasms; laminin receptor; immunohistochemistry

浸润和转移是恶性肿瘤特别重要的生物学特

征, 两者产生的分子生物学基础是细胞与细胞、细胞与其基质间网络结构系统紊乱所致^[1]。层粘连蛋白(LN)及层粘连蛋白受体(67LR)是网络中的重要组成部分之一, 并且 67LR 在 LN 调节肿瘤细胞生长、分化、黏附及浸润转移过程中发挥重要作用。目前对 67LR 在多种恶性肿瘤中的表达情况报道不少,

[收稿日期] 2004-08-12

[作者单位] 蚌埠医学院附属医院 肝胆外科, 安徽 蚌埠 233004

[作者简介] 鲁贻民(1971—), 男, 安徽安庆人, 硕士研究生, 住院医师, 研究方向: 肝胆肿瘤研究。

乳腺增生病的发病原因主要是由于内分泌激素失调(雌激素与孕激素平衡失调)所致, 表现为黄体期孕激素分泌减少, 雌激素量相对增多, 致使乳腺组织长期受雌激素刺激, 缺乏孕激素的节制与保护作用, 乳腺导管和小叶在周而复始的月经周期中, 增生过度而复旧不全, 从而导致乳腺增生病的发生。

乳腺增生中医属于乳癖(mammary addiction)范畴, 中医认为“情志内伤, 肝郁气滞; 肝肾不足, 冲任失调; 痰瘀凝结, 乳络受阻; 阳明胃热, 热伤血络”是本病的特点。中医治疗原则是疏肝解郁、理气止痛、调理冲任、活血化瘀、软坚散结, 注重标本兼治^[5]。乳健安胶囊正是根据这一理论及治病原则而设计的, 其主要由艾川、楝子叶、柴胡、淫羊藿、白芍等组成, 艾叶散寒止痛, 温经止血, 柴胡疏肝解热、调经, 川楝子舒肝, 行气止痛, 淫羊藿补肾壮阳, 白芍柔肝止痛^[9]。本实验结果表明, 乳健安各剂量组大鼠乳

房高度明显低于病理模型组, 与正常对照组结果相近; 乳腺组织增生病变程度明显轻于病理模型组; 用乳健安后大鼠体内 E₂、P 水平均低于病理模型组。研究结果表明乳健安对乳腺增生有良好的治疗效果, 其作用机制有待于进一步研究。

[参考文献]

- [1] 黄月玲, 文端成, 韦永芳, 等. 大鼠乳腺增生模型的建立[J]. 广东医学, 2002, 23(4): 362~363.
- [2] 朱 愉, 多秀瀛. 实验动物的疾病模型[M]. 天津: 天津科学技术翻译出版公司, 1997: 392.
- [3] 李维华, 纪小龙. 乳腺增生病[A]. 见: 刘彤华主编. 诊断病理学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1994: 566~572.
- [4] 饶金才, 李兰珍, 陈云生, 等. 乳腺增生病动物模型的复制及病理类型[J]. 中国病理生理杂志, 1992, 8(6): 671~672.
- [5] 麦镇江. 中药复方治疗乳腺增生症的药理作用及临床研究进展[J]. 中药材, 2004, 27(8): 615~618.
- [6] 江苏新医学院编. 中药大辞典[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1986: 232, 559, 1832, 2250.

但在胆囊癌的发生发展和转移过程中作用如何,其表达与胆囊癌各临床病理参数间的关系怎样,迄今国内外未见报道。因此本次实验应用免疫组织化学方法,检测层粘连蛋白受体(67LR)在胆囊良、恶性病变中的表达,探讨其与胆囊癌生物学行为之间的关系。

1 材料与方法

1.1 标本来源 收集我院1992~2003年普外科及肿瘤外科手术切除且经病理证实的胆囊癌组织40例。男、女各20例;年龄30~75岁。病理分级按1981年WHO标准:I级9例,II级17例,III级14例。按Nevin临床分期早期癌(Nevin I~II期)7例,中晚期癌(Nevin III~V期)33例。手术中探查及切除标本术后病理切片证实无癌周淋巴结及远处转移者15例,已发生转移者25例。同时选择手术切除慢性胆囊炎21例、胆囊腺瘤9例作为对照。

1.2 方法 应用SP免疫组织化学技术。鼠抗人LN-R单克隆抗体及超敏型SP免疫组化试剂盒,均购自福州迈新生物技术公司。方法按照产品说明书进行,以PBS代替一抗作为阴性对照,由福州迈新公司提供的阳性对照切片作为阳性对照。

1.3 判断标准 胆囊癌组织中67LR表达结果的判定采用双评分半定量法:选择染色良好区域,计数5个高倍视野, $\leq 10\%$ 癌细胞阳性0分, $> 10\% \sim 40\%$ 1分, $> 40\% \sim 70\%$ 2分, $> 70\%$ 3分。显色度计分:细胞无显色0分,浅黄色1分,棕黄色2分,棕褐色3分。将两者相加,0分为-,1~2分为+,3~4分为++,5~6分为+++。

1.4 统计学方法 采用 χ^2 检验和秩和检验。

2 结果

2.1 慢性胆囊炎、胆囊腺瘤及胆囊癌细胞内67LR表达 67LR表达形式为胞膜表面和胞浆两种类型,阳性产物呈散在分布的棕黄色颗粒。慢性胆囊炎67LR阳性表达率为4.76%,均明显低于胆囊癌和胆囊腺瘤($P < 0.01$),而胆囊腺瘤与胆囊癌差异无显著性($P > 0.05$) (见表1),且其阳性物分布也与胆囊癌相似(见图1~3)。值得注意的是,67LR强阳性细胞浆染色往往更多地出现在癌细胞向周围侵袭的前缘部位。

2.2 胆囊癌临床指标与67LR表达的关系 患者年龄、性别及胆囊癌病理分级、临床分期期间67LR表

达阳性率差异均无显著性($P > 0.05$)。但有淋巴结转移的胆囊癌67LR阳性率为72.00%,明显高于胆囊癌无转移的20.00%($P < 0.005$) (见表2)。

表1 良、恶性胆囊组织中67LR表达的结果比较(n)

分组	n	67LR		阳性率 (%)	χ^2	P
		-	+			
慢性胆囊炎	21	20	1	4.76		
胆囊腺瘤	9	5	4	4/9 **	13.68	< 0.005
胆囊癌	40	19	21	52.50 **		
合计	70	44	26	37.14		

χ^2 分割法,与慢性胆囊炎比较 ** $P < 0.01$

表2 胆囊癌临床生物学行为与67LR表达的关系(n)

观察项目	n	67LR表达		阳性率 (%)	χ^2	P
		-	+			
性别						
男	20	11	9	45.00	0.90	> 0.05
女	20	8	12	60.00		
年龄						
> 60 岁	22	11	11	50.00	0.12	> 0.05
< 60 岁	18	8	10	55.55		
病理分级						
I级	9	6	3	3/9		
II级	17	7	10	58.82	1.45 Δ	> 0.05
III级	14	6	8	57.14		
临床分期						
早期	7	6	1	1/7	3.28	> 0.05
中晚期	33	13	20	60.62		
淋巴结转移						
阴性	15	12	3	20.00	10.17	< 0.005
阳性	25	7	18	72.00		

Δ 示Hc值

3 讨论

研究表明,层粘连蛋白受体(LN-R)是细胞表面的跨膜糖蛋白,包括整合素(integrin)和非整合素(non-integrin)两大家族。其中67kDLN-R(67LR)是非整合素家族之一,对LN具有高亲和力,它在调节肿瘤细胞黏附、破坏基底膜的过程中发挥重要作用。近来一些研究结果显示,在人类许多恶性肿瘤如乳腺癌、大肠癌、胃癌、子宫颈及卵巢癌中,67LR无论在蛋白还是核酸水平上均有所增高,并且与部分恶性肿瘤的浸润、转移潜能呈正相关^[2~4]。

本实验结果显示,胆囊癌中67LR阳性表达率为52.50%,慢性胆囊炎组为4.76%,两者差异有显著性($P < 0.01$);并且有转移的胆囊癌组织中67LR

表达水平显著高于胆囊癌无转移,表明 67LR 表达水平增高与胆囊癌的恶性转移潜能密切相关。这对于临床筛选发现高危病例及判断预后有重要意义。

同时本实验还发现 9 例胆囊腺瘤中 67LR 阳性 4 例,与慢性胆囊炎差异有显著性($P < 0.01$),但与胆囊癌差异无显著性($P > 0.05$),并且其阳性表达产物在腺瘤细胞内的表达方式也与胆囊癌相似。本实验结果与 Saleh 等^[5]和 Stallmach 等^[6]在子宫颈癌及结肠癌中的研究结果相似。67LR 在不具有浸润和转移特征的胆囊腺瘤及胆囊癌中表达水平均增高,说明 67LR 可能在促进胆囊腺瘤恶性转化方面起一定作用。因为胆囊腺瘤是公认的癌前病变,而且其可癌变的依据有以下几方面:(1)组织学上存在着腺瘤向腺癌的移行;(2)所有的胆囊原位癌都伴有腺瘤样成分;(3)浸润型腺癌中常有腺瘤的残存组织^[7]。由于本实验只是初步的研究,关于 67LR 在胆囊腺瘤恶性转化中的确切作用,尚需增加病例数,并结合其它生物标志物来进一步探讨。

综上所述,在胆囊肿瘤发生、发展的不同阶段出现 67LR 的高表达,并且其表达水平与胆囊癌局部浸润和转移密切相关,说明 67LR 可能在促进良性肿瘤恶变以及癌细胞获得浸润、转移能力等多方面起作用。这为胆囊癌综合治疗提供了新的思路:如可通过封闭肿瘤细胞表面的 67LR 来抑制 67LR 的表达及其与层粘连蛋白的相互作用,从而抑制肿

瘤的生长和转移。这方面的研究在动物模型和体外实验中已经取得了可喜的进展^[8]。

(本文图 1~3 见封四)

[参 考 文 献]

- [1] Itano N, Yamada Y, Yoshida M, *et al.* Cancer metastasis and extracellular matrix[J]. *Gan To Kagaku Ryoho*, 1999, 26(11): 1 663~1 668.
- [2] Montuori N, Muller F, DeRiu S, *et al.* Laminin receptors in differentiated thyroid tumors: Restricted expression of the 67-kilodalton laminin receptor in follicular carcinoma cells[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 1999, 84(6): 2 086~2 092.
- [3] Ozkai I, Yamamoto K, Mizuta T, *et al.* Differential expression of laminin receptors in human hepatocellular carcinoma[J]. *Gut*, 1998, 43(6): 837~842.
- [4] Zheng S, Ruan YB, Wu ZB, *et al.* The relationship between 67 kD laminin receptor expression and metastasis of hepatocellular carcinoma[J]. *J Tongji Med Univ*, 1997, 17(4): 200~202, 204.
- [5] Saleh W, Delvenne P, Buile FA, *et al.* Expression of the 67 kD laminin receptor in human cervical preneoplastic and neoplastic squamous epithelial lesions: An immunohistochemical study[J]. *J Pathol*, 1997, 181(3): 287~293.
- [6] Stallmach A, Orzechowski HD, Feldmann P, *et al.* 32/67-kD laminin receptor expression in human colonic neoplasia: Elevated transcript levels correlate with the degree of epithelial dysplasia [J]. *Am J Gastroenterol*, 1999, 94(11): 3 341~3 347.
- [7] 黄洁夫主编. 肝胆道肿瘤外科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1999: 739~740.
- [8] Narumi K, Inoue A, Tanaka M, *et al.* Inhibition of experimental metastasis of human fibrosarcoma cells by anti-recombinant 37 kD laminin binding protein antibody[J]. *Jpn J Cancer Res*, 1999, 90(4): 425~431.

医学论文表格制作基本要求

表格是简明的、规范化的科学语言,它易于比较,便于记忆,可使大量的数据或问题系列化,在医学论文中起着较大的作用。一般采用三线表,表内不用纵线和横线,取消端线及斜线。制作表格时需注意(1)结构完整:表格的组成要素包括标(表)题、标目、表体、线条、表注等。表格结构方面存在的问题常为标题不确切、过简或转行时未注意语气的停顿;主谓语标目不准确或主语标目缺如;有的排列混乱等。(2)内容突出:表格的排列应简单明了、内容突出。根据对主语标志处理的不同,可分为简单表和复合表。复合表应用最为广泛,但其自身对照表较难理解和编制。来稿中常见的问题是重点不突出、自明性差、重复或资料不全,令人费解。(3)逻辑排列:统计表中的主语一般指被说明的事物,有时也可以是体现主语的时序。谓语一般指用以说明主语的指标,多为数字以及体现谓语的成分。通常主谓语标目合起来可以构成一句完整的话。(4)对比鲜明:作为分析用的表格,最主要的作用就是进行比较。为更好地达到此目的,应将对比事项组别、指标进行必要的准确的归类,按比较的需要靠近排列。(5)表达准确:比如和率的运用,最常见的问题是不加区分,简单的以“%”代标目或将比误为率。而有的表格虽列出了百分比或百分率的数值,但标题、表头、表体内均未列出总例数,给读者比较分析带来困难。

卵巢肿瘤 MMP-2、MMP-9 及 TIMP-2 和细菌 L 型检测的意义(正文见 198 页)

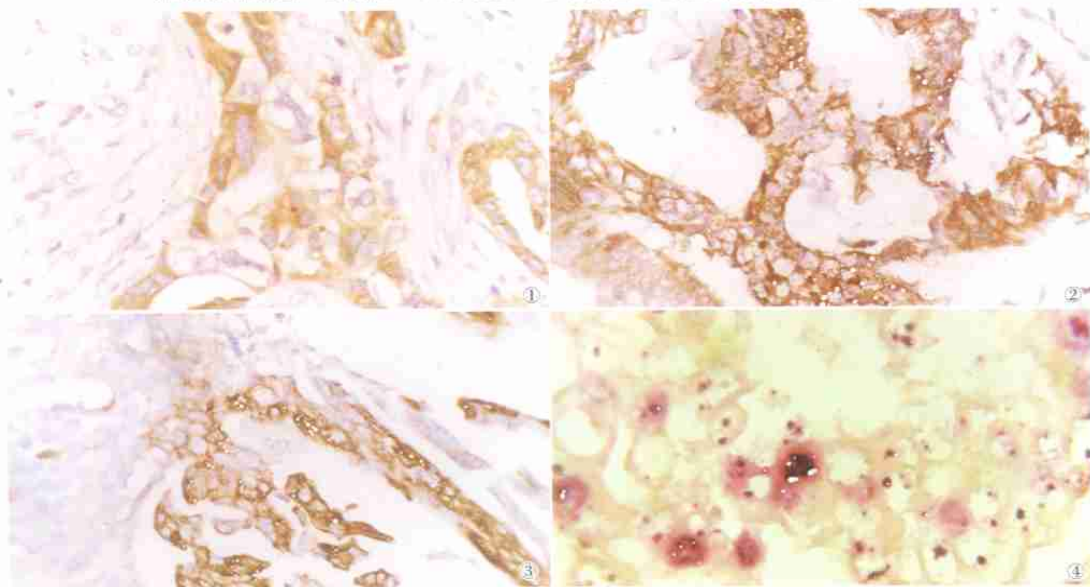


图 1-3 MMP-2、MMP-9 及 TIMP-2 在卵巢浆液性乳头状囊腺癌中的阳性表达(S-P 法 ×400) 图 4 细菌 L 型主要分布于卵巢浆液性乳头状囊腺癌细胞质或间质内

67kDa 层粘连蛋白受体在胆囊癌中的表达及意义(正文见 203 页)



图 1 胆囊腺癌 II 级,67LR 胞质阳性 ×100 图 2 胆囊腺癌,67LR 胞质阳性 ×100 图 3 慢性胆囊炎,67LR 染色阴性 ×100

蚌埠医学院学报

双月刊(1976 年 3 月创刊)
2005 年 第 30 卷 第 3 期(总第 135 期)
2005 年 5 月 15 日出版

Journal of Bengbu Medical College

Bimonthly(Founded in March 1976)
2005, Vol. 30, No. 3(Sum 135)
May 15, 2005

主管单位:安徽省教育厅
主办单位:蚌埠医学院
主 编:祝 延
编辑出版:蚌埠医学院学报编辑部
(安徽省蚌埠市治淮路 801 号 233003)
电话:(0552)3066412-2061

电子信箱:bang@chinajournal.net.cn
印 刷:蚌埠市光大彩色制印有限公司
国内订阅:全国各地邮政局
国内总发行:蚌埠市邮政局
国外总发行:中国国际图书贸易总公司
(北京 399 信箱)

Responsible Institution The Education Department of Anhui Province

Sponsored by Bengbu Medical College

Editor in Chief ZHU Yan

Edited and Published by The Editorial Board of Journal of Bengbu Medical College (801 Zhihuai Road, Bengbu, Anhui 233003, China) Tel: (0552)3066412-2061

E-mail bang@chinajournal.net.cn

Printed by Bengbu Guangda Color Printing Co. Ltd

Domestic Subscription Local Post Offices

Domestic Distribution Bengbu Post Office

Foreign Distribution China International Book Trading Corporation
(P. O. Box 399, Beijing, China)