

· 基础研究 ·

周期蛋白 D1 在先天性与 后天性胆脂瘤中的表达

庄黎明¹, 蔡耿明¹, 吴贤敏², 易自翔³, 周爱东³, 李志春³, 张榕³, 李忠华¹

(1. 福建医科大学附属泉州第一医院 耳鼻咽喉头颈外科, 福建 泉州 362000; 2. 温州医学院附属第一医院 耳鼻咽喉头颈外科, 浙江 温州 325000; 3. 福建医科大学附属第一医院 耳鼻咽喉头颈外科, 福建省耳鼻咽喉研究所, 福建 福州 350005)

摘要: 目的 通过研究周期蛋白 D1 (CyclinD1) 在先天性胆脂瘤和后天性胆脂瘤的表达, 探讨其表达差异的意义。方法 选取我院就诊的 60 例中耳胆脂瘤患者, 其中先天性胆脂瘤 25 例, 后天性胆脂瘤 35 例; 同时选取同期 3 例慢性中耳炎手术患者正常耳廓后皮肤组织作为对照组。采用免疫组化方法检测胆脂瘤组织中 CyclinD1 的表达。结果 CyclinD1 免疫组化染色在先天性胆脂瘤和后天性胆脂瘤中均为阳性表达, 但后天性胆脂瘤中阳性表达率高于先天性胆脂瘤, 其差异具有统计学意义 ($P < 0.01$); CyclinD1 在正常皮肤中不表达。结论 CyclinD1 在后天性胆脂瘤上皮表达增强, 可能是炎症刺激所致。

关键词: 周期蛋白 D1; 胆脂瘤; 病理学; 先天性; 后天性

中图分类号: R764 文献标识码: A 文章编号: 1007-1520(2012)01-0020-04

Expression of cyclinD1 in congenital and acquired cholesteatoma

ZHUAN Li-ming, CAI Geng-ming, WU Xian-min, et al.

(Department of Otolaryngology-Head and Neck Surgery, First Hospital of Quanzhou Affiliated to Fujian Medical University, Quanzhou 362000, China)

Abstract: **Objective** To study the expression of cyclinD1 in congenital and acquired cholesteatoma and its significance. **Methods** 25 samples of congenital cholesteatoma, 35 of acquired cholesteatoma and 3 of normal auricle skin in the patients of chronic otitis media were included. The expression of cyclinD1 in these samples was detected with immunohistochemical method. **Results** CyclinD1 was positively expressed in cholesteatoma, but not in normal skin. As in the cholesteatoma, the positive rate of cyclinD1 in acquired ones was significantly higher than that in the congenital and the difference was statistically significant ($P < 0.01$). **Conclusion** Acquired cholesteatoma has stronger proliferation ability than congenital cholesteatoma, which may be caused by inflammatory stimuli.

Key words: CyclinD1; Cholesteatoma; Pathology; Congenital; Acquired

先天性和后天性胆脂瘤的基本病理改变很相似, 其病理组织学构成分为外基层、基底层、棘层、颗粒层以及角质层^[1]。颞骨先天

性胆脂瘤原发于岩乳部和鼓室, 如穿破鼓膜和外耳道, 则容易误诊为后天性胆脂瘤^[2]。文献大多数探讨关于后天性胆脂瘤的形成和病理特点^[3], 而先天性胆脂瘤与后天性胆脂瘤的组织病理学之间的异同点的研究较少。临床症状及常规的病理学检测与 HE 染色难以区别先天性胆脂瘤上皮与后天性胆脂瘤上皮的差异。

基金项目: 福建省卫生厅青年科研课题(2007-2-38)。

作者简介: 庄黎明, 男, 主治医师; 蔡耿明, 男, 主治医师; 庄黎明, 蔡耿明为并列第一作者。

通讯作者: 易自翔, Email: fjent@hotmail.com.

本研究拟对先天性胆脂瘤及后天性胆脂瘤周期蛋白 D1 (CyclinD1) 的表达进行分析,以期探讨两者的病理学差异,为临床诊断及治疗提供参考。

1 材料和方法

1.1 研究对象

收集 1998 年 10 月~2008 年 10 月诊治的先天性胆脂瘤病理存档标本 25 例,其中男 16 例,女 9 例;年龄 13~58 岁,中位年龄 30.63 ± 11.37 岁。另外收集 2004 年 10 月~2008 年 10 月诊治的后天性胆脂瘤病理存档标本 35 例,其中男 21 例,女 14 例;年龄 10~70 岁,中位年龄 31.9 ± 14.33 岁。标本均经 10% 福尔马林固定,常规石蜡切片染色进行病理诊断。同时选取同期 3 例慢性中耳炎手术患者正常耳廓后皮肤组织作为对照组。

1.2 试剂

鼠抗人 CyclinD1 单克隆抗体,Neomarkers 公司产品;Elivision 二步法试剂盒(美国迈新公司);奥林巴斯显微镜(OLYMPUS OME, Japan);数码照像机(NIKON, Japan)。

1.3 方法

将石蜡切片按 Elivision 二步法试剂盒所规定步骤进行免疫组化染色;鼠抗人 CyclinD1 单克隆抗体按 1:200 稀释。选取 3 例耳科手术患者正常耳廓后皮肤组织作为蛋白表达的阴性对照组;迈新公司提供的阳性切片作为 CyclinD1 蛋白表达的阳性对照。

1.4 免疫组化结果判定

光镜下观察整个切片,随机观察 5 个高倍镜视野,阴性上皮细胞中不着色;CyclinD1 中阳性细胞为细胞核呈棕色的细胞。染色结果判定标准参照 Fromowitz 方法^[4],以阳性细胞百分率和染色强度二者之和作为判定标准。在高倍镜下对细胞核内反应如下评分:①无着色为 0,淡黄色为 1,棕黄色为 2,棕褐色为 3。②阳性范围:<5% 为 0,5%~25% 为 1,26%~50% 为 2,51%~75% 为 3,>75% 为 4。两项结果相加:<2 为阴性(-),2~3 为弱阳性(+),4~5 为中度阳性(++),6~7 为强阳性(+++)。

1.5 统计处理

采用 SPSS 13.0 for windows 软件进行统计

分析,计数资料采用 χ^2 检验。

2 结果

两组经免疫组化染色,CyclinD1 在先天性胆脂瘤、后天性胆脂瘤及正常皮肤中的表达见表 1。

CyclinD1 表达多位于胆脂瘤上皮细胞胞核,少数位于细胞胞浆。25 例先天性胆脂瘤病例中 CyclinD1 的阳性表达率为 64% (16/25),35 例后天性胆脂瘤病例中 CyclinD1 阳性表达率为 80% (28/35)。CyclinD1 在正常皮肤组织基本无表达(图 1~4)。

表 1 CyclinD1 在先天性与后天性胆脂瘤组织中的表达 (n, %)

分组	例数	-	+	++	+++	阳性率
先天性	25	9	5	7	4	64.0(16/25)
后天性	35	7	3	8	17	80.0(28/35)

注:后天性胆脂瘤上皮中 CyclinD1 阳性表达率高于先天性胆脂瘤上皮, $\chi^2 = 18.552, P < 0.01$,差别具有统计学意义

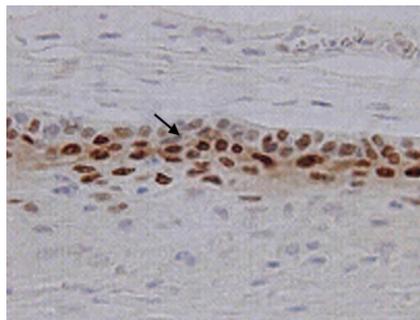


图 1 CyclinD1 在先天性胆脂瘤中的阳性表达(HE 染色, $\times 400$) (箭头所示)

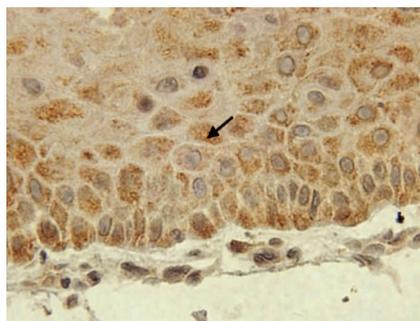


图 2 CyclinD1 在后天性胆脂瘤中的阳性表达(HE 染色, $\times 400$) (箭头所示)

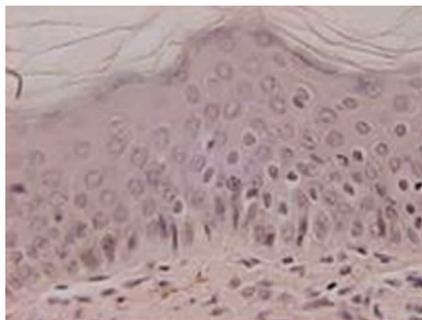


图 3 CyclinD1 在正常皮肤中的阴性表达 (HE 染色, $\times 400$)

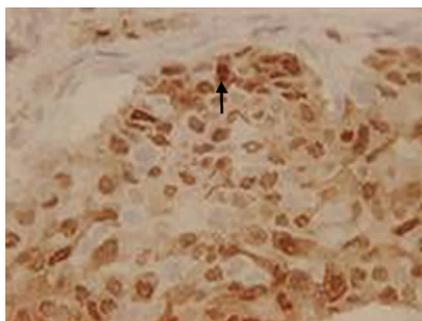


图 4 CyclinD1 表达的阳性对照 (HE 染色, $\times 400$) (箭头所示)

3 讨论

对于先天性与后天性胆脂瘤组织病理生理学异同点的研究很少。先天性胆脂瘤的来源主要有移行学说、羊水返流学说、表皮样结构等学说^[5]。后天性胆脂瘤的上皮来源主要有外耳道的上皮移行、鼓膜袋状内陷及炎症情况下中耳黏膜的鳞状化生等^[6]。

CyclinD1 基因定位于人染色体 11q13, 全长 15 kb, 由染色体 11q13 上的 CCND1 基因编码, 分子量约为 36 kD, 是一种细胞周期的调控基因, 与细胞的增殖能力有关, 主要作用是促进细胞通过 G1/S 调控点。细胞周期时相转变过程中存在一些关键过渡点, 主要包括 G1/S 期调控点、S 期调控点、G2 期调控点和中/后期调控点。其中 G1/S 调控点是细胞周期中最重要的调控点, 决定细胞周期的时间。CyclinD1 作为 G1 期细胞周期素, 在 G1/S 转换中起重要作用^[7]。

目前先天性胆脂瘤与后天性胆脂瘤的区别

主要依据临床表现, 两种胆脂瘤的基本病理改变类似。常规 HE 染色后天性胆脂瘤上皮的细胞层数较先天性胆脂瘤多, 分层明显, 并且有炎症细胞浸润、新骨形成与死骨并存、胆固醇肉芽肿等病理改变。而在先天性胆脂瘤如无感染则无这些改变^[8]。

本研究主要对两种胆脂瘤上皮及正常皮肤上皮中 CyclinD1 的表达进行分析, 发现 CyclinD1 在正常皮肤组织基本不表达, 后天性胆脂瘤上皮 CyclinD1 较先天性胆脂瘤上皮阳性率增高, 差异具有统计学意义。说明胆脂瘤上皮组织相对正常上皮组织来说均具有较强的增殖性, 并且后天性胆脂瘤上皮的增殖能力明显高于先天性胆脂瘤上皮。结合以前的研究结果^[8-11], 推断可能是炎症刺激所致。

综上所述, CyclinD1 在正常皮肤上皮、先天性胆脂瘤和后天性胆脂瘤中具有差异表达, 表明 3 种上皮之间可能存在不同的增殖能力。本研究仅从 CyclinD1 在先天性胆脂瘤和后天性胆脂瘤中的表达来探索可能存在的发病机制, 以求寻找组织病理学上的不同点, 为临床诊断及治疗提供帮助。

参考文献:

- [1] Lutgert HW, van Blitterswijk CA, Grote JJ. Primary acquired and recurrent cholesteatoma versus residual cholesteatoma. A light- and electron-microscopical study [J]. Acta Otolaryngol, 1988, 106(5): 321-330.
- [2] 易自翔. 中耳乳突胆脂瘤临床和基础研究的若干问题 [J]. 中华耳鼻咽喉科杂志, 2001, 36(6): 401.
- [3] Louw L. Acquired cholesteatoma pathogenesis: stepwise explanations [J]. J Laryngol Otol, 2010, 124(6): 587-593.
- [4] Fromowitz FB, Voila MV, Chao S, et al. Ras p21 expression in the progression of breast cancer [J]. Human pathol, 1987, 18(12): 1268-1275.
- [5] 黄建民, 易自翔, 许光义, 等. 鼓室上皮样结构及其先天性胆脂瘤的关系 [J]. 中华耳鼻咽喉科杂志, 1993, 28(4): 228-230.
- [6] 易自翔, 黄建民, 叶胜难, 等. 胆脂瘤和外耳道上皮的黑色素细胞 [J]. 中国耳鼻咽喉头颈外科, 1995, 2(3): 141-145.
- [7] 王前, 邓晶, 蒋永新. CyclinD1 的研究进展 [J]. 现代肿瘤医学, 2009, 17(2): 350-353.
- [8] 蔡耿明, 李志春, 易自翔, 等. 先天和后天性胆脂瘤中黑色素细胞的临床意义 [J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2007, 42(2): 147-148.

- [9] 刘伟,殷团芳,任基浩,等. 核转录因子- κ Bp65 在中耳胆脂瘤上皮中的表达和意义[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志,2010, 16(1): 21-25.
- [10] 古庆家,李德炳,何刚,等. 外耳道胆脂瘤的临床特征和治疗(附 25 例报告)[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志,2009, 15(5): 36-368.
- [11] 叶放蕾,郝少娟,刘艺昌. HGF 在中耳胆脂瘤中的表达和意义[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志,2008, 14(2): 88-91.
- (修回日期:2011-05-31)
-
- (上接第 19 页)
- [2] Min H, Hong M, Ma J, et al. A new staging system for nasopharyngeal carcinoma in China [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1994, 30(5): 1037-1042.
- [3] 高黎,易俊林,黄晓东,等. 鼻咽癌根治性放疗 10 年经验总结[J]. 中华放射肿瘤学杂志,2006, 15(4): 249-256.
- [4] 卢泰祥,赵充,吴少雄,等. 鼻咽癌单纯常规外照射放疗疗效的分析[J]. 中华肿瘤杂志,2005, 27(10): 620-622.
- [5] 刘永珍,章华. PET-CT 误诊鼻咽癌 1 例报道[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志,2011, 17(3): 233-234.
- [6] Larghi A, Lecca PG, Costamagna G. High-resolution narrow band imaging endoscopy [J]. *Gut*, 2008, 57(7): 976-986.
- [7] 倪晓光,贺舜,徐震纲,等. 窄带成像内镜在喉癌诊断中的应用[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志,2010, 45(2): 143-147.
- [8] Watanabe A, Taniguchi M, Tsujie H, et al. The value of narrow band imaging endoscope for early head and neck cancers [J]. *Otolaryngology Head and Neck Surgery*, 2008, 138(4): 446-451.
- [9] Piazza C, Cocco D, De Benedetto L, et al. Narrow band imaging and high definition television in the assessment of laryngeal cancer: a prospective study on 279 patients [J]. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2010, 267(3): 409-414.
- [10] Lin YC, Wang WH. Narrow-band imaging for detecting early recurrent nasopharyngeal carcinoma [J]. *Head Neck*, 2011, 33(4): 591-594.
- [11] Wei WI, Sham JS, Zong YS, et al. The efficacy of fiberoptic endoscopic examination and biopsy in the detection of early nasopharyngeal carcinoma [J]. *Cancer*, 1991, 67(12): 3127-3130.
- [12] Sharma P, Bansal A, Mathur S, et al. The utility of a novel narrow band imaging endoscopy system in patients with Barrett's esophagus [J]. *Gastrointestinal Endoscopy*, 2006, 64(2): 167-175.
- [13] Nakayoshi T, Tajiri H, Matsusa K, et al. Magnifying endoscopy combined with narrow band imaging system for early gastric cancer: correlation of vascular pattern with histopathology (including video) [J]. *Endoscopy*, 2004, 36(12): 1080-1084.
- [14] Yoshida T, Inoue H, Usui S. Narrow-band imaging system with magnifying endoscopy for superficial esophageal lesions [J]. *Gastrointest Endosc*, 2004, 59(2): 288-295.
- [15] Shibuya K, Hoshino H, Chiyo M, et al. High magnification bronchovideoscopy combined with narrow band imaging could detect capillary loops of angiogenic squamous dysplasia in heavy smokers at high risk for lung cancer [J]. *Thorax*, 2003, 58(11): 989-995.
- [16] East JE, Suzuki N, Stavrinidis M, et al. Narrow band imaging for colonoscopic surveillance in hereditary non-polyposis colorectal cancer [J]. *Gut*, 2008, 57(1): 65-70.
- [17] 陈斌,郑亿庆,张志钢,等. 窄带成像技术在鼻咽病变诊断中的应用初探[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2011, 46(1): 50-53.
- (修回日期:2012-01-05)