DOI: 10.16016/j.1000-5404.1997.04.013

胆管癌组织Ⅳ型胶原酶的表达及其在癌浸润和转移中的意义*

王曙光** 彭志明 韩本立 (第三军医大学附属西南医院肝胆外科中心) 重庆,630038

提 要 目的: 探讨Ⅳ型胶原酶在胆管癌浸润和转移中的意义,以期了解胆管癌浸润和转移机理。方法: 用免疫组化方法和图像分析系统观察胆管癌原发灶和转移灶标本切片癌细胞Ⅳ型胶原酶的表达。结果: Ⅳ型胶原酶免疫反应物呈棕色,弥漫性地分布于细胞浆内。正常胆管及胆囊腺瘤均无阳性反应物存在。无转移的原发灶切片癌细胞呈弱阳性染色反应,合并转移的原发灶切片和转移灶切片呈强阳性染色。转移灶及合并转移的原发灶切片免疫反应物平均光密度显著大于无转移的原发灶切片。结论: Ⅳ型胶原酶是胆管癌浸润和转移过程中参与降解细胞外基质的重要蛋白酶之一,提示未来在抗转移治疗中通过抑制Ⅳ型胶原酶及其它水解酶的活性,有可能获得显著的进展。

关键词 胶原酶;胆管肿瘤;肿瘤转移
中图法分类号 R735.8

基底膜成份不同程度的丢失是浸润性恶性肿瘤的主要特征[1]。Ⅳ型胶原是基底膜主要成份之一,其酶促降解需一种金属蛋白酶即Ⅳ型胶原酶。研究表明,很多恶性肿瘤细胞分泌Ⅳ型胶原酶并与浸润和转移能力有关[2,3]。本研究通过免疫组织化学方法观察Ⅳ型胶原酶在胆管癌原发灶和转移灶癌细胞中的表达情况,探讨Ⅳ型胶原酶在浸润和转移中的意义,以期了解胆管癌浸润和转移机理。

1 材料和方法

1.1 标本来源

共收集西南医院1990年1月至1993年9月40例根治性切除的胆管癌手术切除和术中活检标本。肿瘤位于肝门部(包括左右肝管及肝总管)23例(57.5%)、中段5例(12.5%)、胆总管下段10例(25%)、肝内胆管2例(5%)。据光镜观察,高分化13例(32.5%)、中度分化21例(52.5%)、低分化6例(15%)。除3例(7.5%)为粘液腺癌、2例(5%)为乳头状腺癌外,其它35例(87.5%)均为管状腺癌。40例患者中,经术中观察和病理学检查,发生器官和组织浸润和转移者共25例(62.5%),获转移灶标本11份。在原发灶与周围正常组织交界处取肿瘤组织标本,连同11份转移灶标本供本研究利用。另取胆囊腺2例、正常肝脏肝内胆管2例作为对照。

1.2 制片及免疫组织化学染色

标本投入10%中性福尔马林溶液中固定12~24 h分别取转移灶及原发灶癌组织接近正常组织处癌组织块,常规石蜡包埋、切片、片厚3~4 μm用兔抗Ⅳ型胶原酶抗体(1∶400,美国,马里兰州,Bethesda,国立癌症研究所 Tetler-Stevenson博士赠)进行Ⅳ型胶原酶免疫组化染色(ABC法)。以正常兔血清代替兔抗Ⅳ型胶原酶抗体作为阴性对照。

1.3 Ⅳ型胶原酶定量分析

除观察Ⅳ型胶原酶的分布外,利用 CMIAS-007真彩色图像分析系统(中国人民解放军空军总医院生物工程研究所,北京),通过测定每个视野的光密度(A),对Ⅳ型胶原酶进行定量分析。每张切片取10个视野(×100),取均值为其平均光密度。

1.4 统计学处理

研究结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示。采用计算机医用统计程序(MOSP,上海科学技术出版社)对数据进行方差分析和 t 检验,$P<0.05$ 为差异显著。

2 结果

2.1 抗Ⅳ型胶原酶免疫反应物的表现

Ⅳ型胶原酶免疫反应物呈棕色,弥漫性地分布于细胞质内。阳性反应物的分布、多少及强弱与组织学类型、分化程度及肿瘤部位均无明显关系,见表1

阴性对照、正常肝内小胆管及胆囊腺瘤切片,见图1均无阳性反应物存在,间质细胞内也未见阳性反应物出现,但正常肝细胞和胰腺上皮细胞内可见微弱阳性反应。

* 全军"八五"医药卫生科研基金资助项目
** 王曙光,男,38岁,副教授,副主任医师,博士
?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表1 Ⅳ型胶原酶免疫反应物强弱与胆管癌组织学类型、分化程度及部位的关系

Tab 1 Relationship between the degree of positivity of type IV collagenase expression and the location, degree of differentiation, and histological type of adenocarcinoma of biliary duct (no. of cases)

	Histological type			Degree of differentiation			Location			
	Papillary	Mucoid	Tubular	Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	Upper	Middle	Lower	Intrahepatic
	2	3	35	13	6	21	23	5	10	2
Strong	1	2	22	8	4	13	14	3	7	1
Weak	1	1	13	5	2	8	9	2	3	1

2.2 原发灶和转移灶胆管癌细胞Ⅳ型胶原酶的表达

无转移的原发灶标本切片内,大部分区域癌细胞浆内呈弱阳性反应,个别区域可见阳性反应染色,见图2 合并转移的原发灶标本切片内,大部分区域癌细胞浆内呈较强阳性染色,个别区域癌细胞呈弱阳性染色,见图3 转移灶标本切片内,腺上皮样癌细胞浆内可见强阳性反应物存在,且分布均匀,仅见个别细胞内弱阳性反应,见图4

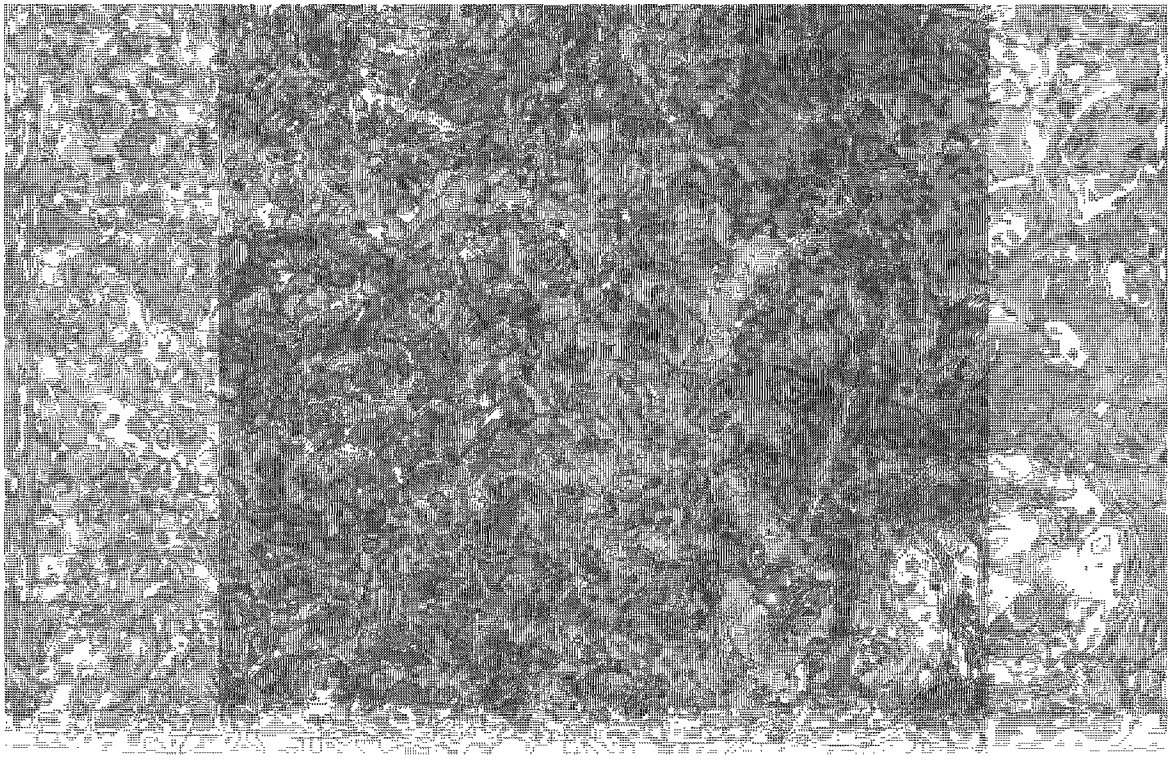


图1 胆囊腺瘤组织Ⅳ型胶原酶免疫组织化学染色腺瘤细胞浆内无阳性反应存在 (ABC法× 400)

Fig 1 No positive product presents in cholecystic adenoma by immunohistochemical staining of type Ⅳ collagenase (ABC× 400)

图2 无转移的原发灶癌组织Ⅳ型胶原酶免疫组化染色多数癌细胞浆内弥漫性弱阳性反应 (ABC法× 200)

Fig 2 Weak positive products present diffusely in cytoplasm of most tumor cells of primary cancerous tissue without metastasis, stained by type Ⅳ collagenase immunohistochemically (ABC× 200)

图3 合并转移的原发灶癌组织Ⅳ型胶原酶免疫组化染色多数癌细胞浆内呈弥漫性强阳性反应 (ABC法× 200)

Fig 3 Strong positive product exists diffusely in cytoplasm of most tumor cells of primary cancerous tissue with metastasis, stained by type Ⅳ collagenase immunohistochemically (ABC× 200)

图4 淋巴结转移癌组织Ⅳ型胶原酶免疫组化染色癌细胞浆呈弥漫性强阳性反应 (ABC法× 200)

Fig 4 Strong positive product exists diffusely in cytoplasm of metastatic tumor cells in lympha nodes by immunohistochemical staining of type Ⅳ collagenase (ABC× 200)

2.3 Ⅳ型胶原酶定量分析

利用图像分析系统定量分析,切片内免疫反应物平均光密度在转移灶为0.142± 0.016(*A*),转移的原发灶为0.100± 0.007(*A*),无转移的原发灶为0.052± 0.008(*A*)。转移灶及合并转移的原发灶标本切片免疫反应物平均光密度均显著大于无转移的原发灶标本($P < 0.01$),表明转移灶及合并转移的

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

原发灶内癌细胞Ⅳ型原酶表达强度明显强于无转移的原发灶内癌细胞。转移灶标本免疫反应物平均光密度虽大于合并转移的原发灶标本,但无统计学上差异($P < 0.05$)。

3 讨论

细胞外基质主要成份的降解需特定蛋白水解酶,故细胞外基质的溶解必然涉及到一系列相互联系的水解酶的作用。本研究结果显示,胆管癌细胞内Ⅳ型胶原酶表达增强,而正常胆管上皮细胞和胆道良性肿瘤细胞内则无明显表达,表明降解细胞外基质中Ⅳ型胶原的Ⅳ型胶原酶主要来自于肿瘤细胞。

本研究中观察到,转移灶胆管癌细胞和大多数合并转移的原发灶胆管癌细胞Ⅳ型胶原酶表达明显强于无转移的原发灶癌细胞,提示Ⅳ型胶原酶在胆管癌细胞浸润和转移过程中起重要作用。有学者发现,Ⅳ型胶原酶活性大小与其瘤细胞系转移能力呈平行关系[4]。高转移性瘤细胞产生的Ⅳ型胶原酶活性最大,无转移能力的瘤细胞的活性最低,为高转移瘤细胞的 20%,正常细胞Ⅳ型胶原酶活性仅为高转移性瘤细胞的 2%~14%[4]。本研究结果与此观察所见是一致的。上述事实说明,Ⅳ型胶原酶在胆管癌细胞降解细胞外基质过程中占有突出的地位,同时提示未来在肿瘤治疗中通过抑制Ⅳ型胶原酶及其它水解酶的活性,有可能获得显著的进展。

本研究还观察到,无转移的胆管癌细胞内尽管大多数癌细胞Ⅳ型胶原酶免疫反应染色较弱,少数癌细胞却呈较强的阳性反应,而转移灶和合并转移的原发灶胆管癌组织内尽管大多数癌细胞Ⅳ胶原酶免疫反应染色呈强性性或较强阳性,但少数癌细胞却呈弱阳性反应,造成这种同一切片内不同癌细胞之间的差异可能与癌细胞异质性有关[5]。由于肿瘤细胞的异质性,胆管癌细胞不同亚群之间Ⅳ型胶原酶表达能力有差异。如果表达Ⅳ型胶原酶能力强的癌细胞亚群占优势,则可能表现出较强的浸润和转移能力。我们的结果也正好说明了这一点。

参考文献

1 Liotta L A, Rao N, Wewer U M. Biochemical interactions of tumor cells with the basement membrane. Annu Rev Biochem, 1986, 55: 1037

2 Levy A, Cioce V, Sobel M E *et al*. Increased expression of of the 72KDa type Ⅳ collagenase in human colonic adenocarcinoma. Cancer Res, 1991, 51(1): 439

3 Poulsom R, Pignatelli M, Stetlet-Stevenson W G *et al*. Stromal expression of 72KDa type Ⅳ collagenase (MMPI-2) and TIMP-2 mRNA in colorectal neoplasia. Am J Pathol, 1992, 141(2): 389

4 Turpeenniemi-Hujanen T, Thorgeirsson U P, Hart I R *et al*. Expression of collagenaase Ⅳ (basement membrane collagenase) activity in murine tumor cell hybrids that differ in metastic potential. J Natl cancer Inst, 1985, 75(1): 99

5 Fidler I J. Critical factors in the biology of human cancer metastasis: Twenty-eighth G. H. A. Clowes memorial award lecture. Cancer Res, 1990, 50(19): 6130

(收稿: 1996-12-11;修回: 1997-06-30)

(编辑　张大春)

Expression of collagenase type Ⅳ in cholangiocarcinoma tissue and its significance in invasion and metastasis

Wang Shuguang, Peng Zhiming, Han Benli (Department of Hepatobiliary Surgery, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 630038)

Abstract Objective: To explore the significance of collagenase type Ⅳ in the invasion and metastasis of cholangiocarcinoma to clarify the possible mechanism of the invasion and metastasis of cholangiocarcinoma. Methods: The expression of collagenase type Ⅳ were determined in the primary foci and metastatic foci of changiocarcinoma with immunohistochemistry and image analysis. Results: The immunoreactive product of collagenase type Ⅳ was stained brown and widely distributed in the cytoplasm of the cancer cells but not in the epithelium of the normal bile duct or adenoma. The immunostaining intensity was weak in the primary foci without metastasis but strong in the metastatic ones and primary ones complicated with metastasis. The mean immunostaining intensity was significantly stronger in metastatic foci and primary ones complicated with metastasis than in the primary foci without metastasis. Conclusion: Collagenase type Ⅳ is one of the important proteinases to degrade the extracellular matrix during the invasion and metastasis of cholangiocarcinoma, which suggests that great achievement can be made in anti-metastasis treatment of cholangiocarcinoma in the future through inhibiting the activity of collagenase type Ⅳ and other proteinases.

Key words collagenase; biliary neoplasm; neoplastic metastasis

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