

整合素 $\beta 1$ 在声带息肉中的表达及相关性研究

杨泽垠¹,杨晓红²,吴 平²

(1. 白求恩国际和平医院 耳鼻咽喉头颈外科,河北 石家庄 050082; 2. 昆明医科大学第二附属医院 耳鼻咽喉科,云南 昆明 650101)

摘 要: **目的** 通过检测整合素 $\beta 1$ 在声带息肉及正常声带组织中的表达及分布情况,探讨整合素 $\beta 1$ 在声带息肉发生、发展过程中的作用,进一步研究声带息肉的发病机理,为临床防治该疾病提供可靠的理论依据。**方法** 选取经病理确诊,且排除其他声带病变的声带息肉患者标本 35 例为实验组;同期选取正常声带组织标本 11 例作为对照组。所有标本经 HE 染色后,进行 MaxVisionTM 免疫组织化学染色,并行计算机图像定量分析。然后运用 SPSS 17.0 统计软件对实验组和对照组各数据进行分析,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。**结果** 整合素 $\beta 1$ 在声带息肉组织中的炎性细胞、血管内皮细胞及成纤维细胞中表达明显,在正常声带组织中表达较弱。声带息肉组整合素 $\beta 1$ 阳性单位均值(35.5551 ± 3.8483)高于正常声带组(21.1969 ± 3.5849),差异具有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 整合素 $\beta 1$ 在声带息肉中高表达表明它可能与声带息肉的发生、发展有密切的关系。

关 键 词:整合素 $\beta 1$;声带息肉;细胞外基质;免疫组织化学

中图分类号:R767.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1007-1520(2015)06-0462-04

Expression and correlation of Integrin- $\beta 1$ in vocal cord polyps

YANG Ze-yin, YANG Xiao-hong, WU Ping

(Department of Otolaryngology Head and Neck surgery, Bethune international peace Hospital, Shijiazhuang 050082, China)

Abstract: **Objective** To explore the role of Integrin- $\beta 1$ in the development of vocal cord polyps, and to provide a reliable theoretical basis for the prevention and treatment of the disease. **Methods** 35 specimens of pathologically-confirmed vocal cord polyps without other lesions were selected as experimental group and 11 of normal vocal cord tissues were selected as control group. All specimens were stained by HE and then detected with MaxVisionTM immunohistochemical method. Computer image quantitative analysis was performed and the data were analyzed with statistical analysis software SPSS 17.0. **Results** Integrin- $\beta 1$ was expressed strongly in inflammatory cells, vascular endothelial cells, fibroblasts of vocal cord polyps and weakly in normal vocal cord tissues. The average positive unit in vocal cord polyp (35.5551 ± 3.8483) was higher than that in normal vocal cord tissue (21.1969 ± 3.5849), and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** Integrin- $\beta 1$ is highly expressed in vocal cord polyps, which indicates that it may be closely related to the occurrence and development of vocal cord polyps.

Key words: Integrin-beta 1; Vocal cord polyp; Extracellular matrix; Immunohistochemistry

声带息肉(vocal cord polyp,VCP)是耳鼻咽喉头颈外科的常见病、多发病。长期以来,声带息肉被认为是用声不当或过度发声导致声带反复损伤的结果。声带息肉的基本病理改变为:明显的黏膜固有层(相当于 Reinke's 间隙层)弹力纤维和网状纤维破坏,间质充血水肿、出血、血浆渗出、血管扩张、毛细血管增生、血栓形成、纤维蛋白沉着黏液样变

性、玻璃样变性以及不同程度的纤维化,甚至淀粉样变性。可有少量炎性细胞浸润,偶见有钙化。但对其确切发病机制至今仍不十分清楚。

整合素 $\beta 1$ 分布于各类细胞的表面,作为最主要的细胞表面受体,主要介导细胞间及细胞外基质的反应,参与多种生理及病理过程。大量研究表明,整合素 $\beta 1$ 的表达异常及其传导通路的异常在各种不同来源的肿瘤组织的发生及其发展过程中均起着重要的作用,参与了肿瘤细胞的黏附、信号传递、血管生成及凋亡等多个环节。近年来整合素 $\beta 1$ 与恶

作者简介:杨泽垠,男,硕士研究生,主治医师。
通信作者:吴 平,Email:wuping0701@126.com

性肿瘤关系的研究已经成为了热点,但整合素 $\beta 1$ 在良性病变,如慢性炎症中的研究较为罕见。声带息肉是因局部长期慢性炎症造成黏膜充血、水肿而形成的。研究发现声带息肉标本总的炎细胞浸润率为 75.4%,从组织学上证明了声带息肉的产生与喉粘膜的慢性炎症有非常密切的关系,为探讨这种关系我们对整合素 $\beta 1$ 在声带息肉和正常声带中的表达进行了研究,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 临床资料

取昆明医科大学第二附属医院耳鼻咽喉科 2011 年 1 月 ~ 2012 年 8 月住院声带息肉患者石蜡标本 35 例,均经病理诊断确诊。其中男 20 例,女 15 例,年龄 27 岁 ~ 65 岁,平均年龄为 42.5 岁;左侧 18 例,右侧 10 例,双侧 7 例。病程 1 个月至 9 年,且所有患者均为初次手术。对照组正常声带组织标本 11 例(正常声带组织标本来源于全喉或部分喉切除后,声带未受侵经病理确诊为正常声带组织的标本)。所有标本均及时固定包埋,切片后备用。

1.2 免疫组织化学染色

兔抗人整合素 $\beta 1$ /CD29 多克隆抗体(北京博奥生物有限公司);即用型快捷免疫组化 MaxVision™ 试剂盒(福州迈新生物技术有限公司);内源性过氧化物酶阻断剂(福州迈新生物技术有限公司);多聚赖氨酸(防脱剂)(福州迈新生物技术有限公司);抗原修复液:MVS-0066(柠檬酸法);粉剂型抗原修复液 pH(6.0 ± 0.1),依据说明书加蒸馏水 5 000 ml 溶解(福州迈新生物技术有限公司);缓冲液:MVS-0060PBS, pH7.4。整个免疫组织化学染色过程按试剂盒说明书进行。

1.3 阳性结果的判定

阳性判断标准:与北京博奥生物有限公司的阳性对照片中阳性细胞相比。整合素 $\beta 1$ 阳性表达为细胞膜或(和)细胞质着棕黄色,将每张切片着色强度与着色细胞数量进行分级。阳性细胞着色强度:无着色或染色比博奥生物公司提供的阳性对照片中阳性细胞弱者(-),黄色(+),棕黄色(++),棕色(+++)。阳性细胞计数:0 ~ 5%(-), > 5% ~ 15%(±), > 15% ~ 25%(+), > 25% ~ 50%(++), > 50%(+++)。应用 Nikon Eclipse 50i 计算机图像分析仪,在 200 倍镜下对行整合素 $\beta 1$ 染色的切片每张随机选取 3 个视野的上皮细胞和相邻

的细胞间质。因声带息肉病理组织学变化多样,为增加研究的可比性,在整合素 $\beta 1$ 的连续切片中,选取的视野相同。用 Nikon Mivnt 显微图像分析软件(Windows XP 版),每个视野随机圈定 3 个阳性单位(3 个阳性细胞的细胞质),测定这 3 个阳性单位均值代表该视野的阳性单位均值。用阳性单位均值表示被染色物质的多少,阳性单位均值越大,说明物质的相对含量越高,即抗原物质表达的水平越高,反之亦然。

1.4 统计学处理

用 SPSS 17.0 软件进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。正常声带组织组与声带息肉组整合素 $\beta 1$ 阳性单位均值比较用 t 检验。取 $\alpha = 0.05$,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 整合素 $\beta 1$ 在正常声带组织中的表达

整合素 $\beta 1$ 在正常声带及声带息肉中均表达在细胞质和(或)细胞膜中,细胞核无着色。阴性对照片中未见阳性反应。

整合素 $\beta 1$ 在正常声带及声带息肉呈程度不一的阳性反应。在正常声带组中,阳性反应主要位于上皮细胞、血管内皮细胞(图 1),其他细胞如炎性细胞、成纤维细胞、腺体细胞也有表达。在上皮细胞的表达:计数和表达强度(++);在血管内皮细胞的表达:计数(- ~ +),表达强度(- ~ +)。炎性细胞、腺体细胞及软骨细胞也有表达,但表达较弱。

2.2 整合素 $\beta 1$ 在声带息肉组织中的表达

在声带息肉组中,阳性反应主要位于成纤维细胞、炎性细胞和血管内皮细胞,上皮细胞和腺体细胞表达较弱(图 2,3)。在炎性细胞的表达:计数和表达强度(- ~ +);在成纤维细胞的表达:计数(± ~ ++),表达强度(+ ~ +++);在血管内皮细胞的表达:计数(± ~ +),表达强度(+);在上皮细胞的表达:计数(- ~ +),表达强度(- ~ ±)。在间质也有表达。

2.3 整合素 $\beta 1$ 在正常声带组和声带息肉组的表达情况

整合素 $\beta 1$ 在正常声带组表达率为 64%(7/11),其中 1 例(±),4 例(+),2 例(++);整合素 $\beta 1$ 在声带息肉组表达率为 100%(35/35),其中 2 例(+),15 例(++),18 例(+++),见表 1。

2.4 整合素 $\beta 1$ 在声带息肉组不同类型的表达情况

根据光镜病理变化,可以把声带息肉分为 5 型,

出血型、玻璃样变性型、水肿型、纤维型及混合型。实验组中 5 种类型的声带息肉分别为:出血型 6 例,玻璃样变性型 7 例,水肿型 9 例,纤维型 10 例,混合型 3 例。

表 1 整合素 $\beta 1$ 在正常声带组和声带息肉组中的表达(例)

组别	例数	-	$\pm$	+	++	+++
正常声带组	11	4	1	4	2	0
声带息肉组	35	0	0	2	15	18

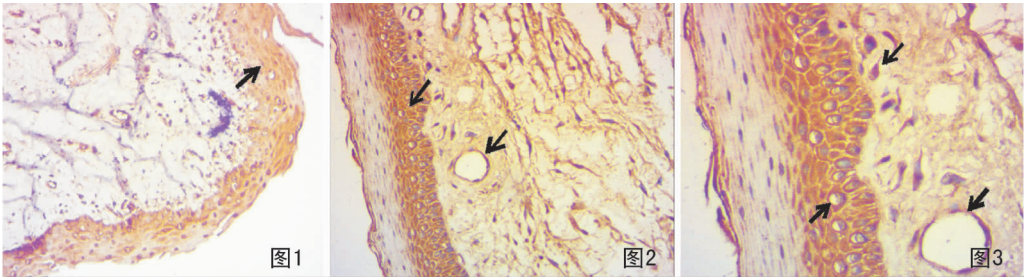


图 1 整合素 $\beta 1$ 在正常声带中主要表达于上皮细胞及血管内皮细胞(免疫组化 MaxVisionTM 法 $\times 100$) 图 2 整合素 $\beta 1$ 在声带息肉中表达于血管内皮细胞、上皮细胞(免疫组化 MaxVisionTM 法 $\times 100$) 图 3 整合素 $\beta 1$ 在声带息肉中表达于成纤维细胞、上皮细胞、炎性细胞(免疫组化 MaxVisionTM 法 $\times 200$)

2.5 正常声带和声带息肉组整合素 $\beta 1$ 阳性单位均值比较

声带息肉组整合素 $\beta 1$ (35.5551 ± 3.8483) 高于正常声带组整合素 $\beta 1$ (21.1969 ± 3.5849), 两者比较差异具有统计学意义 ($t = 10.960, P < 0.001$)。

3 讨论

声带息肉是耳鼻咽喉头颈外科常见的引起声音嘶哑的疾病之一。其好发于一侧声带前、中 1/3 交界处边缘,为半透明或粉红色表面光滑的肿物,多为单侧,也可为双侧,带蒂或广基。成人多见,男女均可发病。长期以来,声带息肉被认为是用声不当或过度发声导致声带反复损伤的结果,但对其确切的发病机制仍不清楚。多种细胞因子、生长因子、黏附分子等可能参与声带息肉的发生与发展,如 MMP-2 和 MMP-9^[1-2], VPF^[3], TGF- $\beta 1$ ^[4] 等都有相关的报道。本实验通过免疫组化方法分析整合素 $\beta 1$ 在声带息肉中的表达和分布,进一步探讨声带息肉的发病机制。

整合素家族(Integrin family)是细胞表面受体的主要家族,包含 α 和 β 两个亚单位,它可以识别、结合细胞外基质中相应的配体,从而为细胞黏附提供附着点,是介导细胞与细胞外基质相互作用最主要的分子^[5],还是连接细胞外基质环境和细胞内信号传导的纽带。根据 β 亚单位不同将整合素分为 $\beta 1$ 、 $\beta 2$ 、 $\beta 3$ 3 个亚家族^[6],含 $\beta 1$ 亚单位的整合素其主要作用是介导细胞与细胞外基质成分之间的粘附;含

$\beta 2$ 亚单位的整合素存在于各种白细胞表面,主要作用是介导细胞间的相互作用; $\beta 3$ 亚单位的整合素主要作用是介导血小板的聚集,并参与血栓形成,其存在于血小板表面。整合素 $\beta 1$ 是整合素家族中最大的亚群,它是细胞与 ECM 间,细胞与细胞间不可缺少的黏附分子,与多种肿瘤细胞的增殖凋亡、侵袭及转移密切相关。它包含 12 个具有不同配体结合特性的亚基,所有整合素 $\beta 1$ 均能与细胞外基质相结合。另外,一些包含受体的整合素 $\beta 1$ 也作用于细胞受体,如 $\alpha 4 \beta 1$ 和 $\alpha 9 \beta 1$ 与细胞间黏附分子 1(ICAM-1)相结合, $\alpha 4 \beta 1$ 与黏膜递质素黏附分子(MadCAM-1)相连接^[7]。当整合素胞外区与配体结合,胞浆区即与肌动蛋白细胞骨架相连接,随即激活各种胞内信号通路。整合素 $\beta 1$ 的主要功能可以概括为以下三种:①作为细胞与 ECM 间的连接桥梁介导细胞与细胞间的黏附;②作为细胞内外的信使;③介导新生血管形成。本实验中,通过声带息肉组与正常声带组比较,声带息肉组整合素 $\beta 1$ 阳性单位均值(35.5551 ± 3.8483)明显高于正常声带组整合素 $\beta 1$ 阳性单位均值(21.1969 ± 3.5849),且差异具有统计学意义($P < 0.05$),整合素 $\beta 1$ 阳性物质在正常声带组中主要存在于上皮细胞、血管内皮细胞中,但在炎性细胞、成纤维细胞、腺体细胞也有表达;在声带息肉组中主要存在于成纤维细胞、炎性细胞和血管内皮细胞,在上皮细胞和腺体细胞中表达较弱。疏松的水肿组织中散在着大量的阳性细胞,且着色较深、密度增加。

从本实验中可以看出,整合素 $\beta 1$ 在声带息肉

中的表达明显高于正常声带。因此我们认为,在反复的声带损伤之后,声带组织中的整合素 $\beta 1$ 分泌增多,它可能从以下几个方面参与了声带息肉的形成和发展:①声带息肉是一个长期的慢性炎症过程,声带在长期的损伤过程中,由于整合素 $\beta 1$ 与其它相关的炎性介质共同作用导致慢性炎症;②整合素 $\beta 1$ 在炎性细胞中明显表达,可以促进与细胞外基质中相应的配体结合,从而为细胞黏附提供附着点,造成组织水肿。其在血管内皮细胞的高表达可以促进息肉血管形成,增加息肉血管的密度,从而为其生长提供丰富的血供;③当体外某些刺激因素使整合素 $\beta 1$ 过度表达时,可以持续向细胞内传递信号,上调蛋白和配体结合的能力,导致固有层结缔组织排列紊乱,层状结构消失,息肉形成;④整合素 $\beta 1$ 在上皮基底细胞及纤毛细胞层少许表达,致使液体运输通路障碍,不利于液体转运,使分泌和渗出到组织间隙中的大量液体积聚,也形成组织水肿。

由此可见,无论从声带息肉的病理过程还是从声带息肉的形成与发展机制来看,我们都可以用整合素 $\beta 1$ 的生物学特性来解释。

参考文献:

[1] Karahan NS, Baspinar. Matrix Metalloproteinases (MMP-2 and MMP-9) and cyclooxygenase-2(COX-2) expressions in vocal fold polyps[J]. Journal of Voice, 2009, 23(1): 29-33.

[2] Lesauskaite V, Uloza V, Liutkevicius V, et al. Expression of matrix metalloproteinases (MMP-2 and MMP-9) in vocal fold polyps [J]. Medicina (Kaunas), 2008, 44(4): 322-327.

[3] 吴平,刘涛,郑明秀,等. 血管通透性因子在声带息肉中的表达[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2006, 20(18): 839-841.

[4] 刘涛,吴平,郑明秀. 转化生长因子 $\beta 1$ 在声带息肉中的表达 [J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2009, 23(5): 211-213.

[5] Guido tarone, Emilio hirsch, Mara brancaccio, et al. Integrin function and regulation in development [J]. Int J Dev. Biol, 2000, 44(8):725-731.

[6] 金洁琼,台秀丽,相世霞. 整合素 $\beta 1$ 在恶性肿瘤组织中的研究进展[J]. 中国医疗前沿, 2011, 6(1): 27-28.

[7] Brakebusch C, Fassler R. Beta1 integrin function in vivo: adhesion, migration and more [J]. Cancer and Metastasis Reviews, 2005, 24(3): 403-411.

(修回日期:2015-10-30)

· 消息 ·

远程投稿、查稿系统启事

本刊采用远程稿件采编系统进行投稿、查稿等,现就有关问题说明如下。

1. 作者投稿:登陆在线投稿系统(中文版),按操作提示投稿。第 1 次需先注册,原则上不再受理邮寄稿件和 Email 稿件。

2. 稿件查询:使用作者注册用户名和密码,可查询作者稿件审理进程和费用信息等。

有关投稿要求,请登陆本刊网站浏览。

网站登陆:<http://www.xyosbs.com/index.htm>