

[DOI]10.12016/j.issn.2096-1456.2017.10.005

· 基础研究 ·

透明质酸酶在口腔鳞癌组织中的表达及其临床意义

王敬旭¹, 廖贵清²

1. 广州医科大学附属第一医院口腔科, 广东 广州 (510120); 2. 中山大学光华口腔医院口腔颌面外科, 广东 广州 (5100055)

【摘要】 目的 探讨口腔鳞癌组织中透明质酸酶(hyaluronidase, HAase)的表达及意义。方法 采用免疫组化法,检测21例口腔鳞癌和其切缘无瘤组织中HAase的表达。结果 HAase主要存在于细胞的胞浆中,在肿瘤细胞中表达较切缘无瘤组织细胞中强。高分化鳞癌中HAase阳性表达率比中低分化鳞癌低($P < 0.05$);伴淋巴结转移的原发病灶中HAase阳性表达率显著高于无淋巴结转移原发灶中的HAase阳性表达率($P < 0.05$);临床分期为I、II期的口腔鳞癌组织中HAase阳性表达率与III、IV期的口腔鳞癌组织中HAase阳性表达率无统计学差异($P > 0.05$)。结论 HAase在口腔鳞癌组织中高表达,并且与分化及颈淋巴结转移有关。

【关键词】 口腔; 鳞状细胞癌; 透明质酸酶; 肿瘤; 免疫组织化学

【中图分类号】 R739.8 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 2096-1456(2017)10-0638-03

【引用著录格式】 王敬旭,廖贵清.透明质酸酶在口腔鳞癌组织中的表达及其临床意义[J].口腔疾病防治,2017,25(10):638-640.

The analysis of expression of HAase in oral squamous cell carcinoma WANG Jingxu¹, LIAO Guiqing². 1. Department of Stomatology, Guangzhou Medical University, Guangzhou 510182, China. 2. Department of Oral and Maxillo-facial Surgery, Guanghua School of Stomatology, Sun Yet-sen University, Guangzhou 510182, China

Corresponding author: WANG Jingxu, Email: bora1978@163.com, Tel: 0086-20-83062036

【Abstract】 Objective To evaluate the expression of HAase in Oral Squamous Cell Carcinoma (OSCC). **Methods** The distribution and expression of HAase in 21 patients with OSCC and their resections with tumor-free margins were examined by immunohistochemistry method. **Results** HAase were mainly immunostained in tumor tissue. The expression of HAase in oral cancer with nodal metastasis and low pathological grades were higher than that with no nodal metastasis and high pathological grades ($P < 0.05$), whereas no difference between the TNM stages ($P > 0.05$). **Conclusion** The HAase levels were high in oral squamous cell carcinoma tissues, and rising in patients with lymph node metastasis and poorly differentiated.

【Key words】 Oral; Squamous cell carcinoma; Hyaluronidase; Tumor; Immunohistochemistry

透明质酸酶(hyaluronidase, HAase)被称为“扩散因子”^[1-2]。研究发现,细胞间质中的透明质酸(hyaluronic acid, HA)被HAase降解后所形成的寡糖片断,与细胞表面的受体CD44分子结合后,具

有很强的促血管生成能力,对恶性肿瘤的浸润、扩散及转移具有重要影响,在乳腺癌、结肠癌、膀胱癌、肺癌、前列腺癌等的研究中均发现HAase和HA的水平有明显升高^[3-5]。目前有关透明质酸酶在口腔鳞癌发生发展过程中的作用研究甚少,本研究采用免疫组化法检测HAase在口腔鳞状细胞癌组织中的表达情况并探讨其临床意义。

【收稿日期】 2017-05-31; **【修回日期】** 2017-08-04

【基金项目】 国家自然科学基金项目(30572062)

【作者简介】 王敬旭,副主任医师,硕士, Email: bora1978@163.com

1 材料和方法

1.1 材料

收集2013~2014年中山大学光华口腔医院手术切除并确诊为口腔鳞癌组织标本21份,其中男性患者11例,女性患者10例,年龄32~76岁,舌鳞癌13例,牙龈癌5例,颊癌3例。按UICC(1997)标准,详细记录临床分期、病理类型、有无淋巴结转移。所取标本4%福尔马林固定,常规石蜡包埋,连续切片(4 μm厚),免疫组化染色备用。液体DAB酶底物显色试剂盒、SABC免疫组化试剂盒,二抗为鼠抗兔(一种为末端有荧光标记,另一种不带荧光标记)均购于武汉博士德。一抗为兔抗人HAase单克隆抗体(Stern教授惠赠,USA)。

1.2 方法

标本切片进行HAase免疫组化染色。染色方法按SABC免疫组化试剂盒说明书进行。经DAB显色后苏木精复染,中性树胶封固,以PBS代替一抗做阴性对照。免疫组化结果判断根据文献^[3-5],HAase主要存在正常细胞和肿瘤细胞的胞浆颗粒

中。以背景清晰胞浆出现棕黄/棕褐色颗粒作为阳性染色,无着色则为阴性。采用双盲法、测微网格计数300个肿瘤细胞或正常细胞(10×40倍光镜下随机选取5个视野),与阳性、阴性对照片比较,HAase染色结果分级判断标准为:阳性细胞数<20%为(-),20%~50%为(+),50%~80%为(++),>80%为(+++)。

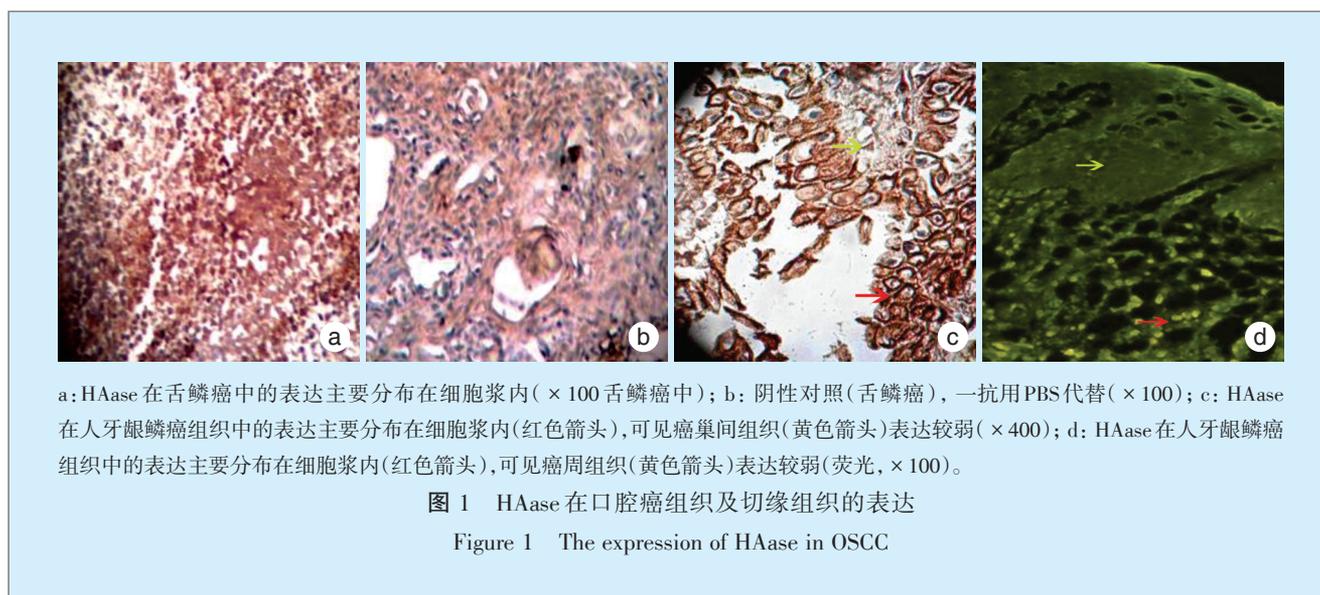
1.3 统计学分析

利用SPSS 13.0统计软件对数据进行统计分析。免疫组化结果分析采用Fisher精确概率检验等方法进行检验。

2 结果

2.1 HAase在口腔癌组织及切缘组织的表达

口腔鳞癌病人原发灶周围切缘无瘤黏膜间质中HAase染色较淡,基底细胞及近基底的棘细胞胞浆着色较深。在鳞状细胞癌的HAase染色中,在实性癌巢的上皮细胞大部分染色呈阳性,在胞浆丰富的肿瘤细胞内,HAase的表达多呈强阳性(图1)。



2.2 HAase表达与口腔鳞癌病理学分级、临床分期、颈淋巴结转移的关系

高分化及中低分化鳞癌中,HAase阳性表达率分别为53.8%(7/13)和100%(8/8);Fisher精确概率检验两组之间差异有统计学意义, $P=0.032$ 。临床分期为I、II期的口腔鳞癌组织中HAase阳性表达率为62.5%(5/8),III、IV期的口腔鳞癌组织中HAase阳性表达率为76.9%(10/13),Fisher精确概率检验两组之间差异无统计学意义,

$P=0.133$ 。淋巴结转移与无淋巴结转移的口腔鳞癌原发灶组织中HAase阳性表达率分别为100%(9/9)和50%(6/12),Fisher精确概率检验差异有统计学意义($P=0.039$)。

3 讨论

HAase是一组降解HA的内源性糖苷酶的总称,它们的酶切位点是D-葡萄糖醛酸和N-乙酰氨基葡萄糖之间的β-乙酰氨基葡萄糖苷键。目前人体内

已检测到6种HAase基因,其中HYAL1、HYAL2和PH20有比较深入的研究。HYAL1型是最早从人的血浆和尿液中纯化出来的HAase,也被认为是体内及肿瘤组织中最重要HAase,其理化性质已在基因和蛋白水平上得到证实^[6],其最佳pH范围为4.0~4.3。

HAase主要通过降解组织内的透明质酸而对肿瘤的生长转移起调节作用,分解破坏细胞周围基质成分解除了对肿瘤细胞的束缚,有利于肿瘤细胞的扩散与转移^[7]。此外,HAase还通过以下途径对肿瘤的生长转移产生影响。①HAase能上调肿瘤细胞、内皮细胞表面CD44分子的表达^[8]。②提高肿瘤细胞的增殖比率^[9]。Franzmann等^[10]的研究发现,头颈鳞癌细胞株培养液上清中HAase和HA表达水平与角质形成细胞相比分别上升了1.5~11倍和2~4倍;头颈部鳞状细胞癌患者唾液中的HAase和HA表达水平与正常个体相比分别上升了3.7倍和4.9倍。Kallifatidis等^[11-12]对前列腺癌和膀胱癌的研究表明,HAase水平升高的程度与肿瘤的病理分级呈正相关,而HA水平升高的程度与肿瘤的病理分级无关。肿瘤组织中分泌HAase、HA的细胞,尚不十分明确。

本研究结果显示,HAase主要存在细胞的胞浆中,在胞浆丰富的低分化癌细胞区,染色多为棕褐色。高分化鳞癌中HAase表达的阳性率比中低分化鳞癌低;淋巴结转移与无淋巴结转移的口腔鳞癌原发灶组织相比,HAase阳性表达率高;临床分期为I、II期的口腔鳞癌组织中HAase阳性表达率与III、IV期的口腔鳞癌组织中HAase表达率无统计学差异。提示HAase与口腔鳞癌的发生、分化、转移有一定联系。

参考文献

[1] Bharathi AC, Yadav PK, Syed Ibrahim B. Sequence diversity and

- ligand-induced structural rearrangements of viper hyaluronidase[J]. *Mol Biosyst*, 2016, 12(4): 1128-1138.
- [2] Furthermore. Hyaluromycin, a novel hyaluronidase inhibitor, attenuates pancreatic cancer cell migration and proliferation[J]. *J Oncol*, 2016 (3): 1-6.
- [3] Witzel I, Marx AK, Müller V, et al. Role of HYAL1 expression in primary breast cancer in the formation of brain metastases[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2017, 162(3): 427-438.
- [4] Fayad S, Nehm RM. Macroalga padina pavonica water extracts obtained by pressurized liquid extraction and microwave-assisted extraction inhibit hyaluronidase activity as shown by capillary[J]. *Chromatography A*, 2017, 1497(5): 19-27.
- [5] Gao N, Yang W, Nie H, et al. Turn-on theranostic fluorescent nanoprobe by electrostatic self-assembly of Carbon dots with doxorubicin for targeted cancer cell imaging, in vivo hyaluronidase analysis, and targeted drug delivery[J]. *Biosens Bioelectron*, 2017, 96: 300-307.
- [6] Chib R, Requena S, Mummert M, et al. Fluorescence lifetime imaging with time-gated detection of hyaluronidase using a long lifetime azadioxatriangulenium (ADOTA) fluorophore[J]. *Method Appl Fluoresc*, 2016,4(4): 047001, DOI: 10.1088/2050-6120/4/4/047001.
- [7] Stern R, Shuster S, Wiley TS, et al. Hyaluronidase can modulate expression of CD44[J]. *Exp Cell Res*, 2001, 266(1): 167-176.
- [8] Kovar JL, Johnson MA, Volcheck WM, et al. Hyaluronidase expression induces prostate tumor metastasis in an orthotopic mouse model[J]. *Am J Pathol*, 2006,169(4): 1415-1426.
- [9] Lin G, Stern R. Plasma hyaluronidase (Hyal-1) promotes tumor cell cycling[J]. *Cancer Lett*, 2001, 163(1): 95-101.
- [10] Franzmann EJ, Schroeder GL, Goodwin WJ, et al. Expression of tumor markers hyaluronic acid and hyaluronidase (HYAL1) in head and neck tumors[J]. *Int J Cancer*, 2003, 106(3): 438-445.
- [11] Kallifatidis G, Hoy JJ, Lokeshwar BL. Bioactive natural products for chemoprevention and treatment of castration-resistant prostate cancer[J]. *Semin Cancer Biol*, 2016, 40-41: 160-169.
- [12] Salazar N, Castellan M, Shirodkar SS, et al. Chemokines and chemokine receptors as promoters of prostate cancer growth and progression[J]. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*, 2013, 23(1): 77-91.

(编辑 罗燕鸿,曾曙光)