

论著

文章编号:1000-5404(2013)19-2056-04

肠分化细胞黏蛋白 O-型糖链合成抑制导致 MUC2 表达减低以及对细菌侵袭易感

叶 钧,宋丽丽,刘 韵,田 音,潘 琼,彭志红,汪荣泉 (400038 重庆,第三军医大学西南医院全军消化病研究所)

[摘要] **目的** 探讨 O-型糖链合成的抑制对肠分化细胞内细菌侵袭数量和细胞内 MUC2 表达水平的影响。**方法** 对肠分化细胞(HT-29-Gal)用 O-型糖链抑制剂(benzyl-N-acetyl- α -D-galactosaminide, benzyl- α -GalNAc)处理,采用 Real-time PCR 和 Western blot 检测 MUC2 mRNA 和蛋白的表达情况。并将 HT-29-Gal 细胞及 benzyl- α -GalNAc 处理的 HT-29-Gal 细胞分别与肠致病性大肠杆菌(enteropathogenic *E. coli*, EPEC)和肠出血性大肠杆菌(EHEC O157:H7) 37 °C 孵育 2 h, 再加入 100 μ g/mL 的庆大霉素,杀灭细胞外及粘附于细胞表面的细菌。最后采用系列稀释克隆计数法观察 benzyl- α -GalNAc 处理的 HT-29-Gal 细胞对细菌侵袭的影响。**结果** Real-time PCR 和 Western blot 检测发现经 benzyl- α -GalNAc 处理的 HT-29-Gal 细胞 MUC2 的 mRNA 和蛋白表达水平明显降低($P < 0.05$)。侵袭入 benzyl- α -GalNAc 处理的 HT-29-Gal 细胞的 EPEC 和 EHEC O157:H7 的数量较对照细胞显著增加($P < 0.05$)。**结论** 抑制 HT-29-Gal 细胞黏蛋白 O-型糖链的合成导致侵袭入细胞内细菌数量增加和 MUC2 的表达降低。

[关键词] O-型糖链; benzyl- α -GalNAc; HT-29-Gal 细胞

[中图法分类号] R322.45; R329.26; R392.32

[文献标志码] A

Inhibition of O-glycan chains synthesis in intestinal differentiated epithelial cells induces lower MUC2 expression and susceptibility to bacterial invasion

Ye Jun, Song Lili, Liu Yun, Tian Yin, Pan Qiong, Peng Zhihong, Wang Rongquan (Institute of Gastroenterology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

[Abstract] **Objective** To determine the effect of inhibiting O-glycan chains synthesis in intestinal differentiated epithelial cells on the bacteria invasion into the cells and MUC2 expression. **Methods** The intestinal differentiated cell line HT-29-Gal was treated with O-glycan chains synthesis inhibitor, benzyl-N-acetyl- α -D-galactosaminide (benzyl- α -GalNAc). The expression of MUC2 at mRNA and protein levels was detected by real-time PCR and Western blotting. The HT-29-Gal cells treated with or without benzyl- α -GalNAc were co-cultured with enteropathogenic *E. coli* (EPEC) and enterohemorrhage *E. coli* (EHEC O157:H7) for 2 h, then the gentamicin (100 μ g/mL) was added in the culture medium for 2 h to exclude extracellular and cellular surface-adherent bacteria after 3 times of washing with PBS. Finally, serial dilution cloning counting was used to observe the numbers of invaded bacteria into the HT-29-Gal cells treated with or without benzyl- α -GalNAc. **Results** Real-time PCR and Western blotting indicated that the mRNA and protein Levels of MUC2 were significantly lower in HT-29-Gal cells treated with the benzyl- α -GalNAc than the untreated HT-29-Gal cells ($P < 0.05$). The numbers of EPEC and EHEC O157:H7 invaded into the HT-29-Gal cells exposed to benzyl- α -GalNAc were significantly larger than those untreated ($P < 0.05$). **Conclusion** Inhibition of O-glycan chains synthesis in HT-29-Gal cells leads more bacteria to invade into the cells and lower expression of MUC2 at both mRNA and protein levels.

[Key words] O-glycan chains; benzyl- α -GalNAc; HT-29-Gal cells

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (81170340). Corresponding author: Wang Rongquan, Tel: 86-23-68754124, E-mail: rongquan@ hotmail. com

肠道黏液屏障是机体胃肠道接触外部环境的一线防御屏障,面积达 200 ~ 300 m²,此屏障将 10¹³ ~ 10¹⁴ 个

肠道细菌和各种消化液固定于肠腔内,其主要由黏蛋白组成,根据糖蛋白糖链与蛋白部分的氨基酸残基的连接不同,分为 O-型糖链和 N-型糖链,而黏蛋白分子质量的 60% 是由 O-型糖链(少量 N-型糖链)组成。因此黏蛋白的功能与其分子上的 O-型糖链密切相关。

MUC2 由肠道杯状细胞分泌,是形成肠道黏液屏

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81170340)

[通信作者] 汪荣泉,电话:(023)68754124, E-mail: rongquan@ hotmail. com

[优先出版] <http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20130410.1712.014.html>(2013-04-10)

障的主要成分^[1-2],也是形成肠道黏液层的骨架成分^[3]。近年来,人们对 MUC2 及其 O-糖基化的功能进行了深入的研究。发现肠道黏蛋白 MUC2 的 O-糖基化的改变与炎症性肠病的炎症程度存在密切相关^[4];凝胶形成型黏蛋白 MUC2 及其 O-型糖基化可以防止结肠炎和结肠癌^[5]。一些特定 O-型糖链缺失的小鼠易导致结肠炎^[6-8]。但是,有关黏蛋白 O-型糖链在维持肠道黏液屏障完整性方面的作用仍不清楚。本研究对结肠 HT-29-Gal 细胞采取 benzyl- α -GalNAc 抑制黏蛋白 O-型糖链的形成,通过 EPEC 和 EHEC O157:H7 对其侵袭,来探讨黏蛋白 O-型糖基化对维持肠黏液屏障完整性的作用。

1 材料与方法

1.1 主要材料与仪器

人结肠癌细胞株 HT-29 购自中国科学院上海细胞库;葡萄糖、半乳糖和 Trizol 均购自 Invitrogen 公司;庆大霉素购自西南药业股份有限公司;Triton X-100 购自北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司;致病性大肠杆菌 EPEC 和出血性大肠杆菌 EHEC O157:H7 由第三军医大学微生物教研室毛旭虎教授赠送;benzyl- α -GalNAc 购自 Santa Cruz 公司;抗 MUC2 多克隆抗体通过用脱糖基化的肠黏蛋白免疫新西兰兔所获得,该抗体所能识别的抗原表位是 DEWLVDPSKPHC,而该表位在大鼠和人 MUC2 分子的羧基端保守存在^[9],荧光定量 PCR 仪购自 Bio-Rad 公司。

1.2 细胞培养、细胞系的建立

HT-29 细胞以含 10% 胎牛血清的 Macoy's 5A 完全培养基进行常规培养,当细胞处于对数生长期时消化、离心细胞,调整细胞浓度,接种于培养瓶中,然后用含 10% 胎牛血清和 25 mmol/L 葡萄糖的 Macoy's 5A 培养基进行培养,当细胞生长融合至 60% 时,继续培养 48h,用无葡萄糖但含 10% 胎牛血清和 5 mmol/L 半乳糖的 Macoy's 5A 培养基进行培养,并每天换液,用半乳糖取代葡萄糖的无葡萄糖培养基培养 7 d,诱导结肠癌 HT-29 细胞分化,从而得到分化型的 HT-29-Gal 细胞^[10-11]。当细胞处于对数生长期时,消化、离心细胞,调整细胞浓度,接种至 6 孔板中,将 2 nmol/L 浓度的 benzyl- α -GalNAc 加入培养基,并每天换液,抑制 7 d^[12-14]。得到 O-型糖链被抑制的细胞并将该细胞命名为 HT-29-Gal-Obn。

1.3 细菌侵袭实验

将处于对数生长期的 HT-29-Gal 和 HT-29-Gal-Obn 细胞消化、离心,调整细胞浓度,接种于 24 孔培养板,当细胞融合至单层时,用 PBS 清洗 3 次,加入含 5 mmol/L 半乳糖但无葡萄糖、10% 胎牛血清和抗生素的 Macoy's 5A 培养基,37 °C 培养 2 h,使其适应无血清培养基,再在每个培养孔中分别加入 EPEC 和 EHEC O157:H7 (10^6 CFU / 0.1 mL PBS, pH 7.4),37 °C 共孵育 2 h。用冷 PBS (pH 7.4) 清洗 3 次,去除未粘附的 EPEC、EHEC O157:H7,并抑制粘附的细菌进一步生长繁殖;加入含 100 μ g/mL 的庆大霉素,37 °C 培养 2 h,以彻底杀灭细胞外及粘附于细胞表面的细菌,再用冷 PBS (pH 7.4) 清洗 3 次,每次 5 min,然后每孔加入 200 μ L 0.25% 的胰酶和 0.025% Triton X-100,37 °C 孵育 10 min,以破裂单层细胞和释放出胞内的细

菌^[15]。最后,按梯度稀释涂在 MacConkey 琼脂板上,37 °C 静置过夜,用菌落计数法定量侵袭入细胞内的细菌数目。

1.4 Real-time PCR 实验检测 MUC2 mRNA 水平表达

HT-29-Gal 细胞和 HT-29-Gal-Obn 细胞 RNA 的提取及逆转录参照文献^[16]报道。荧光定量 PCR 采用两步法,反应条件为:95 °C \times 2 min,95 °C \times 5 s,60 °C \times 20 s 40 个循环。MUC2 正向引物 5'-GGGGAGTGTCTGTAAGAAGTGTGA-3',反向引物 5'-GTTGGAGACGGACGAGATGAG-3',产物长度为 165 bp;GAPDH 正向引物 5'-AGAAGGCTGGGGCTCATTTG-3',反向引物 5'-AGG-GGCCATCCACAGTCTTC-3',产物长度为 258 bp。

1.5 Western blot 实验检测细胞 MUC2 的蛋白表达

HT-29-Gal 细胞和 HT-29-Gal-Obn 细胞蛋白的提取及 BCA 法定量蛋白浓度具体方法参照文献^[16]报道,上样 20 μ g,电泳,转膜,TBS 洗膜 5 min 后,用含 0.5% BSA 的蛋白奶粉 37 °C 封闭 2 h,加一抗(1:1 000),4 °C 过夜,TBST 洗膜 10 min \times 4 次,加山羊抗兔二抗(1:2 000),室温孵育 70 min,TBST 洗膜 20 min \times 4 次,显色、成像。

1.6 统计学处理

利用 SPSS 18.0 统计软件,采用配对样本 t 检验分析 benzyl- α -GalNAc 处理前后的改变,实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

2 结果

2.1 细菌侵袭实验结果

为了探讨 O-型糖链在维持肠黏液屏障的作用,我们采用 benzyl- α -GalNAc 作为 O-型糖链合成的抑制剂。因 HT-29-Gal 单层细胞具有很好模拟肠黏液屏障的特性,所以将 HT-29-Gal 细胞作为研究模型。通过 EPEC 和 EHEC O157:H7 两株细菌与 HT-29-Gal 单层细胞共孵育,通过菌落计数来评估细菌侵袭入细胞的改变。EPEC 侵袭入 HT-29-Gal-Obn 细胞培养形成的菌落数为(550 \pm 61) CFU,EPEC 侵袭入 HT-29-Gal 细胞培养形成的菌落数为(320 \pm 35) CFU,两者相比,前者明显高于阴性对照的 HT-29-Gal 细胞 ($P < 0.05$);EHEC O157:H7 侵袭入 HT-29-Gal-Obn 细胞培养形成的菌落数为(950 \pm 95) CFU,EHEC O157:H7 侵袭入 HT-29-Gal 细胞培养形成的菌落数为(410 \pm 41) CFU,两者相比,前者明显高于阴性对照的 HT-29-Gal 细胞 ($P < 0.05$),即 EPEC、EHEC O157:H7 侵入 HT-29-Gal-Obn 细胞培养形成的菌落数均明显高于其阴性对照的 HT-29-Gal 细胞。

2.2 Real-time PCR 检测 MUC2 mRNA 水平表达

用 benzyl- α -GalNAc 抑制 O-型糖链合成后,我们应用 Real-time PCR 检测 MUC2 表达的改变。HT-29-Gal-Obn 细胞内的 MUC2 mRNA 相对表达水平为(0.623 \pm 0.107),与阴性对照的 HT-29-Gal 细胞的 MUC2 mRNA 相对表达水平(1.094 \pm 0.157)相比,明显降低 ($P < 0.05$)。

2.3 Western blot 检测 MUC2 蛋白表达情况

为了明确 O-型糖链合成抑制是否能减少 HT-29-Gal 细胞内的 MUC2 蛋白水平,我们运用 Western blot 检测其 MUC2 蛋白表达。benzyl- α -GalNAc 处理的 HT-29-Gal 细胞中 MUC2 的表达水平低于其阴性对照的 HT-29-Gal 细胞;进一步半定量分析结果显示,HT-29-Gal-Obn 细胞内 MUC2/ β -actin 的相对比值为(0.029 \pm 0.005),与阴性对照的 HT-29-Gal 细胞内 MUC2/ β -actin 的相对比值(0.050 \pm 0.008)相比,表达水平明显降低 ($P < 0.05$)。见图 1。

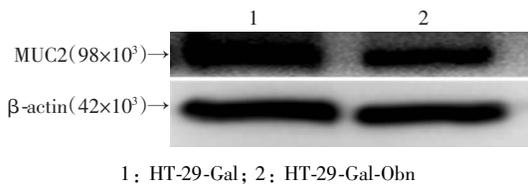


图 1 Western blot 检测 benzyl- α -GalNAc 处理的 HT-29-Gal 细胞 MUC2 蛋白的表达

3 讨论

肠黏液屏障作为机体的一线防御屏障,在人体生命活动过程中起着至关重要的作用。近年来,随着生活水平的提高导致饮食结构的改变,肠黏液屏障受损的疾病(如溃疡性结肠炎)发病率不断上升,严重危害人类身体健康及生活质量。由于此类疾病的病因尚不清楚,治疗上面临巨大的挑战。因此,明晰此类疾病病因及其有效治疗方式刻不容缓。

黏蛋白是组成黏液屏障的主要成分^[1-2],编码蛋白包含有高度 O-型糖基化的可变数目随机重复序列(VNTR),而黏蛋白分子的特点之一是 VNTR 序列内的高丰度的丝氨酸、苏氨酸和脯氨酸位点上的 O-型糖链,黏蛋白的功能与其分子上的 O-型糖链密切相关,该类分子翻译后的 O-型糖基化在调节真核生物的生物学功能上起关键的作用。因此,研究黏蛋白分子上丰富的并且决定其生物学功能的 O-型糖链与病原微生物之间的相互作用,可以进一步理解宿主与病原微生物之间的相互联系。

目前研究肠道黏液屏障只能在动物水平。有研究提示肠杯状细胞所分泌的 TFF3、MUC2 羧基端和 IgGFc γ BP 羧基端在黏液层以共价键为基础相互结合在一起是黏液屏障的一种物质基础^[17]。而常用的结肠上皮来源的细胞株,如 HT-29 和 Caco-2 细胞,不能形成黏液层。所以改变黏液层的 O-型糖链而改变不同性质的黏液层(即具有不同 O-型糖链的黏液层)成为该领域研究不可逾越的障碍。本研究选用的 HT-29-Gal 细胞,为 HT-29 高分化类型,具有分泌黏液的杯状细胞的特性^[10-11],所分泌的黏液层可以模拟肠黏液屏障,同时单层的融合上皮可以模拟肠黏膜上皮的构造,克服了只能在动物水平研究肠道黏液屏障的难题,同时克服了 O-glycan 缺陷动物模型的多器官、多细胞、多蛋白及其蛋白合成多阶段的影响,这样可以在一个更为确切的模型内研究肠道黏液层内黏蛋白的 O-型糖链与肠道病原体之间的相互作用。

本研究采用 benzyl- α -GalNAc 抑制单层 HT-29-Gal 细胞的 O-型糖链形成,然后观察 EPEC 和 EHEC O157:H7 侵袭入单层的 HT-29-Gal 细胞的数量改变,以明确 O-型糖链在保护细胞抵抗细菌侵袭入细胞的

作用。我们的实验结果显示:单层的 HT-29-Gal-Obn 细胞细菌侵袭入细胞内的数量明显高于单层 HT-29-Gal 细胞。这表明黏蛋白 O-型糖链的合成与细菌的侵袭密切相关。这或许是抑制黏蛋白 O-型糖链的形成后,黏液屏障的完整性遭到破坏,这才使得穿透单层 HT-29-Gal 细胞并进入该细胞内的细菌量增加。同时,也有文献报道:部分特定的糖链可以成为病原微生物定植黏液层的位点,成为联结细胞与环境相互交通信号的一个生物平台^[17-19];一些特定 O-型糖链缺失的小鼠易导致结肠炎^[6-8]。但是,其具体机制有待进一步研究。

MUC2 为凝胶形成型黏蛋白,由杯状细胞合成后,通过囊泡运输到细胞外参与形成黏液屏障。我们运用 Real-time PCR 和 Western blot 均检测到 HT-29-Gal-Obn 细胞的 MUC2 的表达量相对于对照组均降低。其原因可能为调节 MUC2 合成过程中的一些酶含有 O-型糖链,被 benzyl- α -GalNAc 所抑制,导致酶的活性降低有关。

本研究采用 benzyl- α -GalNAc 抑制的是所有 O-型糖链的合成,O-型糖链包括 core1、core2、core3、core4 四种^[8],在黏液屏障中起作用的到底是哪一种或几种,我们正在积极研究中。综上所述,我们通过黏蛋白 O-型糖链合成抑制入手研究黏液屏障与病原微生物之间的相互作用,发现了黏蛋白 O-型糖链在维持黏液屏障完整性中有重要作用。不仅为将来治疗与肠黏液屏障损伤有关的疾病提供了新的线索,而且丰富了人们对 O-型糖链的认识,并为将来的药物靶点设计提供了依据。

参考文献:

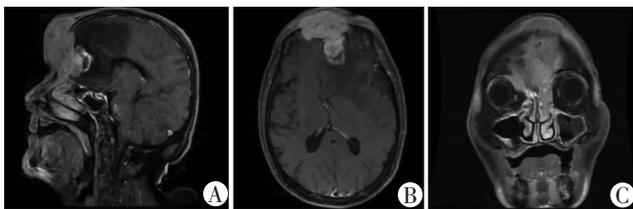
- [1] Johansson M E, Larsson J M, Hansson G C, *et al.* The two mucus layers of colon are organized by the MUC2 mucin, whereas the outer layer is a legislator of host-microbial interactions[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(Suppl 1): 4659 - 4665.
- [2] Gum J R Jr, Hicks J W, Toribara N W, *et al.* Molecular cloning of human intestinal mucin(MUC2)cDNA. Identification of the amino terminus and overall sequence similarity to prepro-von Willebrand factor[J]. *J Biol Chem*, 1994, 269(4): 2440 - 2446.
- [3] Johansson M E, Ambort D, Pelaseyed T, *et al.* Composition and functional role of the mucus layers in the intestine[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2011, 68(22): 3635 - 3641.
- [4] Larsson J M, Karlsson H, Crespo J G, *et al.* Altered O-glycosylation profile of MUC2 mucin occurs in active ulcerative colitis and is associated with increased inflammation[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2011, 17(11): 2299 - 2307.
- [5] Kawashima H. Roles of the gel-forming MUC2 mucin and its O-glycosylation in the protection against colitis and colorectal cancer[J]. *Biol Pharm Bull*, 2012, 35(10): 1637 - 1641.
- [6] An G, Wei B, Xia B, *et al.* Increased susceptibility to colitis and colorectal tumors in mice lacking core 3-derived O-glycans[J]. *J Exp Med*, 2007, 204(6): 1417 - 1429.

- [7] Fu J, Wei B, Wen T, *et al.* Loss of intestinal core 1-derived O-glycans causes spontaneous colitis in mice[J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(4): 1657 - 1666.
- [8] Stone E L, Ismail M N, Lee S H, *et al.* Glycosyltransferase function in core 2-type protein O glycosylation[J]. *Mol Cell Biol*, 2009, 29(13): 3770 - 3782.
- [9] Xu G, Huan L J, Khatri I A, *et al.* cDNA for the carboxyl-terminal region of a rat intestinal mucin-like peptide[J]. *J Biol Chem*, 1992, 267(8): 5401 - 5407.
- [10] Mack D R, Hollingsworth M A. Alteration in expression of MUC2 and MUC3 mRNA levels in HT29 colonic carcinoma cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1994, 199(2): 1012 - 1018.
- [11] Gout S, Marie C, Laine M, *et al.* Early enterocytic differentiation of HT-29 cells: biochemical changes and strength increases of adherens junctions[J]. *Exp Cell Res*, 2004, 299(2): 498 - 510.
- [12] Huang J, Byrd J C, Yoon W H, *et al.* Effect of benzyl-alpha-GalNAc, an inhibitor of mucin glycosylation, on cancer-associated antigens in human colon cancer cells[J]. *Oncol Res*, 1992, 4(11/12): 507 - 515.
- [13] Ricciuto J, Heimer S R, Gilmore M S, *et al.* Cell surface O-glycans limit *Staphylococcus aureus* adherence to corneal epithelial cells[J]. *Infect Immun*, 2008, 76(11): 5215 - 5220.
- [14] Ulloa F, Franci C, Real F X. GalNAc-alpha-O-benzyl inhibits sialylation of de Novo synthesized apical but not basolateral sialoglycoproteins and blocks lysosomal enzyme processing in a post-trans-Golgi network compartment[J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(25): 18785 - 18793.
- [15] Nizet V, Smith A L, Sullam P M, *et al.* A simple microtiter plate screening assay for bacterial invasion or adherence[J]. *J Methods Cell Sci*, 1998, 20(1/4): 107 - 111.
- [16] 李晓桓,朱蓉,田音,等. 干扰结肠癌上皮细胞 Ascl2 的表达致其向杯状细胞表型分化[J]. 第三军医大学学报, 2012, 34(19): 1936 - 1939.
- [17] Yu H, He Y, Zhang X, *et al.* The rat IgGFcγBP and Muc2 C-terminal domains and TFF3 in two intestinal mucus layers bind together by covalent interaction[J]. *PLoS One*, 2011, 6(5): e20334.
- [18] Celli J P, Turner B S, Afdhal N H, *et al.* *Helicobacter pylori* moves through mucus by reducing mucin viscoelasticity[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(34): 14321 - 14326.
- [19] Linden S K, Sheng Y H, Every A L, *et al.* MUC1 limits *Helicobacter pylori* infection both by steric hindrance and by acting as a releasable decoy[J]. *PLoS Pathog*, 2009, 5(10): e1000617.

(收稿:2013-03-20;修回:2013-04-07)

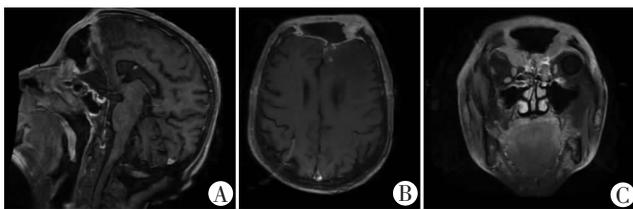
(编辑 王红)

(上接 2055 页)



A:矢状位;B:水平位;C:冠状位

图1 额窦癌患者术前增强头颅MRI表现



A:矢状位;B:水平位;C:冠状位

图2 额窦癌患者术后2个月增强头颅MRI表现

2 讨论

原发性额窦癌多发生于50~60岁,男女比例为5:1,由于其发病隐匿且无特异性临床症状,早期诊断较困难,使额窦癌患者往往在疾病快速进展时才来就诊。影像学检查可明确肿瘤发源部位和侵犯范围,并对手术入路的选择提供重要信息。额窦癌常见病理类型为鳞癌(占所有额窦癌的1/3)、腺癌、基底细胞癌等^[3]。

目前临床多采用手术治疗,但额窦及临近解剖结构复杂,加大了手术全切难度,即便采用扩大切除患者预后仍差^[4]。本例患者手术次全切实性肿瘤,对侵犯的额骨做扩大切除,切除了侵犯额叶和眼眶肿瘤,并在术后辅以放疗。术后2个月复查

头颅MRI发现手术切除额骨边缘见多发软组织结节及团块呈明显强化,并侵犯眼眶及两侧筛窦及左侧额叶,考虑肿瘤残留。我们认为额骨边缘多发软组织结节可能因肉眼观察肿瘤边界小于肿瘤实际侵犯范围导致手术扩大切除范围不足所致。手术难度大的另一个原因是切除筛窦肿瘤后颅底的重建,本例患者采用自体肌肉浆+生物胶固定修补颅底,效果满意,术后无脑脊液漏发生。在颅底重建时还应注意避免死腔的产生,本病例在术中完全打开筛窦和蝶窦形成引流通道,术后无感染发生,疗效满意。现患者随访半年,仍带瘤生存。

现阶段对额窦癌的临床治疗经验全部来自于个案分析,此病预后极差、复发率较高,带瘤生存也易给患者极大的心理负担。额窦癌的早期诊断较困难,一般就诊时病变已广泛地侵犯临近结构甚至侵犯颅内,对手术切除造成极大困难。我们认为对可疑病例及早行CT或MRI检查以求早期诊断早期治疗,术前尽量明确病变范围及边界,在切除肿瘤基础上行扩大切除。

参考文献:

- [1] Yoshida N, Kanekura T, Hashiguchi T, *et al.* Primary squamous cell carcinoma of the frontal sinus[J]. *J Dermatol*, 2006, 33(12): 855 - 857.
- [2] Ichinose T, Goto T, Motomura H, *et al.* Primary squamous cell carcinoma of the frontal sinus treated with en bloc resection: case report[J]. 2009, 49(10): 481 - 483.
- [3] Abrahao M, Goncalves A P, Yamashita R, *et al.* Frontal sinus adenocarcinoma[J]. *Sao Paulo Med J*, 2000, 118(4): 118 - 120.
- [4] Gerlinger I, Gobel G, Toth E, *et al.* Primary carcinoma of the frontal sinus: a case report and a review of literature[J]. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2008, 265(5): 593 - 597.

(收稿:2013-06-06;修回:2013-07-16)

(编辑 王小寒)