

CD44V6 和 Bcl-2 在眼睑部基底细胞癌中的表达及意义

李文捷¹, 张煦², 酒旭东¹

1. 兰州大学第一医院眼科, 甘肃 兰州 730000; 2. 兰州大学基础医学院病理研究所, 甘肃 兰州 730000

摘要: **目的** 探讨 CD44V6 和 Bcl-2 蛋白在眼睑部基底细胞癌中的表达及意义。**方法** 选取眼科 2000 年至 2010 年手术切除眼睑部基底细胞癌的标本共 52 例。利用 SP 免疫组化法检测眼睑部基底细胞癌组织中 CD44V6 和 Bcl-2 蛋白的表达。随访 5 年, 观察复发情况。**结果** CD44V6 蛋白的阳性表达率在眼睑部基底细胞癌分化型(0)与未分化型(35.7%)比较以及复发者(57.1%)和未复发者(2.2%)比较, 差异有统计学意义(P 均 < 0.01)。Bcl-2 蛋白的阳性表达率在分化型(94.7%)与未分化型(85.7%)比较差异无统计学意义($P > 0.05$); 在复发者(57.1%)和未复发者(97.8%)比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。**结论** 眼睑部基底细胞癌未分化组 CD44V6 阳性率较高, 未复发组 Bcl-2 阳性率较高; CD44V6 和 Bcl-2 可能参与了眼睑部基底细胞癌的发生发展过程。

关键词: 基底细胞癌, 眼睑部; CD44V6 基因; Bcl-2 基因; 免疫组化

中图分类号: R 739.7⁺1 中图分类号: A 文章编号: 1674-8182(2016)03-0298-03

The expressions and significance of CD44V6 and Bcl-2 in eyelid basal cell carcinoma

LI Wen-jie*, ZHANG Xu, JIU Xu-dong

* Department of Ophthalmology, First Hospital of Lanzhou University, Lanzhou, Gansu 730000, China

Corresponding author: ZHANG Xu, E-mail: zhangxu64@163.com

Abstract: Objective To investigate the expressions and significance of CD44V6 and Bcl-2 in eyelid basal cell carcinoma (EBCC). **Methods** The surgical samples of 52 EBCC patients treated in the first hospital of Lanzhou University from 2000 to 2010 were collected and divided into differentiated group and undifferentiated group according to differentiation degree of tumor cells. The expressions of CD44V6 and Bcl-2 proteins in carcinoma tissues were detected by immunohistochemical SP method. All patients were followed up for 5 years and surveyed for relapse status. **Results** There were significant differences in positive expression rates of CD44V6 protein between EBCC tissues of type differentiation and type undifferentiation (0 vs 35.7%, $P < 0.01$) and between patients of recurrence and non-recurrence (57.1% vs 2.2%, $P < 0.01$). There was no significant difference in positive expression rates of Bcl-2 protein between EBCC tissues of type differentiation and type undifferentiation (94.7% vs 85.7%, $P > 0.05$), while there was significant difference in its expression rates between patients of recurrence and non-recurrence (57.1% vs 97.8%, $P < 0.01$). **Conclusion** The higher positive expression rates of CD44V6 and Bcl-2 were respectively seen in EBCC tissues of type undifferentiation and the patients of non-recurrence. It is suggested that CD44V6 and Bcl-2 may be involved in the occurrence and development process of eyelid basal cell carcinoma.

Key words: Basal cell carcinoma, eyelids; CD44V6 gene; Bcl-2 gene; Immunohistochemistry

基底细胞癌(basal cell carcinoma)是眼睑皮肤恶性肿瘤中常见的一种。患者早期多无自觉症状, 很少淋巴转移, 但继发感染严重破坏组织后可引起剧烈疼痛, 甚至可侵及鼻窦或颅内而死亡^[1]。近年来随着人口的老龄化, 眼睑基底细胞癌有逐渐增多的趋势, 研究显示多种癌基因的异常表达在眼睑基底细胞癌的发生发展过程中有重要作用。因此, 研究眼睑部位

的基底细胞癌及其相关分子异常是防治眼睑基底细胞癌的重点。

1 材料与方法

1.1 实验材料 实验材料为我院眼科 2000 年至 2010 年 52 例手术切除的眼睑部基底细胞癌标本。患者为男性 30 例, 女性 22 例; 发病年龄 20 ~ 79 (56.5 ± 3.5) 岁。

1.2 实验分组 52 例眼睑部基底细胞癌根据细胞分化程度分为分化型(角化型、囊样型、腺样型)38 例

和未分化型(实体型、色素型、浅表型、硬化型)^[2] 14 例。所有病例均获随访 5 年,复发者 7 例。所有病理切片均由两位经验丰富的病理专家联合判读。

1.3 主要试剂及设备 (1) 主要试剂:鼠抗人 CD44V6 单克隆抗体、鼠抗人 Bcl-2 基因蛋白单克隆抗体、SP 试剂盒(均购自福州迈新生物科技公司)。(2) 主要设备:Ustria 石蜡切片机,微量加样器,国产医用微波炉,国产低温电冰箱,国产恒温电烤箱,光学显微镜(日本 Olympus)。其他耗材:电炉、湿盒、切片架、盖玻片、烧杯、量杯等为兰州大学第一医院中心实验室提供。

1.4 实验方法 采用 SP 免疫组化法检测 CD44V6 和 Bcl-2 蛋白在眼睑部基底细胞癌组织中的表达。按照免疫组化检测程序进行操作。以 PBS 代替一抗作为阴性对照。用二氨基联苯胺显色后直接封片,显微镜下观察和照相。

1.5 结果判断标准 采用半定量计分法判定结果,即根据每张切片的阳性细胞比例及着色深浅记分。(1) 着色细胞占切片细胞总数的比例:1 分, < 1/3; 2 分, 1/3 ~ 2/3; 3 分, > 2/3。(2) 着色程度:0 分,无着色;1 分,浅黄色;2 分,棕黄色;3 分,棕褐色。(3) 然后根据二者乘积判断阳性分级,0 分为阴性,1 ~ 3 分为弱阳性(+),4 ~ 6 分为阳性(++),7 ~ 9 分为强阳性(+++)。

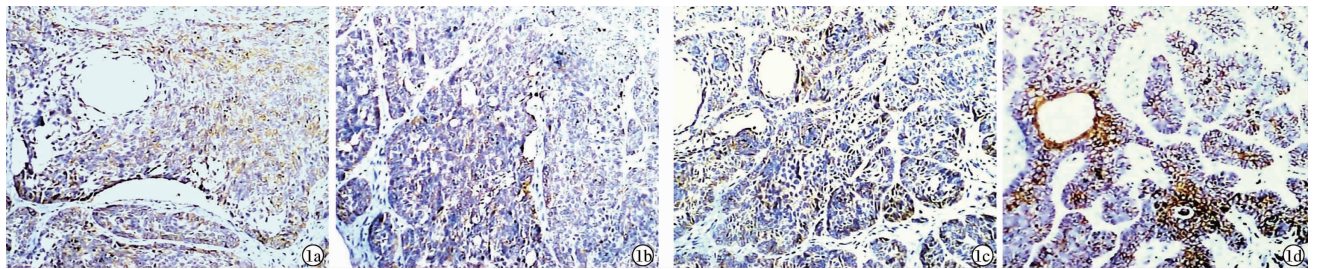
1.6 统计学方法 采用 SPSS 13.0 软件进行统计处

理。计数资料以频数和百分率表示,采用四格表校正 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CD44V6 蛋白在眼睑部基底细胞癌组织中的表达 CD44V6 蛋白阳性表达主要定位在眼睑部基底细胞癌细胞膜上,棕黄或棕褐色(图 1a、1b)。38 例分化型眼睑部基底细胞癌组织肿瘤细胞 CD44V6 染色均为阴性,14 例未分化型有 5 例(35.7%)为阳性。随访 5 年,有 7 例复发,7 例中 4 例(57.1%)CD44V6 染色阳性,这 4 例病例均为未分化型;未复发 45 例中仅有 1 例(2.2%)阳性。未分化型与分化型比较,复发组和未复发组比较,CD44V6 的表达阳性率差异均有统计学意义(P 均 < 0.01)。见表 1。

2.2 Bcl-2 蛋白在眼睑部基底细胞癌组织中的表达 在眼睑部基底细胞癌中 Bcl-2 蛋白的表达主要定位于细胞浆和细胞膜上,棕褐色(图 1c、1d)。在分化型眼睑部基底细胞癌中,36 例(94.7%)Bcl-2 表达阳性,未分化型眼睑部基底细胞癌中 12 例(85.7%),分化型与未分化型阳性表达率差异无统计学意义(P 均 > 0.05)。复发的 7 例中有 4 例(57.14%)阳性;未复发的 45 例中 44 例表达阳性(97.8%),复发和未复发眼睑部基底细胞癌组间 Bcl-2 蛋白的阳性表达率差异有统计学意义($P < 0.01$)。见表 2。



注:1a、1b:CD44V6 蛋白;1c、1d:Bcl-2 蛋白。

图 1 CD44V6 蛋白、Bcl-2 蛋白在眼睑部基底细胞癌中阳性表达的病理图(SP 染色, ×100)

表 1 CD44V6 蛋白在眼睑部基底细胞癌不同情况的表达例(%)

组别	例数	阳性	阴性	P 值
分化	38	0	38(100.0)	<0.01
未分化	14	5(35.7)	9(64.3)	
复发	7	4(57.1)	3(42.9)	<0.01
未复发	45	1(2.2)	44(97.8)	

表 2 Bcl-2 蛋白在眼睑部基底细胞癌不同情况的表达例(%)

组别	例数	阳性	阴性	P 值
分化	38	36(94.7)	2(2.6)	>0.05
未分化	14	12(85.7)	2(14.3)	
复发	7	4(57.1)	3(42.9)	<0.01
未复发	45	44(97.8)	1(2.2)	

3 讨论

眼睑部基底细胞癌早期临床治疗预后较好,但由于患者早期无明显症状且不影响视力,容易延误最佳诊疗时机。此外,对于那些已有局部或远处转移的肿瘤,由于恶性肿瘤的浸润和转移特性,即使采取手术加放化疗的综合治疗模式,病死率仍然较高^[3]。所以,深入探讨眼睑部基底细胞癌的发生、发展、病理及临床特点,对其早期诊断和合理治疗十分关键。

在分子水平上对眼睑部基底细胞癌的研究已成为目前研究的热点。CD44 是一种分布极广的细胞

表面跨膜糖蛋白,其变异体 CD44V6 在淋巴细胞活化中的作用机制和在癌细胞转移中的作用机制是相同的,CD44V6 的过量表达可能使肿瘤细胞获得类似淋巴细胞的“伪装”,逃避机体免疫系统的杀伤,同时易于进入血液和淋巴系统,与人体多种恶性肿瘤的发生、发展、侵袭和转移密切相关^[4]。在食管癌、胃癌、结肠癌、膀胱癌、肝癌、宫颈癌、肺癌、肾癌等恶性肿瘤中已有学者发现 CD44V6 的表达^[5-6]。本研究中,CD44V6 阳性表达率在未分化组织较高,在分化组织则未发现表达,CD44V6 阳性表达率前者明显高于后者,且复发组均为未分化型,提示眼睑部基底细胞癌的复发可能与 CD44V6 的表达失衡有关,其可能的机制是:(1)癌细胞的 Fas 表达及 Fas 介导的细胞凋亡在 CD44V6 的刺激下降低;做为肿瘤细胞凋亡的主要途径,Fas-FasL 导致眼睑部基底细胞癌细胞表面 Fas 的表达降低,并对 Fas 诱导的凋亡不敏感,癌细胞因而可逃脱机体免疫系统的监视而复发。(2)CD44V6 高表达的癌细胞与激活的淋巴细胞具有诸多共性,能通过可逆的黏附接触过程进行细胞迁移,借助淋巴细胞的“伪装”,逃避人体免疫系统的识别和杀伤,在淋巴结中大量聚集和快速增生,导致复发^[7-9]。

Bcl-2 是近年来发现的一类凋亡抑制基因,抑制细胞凋亡和延长细胞存活是其主要作用。大量研究证实,Bcl-2 的高表达与肿瘤的发生、分化、发展、转移及预后密切相关^[10-17]。本研究中分化型眼睑部基底细胞癌 Bcl-2 蛋白中的表达略高于未分化型,但无差异统计学意义。复发组 Bcl-2 蛋白阳性表达率明显低于后者。Bcl-2 持续表达导致眼睑部基底细胞癌从癌前状态发展至癌症,并进一步促进癌细胞的浸润发展,之后肿瘤细胞减弱了对 Bcl-2 的依赖性,从而出现 Bcl-2 阴性的细胞克隆类型。在宫颈癌研究中已发现类似的结果,子宫内膜癌 Bcl-2 阳性低表达者有良好的 5 年生存率,而 Bcl-2 持续表达转阴可作为独立评价指标,预示子宫内膜癌的预后不良^[15]。本研究结果显示,Bcl-2 的高表达提示眼睑部基底细胞癌预后良好,复发率较低,而 Bcl-2 表达水平转低则预示肿瘤复发率增高。

综上所述,CD44V6 与 Bcl-2 可作为理想的诊断指标,可能对预防、治疗有所突破。针对眼睑部基底细胞癌的发展、复发分子机制等环节,设计特异的治疗方案可有效地抑制其发生、侵袭和转移。随着基因治疗手段的不断完善,眼睑部基底细胞癌的治疗有望

取得巨大的进步。

参考文献

- [1] 刘嘉琦,李凤鸣.实用眼科学[M].北京:人民卫生出版社,1984.
- [2] 杜晓敏.基底细胞癌的病理诊断分析及预后[J].中外医疗,2015(19):15-16.
- [3] Jahagirdar SS,Thakre TP,Kale SM,et al. A clinicopathological study of eyelid malignancies from central India[J]. Indian J Ophthalmol, 2007,55(2):109-112.
- [4] 王琦,刁路明,孙凯一,等. MMP9、CD44v6 在皮肤鳞状细胞癌和基底细胞癌中表达的对比研究[J]. 数理医药学杂志,2008,21(6):667-669.
- [5] 崔冬梅,卫广辉,白春侠. 结肠癌组织中 CD44S 和 CD44V6 基因蛋白的表达及意义[J]. 中国微生态学杂志,2015,27(3):328.
- [6] Liu YJ,Yan PS,Li J,et al. Expression and significance of CD44s, CD44v6,and nm23 mRNA in human cancer[J]. World J Gastroentero,2005,11(42):6601-6606.
- [7] 钱震,董亮,张登才,等. CD44 和 Ki-67 在喉鳞状细胞癌组织中的表达及临床病理学意义[J]. 西北国防医学杂志,2015,36(4):242-248.
- [8] Buccoliero AM,Caldarella A,Arganini L,et al. Oligodendroglioma: CD44 as a possible prognostic opportunity[J]. Clin Neuropathol, 2003,22(4):169-175.
- [9] 樊秀婷. 弗林蛋白酶、转移抑制基因 23 和血管内皮生长因子在老年眼睑基底细胞癌中的表达及意义[J]. 中国老年学杂志,2014,34(10):2665-2667.
- [10] 郎博娟,唐立华,刘宇飞,等. Cyclin D1、CD10 和 Bcl-2 在毛母细胞瘤和基底细胞癌鉴别诊断中的价值[J]. 武汉大学学报(医学版),2015,36(4):541-544,567.
- [11] 王康敏,李秀林,黄莺,等. 抗凋亡基因 bcl-2 在早期胃癌和癌前病变中的表达[J]. 西安医科大学学报,1999,20(3):386-388.
- [12] 姜莉,涂平. 日光性角化病与基底细胞癌 CK10,Ki-67 和 Bcl-2 的表达差异分析[J]. 中国皮肤性病杂志,2015,29(7):677-680.
- [13] van Golen CM,Castle VP,Feldman EL. IGF-I receptor activation and BCL-2 overexpression prevent early apoptotic events in human neuroblastoma[J]. Cell Death Differ,2000,7(7):654-665.
- [14] 刘夫玲,牛膺筠,王红云,等. 眼睑基底细胞癌中 p16、CD44V6 蛋白的表达及意义[J]. 眼科研究,2005,23(1):63-65.
- [15] 谢平,白帆,张杰,等. HPV16/18 DNA、Bcl-2、Survivin mRNA 在宫颈癌组织中的表达及其临床意义[J]. 中国临床研究,2015,28(3):293-297.
- [16] 冯颖,朱骏,唐发兵. Bcl-2 及 Bax 在胰腺实性假乳头状瘤的表达及意义[J]. 中国临床研究,2015,28(6):740-742.
- [17] Marschitz I,Tinhofer I,Hittmair A,et al. Analysis of Bcl-2 protein expression in chronic lymphocytic leukemia. A comparison of three semiquantitation techniques[J]. Am J Clin Pathol,2000,113(2):219-229.

收稿日期:2015-10-22 修回日期:2015-12-11 编辑:石嘉莹