

bFGF 及 KGF 的 mRNA 的表达 与口腔粘膜上皮癌变的关系

金 岩 邓志宏 Tipoe GL White FH

摘要 采用原位杂交方法观察了角质细胞生长因子(KGF)与成纤维细胞生长因子(bFGF)在颊粘膜异常增生(DYS)及鳞状细胞癌(SCC)中的表达,并进行了分析。结果表明,在DYS及SCC间质中均检测到KGF和bFGF mRNA的表达,上皮细胞未见阳性表达,阳性反应部位位于血管内皮细胞、成纤维细胞,此外部分慢性炎细胞也见阳性反应。SCC组的阳性表达率和程度均比DYS增强。此结果提示:bFGF和KGF不仅可以通过自分泌和旁分泌的方式促进间质中新生血管及间质的形成,而且可能参与促进肿瘤细胞生长。

关键词 bFGF KGF 口腔粘膜 癌 原位杂交

肿瘤的发生是维持正常组织细胞结构和功能的一系列因素变化的结果,其中涉及癌基因和抑癌基因、生长因子及分子信号的调控、组织微环境等的变化,这些变化也正是人们认识和研究肿瘤发生的客观依据。已有研究证实,成纤维细胞生长因子超家族(fibroblast growth factors, FGFs)不仅参与胚胎发育、损伤修复、血管生成等多种重要的生理和病理生理过程,而且在肿瘤的发生、发展中发挥着重要作用¹⁻⁶。FGFs是包括9个成员的肽类生长因子,其中包括bFGF(basic FGF)及角质细胞生长因子(keratinocyte growth factor, KGF)^{5,6}。bFGF是内皮细胞生长因子,可以促进血管的新生,此外对于上皮细胞,尤其是肿瘤性上皮细胞有刺激作用^{1,2,6}。KGF是由中胚层间充质来源的细胞产生,也可以特异性刺激上皮细胞的增殖^{3,4,6,7}。可见bFGF及KGF可能是对于表皮组织具有协同作用的生长因子。目前人们已分别在消化道肿瘤、肝癌、肾上腺癌、膀胱癌等肿瘤中检测到KGF和bFGF mRNA或其蛋白的表达¹⁻⁴。但是,目前对这两个生长因子是否在肿瘤发生中具有协同作用缺乏认识,与口腔上皮癌变的关系也缺乏了解,这也正是本研究拟解决的问题。

1 材料和方法

1.1 标本的制备

选用人颊部粘膜标本,包括异常增生(简称DYS)6例,鳞状细胞癌(简称SCC)22例。SCC组根据细胞分化、角化、

核分裂等指标分为3级,其中I级为分化程度高的SCC(为SCC1组)10例,II级为中等分化的SCC(为SCC2组)8例,III级为分化差的SCC(为SCC3组)4例。所有上述标本均为10%福尔马林液固定、石蜡包埋、切片(厚5 μ m)。

1.2 探针及标记

bFGF和KGF均为人性寡聚核苷酸探针(Oncogene Science公司产品),探针的标记按照DIG-Oligo-3'末端标记试剂盒(Boehringer Mannheim Biochemical产品)。

1.3 原位杂交

石蜡切片常规脱蜡至DEPC水及0.1 mol/L PBS(pH 7.4)后,分别用0.2 mol/L HCl和蛋白酶K处理,梯度酒精脱水后室温干燥组织片。42 $^{\circ}$ C杂交20 h后,分别经2 \times SCC、1 \times SCC、buffer I、buffer II依次充分洗涤。正常羊血清封闭50 min后,滴加抗标记碱性磷酸酶地高辛抗体30 min(37 $^{\circ}$ C),经buffer I、buffer III洗涤后用显色液(buffer III 1000 μ l 左旋米唑0.24 mg、NBT 4.5 μ l及BCIP 3.5 μ l)暗处显色2 h,TE液(10 mmol/L Tris-HCl, 1 mmol/L EDTA, pH 8.0)终止反应,常规脱水透明封片。

实验对照为除去探针的空白对照及RNase消化对照,阳性对照为已反复证明为有阳性反应的鳞癌标本。

2 结果

bFGF及KGF的mRNA阳性反应部位均主要位于胞浆,为蓝紫色细颗粒状。各观察组中的上皮细胞均为bFGF及KGF mRNA阴性着色。

作者单位:710032 第四军医大学口腔医院病理科(金岩), 710032 西京医院耳鼻喉科(邓志宏), 香港大学医学院解剖学系(Tipoe GL, White FH)

2.1 bFGF的mRNA表达

bFGF在DYS组中,mRNA表达部位主要位于血管内皮细胞和部分胞体比较肥大的成纤维细胞,部分浆细胞和巨噬细胞也为阳性(图1)。在SCC中,阳性反应程度较DYS组略有增强。在SCC中,由于新生微血管数量增加,肿瘤细胞周围间质中的血管内皮细胞阳性数量及程度较DYS明显增多、变强,成纤维细胞、炎细胞(尤其是巨噬细胞)的阳性数量亦增多,反应强度增强(图2);肿瘤间充质细胞的bFGF表达在分化差的SCC较分化好的SCC阳性反应程度稍强。

2.2 KGF的mRNA表达

KGF mRNA转录情况,在DYS中,阳性反应主要位于血管内皮细胞和部分成纤维细胞,部分巨噬细胞也为阳性(图3)。在SCC中,肿瘤细胞周围间质中的成纤维细胞、血管内皮细胞、巨噬细胞的阳性数量明显增多,尤其以血管内皮阳性反应程度增强明显(图4)。分化差的SCC周围间质中的阳性程度较分化好的SCC有所增强。

3 讨 论

关于bFGF与肿瘤细胞的关系,由于观察方法的不同和观察组织细胞的部位和类型不同,结果有一定的差异。Iida等⁸在13例人食道癌细胞系中均检测到bFGF mRNA及其受体FGFR1/N⁻sam mRNA的表达,而在7例人胃癌细胞系中仅有一例检测到bFGF mRNA的表达,3例有bFGF受体的表达。Li等¹的研究显示,胃癌中可检测到bFGF mRNA的表达,而在结肠癌细胞中bFGF mRNA的表达为阴性,而其固有层淋巴及肿瘤间质中均检测到bFGF mRNA的表达。本研究结果表明,bFGF mRNA主要在颊粘膜DYS和口腔SCC间质中的血管内皮细胞、成纤维细胞和部分炎细胞中表达,而在上皮性细胞中的表达为阴性。

目前对于KGF与肿瘤的关系的研究尚不如对bFGF的研究详尽。Iida等³用Northern Blot分析方法在人食道癌细胞系及胃癌细胞系中虽均未检测到KGF mRNA,但检测到其受体K⁻sam mRNA的表达。Ishii等⁴观察到所有上皮来源的肿瘤细胞系均出现KGF受体K⁻sam的转录,而非上皮来源的肿瘤细胞或肉瘤细胞均不表达。已有的研究认为KGF主要由成纤维细胞表达⁶。本研究结果显示,

颊粘膜DYS及口腔SCC的上皮性细胞均不表达KGF,KGF mRNA的表达主要位于间质中的成纤维细胞、成纤维细胞和巨噬细胞。

研究表明,KGF和bFGF mRNA在分化差的SCC周围间质中表达较分化好的SCC增强,表明这两种生长因子可能与口腔鳞癌的分化程度有关。

bFGF和KGF在正常口腔粘膜中,不能由上皮细胞产生和分泌,主要由间质中的细胞产生,可以自分泌或旁分泌生长方式维持着组织的生长,尤其是参与维持结缔组织中的血管和成纤维细胞生长;此外不仅可以旁分泌作用方式直接刺激上皮增殖,而且通过促进血管和纤维组织的生长以支持上皮细胞的生长并给上皮提供丰富的营养物质基础。这种上皮与间质细胞之间的交互作用,是维持正常组织结构、促进损伤修复的重要机制,也是肿瘤细胞赖以生存的基础。bFGF及KGF对口腔粘膜的癌前病变和癌变关系密切,其表达可直接参与影响癌细胞的生长、浸润。但是,bFGF及KGF的表达与口腔癌变的预后的关系尚需进一步的研究证实。(本文图见中心插页3)

4 参考文献

- 1 Li D, Bell J, Brown A, et al The observation of angiogenin and basic fibroblast growth factor gene expression in human colonic adenocarcinomas, gastric adenocarcinomas and hepatocellular carcinomas J Pathol, 1994, 172: 171
- 2 Allen LE, Maher PA. Expression of basic fibroblast growth factor and its receptor in an invasive bladder carcinoma cell line J Cell Physiol, 1993, 155: 368
- 3 Iida S, Katoh O, Tokunaga A, et al Expression of fibroblast growth factor gene family and its receptor gene family in the human upper gastrointestinal tract. Biochem Biophys Res Commun, 1996, 199: 1113
- 4 Ishii H, Hattori Y, Itoh H, et al Preferential expression of the third immunoglobulin-like domain of K⁻sam product provides keratinocyte growth factor-dependent growth in carcinoma cell line Cancer Res, 1994, 54: 518
- 5 Finch PW, Rubin JS, Miki T, et al Human KGF is FGF-related with properties of a paracrine effector of epithelial cell growth. Science, 1989, 245: 752
- 6 Potgens AJG, Westphal HR, de Waal RMW, et al The role of vascular permeability factor and basic fibroblast growth factor in tumor angiogenesis. Biol Chem Hoppe-Seyler, 1995, 376: 57

7 Wu L, Pierce GF, Galiano RD, et al Keratinocyte growth factor induces granulation tissue in ischemic dermal wounds Arch Surg, 1996, 131: 660

8 Iida S, Katoh O, Tokunaga A, et al Expression of

fibroblast growth factor gene family and its receptor gene family in the human upper gastrointestinal tract Biochem Biophys Res Commun, 1996, 199: 1113

(1997- 04- 29 收稿)

Relationship Between the mRNA Transcriptions of bFGF and KGF in the Carcinogenesis of Oral Mucosa

Jin Yan

Department of Oral Pathology, Qindustan Anatomical College

Deng Zhihong

Department of Otolaryngeal, Xijing Hospital of the Fourth Military Medical University

Tipoe GL, White FH

Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Hong Kong University

Abstract

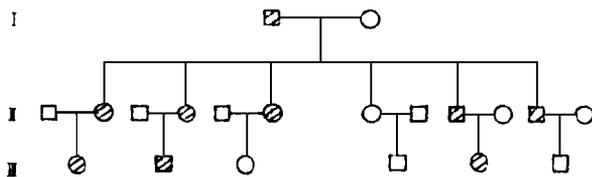
The aim of the study was to determine the expressions and effects of KGF and bFGF of FGF superfamily in oral mucosa. The mRNA transcriptional levels of bFGF and KGF in dysplasia (DYS) and squamous cell carcinoma (SCC) of buccal mucosa were observed and evaluated by in situ hybridization method. The results showed that bFGF and KGF mRNA were expressed by the mesenchymal cells in both DYS and SCC groups, but not in any of the epithelial cells. The positive reactions were located in fibroblasts, endothelial cells and some of the chronic inflammatory cells. There is an increasing mRNA transcriptional level in SCC than in DYS. The results indicated that bFGF and KGF may not only enhance the neovascularization and formation of stroma by autocrine and paracrine action, but also involved in the growth of neoplastic cells.

Key words: bFGF KGF oral mucosa carcinogenesis in situ hybridization

夜磨牙症高发家系一例报告

邓礼辉 唐荣

患者王某某, 男性, 9岁, 因上前牙拥挤要求矫治就诊。询问病史, 患儿母亲叙述该患儿有夜磨牙症, 其初次发病时间约在2岁。追问病史, 家族中多人患有此症, 其家族系谱图见附图。



因素、中枢神经机制和其他如内分泌紊乱、变态反应、血压改变、血糖和血钙浓度的改变、胃肠功能紊乱等等各种理论。对于遗传因素在夜磨牙症中的作用, 除1940年Buting认为有遗传因素外, 至今仍未得到国内外的肯定。该例家系3代均有人发病, 发病不受性别影响, 9例患者中男性4例, 女性5例。根据遗传学分析, 该例应属常染色体显性遗传。因此, 笔者认为遗传因素应是夜磨牙症的一个病因之一, 只是其具体机制, 如是 方面还是中枢神经系统方面或是精神心理方面的遗传因素等, 还有待于进一步研讨。

(1997- 11- 25 收稿)

附图 夜磨牙症高发家系谱

讨论 夜磨牙症的病因机制至今尚无确切的结论, 有

作者单位: 637000 四川省南充中心医院