

· 研究原著 ·

文章编号 1000-2790(2008)04-0351-03

## 食管鳞癌组织中 galectin-3 与 MMP-2 表达的意义

石 菲, 彭贵勇, 孙永刚, 姚大鹏 (第三军医大学附属西南医院全军消化内科中心 重庆 400038)

## Expressions of galectin-3 and MMP-2 in esophageal squamous cell carcinoma and their significance

SHI Fei, PENG Gui-Yong, SUN Yong-Gang, YAO Da-Peng

Department of Gastroenterology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China

**【Abstract】** AIM: To study the expressions of galectin-3 and MMP-2 and their relationship in human squamous cell carcinoma of the esophagus. METHODS: S-P immunohistochemical method was performed to detect the expressions of galectin-3 and MMP-2 in esophagus tissues from 80 cases of squamous cell carcinoma of the esophagus and 22 normal subjects. The pathological grades, infiltration and metastasis status were statistically analyzed. RESULTS: Of 80 cases of squamous cell carcinoma of the esophagus, 62 cases (77.5%) had positive expression of galectin-3, which was significantly higher than the rate in normal esophagus (27.3%,  $P < 0.05$ ). The high expression of galectin-3 was related to pathological grading, infiltration and lymphatic node metastasis ( $P < 0.05$ ). There was a significant positive correlation between the expressions of galectin-3 and MMP-2 ( $P < 0.05$ ). CONCLUSION: ① Expression of galectin-3 is increased in esophageal carcinoma. The abnormal expression of galectin-3 is useful for evaluating malignancy degree, invasion and metastasis of esophageal carcinoma. ② Up-regulation of MMP-2 expression increases the expression of galectin-3.

**【Keywords】** esophageal neoplasms; galectin-3; gelatinase A; immunohistochemistry

**【摘要】**目的: 研究 galectin-3 在食管癌组织中的表达及其与基质金属蛋白酶 MMP-2 的表达间的关系。方法: 用免疫组化 S-P 法分别检测 galectin-3 和 MMP-2 在 80 例食管癌和 22 例正常食管组织中的表达情况。并对肿瘤病理分级、浸润深度及淋巴结转移情况进行统计学分析。结果: 食管癌组织中 Galectin-3 蛋白表达率为 77.5%, 显著高于正常食管组织 (27.3%,  $P < 0.05$ )。Galectin-3 高表达与食管癌的病理分级、

浸润及淋巴结转移有关。Galectin-3 与 MMP-2 表达呈正相关 ( $P < 0.05$ )。结论: Galectin-3 在食管癌中表达增强, 它的高表达判断食管癌的恶性程度、浸润甚至转移有重要价值。MMP-2 的高表达使 Galectin-3 上调。

**【关键词】** 食管肿瘤 半乳糖凝集素 3 明胶酶 A 免疫组织化学  
**【中图分类号】** R364.3; R730.23; R735.1 **【文献标识码】** A

## 0 引言

Galectins ( $\beta$ -半乳糖苷结合蛋白) 是生物体内广泛存在的一大类结合蛋白, 属于凝集素家族。Galectin-3 是该家族的重要成员之一, 它广泛表达于上皮细胞和免疫细胞, 存在于细胞质及胞核内, 参与多种生物学过程, 如: 调节细胞—细胞、细胞—基质间的相互作用, 参与细胞的增殖、分化、局部免疫调节和凋亡等, 与肿瘤的转移、浸润、生长和黏附密切相关。目前, galectin-3 对恶性肿瘤演进的影响作用在前列腺癌、甲状腺癌、结肠癌、胃癌和乳腺癌中已有研究, 而它与食管鳞癌的关系鲜有报道。我们探讨 galectin-3 蛋白在食管鳞癌中的表达情况以及其与 MMP-2 的关系。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 第三军医大学西南医院 2006-09/2007-05 手术病理科证实为食管鳞癌标本 80 例, 术前未行放疗; 男 47 例, 女 33 例。年龄 27~80 (平均 46.6) 岁。病理 I 级 30 例, II 级 32 例, III 级 18 例; 有、无区域淋巴结转移分别为 34 和 46 例。取距病变组织 5 cm 以上的食管正常组织 22 例作正常对照组。采取新鲜标本后, 即置于 40 g/L 甲醛液固定过夜, 次日取材、脱水、包埋。石蜡连续切片, 片厚 4  $\mu$ m, 行常规 HE 染色。即用型鼠抗人 galectin-3 mAb 为福州迈新生物技术有限公司产品; 即用型兔多抗 MMP-2, SP 试剂盒、DAB 显色试剂均由北京中杉公司提供。

**1.2 方法** 免疫组织化学采用 S-P 法, 以间变型大细胞淋巴瘤作为阳性对照, PBS 代替一抗作阴性空白对照。石蜡切片常规脱蜡至水, 用 30 mL/L  $H_2O_2$  室温下孵育 30 min (以封闭内源性过氧化物酶), PBS 漂洗 5 min  $\times$  3 次。将切片置于 pH 6.0 的枸橼酸盐缓冲液中, 微波炉加热修复抗原 20 min (温度控制在

收稿日期 2007-11-23; 接受日期 2007-12-06

通讯作者 彭贵勇。Tel: (023) 68754678 Email: sdfapple719@yahoo.com.cn

作者简介: 石 菲, 硕士生(导师彭贵勇)。Tel: (023) 68765191

Email: sdfapple719@yahoo.com.cn

95~100℃)。取出自然冷却至室温后,用 PBS 漂洗 5 min × 3 次。滴加 100 mL/L 山羊血清室温下孵育 30min。倾去血清,滴加一抗,置于湿盒内 4℃ 冰箱过夜。同法冲洗切片,滴加生物素化二抗工作液,置于湿盒中 37℃ 孵育 25 min,同法冲洗切片,滴加链酶亲和素过氧化物酶复合体(三抗),37℃ 孵育 25 min,再冲洗切片。滴加 DAB 显色剂,镜下观察控制反应时间,蒸馏水洗中止,切片苏木素复染,盐酸酒精分化返蓝,脱水封片。galectin-3 和 MMP-2 均以胞质内出现棕黄色或棕褐色颗粒为阳性染色细胞,采用阳性染色强度结合阳性细胞所占百分比进行判断。在 400 倍视野下每张切片随机观察 4 个视野,将切片中平均阳性细胞比例及染色深浅分别计 0~3 分,切片中无阳性细胞 0 分;阳性细胞 <25% 1 分,26%~50% 2 分,51%~75% 3 分;>75% 4 分。染色强度以多数细胞为准:无着色 0 分,淡黄色 1 分,黄或深黄色 2 分,褐或棕褐色 3 分。再按这两项指标的积分相加将结果分为 4 级 0 分为“-”,1~2 分为“+”,3~4 分为“++”,5~6 分为“+++”。其中“++”“+++”为强阳性表达。

统计学处理:运用 SPSS 11.0 统计分析软件,率的比较采用  $\chi^2$  检验,galectin-3 表达与 MMP-2 表达间的相关性分析采用 Spearman 秩相关。

## 2 结果

### 2.1 食管鳞癌组织中 galectin-3 的分布

Galectin-3 阳性信号呈棕黄色颗粒状或线网状染色,大多数病例定位于细胞质(图 1A),少数位于间质。Galectin-3 蛋白在肿瘤组织中呈异质性表达,即在肿瘤的不同区域表现出不同的特点,或弥散分布,或呈小片状、灶状分布,染色强度亦不一致。食管癌组织中 galectin-3 阳性表达率 77.5%(62/80),正常食管黏膜组织中 galectin-3 72.7%(16/22)为阴性表达,少数为弱阳性表达(27.3%),两者间差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),提示食管癌组织中 galectin-3 高表达。

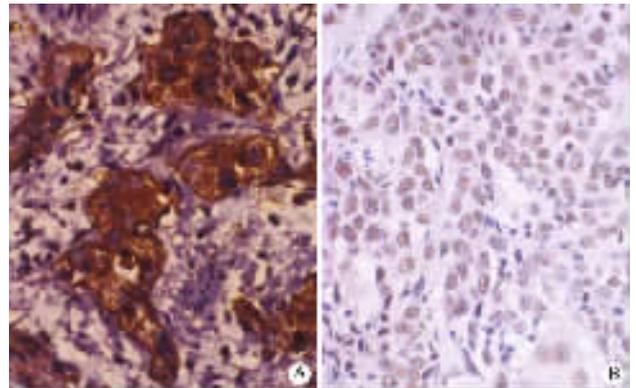
### 2.2 Galectin-3 表达与食管鳞癌病理的关系

Galectin-3 蛋白在临床分级为 I, II, III 级食管癌中的阳性率依次为 66.7%, 75.0% 和 100%。在低分化组分别高于高中分化组,差异有统计学意义( $P = 0.025$ ),提示 galectin-3 阳性率随食管癌病理分级上升而升高。且 galectin-3 表达的阳性率与癌症浸润深度及淋巴结转移有关( $P < 0.05$ , 表 1)。但是,galectin-3 蛋白表达与患者的年龄、性别、肿瘤大小及组织学类型无关。

表 1 食管鳞癌组织中 galectin-3 表达与肿瘤临床病理特征的关系

临床病理	n	Galectin-3 表达强度				阳性率 (%)
		-	+	++	+++	
病理分级						
I	30	10	13	5	2	66.7
II	32	8	7	10	7	75.0 <sup>a</sup>
III	18	0	2	4	12	100.0
浸润深度						
肌层	36	15	10	7	4	58.3
外膜	44	3	11	13	17	93.2 <sup>a</sup>
淋巴结转移						
无	46	17	16	8	5	63.0
有	34	1	4	13	16	97.1 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$ .



A: Galectin-3; B: MMP-2.

图 1 Galectin-3 和 MMP-2 在食管鳞癌组织中表达 SP × 400

### 2.3 Galectin-3 表达与 MMP-2 表达的关系

MMP-2 定位于细胞核和细胞质,以细胞质为主,阳性细胞胞核或胞质内出现棕黄色或棕褐色颗粒(图 1B)。MMP-2 阳性表达病例 galectin-3 阳性表达率为 86.2%, MMP-2 阴性表达病例 galectin-3 蛋白的阳性表达率为 54.5%,两者表达呈正相关( $r = 0.339$ ,  $P = 0.002$ )。

## 3 讨论

Galectins 是植物血凝素的一组,其功能具有多样性,参与许多生理过程,包括细胞生长、细胞黏附、炎症反应、免疫调节、肿瘤转化转移及细胞凋亡<sup>[1-2]</sup>。Galectin-3 广泛分布于正常细胞和肿瘤组织中。在甲状腺癌、头颈部鳞状上皮癌及胃癌中,galectin-3 的表达同其肿瘤的侵袭和转移密切相关<sup>[3-4]</sup>。但截至目前,国内外文献中关于 galectin-3 与食管鳞癌的关系

鲜有研究报道。本组 80 例食管鳞癌中, galectin-3 阳性表达的有 62 例, 总阳性率为 77.5%。Galectin-3 胞核染色提示细胞处于增生状态, 反映细胞分裂活跃, 与细胞增殖有关。Galectin-3 主要存在于细胞质中, 但是根据细胞类型和分化程度不同, 也可以出现在细胞表面、核内和细胞外间隙, 这说明 Galectin-3 能够通过细胞质进入细胞核内。本组 galectin-3 在正常食管上皮中也有少许表达, 阳性表达率为 27.3%, 在不同分化程度食管癌组织中都呈强表达。病理分级为 I, II, III 级的食管癌组织中 galectin-3 阳性表达率分别为 66.7%, 75.0%, 100%, 以 III 级的食管癌表达率最高。Galectin-3 染色强度与食管癌分化程度密切相关, 低分化肿瘤着色强度高于中等分化肿瘤, 中等分化又高于高分化肿瘤。本组研究不能证实 galectin-3 蛋白表达与病人的年龄、性别、肿瘤大小及肿瘤类型等因素有关, 但是 Galectin-3 的表达与食管癌的淋巴结转移以及局部浸润深度有相关性, 伴有淋巴结转移的癌中阳性表达率为 97.1%, 肿瘤浸润达食管外膜的阳性率显著高于仅浸润至管壁深肌层的。此外,

随着食管癌病程进展的加重, 其阳性染色强度相应增强, 有淋巴结转移的病例比无淋巴结转移的病例表现出更强的染色。这些都说明 Galectin-3 可能增加食管癌细胞的转移潜能<sup>[5]</sup>, 基于这一特性, 它可以被用作一种可靠的判断肿瘤转移的诊断标记物, 并且有希望成为临床癌症治疗的靶向蛋白之一。

## 【参考文献】

- [1] Yang RY, Liu FT. Galectins in cell and apoptosis [J]. Cell Mol Life Sci, 2003, 60(2): 267-276.
- [2] Liu FT, Patterson RJ, Wang JL. Intracellular functions of galectins [J]. Biochim Biophys Acta, 2002, 1572(2-3): 263-273.
- [3] Baldus SE, Zirbes TK, Weingarten M, et al. Increased galectin-3 expression in gastric cancer; correlations with histopathological subtypes, galactosylated antigens and tumor cell proliferation [J]. Tumour Biol, 2000, 21(5): 258.
- [4] Woo HJ, Joo HG, Song SW, et al. Immunohistochemical detection of galectin-3 in canine gastric carcinomas [J]. J Comp Pathol, 2001, 124(2-3): 216.
- [5] Nangia-Makker P, Honjo Y, Sarvis R, et al. Galectin-3 induces endothelial cell morphogenesis and angiogenesis [J]. Am J Pathol, 2000, 156: 899.

编辑 袁天峰

· 经验交流 · 文章编号 1000-2790(2008)04-0353-01

## 单孔钻颅引流治疗慢性硬膜下血肿 42 例

郭建松<sup>1</sup>, 张剑宁<sup>2</sup> (<sup>1</sup>解放军第 273 医院外三科, 新疆 库尔勒 841000, <sup>2</sup>第四军医大学西京医院神经外科, 陕西 西安 710033)

【关键词】血肿 硬膜下 慢性 单孔钻颅 治疗效果

【中图分类号】R651.15 【文献标识码】B

**1 临床资料** 本组 42(男 30, 女 12)例, 年龄 40~70(平均 58.6)岁, 病史 1~3 mo。头痛 40 例, 头晕 12 例, 意识障碍 8 例, 肢体轻瘫 15 例。所有病例均经头颅 CT 扫描确诊。其中单侧 40 例, 双侧 2 例, 血肿均位于额颞顶部, 平均血肿量约 80 mL。术前 CT 定位确定最大血肿层面中点为钻孔点, 调整患者体位使该点处于最高位。局部麻醉, 切开头皮直至骨膜, 乳突牵开器牵开, 颅骨钻孔, 电灼硬脑膜表面血管, “十”字形切开硬脑膜及血肿外膜, 可见暗黑色血液溢出, 将无菌硅胶引流管(直径 4 mm)向前置入血肿腔, 见引流管内引流通畅, 不冲洗血肿腔, 明胶海绵堵塞骨孔, 止血后逐层缝合皮下、头皮。术后常规补液, 不脱水。术后 72 h 复查头颅 CT 并拔管。结果本组术后病情均获明显改善。术后 72 h 复查 CT, 1 例硬膜下积液量较多。术后 2 wk 复查 CT, 仅 1 例有少量积液。术后随访 3 mo 2 例复发, 再次钻孔引流。

**2 讨论** 慢性硬膜下血肿绝大多数有轻微头部外伤史, 尤以中老年人前额或枕部着力时, 脑组织在颅腔内移动度较大, 桥

静脉撕裂所致, 其次为静脉窦、蛛网膜颗粒受损出血, 非外伤性慢性硬膜下血肿少见<sup>[1]</sup>。确诊方法以头颅 CT 为首选, 结合受伤史, 不难诊断。治疗方法多以单孔或双孔钻孔冲洗引流、开颅骨瓣成形血肿清除等, 前者基于慢性硬膜下血肿形成机制而产生, 因简单、安全、快捷、有效多为临床采用, 尤以单孔钻孔引流常用。术中应注意: 保持钻孔处于血肿腔最高位, 可使血肿腔始终充满液体, 颅内保持相对稳定, 避免了颅内压骤降而出现意外情况, 并能避免术后颅内积气, 置入硅胶管时, 动作应轻柔, 避免对脑组织及脑表面血管的意外损伤出血, 硅胶管置于血肿腔最低位(仰卧位), 可以彻底排出积血积液。

目前, 钻孔冲洗引流术是治疗慢性硬膜下血肿的首选方法, 但术后常有慢性硬膜下积液、新鲜出血致血肿复发。原因多考虑为置管后冲洗时力量用力过大, 冲洗过多, 引起桥静脉断裂所致, 而术中又未能及时发现<sup>[2]</sup>, 置管损伤或冲洗时可能冲破蛛网膜, 使蛛网膜下腔与血肿腔相通, 导致术后硬膜下积液<sup>[3]</sup>。本组采用单孔钻孔单纯引流(置管后不冲洗), 有效防止了硬膜下血肿的发生, 治愈率 95.2%, 复发率 4.8%。复发原因多考虑为老年患者脑萎缩, 术后复位较困难, 未能保持引流通畅。

综上所述, 单孔钻孔引流治疗慢性硬膜下血肿方法具有操作简便、效果显著、无严重并发症, 是治疗慢性硬膜下血肿的首选方法。

## 【参考文献】

- [1] 王忠诚. 神经外科学 [M]. 武汉: 湖北科学技术出版社, 1998: 334-338.
- [2] 张庆林. 神经外科手术规范及典型病例点评 [M]. 济南: 山东科学技术出版社, 2004: 86-89.
- [3] 李军, 刘万山, 郭世文. 单孔钻颅引流术治疗慢性硬膜下血肿 80 例临床分析 [J]. 中华神经外科疾病研究杂志, 2007, 6(5): 463.

编辑 袁天峰

收稿日期 2007-12-31; 接受日期 2008-01-10

作者简介 郭建松, 本科, 住院医师. Tel (029) 84775322