DOI:10.16016/j.1000-5404.1994.04.035

胆管癌浸润转移及抗浸润实验研究

论文摘要

An experimental study on infiltration and metastasis cholangicocarcinoma and anti-invasion therapies

王曙光 韩本立 (第三军医大学西南医院肝胆外科中心)630038
陈意生 (第三军医大学基础部病理解剖学教研室)630038

肿瘤浸润和转移包含无数的肿瘤细胞与宿主细胞、肿瘤细胞与细胞外基质的相互关系。细胞外基质,特别是在浸润转移过程中肿瘤细胞必须在多个环节突破的基底膜,对于肿瘤细胞浸润和转移具有十分重要的影响。因此,近年来国内外研究肿瘤浸润和转移多集中在肿瘤细胞与细胞外基质的相互作用上。

胆管癌术后复发率高,除因受限于切除范围而不易达到根治性切除外,主要与肿瘤浸润和转移有关。因此,研究胆管癌浸润转移的生物学特性和机制,并根据其机制发展有效的抗浸润转移疗法,将有助于限制或阻断胆管癌细胞的浸润转移能力,以减少术后复发机会。对于难以切除的胆管癌,也有助于阻止或限制癌肿进一步浸润生长和转移,为胆管癌的治疗开辟新的途径。然而,有关胆管癌浸润转移机制的研究尚未见报道。此外,国内尚未建立用于胆管癌研究的胆管癌细胞系,对胆管癌的研究,目前还仅限于对胆管癌的临床观察、癌的鉴别诊断及手术技术的提高等。本研究通过对胆管癌浸润转移现象临床和实验观察,初步探讨了胆管癌浸润转移机制及可能的防治手段,主要结果如下:

1.通过对胆管癌浸润转移的方式和特点,特别是胆管癌细胞对神经周围间隙的侵犯、胆管癌肿瘤血管生成在胆管癌浸润转移中的作用及在胆管癌术后预后判断中的意义的探讨,表明胆管癌细胞除沿胆管壁直接浸润外,血管、淋巴管和神经周围间隙均是重要的浸润转移途径。肿瘤血管密度与浸润转移发生率呈明显相关,合并浸润转移的肿瘤血管密度显著大于明显浸润者,且随着肿瘤血管密度增加浸润转移发生率也增加。神经周围间隙是胆管癌转移的重要通道,合并浸润转移者神经周围间隙浸润指数显著大于无明显浸润转移者,神经周围间隙浸润指数与浸润转移发生率明显相关。此外,肝十二指肠韧带者结缔组织内癌细胞残留可能是术后复发的重要原因之一。因此,胆管癌根治性切除应彻底清除肝十二指肠韧带内淋巴管、淋巴结、神经纤维、结缔组织脂肪等,以减少术后复发机会。

2.利用免疫组织化学方法观察Ⅳ型胶原酶、层粘素、纤维连接蛋白和弹性纤维在胆管癌组织和转移灶中的分布,初步了解胆管癌细胞外基质成份的变化及其意义和Ⅳ型胶原酶在浸润转移过程中的作用。结果表明,胆管癌细胞内Ⅳ型胶原酶表达,其强度与浸润转移发生率明显相关。胆管癌细胞基底膜层粘素缺失,这种改变可能对于鉴别良恶性肿瘤有实际意义。细胞内层粘素的表达与转移发生率明显相关,提示癌细胞内源性层粘素对胆管癌浸润转移可能有促进作用。纤维连接蛋白在有无转移的胆管癌中组织中分布有差异,癌细胞周围有抗纤维连接蛋白免疫反应物分布的病例中浸润转移发生率高,提示纤维连接蛋白可能参与胆管癌浸润转移过程。弹性纤维在胆管癌组织中不同区域的分布存在差异,可能反映了肿瘤细胞的异质性。这些研究结果有助于探讨胆管癌浸润转移发生机理,并提示抑制Ⅳ型胶原酶或/和阻断层粘素、纤维连接蛋白与肿瘤细胞的相互作用,对未来肿瘤的治疗可能具有重要意义。

3.本研究建立了国内首株人肝外胆管癌细胞系,命名为QBC_{939}细胞系,组织学上与源癌组织相似。电镜观察显示QBC_{939}细胞具有较多的微绒毛、微管、微丝及细胞连接存在,免疫组织化学染色表明其细胞系、细胞膜存在角蛋白和桥粒蛋白,证明该细胞系确为上皮来源。细胞生长动力学研究表明QBC_{939}细胞生长速度快,细胞群体活力高,独立生存能力强,并且对胰岛素、EGF刺激呈明显增殖反应,但对地塞米松刺激呈生长抑制反应,提示激素和各种生长因子对肿瘤细胞生长系殖可能有重要影响。细胞遗传学检查显示该系呈现明显的染色体数目和结构异常,频繁发生断裂、移位、缺失和插入等,多倍体癌细胞比例甚高。软琼脂培养和异体动物接种表明QBC_{939}细胞系具有较强的致瘤性。可以认为,QBC_{939}细胞系的建立对胆管癌细胞生物学特性研究提供了有价值的资料,并且为进一步的研究提供了稳定、可靠的细胞来源。

4.本实验通过观察Ⅳ型胶原酶、u-PA在QBC_{939}细胞浸润过程中的作用及浸润过程不同环节的阻断对浸润能力的影响,证明Ⅳ型胶原酶、u-PA是参与腥客癌细胞浸润转移过程的重要蛋白水解酶。层粘素能够刺激QBC_{939}细胞分泌Ⅳ型胶原酶并提高其浸润能力,而利用层粘素抗体结合层粘素或层粘素P11片段竞争结合层粘素受体则可抑制层粘素的作用,提示层粘素通过肿瘤细胞膜表面层粘素受体在介导肿瘤细胞的浸润过程中发挥重要作用。u-PA和纤维蛋白溶解酶抑制剂反-对氨甲基环己酸、6-氨基己酸可明显抑制QBC_{939}细胞浸润能力,与层粘素P-11片段联合应用抑制效应更强。本实验结果不但有助于了解胆管癌浸润转移机制,同时也表明浸润过程的多环节阻断在未来肿瘤临床治疗中具有光明的前景。

关键词 胆管肿瘤;肿瘤转移;胶原酶;层粘素;纤维连接素类;纤维蛋白溶酶

中图法分类号 R735.8

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