

doi: 10.3969/j.issn.1009-6469.2019.12.021

◇临床医学◇

血管紧张素 II 1 型受体在口腔鳞癌中的表达及临床意义

杨金敏¹, 王露露^{2a}, 陈盛^{2b}, 吴萌萌^{2a}, 朱翠平¹作者单位:¹江苏省人民医院浦口分院、南京市浦口区中心医院药剂科, 江苏 南京 211800;²南京大学医学院附属口腔医院、南京市口腔医院,^a药学部,^b病理科, 江苏 南京 210008

基金项目:南京市医学科技发展计划项目(YKK17256)

摘要:目的 研究血管紧张素 II 1 型受体(AT1 受体)在口腔鳞癌组织中的表达及其临床意义。方法 收集2012年1—12月期间在南京市口腔医院46例术后常规病理确诊为口腔鳞癌的病人的石蜡组织切片,其中20例切片中包含了正常的癌旁组织。采用免疫组织化学方法检测46例口腔鳞癌组织和20例相邻癌旁组织中AT1受体的表达。结果 20例正常癌旁组织中AT1受体阳性率为15.0%,低于口腔鳞癌组织中阳性率(89.1%)($\chi^2 = 109.696, P < 0.01$)。AT1受体在口腔鳞癌组织中低表达14例,高表达27例,高表达的AT1受体与病人的性别、年龄无关,与原发肿瘤大小、颈部淋巴组织转移及临床分期密切相关。结论 AT1受体在口腔鳞癌组织中高表达,有可能作为口腔鳞癌的诊断和预后的指标。

关键词:口腔肿瘤; 受体,血管紧张素,1型; 细胞增殖; 淋巴转移; 癌症早期检测

Expression and clinical significance of AT1 receptor in oral squamous cell carcinoma

YANG Jinmin¹, WANG Lulu^{2a}, CHEN Sheng^{2b}, WU Mengmeng^{2a}, ZHU Cuiping¹

Author Affiliations: ¹Department of Pharmacy, Jiangsu Provincial People's Hospital Pukou Branch, Nanjing Pukou District Central Hospital, Nanjing, Jiangsu 211800, China; ^{2a}Department of Pharmacy, ^{2b}Department of Pathology, Nanjing Stomatological Hospital, Medical School of Nanjing University, Nanjing, Jiangsu 210008, China

Abstract: Objective To study the expression and clinical significance of angiotensin II type 1 (AT1) receptor in oral squamous cell carcinoma. **Methods** From January to December 2012 in Nanjing Stomatological Hospital, immunohistochemistry was used to detect the expression of AT1 receptor in 46 cases of oral squamous cell carcinoma and 20 adjacent paracancerous tissues. **Results** The positive rate of AT1 receptor was 15.0% in 20 adjacent paracancerous tissues, lower than that in oral squamous cell carcinoma (89.1%) ($\chi^2 = 109.696, P < 0.01$). There were 14 cases low expression and 27 cases high expression of AT1 receptor in oral squamous cell carcinoma. The high expression of AT1 receptor was not related to gender and age of patients, and was closely related to primary tumor size, cervical lymphoid tissue metastasis and clinical stage. **Conclusion** AT1 receptor was highly expressed in oral squamous tissue and may be used as an indicator for the diagnosis and prognosis of oral squamous cell carcinoma.

Key words: Mouth neoplasms; Receptor, angiotensin, type 1; Cell proliferation; Lymphatic metastasis; Early detection of cancer

口腔鳞癌起源于口腔上皮,其代表了大多数口腔癌症。口腔癌发生通过两个主要途径发生:(1)正常上皮转化为发育不良病变和(2)这些发育异常病变进展为侵袭性鳞状细胞癌。罹患口腔鳞癌的病人存活率较差,5年生存率只有50%左右^[1],遗憾的是,治疗策略在过去几十年里进展甚微。肾素-血管紧张素系统(Renin-Angiotensin-System, RAS)在血压的控制中起关键作用,血管紧张素 II (Ang II)通过血管紧张素 II 1 型受体(AT1 受体)和血管紧张素 II 2 型受体(AT2 受体)在 RAS 系统的调控中起着核

心作用。近年多项研究表明 AT1 受体在多种癌症组织中高表达,并参与了癌症的转移、侵袭过程^[2-3]。然而 AT1 受体在口腔鳞癌中是否表达以及对口腔鳞癌的进展是否有影响还未见报道,本研究旨在分析口腔鳞癌组织中 AT1 受体的表达与口腔鳞癌的 TNM 分期和临床分级之间的联系,明确 AT1 受体对口腔鳞癌发生发展的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集2012年1—12月期间在南京市口腔医院46例住院接受手术治疗并由两位病理

医生通过术后常规病理确诊为口腔鳞癌的病人的石蜡组织切片,其中20例切片中包含了正常的癌旁组织。其中男性27例,女性19例,年龄范围为29~82岁,所有病人的临床病例资料完整,术前均未接受过放化疗,所有病人或其近亲属术前已签署手术知情同意书,本研究符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》相关要求。

1.2 免疫组织化学和试剂 口腔鳞癌石蜡切片利用梯度乙醇脱蜡至水,高压蒸汽锅行抗原修复,血清封闭。滴加AT1受体多克隆抗体(购于美国Abcam公司,货号ab124505),稀释比例1:400,4℃恒温过夜,磷酸缓冲盐溶液(PBS)冲洗3次;滴加生物标记的二抗工作液,37℃孵育30min;PBS冲洗3次;DAB试剂盒显色,蒸馏水冲洗终止显色反应。苏木精复染,脱水后二甲苯封片。

1.3 结果判断 切片使用数字病理切片扫描仪(NanoZoomer-XR C12000, Japan)进行扫描,随机选取5个不重复等面积的视野计算口腔鳞癌的平均阳性细胞率。评估免疫反应评分(IRS),通过染色比例评分(PS)乘以染色强度评分(IS)计算得出。PS分为0分(0%~<1%),1分(1%~<26%),2分(26%~<51%),3分(51%~<76%),4分(76%~100%)。IS分为0分(负),1分(弱),2分(中等)和3分(强)。根据获得的IRS评分,0分为阴性表达,1~3分为弱表达,4~12分为高表达^[4]。

1.4 统计学方法 运用SPSS 23.0软件,采用 χ^2 检验统计AT1受体的表达率及AT1受体表达与病人不同临床病理参数之间的关系。 $P < 0.05$ 被认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 AT1受体在正常癌旁组织和口腔鳞癌中的表达 免疫组化结果显示AT1受体在正常的癌旁组织中有3例表达,阳性表达率为15.0%;而口腔鳞癌组织中AT1受体表达41例,阳性表达率为89.1%,两者差异有统计学意义($\chi^2 = 109.696, P < 0.01$)。AT1受体在口腔鳞癌组织中弱阳性表达14例,强阳性表达27例(图1)。

2.2 AT1受体在口腔鳞癌中的表达与临床参数的关联 调取病人的临床资料,结合免疫组化的评分结果,对口腔鳞癌中AT1受体的表达与临床参数之间的关系进行统计分析。结果显示:AT1受体在口腔鳞癌中的表达与病人年龄、性别无关,而在肿瘤大小、区域淋巴结转移及临床分期方面差异有统计学意义($P < 0.01$),见表1。

表1 血管紧张素II 1型受体(AT1受体)的表达与口腔鳞癌临床病理参数的关系/例(%)

参数	例数	AT1受体			χ^2 值	P值
		不表达 (n=5)	低表达 (n=14)	高表达 (n=27)		
年龄					4.432	0.109
≥58岁	32	3(60.0)	9(64.3)	20(74.0)		
<58岁	14	2(40.0)	5(35.7)	7(26.0)		
性别					3.796	0.150
男	27	3(60.0)	7(50.0)	17(63.0)		
女	19	2(40.0)	7(50.0)	10(37.0)		
TNM分期					10.571	0.005
T1+T2	30	4(80.0)	10(71.4)	16(59.3)		
T3+T4	16	1(20.0)	4(28.6)	11(40.7)		
淋巴转移					22.222	0.000
N0	26	4(80.0)	9(64.3)	13(48.1)		
N1-2	20	1(20.0)	5(35.7)	14(51.9)		
临床分期					67.315	0.000
I+II期	17	4(80.0)	7(50.0)	6(22.2)		
III+IV期	29	1(20.0)	7(50.0)	21(77.8)		

3 讨论

口腔鳞癌是一种具有快速增殖能力和高侵袭特性的头颈部癌症,其5年生存率仅为50%左右。有报道称口腔鳞癌病人的生存率与肿瘤大小、淋巴转移密切相关^[5],众多学者寻找能够早期确诊口腔鳞癌并鉴别恶性程度的生物分子标志物,已报道核基质蛋白特异AT序列结合蛋白2(SATB2)^[6],转化生长因子- β 1(TGF- β 1)^[7-8],环氧合酶-2(COX-2)^[9]等参与了口腔鳞癌的发生发展,具有一定的诊断和预后意义。

众所周知,RAS系统在维持心血管稳态、体液及电解质平衡方面起着关键的作用。此外,局部RAS系统在多种组织中表达并对细胞的增殖,生长和代谢起着一定的作用。Ang II是主要的效应器,通过其不同的受体发挥维持组织稳态的作用。近年的临床前研究表明RAS的各成分在多种人类癌症组织及细胞中均有表达,并参与了癌症的发生发展及转移^[10]。Ang II通过AT1受体可促进多种癌细胞的增殖,迁移及侵袭,而AT1受体的过表达通常表现为更强的侵袭性(更大的肿瘤,更高的临床分级和更高的血管密度)和更差的临床结果^[11-13]。在实体肿瘤中,Ang II通过在肿瘤微环境中充当旁分泌和或自分泌信号而增强肿瘤细胞增殖和生长。同时,Ang II还可促进基质细胞(如成纤维细胞,内皮细胞,中性粒细胞和巨噬细胞)的生长,从而导致

肿瘤生长因子的分泌增加^[14]。大量证据表明 Ang II/AT1 受体信号通路在实体肿瘤中促进血管内皮生长因子(VEGF)介导的血管生成,AT1 受体表达与 VEGF 和 VEGF 受体(VEGFR)的表达及不同人类肿瘤中微血管的密度(MVD)相关^[11]。Ang II 还可促进间质细胞内 VEGF 的表达,VEGF 也是诱导肿瘤血管通透性过高的主要原因之一^[15-16]。研究表明 Ang II/AT1 受体信号通过多种机制损害肿瘤供血,如纤维组织介导的血管压迫,VEGF 诱导的血管渗漏和形态异常,Ang II 介导的宿主血管收缩等,结果导致肿瘤缺氧加重及免疫抑制和逃避,而 RAS 系统抑制剂可以减少 VEGF 介导的血管生成和纤维增生,使肿瘤血管系统正常化^[17]。本次研究结果显示 AT1 受体主要在肿瘤细胞的胞质和胞膜中表达,阳性率较高为 89.1%,而在正常的癌旁组织中 AT1 阳性表达率为 15.0%,两者相比差异有统计学意义。同时,AT1 受体的表达和年龄、性别无关,而与原发性肿瘤组织的大小,淋巴转移及临床分期有关,AT1 受体的表达程度越高,肿瘤细胞的恶性程度越高。本次研究结果显示 RAS 系统可能在口腔鳞癌的发生发展中起着一定的作用,AT1 受体可作为判断肿瘤恶性程度的重要指标;同时,我们预测 AT1 受体在肿瘤中的高表达,可能在口腔鳞癌细胞恶变,增殖、抗凋亡过程中起促进作用。下一步的研究中,我们会增加研究样本量,并增加细胞实验,进一步明确 RAS 系统在口腔鳞癌中的作用及相关机制。

综上所述,本次研究结果表明 AT1 受体与口腔鳞癌的发生发展及淋巴转移密切相关,可作为口腔鳞癌的诊断及恶性程度、预后的重要评判指标,为口腔鳞癌的治疗提供新的思路。

(本文图 1 见插图 12-1)

参考文献

- [1] 王露露,吴萌萌,董静,等.穿心莲内酯联合平阳霉素对口腔鳞癌细胞SCC-9凋亡的影响[J].安徽医药,2018,22(12):2315-2318.
- [2] ZHANG Q, YU S, MMT L, et al. Angiotensin II promotes ovarian cancer spheroid formation and metastasis by upregulation of lipid desaturation and suppression of endoplasmic reticulum stress[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2019, 38(1): 116.
- [3] COULSON R, LIEW SH, CONNELLY AA, et al. The angiotensin receptor blocker, Losartan, inhibits mammary tumor development and progression to invasive carcinoma[J]. Oncotarget, 2017, 8(12): 18640-18656.
- [4] WANG H, LUO Q, FENG X, et al. NLRP3 promotes tumor growth and metastasis in human oral squamous cell carcinoma[J]. BMC Cancer, 2018, 18(1): 500.
- [5] GAO W, LI JZ, CHEN SQ, et al. Decreased brain-expressed X-linked 4 (BEX4) expression promotes growth of oral squamous cell carcinoma[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2016, 35(1): 92.
- [6] 詹甜甜,高洁,葛昕,等.SATB2在口腔鳞癌中的表达及其与迁移、侵袭的临床意义研究[J].口腔生物医学,2017,8(2):60-64.
- [7] 于烁,丁丽娜,李乾鹏,等.TGF- β 1和Smad7在口腔鳞状细胞癌中的表达及意义[J].北京口腔医学,2019,27(2):80-83.
- [8] 陆展翼,胡勤刚,陈盛,等.口腔鳞状细胞癌组织TGF- β 1表达和临床病理学参数对预后的影响[J].口腔医学研究,2019,35(5):433-438.
- [9] 高前嵩,蒋勇.环氧合酶-2在口腔鳞癌发生过程中的表达和意义[J].安徽医药,2016,20(4):732-734.
- [10] GEORGE AJ, THOMAS WG, HANNAN RD. The renin-angiotensin system and cancer: old dog, new tricks [J]. Nat Rev Cancer, 2010, 10(11): 745-759.
- [11] ARRIETA O, VILLARREAL-GARZA C, VIZCAÍNO G, et al. Association between AT1 and AT2 angiotensin II receptor expression with cell proliferation and angiogenesis in operable breast cancer[J]. Tumour Biol, 2015, 36(7): 5627-5634.
- [12] ZHOU L, LUO Y, SATO S, et al. Role of two types of angiotensin II receptors in colorectal carcinoma progression[J]. Pathobiology, 2014, 81(4): 169-175.
- [13] XU ZW, YAN SX, WU HX, et al. The influence of TNF alpha and Ang II on the proliferation, migration and invasion of HepG2 cells by regulating the expression of GRK2[J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2017, 79(4): 747-758.
- [14] LIU H, NAXEROVA K, PINTER M, et al. Use of angiotensin system inhibitors is associated with immune activation and longer survival in nonmetastatic pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. Clin Cancer Res, 2017, 23(19): 5959-5969.
- [15] JAIN RK, MARTIN JD, STYLIANOPOULOS T. The role of mechanical forces in tumor growth and therapy [J]. Annu Rev Biomed Eng, 2014, 16: 321-346.
- [16] JAIN RK. Antiangiogenesis strategies revisited: from starving tumors to alleviating hypoxia [J]. Cancer Cell, 2014, 26(5): 605-622.
- [17] PINTER M, JAIN RK. Targeting the renin-angiotensin system to improve cancer treatment: Implications for immunotherapy [J]. Sci Transl Med, 2017, 9(410). pii: eaan5616. DOI: 10.1126/scitranslmed.aan5616.

(收稿日期:2019-08-10,修回日期:2019-08-29)