

喉癌转移相关分子生物学指标研究进展

胡静波

(黑龙江省鸡西矿业集团总医院耳鼻喉科 158100)

喉癌是头颈部的最常见的恶性肿瘤,肿瘤浸润和转移是造成喉癌病人5年内死亡的主要原因之一^[1],转移的确切机制目前尚不十分明确。近年来,对于喉癌转移相关分子指标的研究取得了一定的进展,这对于人们探索喉癌新的治疗手段指明了方向。

1 血管内皮生长因子

肿瘤内血管生成是肿瘤生长、浸润、转移的必备条件。一般来说,血管化往往是肿瘤向恶性阶段演进的关键时期。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是目前作用最强的血管形成调控因子,VEGF是一种内皮特异性致分裂原和体内血管生成的诱导因子。VEGF是一种由二硫键连接的同源二聚体糖蛋白。VEGF高亲和力受体FLK-1/KDR具有酪氨酸激酶活性,是血管生成的一个重要调节者,阻断它的活性就可以抑制肿瘤血管生长。

在喉癌的研究中,Sawatsubashi等^[2]利用免疫组化法对54例喉癌标本中VEGF及微血管密度(MVD)进行检测,发现在有淋巴结转移喉癌标本中VEGF阳性表达率及MVD明显高于非转移组,VEGF阳性表达者易于发生淋巴结转移。Lukits等^[3]的研究表明:在喉鳞状细胞癌中,肿瘤侵犯范围越广,VEGF的表达越强;肿瘤分化越差,VEGF的表达越强;VEGF的表达越强,微血管计数MVD越多,二者呈明显的正相关。Teknos等^[4]利用酶联免疫吸附试验(ELISA)测定183例患者的血清型VEGF(S-VEGF)浓度,结果显示喉癌患者血清中S-VEGF显著升高。具有更强的浸润特性。多变量分析得出S-VEGF升高与晚期患者的低生存率密切相关。认为预先测定晚期患者S-VEGF的水平可作为判断肿瘤侵袭能力和患者预后的独立指标。综合以上,可以认为VEGF在肿瘤组织中的表达水平与喉癌的恶性度、转移及预后关系密切。

2 基质金属蛋白酶

在肿瘤的侵袭转移过程中,肿瘤细胞对细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的降解是肿瘤侵袭转移的关键步骤之一。胶原是ECM主要成分,其中I、II、III型胶原是结缔组织中的主要成分,而IV型胶原主要存在于基底膜(basement membrane, BM),是BM的主要支架,对维持BM结构的完整起十分重要的作用。与肿瘤细胞降解ECM有关的蛋白水解酶可分为四大类,其中对金属蛋白酶和丝氨酸蛋白酶研究得比较深入。

基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)也称为基质素,此家族是一组Zn²⁺依赖性内肽酶。其中IV型胶原酶是MMPs家族中主要成员之一,它分为两个亚型,即MMP-2(明胶酶A)和MMP-9(明胶酶B)。基质金属蛋白酶及其抑制剂

在大多数头颈鳞癌中均有表达,但表达水平不一,其中MMP-2、MMP-9为最有意义的肿瘤标志物。Danilewicz等^[5]30例喉癌切片标本进行免疫组化检测分析发现:伴有区域淋巴结转移喉癌标本MMP-2表达水平明显高于不伴有区域淋巴结转移的喉癌标本。伴有MMP-2高表达的喉癌患者其存活率明显低于MMP-2低表达者。Bogusiewicz等^[6]的研究显示在喉癌组织中MMP-2、MMP-9都有高表达,而且通过酶谱分析法检测MMP-2活性发现,较之N0和N1患者,N2肿瘤表现出更强的MMP-2活性,从而认为MMP-2在肿瘤细胞转移中起重要作用。而Du等^[7]在中晚期喉癌的研究中,发现膜结合型基质金属蛋白酶(MT-MMP)与喉肿瘤浸润和转移有密切关系,肿瘤的期别越晚,MT-MMP表达越多;有淋巴结转移者其表达水平比无淋巴结转移者明显增高。同时,前几年的部分研究也发现MMP-2和MMP-9在喉癌中部分表达,却与喉癌的分期及肿瘤的分化无关,不能作为喉癌预后判断的指标。然而,目前绝大多数的喉癌标本实验和临床随访观察结果提示,虽然MMP-2、MMP-9表达水平与喉癌病理分级无关,但其作用更多的表现在对喉癌预后的影响,因而认为MMPs可以作为喉癌侵袭转移能力和预后判断的重要指标。

3 尿激酶型纤溶酶原激活物

血浆纤维蛋白溶酶原激活物(Plasminogen activator, PA)是一种分子量为5200 bp的丝氨酸蛋白酶。PA有尿激酶型(uPA)和组织型(tPA)两种形式,其中uPA主要在组织重塑过程中起作用,目前被认为与多数肿瘤侵袭和转移相关。肿瘤细胞分泌的无活性尿激酶原(pro-uPA)与肿瘤细胞表面特异性尿激酶受体(uPA-R)结合并激活成有活性的uPA。而uPA-R可将uPA限制、固定在肿瘤细胞表面,通过相互作用,不断地改变细胞表面的蛋白水解活性区域,为肿瘤细胞浸润转移提供最佳环境。在PAI-1存在时uPA由于形成uPA-PAI-1复合物而丧失活性。

自1976年首先发现肿瘤细胞能产生uPA以来,人们对uPA在肿瘤转移中作用的研究主要在肺癌、胃癌、肝癌、乳腺癌上,对喉癌的研究较少。赵恩民等^[8]利用免疫组化链霉卵白素生物素过氧化酶法(SAB)对104例喉鳞状细胞癌标本uPA的表达情况进行测定,结合临床随访,统计分析显示,uPA、PAI-1表达于喉癌的实质细胞及部分肿瘤间质中的巨噬细胞和成纤维细胞(表达率依次为66.3%、70.2%),而正常喉黏膜无表达,uPA、PAI-1抗原水平在喉癌中表达增高;有淋巴结转移的喉癌标本其uPA抗原表达明显高于非淋巴结转移者!伴有uPA阳性的淋巴结转移及复发患者预后不佳。这些结果同Strojan等^[9]的研究结论基本相符。Leto等^[10]的研究表明uPA蛋白在喉癌的实质细胞的表达(1.8ng/mg)明显高于正常对照组织(0.3ng/mg),而且在临床晚期患者和侵袭力强的病例中uPA的浓度、肿瘤与正常组织中uPA比值(T/M)均显著升高。

(收稿日期:2006-03-17 接受日期:2006-04-20)

并且他们的研究均显示 uPA 为影响肿瘤预后的一独立检测指标,与其它临床病理参数无关,而与肿瘤细胞的侵袭转移及复发有关,提示肿瘤细胞分泌 uPA 的能力取决于肿瘤细胞本身的生物学特性,因而认为 uPA 在喉癌中可能会成为新的生物学预后指标。

4 nm23

人的 nm23 是一种肿瘤转移抑制基因。目前发现 nm23-H1 的 mRNA 水平与癌细胞的转移较为密切。Nm23 编码的产物为一种二磷酸核苷激酶(NDPK)。nm23-H1 与抑制肿瘤转移相关,其作用可能通过两种途径参与细胞调节:影响微管的聚合、解聚及影响 G 蛋白的信号传递而发挥负调节作用,进而参与肿瘤的发生和发展。梁传余等^[11]通过免疫组化方法对 86 例喉癌手术标本 nm23-H1 蛋白在喉癌中的表达的测定显示, nm23-H1 蛋白在喉癌中具有较高的阳性表达率(66.3%),不伴区域淋巴结转移者 nm23-H1 蛋白表达水平(90.5%)明显高于伴有区域淋巴结转移者(43.2%)。其表达水平与淋巴结转移呈负相关。在组织学分级方面,癌组织分化程度越高, nm23-H1 蛋白表达阳性率越高,转移率越低;反之,其表达水平越低,转移率越高。表明 nm23-H1 蛋白表达与喉癌组织学分级呈正相关。Sikorska 等^[12]的研究也发现不伴淋巴结转移者 nm23-H1 蛋白表达水平明显高于伴有淋巴结转移者, nm23-H1 蛋白表达低水平者的存活率更低。

5 E-钙黏素

肿瘤的形成与细胞间粘附减少有关。其中肿瘤细胞侵袭转移相关的有整合素(integrin)、钙黏素(cadherin)、免疫球蛋白超家族、选择素(selectin)等,近些年对钙黏素的研究最深入。

钙黏素(E-cadherin, E-cad)是一类钙依赖性跨膜蛋白,主要介导同种细胞间粘附反应,E-cad 分子一般可分成三段,其中胞浆区结构对于钙黏素的细胞黏附分子的作用十分重要。E-cad 通过相关蛋白连接素(catenins)在胞浆区与细胞骨架的微丝系统相连。E-cad 分布于同种上皮细胞侧面的中间连接处,起到细胞粘附的拉链作用,E-cad/catenins 复合体通过 a-catenin 与胞浆肌动蛋白微丝支架连接,形成稳固的细胞间粘附作用,使肿瘤细胞间保持密切接触,难以脱离原发瘤而进入周围组织和血管,从而抑制肿瘤细胞的侵袭转移。最近的研究还发现 β -catenin 是 Wnt 信号通路下游的一个关键信使,E-cad 通过其过度表达和转录因子 LEF/TCF 竞争与 β -catenin 结合,减少 β -catenin 转录活性,而抑制肿瘤细胞增生^[13]。

目前对 E-cad 与喉鳞癌肿瘤细胞侵袭转移相关性的研究表明,E-cad 的表达与临床分期、病理分级相关:^[14,15] E-cad 表达的减少往往在那些具有侵袭特性的肿瘤细胞中发现,在浸润性生长的肿瘤中发现,E-cad 表达减少的频率比在呈膨胀性生长的肿瘤中要高得多,随着肿瘤的进展,E-cad 的阳性表达率逐步下降,晚期与早期肿瘤的 E-cad 表达差异有显著性意义。Rodrigo 等^[16]通过对 101 例早期喉鳞癌标本的免疫组织病理学检测显示,有远处淋巴结转移的肿瘤中,出现 E-

cad 表达减少的频率很高,即 E-cad 表达的减少或缺失可能促使肿瘤细胞的淋巴结转移,并认为 E-cad 的表达水平可作为一种独立的预示标志,提示对临床检查淋巴结转移阴性的患者进行更有效的治疗,以减少癌症复发。但是就 E-cad 和淋巴结转移的相关程度仍存在着争议,Takes 等^[17]认为 E-cad 的表达与喉癌淋巴结转移无明显相关,E-cad 只能提供有限的信息,并不能作为临床决策的指导工具。Andrews 等^[18]的研究也表明 E-cad 与淋巴结转移无关,认为 E-cad/catenins 复合体的表达减少只是提供了肿瘤转移的有利条件,是否发生转移还取决于其它因素。因此目前认为 E-cad 是否为判断喉癌淋巴结转移的更优指标和 E-cad 对喉癌预后的预示价值还没有统一的认识,还有待更多实验来评定。

6 小结

目前,在喉癌侵袭转移相关性的研究中已经发现一些有预示意义的分子指标。但存在阳性率低、特异性不高、临床指导意义不够确切等特点。而一些新发现的基因和蛋白酶类,只有零星的实验报道认为与喉癌细胞的侵袭转移相关,还处于论证的初始阶段。因而有必要通过更多的对照实验、改进检测手段、并且结合临床随访观察,来寻找一种有较高准确度的分子指标,以辅助对喉癌浸润程度、颈淋巴结转移能力进行评价,进而为临床手术方式的制定提供更有效的信息,以便最大程度地提高患者的术后生存质量,减少肿瘤复发,延长生存时间。

参考文献

- [1] 季文越,杜强,关超,等. 1115 例喉癌患者的生存分析[J]. 中华耳鼻咽喉科杂志, 2004, 39: 17- 19
- [2] Sawatsubashi M, Yamada T, Fukushima N, et al. Association of vascular endothelial growth factor and mast cells with angiogenesis in laryngeal squamous cell carcinoma[J]. Virchows Arch, 2000, 436: 243- 24R
- [3] Lukits J, Tinar J, Juhasz A, et al. Progression difference between cancers of the larynx and hypopharynx is not due to tumor size and vascularization [J]. Otolaryngol Head Neck Surg, 2001, 125: 1R- 22
- [4] Teknos TN, Cox C, Yoo S, et al. Elevated serum vascular endothelial growth factor and decreased survival in advanced laryngeal carcinoma[J]. Head Neck, 2002, 24: 1004- 1011
- [5] Danilewicz M, Sikorska B, Wagrowska- Danilewicz significance of the immunopression of matrix metalloproteinase MMP2 and its inhibitor TIMP2 in laryngeal cancer[J]. Med Sci Monit, 2003, 9: 42- 47
- [6] Bogusiewicz M, Stryjecka- Zimna M, Szymanski M, et al. Activity of matrix metalloproteinases- 2 and- 9 in advanced laryngeal cancer [J]. Otolaryngol Head Neck Surg, 2003, 128: 132- 136
- [7] Du B, Wang P, Guo X, et al. Expression of membrane type 1- matrix metalloproteinase in laryngeal carcinoma [J]. Pathol Oncol Res 1999, 5: 214- 217
- [8] 赵恩民,韩德民,于振坤,等. 尿激酶型纤溶酶原激活剂系统在喉癌中的表达及意义[J]. 中华耳鼻咽喉科杂志, 2003, 38: 39- 42
- [9] Strojani P, Budihna M, Smid L, et al. Urokinase- type plasminogen activator (uPA) and plasminogen activator inhibitor type 1 (PAI- 1) in tissue and serum of head and neck squamous cell carcinoma patients [J]. Eur J Cancer, 1998, 34: 1193- 1197

(下转第 85 页)

反射性地引起排便。

3.1.3 运动指导: 适量的全身运动以增加肠蠕动, 鼓励病人参加力所能及的体力活动。如散步、做体操、打太极拳等。腹部按摩, 仰卧姿势在床上, 将右手掌根部, 紧帖腹壁, 可用左手压在右手背上共同用力, 从右下腹开始向上、向左, 再向下顺时针方向按摩, 每天 2~3 次, 每次 10~20 回, 甚有效果。每晚做提肛动作 10 次~20 次^[2], 提高肛门括约肌的收缩力。不能活动的老年人应定时被动活动^[3]。

3.1.4 排便指导: 首先养成每天早晨起床后或自己认为合适的时间排便的习惯。其次排便时把注意力集中到排便上, 不可分散精力。最后不要人为地控制排便感, 对有功能性便秘的老年人来说, 不可轻易地放过任何一次便意, 如果出现, 应立即排便。为卧床、活动不便老年功能性便秘病人提供排便环境, 如果病情允许可以抬高床头, 协助病人坐在便盆上排便; 排便时嘱病人勿用力过猛, 可在排用力时呼气预防生命体征发生变化; 对不习惯在床上排便的老年人, 应向其解释需要床上排便的理由并给予屏风遮挡, 避免打扰排便。

3.2 药物护理

容积性通便药, 属天然纤维素药物, 无全身作用, 可长期使用, 尤适应老年人低纤维膳食, 成人 3.5g~6g, 三次/日。服用时注意多饮水, 但价格较贵, 单独应用疗效不理想。

渗透性泻药(乳果糖), 商业名杜秘克, 在结肠中被肠道菌群丛转化成有机酸, 导致肠道内 PH 值下降, 并通过保留水分, 增加粪便体积, 刺激肠蠕动, 恢复结肠的生理节律。起始剂量每日 30ml, 维持剂量每日 10~25ml, 宜在早餐时一次服用, 一般两天可取得效果。初期可能有腹胀, 通常继续治疗即可消失。不宜长期大剂量使用。本组 80 例使用杜秘克, 72 例有效, 占 90%。

刺激性泻药蒽醌类泻药(番泻叶、果导、蓖麻油等)起效迅速, 药效较强。易诱发水泻及腹痛, 难以把握合适的剂量。长期

应用会诱发泻剂结肠及结肠黑变病^[4]。本组 8 例使用, 主要用在肠镜前肠道准备。应避免长期使用或滥用。

5-HT 受体激动剂(西沙必利)为新型全胃肠道促动力药。通过刺激胃肠道肌间神经丛上的 5-HT 受体, 增加肌间神经丛节后末梢释放乙酰胆碱, 而产生全胃肠道促动力作用^[5]。西沙必利还具有增强肛管括约肌的正性促动力效应和促使肛管自发性松弛的作用, 缩短粪便在结直肠停留时间。适用于慢传输型便秘, 10mg 二次/日, 早餐前及睡前服用。注意观察有无腹部痉挛、腹鸣、腹泻等不良反应。西沙必利通过阻滞特殊的电压依赖性钾离子通道动作电位时间, 延长心肌细胞的去极化, 导致 QT 间期延长。因此, 西沙必利不能与可引起 QT 间期延长或心律失常的药物一起使用。如: 胺碘酮、阿托品、氨茶碱等^[6]。

3.3 开塞露或生理盐水灌肠

当以上方法使用无效时, 可选用开塞露或生理盐水灌肠, 但由于灌肠会导致肠黏膜应激能力下降, 加重便秘, 因此不宜经常使用。

参考文献

- [1] 郭晓峰, 柯美云. 北京地区成人慢性便秘整群、分层、随机流行病学调查及其相关因素分析[J]. 中国消化杂志, 2002, 22(10): 637-638
- [2] 毛丽娟, 戴宝珍. 实用老年护理学[M]. 上海: 上海医科大学出版社, 1999: 109
- [3] 黄桂琴. 浅谈人性化护理服务. 生物磁学, 2005, 5(4): 83-84
- [4] 中华医学会消化病学分会. 慢性便秘的诊治指南[J]. 中华消化杂志, 2004, 1(24): 39
- [5] 刘国卓. 普瑞博思治疗腹胀便秘 50 例分析[J]. 临床消化病杂志, 2001, 13(4): 155
- [6] 侯晓华. 促肠动力剂和普卡必利[J]. 中华内科杂志, 2000, 12: 860-862

(上接第 76 页)

- [10] Lito G, Tumminello FM, Gehhian N, et al. Differential expression levels of urokinase-type plasminogen activator and cathepsin D in locally advanced laryngeal squamous cell carcinoma: clinical implications[J]. Int. J Biol Markers, 2001, 16: 245-249
- [11] 梁传余, 徐刚. nm23H1 蛋白在喉癌中的表达及临床意义[J]. 华西医科大学学报, 1999, 30: 391-393
- [12] Sikorska B, Danilewicz M, Wagrowska-Danilewicz M. Prognostic significance of CD44v6 and nm23 protein immunorexpression in laryngeal squamous cell carcinoma[J]. Pol J Pathol, 2002, 53: 17-24
- [13] Stockinger A, Eger A, Wolf J, et al. E-Cadherin regulates cell growth by modulating proliferation-dependent-Catenin transcriptional activity[J]. J Cell Biol, 2001, 54: 1185-1196
- [14] 李殷, 杨成章. Syndecan-1 和 E-cadherin 在声门上型喉鳞状细胞癌中的表达及意义[J]. 临床耳鼻咽喉科杂志, 2003, 17: 736-738
- [15] Eemandez Caspar H, de los Toyos JR, Alvarez Marcos C, et al. Quan-

- titative immunohistochemical analyses of the expression of E-cadherin, thrombomodulin, CD44H and CD44v6 in primary tumours of pharynx/larynx squamous cell carcinoma and their lymph node metastases[J]. Anal Cell Pathol, 1999, 18: 183-190
- [16] Rodrigo JP, Dominguez F, Alvarez C, et al. Expression of E-cadherin in squamous cell carcinomas of the supraglottic larynx with correlations to clinicopathological features[J]. Eur. J. Cancer, 2002, 38: 1059-1064
- [17] Takes RP, Baatenburg de tong RJ, Wijffels K, et al. Markers for nodal metastasis in head and neck squamous cell cancer[J]. Arch Otolaryngol Head Neck Surg, 2002, 128: 512-518
- [18] Andrews NA, tones AS, Holliwell TR, et al. Expression of the E-cadherin-acatenin cell adhesion complex in primary squamous cell carcinomas of the head and neck and their nodal metastases[J]. Br. J. Cancer, 1997, 75: 1474-1480