DOI: 10.16016/j.1000-5404.1997.02.011

不同转移特性人肺癌裸鼠移植瘤及临床标本Ⅳ型胶原酶的表达*

魏 泓 周建华 吴丰春 牛 荣 史景泉** 陈意生** (第三军医大学基础部实验动物学教研室) 重庆, 630038

提 要 目的: 观察人肺癌移植瘤及临床标本中Ⅳ型胶原酶表达与其转移的相关性。方法: 以 ABC免疫组化染色对四株不同转移特性人肺癌裸鼠移植瘤及 87例有或无淋巴结转移的人肺癌临床标本进行Ⅳ型胶原酶表达的观察。四株移植瘤的淋巴结及肺转移率由低到高依次为 PLA-801C、Anip973、PLA-801D、PLA-801DL。结果: Anip973、PLA-801D、PLA-801DL裸鼠移植瘤呈阳性反应,而 PLA-801C则呈阴性反应;人肺癌临床标本阳性率 87.3%,有淋巴结转移的肺癌阳性率 95.3%,无淋巴结转移的肺癌阳性率 75.5%,其差异显著。结论: Ⅳ型胶原酶的表达与肺癌转移力呈明显正相关。

关键词 胶原酶;肺肿瘤;肿瘤转移;裸鼠
中图法分类号 R734.2

肿瘤细胞侵袭转移能力与其产生或诱导产生降解细胞外基质或基膜蛋白酶的能力密切相关,这些蛋白酶可分成四大类: 金属蛋白酶、丝氨酸蛋白酶、弹力蛋白酶、胱氨酸蛋白酶,而金属蛋白酶又包括间质胶原酶(Ⅰ型胶原酶)、Ⅳ型胶原酶(明胶酶)、基质胶原酶(Stromelysin) 3类。基膜是阻止肿瘤转移的主要屏障,Ⅳ型胶原是基膜的主要成份之一,能被Ⅳ型胶原酶降解。多种肿瘤细胞以及内皮细胞、纤维母细胞、巨噬细胞、多形核白细胞、角细胞等多种正常细胞均能分泌Ⅳ型胶原酶。为评价Ⅳ型胶原酶在肺癌转移中的蛋白水解作用和相对地位及其与肺癌转移的关系,本课题对四株不同转移特性人肺癌裸鼠移植瘤及 87例有或无淋巴结转移临床标本进行Ⅳ型胶原酶免疫组化染色观察。

1 材料与方法

1.1 瘤源

采用 4株人肺癌裸鼠皮下移植瘤: PLA-801C第 6代、第 7代及 PLA-801D第 17~19代裸鼠皮下移植瘤(系作者以解放军总医院病理科提供的人肺巨细胞癌细胞系 PLA-801的两个细胞克隆 C株及 D株进行裸鼠皮下连续传代而建立); PLA-801DL第 15代裸鼠皮下移植瘤,(系作者以 PLA-801D裸鼠腹水瘤的肺转移灶细胞再进行裸鼠皮下连续传代而建立); Anip973裸鼠皮下移植瘤(系以哈尔滨医科大学病理学教研室提供的相应人肺腺癌裸鼠移植瘤培养细胞在裸鼠皮下移植而复制,已由作者连续传代 19代)。4株裸鼠移植瘤生物学特性稳定,移植后 4周的淋巴结及肺转移率由低到高依次为 PLA-801C(0%, 0%)、Anip973(8.6%, 4.3%)、PLA-801D(100%, 31.6%)、PLA-801DL(100%, 52.6%),括号内分别为淋巴结及肺转移率[1~4]。

1.2 临床标本

共 87例,伴有淋巴结转移的肺癌 43例(其中 32例同时具有原发癌及淋巴结转移癌),无淋巴结转移的肺癌 44例。87例中鳞癌 42例、腺癌 45例,分别取自本校西南医院病理科手术切除标本(28例)、本校病理学教研室尸检标本(7例)、成都军区昆明总医院病理科手术切除标本(52例)。

1.3 染色及观察

采取标本后,均经 10%福尔马林固定、石蜡包埋、常规制备 5μm切片。兔抗Ⅳ型胶原酶多克隆抗体由 William G Stetler-Stevenson博士(美国 NIH)赠惠,以 1∶200稀释,采用 ABC免疫组化法进行染色,其方法按试剂盒(Vectastain ABC kit, Rabbit IgG, PK4001)说明进行。免疫组化结果判定标准参照文献[5]进行。阳性反应定位于细胞浆。阴性(-): 所有肿瘤细胞无显色(-);弱阳性: 部分肿瘤细胞(<60%)显色;强阳性(++): 绝大部分肿瘤细胞(>61%)显色。阴性对照采用正常兔血清代替一抗。

2 结果

2.1 人肺癌裸鼠移植瘤Ⅳ型胶原酶染色

Anip973、PLA-801D、PLA-801DL裸鼠移植瘤呈阳性反应,其间无明显差异,阳性反应集中于胞浆,PLA-801C则呈阴性反应,见图 1-2。

2.2 人肺癌临床标本Ⅳ型胶原酶染色

人肺癌临床标本Ⅳ型胶原酶阳性率为 87.4%(76/87),且多数为强阳性反应(++),其中鳞癌 85.7%(36/42),腺癌 88.9%

* 重庆市中青年科技专家基金资助项目
** 基础部病理生理学教研室 重庆, 630038
?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

(40/45),鳞癌与腺癌之间的阳性率差异不显著($P > 0.05$);有淋巴结转移的肺癌其阳性率为 95.3% (41/43),无淋巴结转移的肺癌其阳性率为 79.5% (35/44),其差异显著($P < 0.01$);淋巴结转移癌的阳性率为 96.9% (31/32),其原发癌的阳性率 93.8% (30/32),差异不显著($P > 0.05$),但少数淋巴结转移癌的阳性反应强于原发癌。见图 3 4.

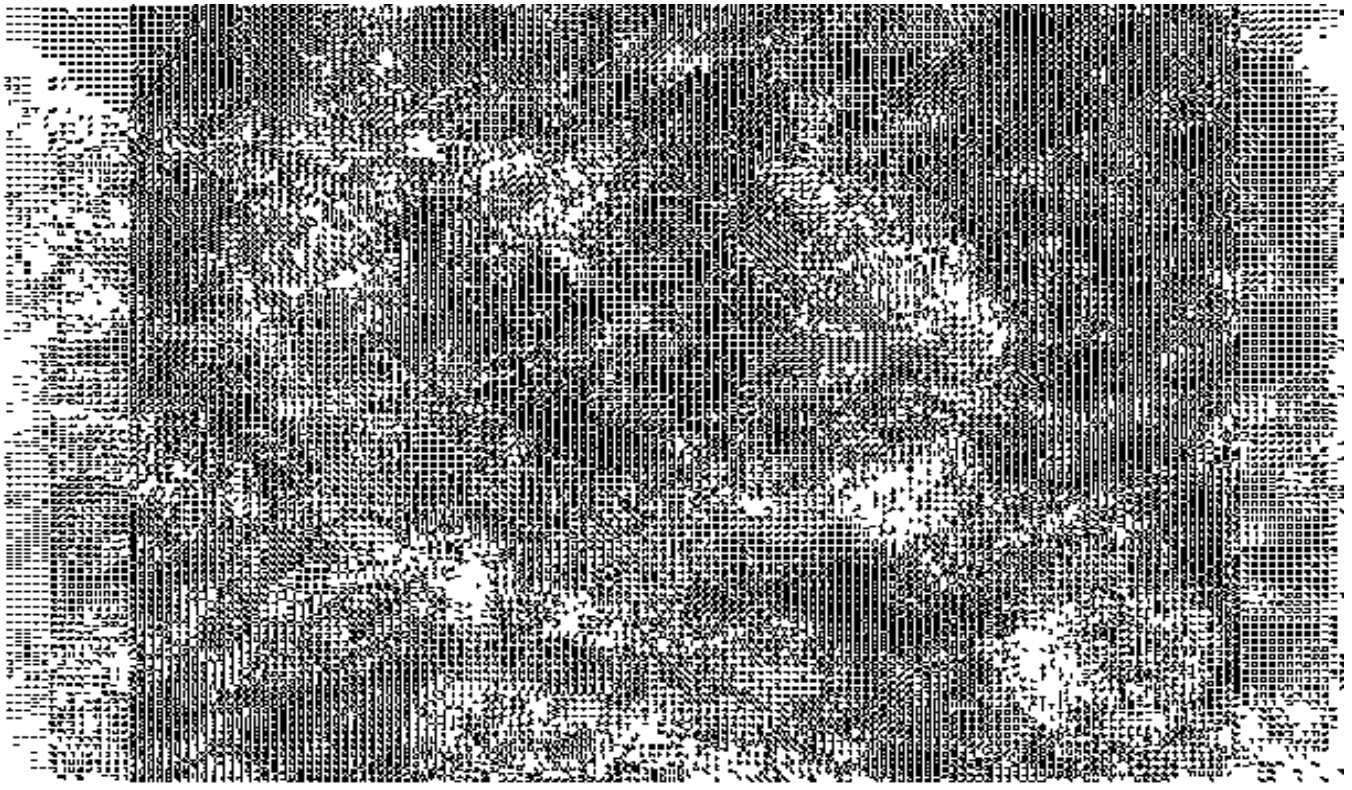


图 1　PLA-801C裸鼠皮下瘤Ⅳ型胶原酶免疫组化染色,示瘤细胞胞浆阴性　(ABC× 100)

Fig 1　Immunohistochemical staining of type Ⅳ collagenase in PLA-801C growing sc in nude mice, showing the cytoplasmic negativity　(ABC× 100)

图 2　PLA-801D裸鼠皮下瘤Ⅳ型胶原酶免疫组化染色,示瘤细胞胞浆阳性　(ABC× 200)

Fig 2　Immunohistochemical staining of type Ⅳ collagenase in PLA-801D growing sc in nude mice, showing the cytoplasmic positivity　(ABC× 200)

图 3　肺腺癌Ⅳ型胶原酶免疫组化染色,示瘤细胞胞浆阳性　(ABC× 100)

Fig 3　Immunohistochemical staining of type Ⅳ collagenase in lung adenocarcinoma, showing the cytoplasmic positivity.　(ABC× 100)

图 4　肺鳞癌Ⅳ型原酶免疫组化染色,示瘤细胞胞浆阳性　(ABC× 100)

Fig 4　Immunohistochemical staining of type Ⅳ collagenase in lung sqamous cell carcinoma, showing the cytoplasmic positvity　(ABC× 100)

3　讨论

人肺癌裸鼠移植瘤及临床标本的Ⅳ型胶原酶免疫组化染色结果均表明Ⅳ型胶原酶的表达与肺癌转移能力呈明显正相关,提示Ⅳ型胶原酶对基膜的蛋白水解作用在肺癌的侵袭及转移过程中发挥重要作用。无淋巴结转移的人肺癌临床标本仍呈较高的Ⅳ型胶原酶表达(阳性率为 79.5%),而低转移的 PLA-801C裸鼠移植瘤则呈明确的阴性,这一方面提示恶性肿瘤肺瘤呈Ⅳ型胶原酶的高表达,这与文献[5~8]提出的Ⅳ型胶原酶表达增加是肿瘤恶性转化标本的观点相等,另一方面则说明由于临床标本取材时期所限,难以肯定其

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

转移力高低,取材时未发现淋巴结转移未必能肯定其病程中不出现淋巴结转移,这就与低转移人肺癌裸鼠移植瘤 PLA-801C在普通裸鼠体内终生不见转移明显不同,表明了在研究某种因素与肿瘤转移相关性时临床标本的局限性以及裸鼠移植瘤的优点。

参考文献

1 魏 泓,史景泉,陈意生.人肺癌转移动物模型建立及其生物学特性的研究.第三军医大学学报,1996;18(4):355

2 魏 泓,牛 荣,吴丰春等.不同转移特性人肺癌裸鼠移植瘤模型的建立及复制.第三军医大学学报,1996;18(6):484~488

3 魏 泓.人类肿瘤免疫缺隐动物体内转移模型研究进展.中国实验动物学报,1994;2(2):121

4 魏 泓.人体肿瘤免疫缺隐动物体内移植模型.见:张胜本,张连阳主编.肿瘤化学治疗敏感性与抗药性.成都:四川科学技术出版社,1995:18~42

5 Monteagudo C, Merino M J, San-Juan J *et al*. Imunohistochemical distrbution of type Ⅳ collagenase in normal, benign, and maglignant breast tissue. American Journal of Pathology, 1990; 136(3): 585

6 Murphy, G, Reynolds J J, Hembry R M. Metalloproteinases and cancer invasion and metastasis. Int J Cancer, 1989; 44: 757

7 Montgomery A M P, Clerck Y A D, Langley K E *et al*. Melanoma-mediated dissolution of extracellular matrix: Contribution of urokinase-dependent and metalloproteinases-dependent proteolytic pathways. Cancer Research, 1993; 53: 693

8 Ura H, Bonfil D B, Reich R *et al*. Experssion of type Ⅳ collagenase and procollagen genes and its correlation with the tumorigenic, invasive, and metastatic abilities of oncogene transformed human bronchial epithelial cells. Cancer Research, 1989; 49: 4615

(收稿: 1996-09-02;修回: 1997-01-02)

(编辑 冷怀明)

Expression of type Ⅳ collagenase in surgical specimens and four strains of xenograft of human lung carcinoma with various metastatic potential in nude mice*

Wei Hong, Zhou Jianhua, Wu Fenchun, Niu Rong, Shi Jingquan**, Chen Yisheng** (Department of Laboratory Animal Science, Third Military Medical University, Chongqing, 630038)

Abstract **Objective**: To investigate the relationship between the expression of type Ⅳ collagenase in surgical specimens and xenografts of human lung carcinoma in nude mice and metastasis. **Methods**: The expression of type IV collagenase was observed with ABC immunohistochemical staining in four strains of xenograft of human lung carcinoma with metastatic rates to lymph nodes and lungs being in order from low to high among PLA-801C, Anip973, PLA-801D and PLA-801DL in nude mice and 87 surgical specimens with or without lymphatic metastasis. **Results**: The xonografts of Anip973, PLA-801D and PLA-801DL were positive but that of PLA-801C was negative to type Ⅳ collagenase. The positive rate of the 87 surgical specimens was 87.3%. Of the specimens, the positive staining rate of those with lymphatic metastasis was 95.3% while that of those without was 75.5% respectively. **Conclusion**: The expression of type Ⅳ collagenase is positively correlated to the metastatic capacity of lung carcinoma.

Key words collagenase; human lung carcinoma; metastasis; nude mouse.

* Supported by Chongqing Young Scientists Foundation

** Department of Pathology

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net