

整合素 $\alpha v\beta 3$ 在脑胶质瘤的表达与肿瘤恶性程度的关系

郭 衍, 章 翔, 费 舟, 张剑宁

摘要: 目的 探讨整合素 $\alpha v\beta 3$ 与脑胶质瘤恶性程度之间的关系。方法 应用免疫组化 SABC 法检测整合素 $\alpha v\beta 3$ 在 43 例 I ~ IV 级脑胶质瘤和 BT325 人胶质瘤细胞系中的表达。结果 III ~ IV 级脑胶质瘤阳性率及高表达率均明显高于 I ~ II 级脑胶质瘤 ($P < 0.05$)。结论 整合素 $\alpha v\beta 3$ 与脑胶质瘤恶性程度呈正相关, 并可能对胶质瘤的侵袭性起正性调节作用。

关键词: 整合素 $\alpha v\beta 3$; 脑胶质瘤; 细胞外基质蛋白

中图分类号: R734.2

文献标识码: A

文章编号: 1000-8578(2002)01-0048-02

Correlation between the integrin $\alpha v\beta 3$ expression and malignant degree of human gliomas

GUO Yan, ZHANG Xiang, FEI Zhou, et al

Neurosurgery department of Xijing hospital, Xian 710032, China

Abstract: Objective To investigate the relation between integrin $\alpha v\beta 3$ and malignant degree of human gliomas. Methods Forty-three formalin-fixed sections glioma tissue and BT325 glioma cell line were obtained. The integrin $\alpha v\beta 3$ subunit was measured with immunohistochemistry assay (SABC method). Results Glioma tissue with poor differentiation expressed higher $\alpha v\beta 3$ than those with good differentiation ($P < 0.05$), BT325 glioma cell line expressed integrin $\alpha v\beta 3$. Conclusion Our study indicated that integrin $\alpha v\beta 3$ expression was correlated with malignant degree of human gliomas. It was possible that integrin $\alpha v\beta 3$ is a positive regulator of invasion of gliomas.

Key words: Integrin $\alpha v\beta 3$; Glioma; ECM

脑胶质瘤侵袭性生长和术后复发是临床治疗失败和病人死亡的主要原因之一, 这一过程是十分复杂的生物学现象, 涉及肿瘤细胞粘附、基质降解、细胞迁移等许多环节。整合素(integrin)是一类重要的细胞粘附分子, 通过介导与细胞外基质蛋白(ECM)、细胞之间的粘附和信号传导, 在肿瘤形成、生长、分化和转移过程中起重要作用^[1]。整合素 $\alpha v\beta 3$ 与脑胶质瘤恶性程度的相关性研究, 国内尚未见报道。我们采用免疫组化的方法, 探讨了整合素 $\alpha v\beta 3$ 在脑胶质瘤表达和其侵袭性之间的关系。

1 材料和方法

1.1 材料 脑胶质瘤石蜡标本取自第四军医大学西京医院病理科, 共 43 例。取材患者年龄 21 岁 ~ 74 岁, 平均 47 ± 11 岁。胶质瘤分化程度按 WHO 分级, I ~ II 级为分化较好, III ~ IV 级为分化不良。I 级 9 例, II 级 11 例, III 级 16 例, IV 级 7 例。

人脑胶质瘤细胞系 BT325 细胞引自北京市神经

外科研究所, 培养在含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 中, 置于 5% CO₂、37℃ 孵箱, 每隔 48h 换液 1 次。

1.2 方法 一抗为羊抗人整合素 $\alpha v\beta 3$ 单抗, 购于 Santa Crux 公司, 二抗生物素标记的兔抗羊抗体、SABC 试剂盒购于博士德公司。采用 SABC 染色法, 切片脱蜡后, 0.3% 过氧化氢处理 10min, 再以 PBS 洗, 依次滴加正常兔血清(1:10)室温 30min、羊抗人整合素 $\alpha v\beta 3$ mAb(1:100), (4℃ 湿盒过夜、PBS 洗)、生物素标记的兔抗羊抗体(1:200)(37℃ 孵育 30min、PBS 洗)和 ABC 复合物。以 PBS 洗后, 以 DAB 显色、苏木素衬染, 然后常规脱水、透明、封片。

取对数生长期人脑胶质瘤细胞 BT325, 以 0.25% 胰酶消化传代后加至 6 孔板中经酸和乙醇处理的盖玻片上, 待 BT325 细胞在盖玻片表面贴附并展开时, 置 37℃ CO₂ 孵箱孵育 8h 后, 加 4% 多聚甲醛 4℃ 固定 30min, 其余步骤同上。

结果判断: 随机选择的 5 个高倍视野(×400), 胞浆呈棕黄色者判为阳性, 阳性细胞数 ≥ 5 个, 即为染色阳性。阳性程度分级为: (-) 为无棕黄色颗粒,

收稿日期: 2001-03-05; 修回日期: 2001-09-12

作者单位: 710032 西安, 第四军医大学西京医院神经外科

(+) 为阳性细胞数占总数 $\leq 10\%$, (++) 为阳性细胞数占总数 $11\% \sim 50\%$, (+++) 为阳性细胞占总数 50% 以上。统计学处理: χ^2 检验方法进行统计分析。

2 结果

2.1 整合素 $\alpha v\beta 3$ 在脑胶质瘤和 BT325 胶质瘤细胞中的表达 整合素 $\alpha v\beta 3$ 经 SABC 法染色, 分布于肿瘤细胞膜和细胞浆。BT325 胶质瘤细胞膜表面和胞浆可见棕黄色颗粒。

2.2 整合素 $\alpha v\beta 3$ 与脑胶质瘤恶性程度的关系

43 例 I ~ IV 级脑胶质瘤组织整合素 $\alpha v\beta 3$ 免疫组化阳性率分别为 33.3%、36.3%、68.7% 和 85.7%, III ~ IV 级脑胶质瘤整合素 $\alpha v\beta 3$ 阳性率明显高于 I ~ II 级脑胶质瘤, 差异显著 ($P < 0.05$), 见表 1。

按阳性程度分为两组, 其中(-)和(+)级胶质瘤细胞不表达或少量表达, 为低表达组, (++)和(+++)级为高表达组, 高表达组在 I ~ IV 级脑胶质瘤组织中所占比率分别为 11.1%、18.2%、50% 和 42.9%, 高表达组在 III ~ IV 级脑胶质瘤中所占比率明显高于 I ~ II 级脑胶质瘤, 差异显著 ($P < 0.05$), 见表 2。

表 1 整合素 $\alpha v\beta 3$ 在各级胶质瘤中的表达

级别	例数	整合素 $\alpha v\beta 3$			阳性率 (%)	
		-	+	++		
I	9	6	2	1	0	33.3
II	11	7	2	1	1	36.3
III	16	5	3	5	3	68.7
IV	7	1	3	2	1	85.7

$P < 0.05$

表 2 整合素 $\alpha v\beta 3$ 在各级胶质瘤中的阳性程度比较

级别	例数	整合素 $\alpha v\beta 3$	
		低表达组(%)	高表达组(%)
I	9	8(88.9)	1(11.1)
II	11	9(81.8)	2(18.2)
III	16	8(50.0)	8(50.0)
IV	7	4(57.1)	3(42.9)

$P < 0.05$

3 讨论

整合素是一类由 α 、 β 两个亚基组成的跨膜糖蛋白, 介导细胞与基质、细胞与细胞之间的粘附。整合素在正常脑组织中分布较广泛, 存在部位包括脑血管结构、软脑膜、小脑、垂体、海马、松果体等, 主要表达于这些部位的神经胶质细胞、星形胶质细胞、成纤维细胞和内皮细胞中, 而在神经元和少突胶质细胞上尚未见有表达。研究表明, 肿瘤的无限制性生长、低分化和侵袭转移与整合素分子表达及其细胞表面分布有关, 其表达数量即可以减少或缺失, 也可以升高, 分布极性亦可不同于正常细胞。整合素分子在胶质瘤细胞表达的不一致性可能与整合素分子的不同作用有关, 同种整合素分子可以在转移和附着过

程中发挥不同作用。在恶性胶质瘤中, 肿瘤对周围脑组织的侵袭, 也与整合素的不正常表达有关^[2]。Paulus 等^[3]对整合素在脑肿瘤组织的表达研究表明, $\beta 1$ 在正常脑组织有少量表达, 还有新表达的 αv 、 $\beta 3$ 、 $\alpha 6$ 、 $\beta 4$ 等, αv 、 $\alpha 3$ 和 $\beta 1$ 在恶性胶质瘤组织中表达较高。垂体瘤、脑膜瘤、颅咽管瘤、脉络丛乳头状瘤和室管膜瘤的整合素同其正常组织表达相同。

整合素 $\alpha v\beta 3$ 是细胞外基质蛋白玻璃粘连蛋白 (VN) 的受体, 文献报道整合素 $\alpha v\beta 3$ 在胶质瘤组织中表达, 同细胞外基质相互作用, 参与胶质瘤的侵袭过程^[4,5,6], 在细胞的粘附实验中, 恶性胶质瘤细胞只是与 $\alpha v\beta 3$ 与玻璃粘连蛋白的表达部位相结合, 而不能粘附到正常脑实质。这说明整合素 $\alpha v\beta 3$ 与胶质瘤的恶性程度有关。 $\alpha v\beta 3$ 与玻璃粘连蛋白两者的相互作用是恶性胶质瘤细胞侵袭周围脑组织的重要媒介。

本实验研究发现, 分化较好的胶质瘤组织整合素 $\alpha v\beta 3$ 阳性率和阳性程度低于分化不良者, 这与国外的有关研究结果相一致。同时也检测了人胶质瘤细胞 BT325 中整合素 $\alpha v\beta 3$ 的表达情况, 发现整合素 $\alpha v\beta 3$ 在 BT325 中也存在表达。目前的研究认为, 整合素的异常表达对胶质瘤的粘附侵袭和恶性转化起重要作用。星形细胞瘤细胞与正常星形胶质细胞相比, 前者整合素 $\alpha v\beta 3$ 的表达水平较高, 且与胶质瘤的恶性程度密切相关, 提示整合素 $\alpha v\beta 3$ 在胶质瘤的粘附和侵袭等过程中可能起重要作用。整合素家族在胶质瘤侵袭方面的作用, 以被越来越多的证据所证实, 但其应用的研究尚属起步阶段。通过研究胶质瘤中的整合素的表达, 可能为胶质瘤的治疗提供广阔的应用前景。

参考文献:

- [1] Hynes RO. Integrins: versatility, modulation, and signaling in cell adhesion[J]. Cell, 1992, 69(1): 11-25.
- [2] Uhm JH, Gladson CL, Rao JS. The role of integrins in the malignant phenotype of gliomas[J]. Front Biosci, 1999, 4(2): 188-199.
- [3] Paulus W, Baur I, Schuppan D et al. Characterization of integrin receptors in normal and neoplastic human brain[J]. Am J Pathol, 1993, 143(1): 154-163.
- [4] Tonn JC, Wunderlich S, Kerkau S et al. Invasive behaviour of human gliomas is mediated by interindividually different integrin patterns[J]. Anticancer Res, 1998, 18(4): 2599-2605.
- [5] Giese A, Laube B, Zapf S, et al. Glioma cell adhesion and migration on human brain sections[J]. Anticancer Res, 1998, 18(3): 2435-2447.
- [6] Rooprai HK, Vanmeter T, Panou C, et al. The role of integrin receptors in aspects of glioma invasion in vitro[J]. Int J Dev Neurosci, 1999, 17(5-6): 613-623.

(安凤校对)