

· 专题报道 ·

人喉癌组织中支原体感染的检测

赵舒薇^{1*}, 孙宝春², 郎军添¹, 邱杰¹, 何金³, 强笔¹, 王海青¹, 英信江¹, 叶青¹, 孙爱华¹

(1. 第二军医大学长征医院耳鼻喉科, 上海 200003; 2. 解放军总医院附属 304 医院耳鼻喉科, 北京 100037; 3. 长征医院病理科)

[摘要] **目的:**检测、分析喉癌组织中支原体感染的情况,探讨支原体感染对喉癌发生、发展以及预后的影响。**方法:**应用免疫组织化学方法对 214 例喉不同病变及喉癌颈转移淋巴结组织标本中支原体感染情况进行检测,其中包括喉癌 121 例,喉癌前病变 21 例,声带息肉 17 例,癌旁正常喉组织 14 例,癌周对侧正常喉组织 9 例以及喉癌颈转移淋巴结 32 例,并对结果进行分析。**结果:**人喉癌组织、喉癌颈转移淋巴结组织、喉癌前病变、声带息肉、癌旁正常喉组织、癌周对侧正常喉组织中抗猪鼻支原体抗体 2G10 反应阳性率分别为 44.63% (54/121)、34.38% (11/32)、23.81% (5/21)、17.65% (3/17)、7.14% (1/14)、0% (0/9);人喉癌组织、喉癌颈转移淋巴结组织的 2G10 感染阳性率明显高于其他各组 ($P < 0.05$)。中晚期喉癌(Ⅲ-Ⅳ期)中 2G10 感染明显高于早期喉癌(Ⅰ-Ⅱ期)[68.18% (45/66) vs 16.36% (9/55), $P < 0.01$]。伴颈淋巴结转移喉癌组织 2G10 阳性率为 62.50% (20/32),无颈淋巴结转移喉癌阳性率为 35.96% (32/89),二者之间有显著差异 ($P < 0.01$)。2G10 阴性Ⅲ-Ⅳ期喉癌病例 3、5 年生存率分别为 85.71% (18/21) 及 84.21% (16/19),而 2G10 表达阳性Ⅲ-Ⅳ期喉癌病例 3、5 年生存率则分别为 60.0% (27/45) 及 58.14% (25/43),2G10 表达阳性病例 3、5 年生存率均明显低于 2G10 表达阴性病例 ($P < 0.05$)。**结论:**人喉癌组织支原体感染率较高,支原体感染与喉癌的发生、发展以及预后有一定的相关性。

[关键词] 喉肿瘤;支原体感染;预后

[中图分类号] R 739.65

[文献标识码] A

[文章编号] 0258-879X(2006)08-0817-03

Detection of mycoplasma infection in human laryngeal carcinoma

ZHAO Shu-wei^{1*}, SUN Bao-chun², LANG Jun-tian¹, QIU Jie¹, HE Jin³, QIANG Bi¹, WANG Hai-qing¹, YING Xin-jiang¹, YE Qing¹, SUN Ai-hua¹ (1. Department of Otorhinolaryngology, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China; 2. Department of Otorhinolaryngology, No. 304 Hospital of PLA, Beijing 100037; 3. Department of Pathology, Changzheng Hospital, Second Military Medical University)

[ABSTRACT] **Objective:** To detect and analyze the mycoplasma infection in human laryngeal carcinoma and to explore the relationship between the infection with the development, progression and prognosis of laryngeal cancer. **Methods:** Immunohistochemical methods were employed to detect the mycoplasma infection in 214 specimens of different laryngeal lesions and cervical lymphatic tumors metastasized from laryngeal cancer, including 121 laryngeal cancer specimens, 21 laryngeal precancerous specimens, 17 vocal cord polypus specimens, 14 normal laryngeal tissues adjacent to cancer tissues, 9 normal laryngeal tissues opposite to the cancer, and 32 cervical lymphatic tumor specimens metastasized from laryngeal cancer. The infection results were subjected to statistical analysis. **Results:** The positive rates of mycoplasma 2G10 antibody in laryngeal carcinoma specimens, cervical lymphatic tumor specimens metastasized from laryngeal cancer, laryngeal precancerous specimens, vocal cord polypus specimens, normal laryngeal tissues adjacent to cancer tissues, and normal laryngeal tissues opposite to the cancer were 44.63% (54/121), 34.38% (11/32), 23.81% (5/21), 17.65% (3/17), 7.14% (1/14), and 0% (0/9), respectively, with those of laryngeal carcinoma specimens and cervical lymphatic tumor specimens metastasized from laryngeal cancer significantly higher than those of other specimens ($P < 0.05$). The positive rate of early stage laryngeal carcinoma (I-II stage, 16.36% [9/55]) was significantly lower than that of advanced stage laryngeal carcinoma (III-IV, 68.18% [45/66]), ($P < 0.01$). The positive rate of laryngeal carcinoma with cervical metastasis was higher (62.50% [20/32]) than that without cervical metastasis (35.96% [32/89]), ($P < 0.01$). The 3- and 5-year survival rates of III-IV stage patients positive of 2G10 antigen (60.0% [27/45], 58.14% [25/43]) were lower than those of patients negative of 2G10 antigen (85.71% [18/21], 84.21% [16/19]), ($P < 0.05$). **Conclusion:** Laryngeal carcinoma has a high infection rate of mycoplasma, which may be related with the development, progression and prognosis of laryngeal carcinoma.

[KEY WORDS] laryngeal neoplasms; mycoplasma infections; prognosis

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2006, 27(8):817-819]

近年来支原体感染在肿瘤发生中的作用引起了国内外学者的关注。Tsai 等^[1]通过用发酵支原体和穿透支原体持续感染 C3H 鼠胚细胞研究支原体感

[基金项目] 国家自然科学基金(30371610)。Supported by National Natural Science Foundation of China(30371610)。

[作者简介] 赵舒薇,博士,教授、主任医师,博士生导师。

* Corresponding author. E-mail: zhaoshw@citiz.net

染与肿瘤形成之间的关系,模拟了肿瘤形成的过程。寿成超等^[2,3]用抗猪鼻支原体抗体对不同肿瘤组织进行免疫组化检测,结果表明胃、肠、肺、乳腺、食管等肿瘤均有较高的支原体感染率。为了研究喉癌的发生、发展与支原体感染之间的关系,本研究应用免疫组织化学方法对214例不同病变喉组织及喉癌颈转移淋巴结组织中支原体感染情况进行检测,并对检测结果进行分析,以探讨支原体感染对喉癌发生、发展及预后的影响。

1 材料和方法

1.1 临床资料 收集自1991~2001年第二军医大学长征医院病理科不同病变喉组织及喉癌颈转移淋巴结组织石蜡标本共214例。包括:喉癌121例,喉癌颈转移淋巴结组织32例;喉癌前病变21例(慢性肥厚性喉炎非典型增生11例,成人型喉乳头状瘤6例,声带白斑4例);声带息肉17例;癌旁正常喉组织(距肿瘤边缘0.5~1.0 cm)14例;癌周对侧正常喉组织(距肿瘤边缘>1.5 cm)9例。本组121例喉癌,临床分期根据UICC 1997年标准^[4]:声门上型33例、声门型87例、声门下型1例;I期24例、II期31例、III期38例、IV期28例;颈淋巴结转移分期:121例喉癌中N0(无颈淋巴结转移)89例,N1-3(颈淋巴结转移N1-3)32例。随访时间1~10年,其中1年以上117例,3年以上93例,5年以上64例,失访4例,随访率96.7%。

1.2 试剂 鼠抗猪鼻支原体多克隆抗体2G10由北京大学临床肿瘤学院寿成超教授惠赠,EnVisionTM+试剂盒(K40004)、水性封片胶均购自DAKO公司。

1.3 免疫组织化学染色 4 μm连续切片,脱蜡,乙醇水化,3%过氧化氢10 min,阻断内源性过氧化物酶,蒸馏水漂洗,置于PBS 10 min。加多克隆抗体2G10(10 μg/ml),4℃过夜。经磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤10 min,EnVisionTM+孵育30 min,PBS漂洗10 min,AEC显色10 min,蒸馏水漂洗,苏木精复染,水性封片胶封片后镜下观察。2G10反应阳性的胃癌标本作阳性对照,PBS代替一抗作空白对照,正常小鼠IgG为阴性对照。

1.4 结果判断 染色结果根据胞质或胞膜染色程度及阳性细胞数二级计分法分为3个等级。阴性(-):无阳性细胞;阳性(+):阳性细胞占25%以下且显色浅;阳性(++) :阳性细胞25%~50%,显色较深;阳性(+++) :阳性细胞占50%以上且显色很深。

1.5 统计学处理 采用χ²检验。

2 结果

2.1 不同喉组织及颈转移淋巴结组织中支原体感染检测结果 2G10阳性表现为胞质或胞膜染色,深红色(图1),2G10阴性表现为胞质或胞膜无染色,无阳性细胞(图2)。喉癌组织、喉癌颈转移淋巴结组织、喉癌前病变(慢性肥厚性喉炎非典型增生,成人型喉乳头状瘤,声带白斑)组织、声带息肉、癌旁正常喉组织、癌周对侧正常喉组织中2G10阳性率分别为44.63%(54/121)、34.38%(11/32)、23.81%(5/21)、17.65%(3/17)、7.14%(1/14)、0%(0/9)。喉癌组织2G10阳性率明显高于喉癌前病变组织、声带息肉、癌旁正常喉组织、癌周对侧正常喉组织(P<0.05);喉癌组织与喉癌颈转移淋巴结转移组织之间2G10阳性率差异无统计学意义(P>0.05)。

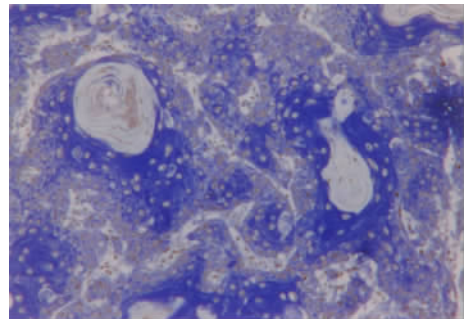


图1 人喉癌组织2G10阳性表达(++)
Fig 1 Positive expression of 2G10 in human laryngeal carcinoma(EnVision, ×100)

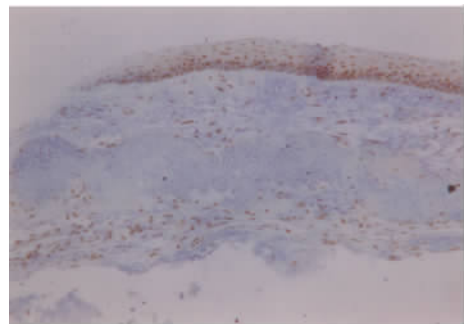


图2 人喉癌组织2G10阴性表达(-)
Fig 2 Negative expression of 2G10 in human laryngeal carcinoma(EnVision, ×100)

2.2 不同临床分期以及伴或不伴颈淋巴结转移喉癌组织中支原体感染检测结果 喉癌I、II、III、IV期的2G10阳性率分别12.50%(3/24)、19.35%(6/31)、57.89%(22/38)、82.14%(23/28),I期喉癌的2G10阳性率明显低于其他3期(P<0.01)。

中晚期喉癌(Ⅲ-Ⅳ期)组织明显高于早期喉癌(Ⅰ-Ⅱ期)组织[68.18%(45/66) vs 16.36%(9/55), $P < 0.01$].伴颈淋巴结转移喉癌组织 2G10 阳性率为62.50%(20/32),喉癌无颈淋巴结转移阳性率为35.96%(32/89),二者之间差异有统计学意义($P < 0.01$).

2.3 中晚期喉癌组织支原体感染检测结果与预后情况 2G10 表达阴性的Ⅲ-Ⅳ期喉癌病例 3、5 年生存率分别为 85.71%(18/21)及 84.21%(16/19),而 2G10 表达阳性的Ⅲ-Ⅳ期喉癌病例 3、5 年生存率则分别为 60.0%(27/45)及 58.14%(25/43)。2G10 表达阳性病例 3、5 年生存率均明显低于 2G10 表达阴性病例($P < 0.05$)。喉癌局部复发 5 例(4.1%)中,2G10 表达阳性 2 例(占 40.0%),表明局部复发病例中也存在较高支原体感染现象。

3 讨论

目前有关喉癌发生、发展和预后相关生物学因素的研究仍处于探索阶段^[5-8],喉癌与支原体感染之间关系的研究国内尚未见报道。在以往研究^[7-10]中,我们曾对喉癌发生与人乳头状瘤病毒感染的关系生物学因素作过一定的探讨。不少研究^[2,5]表明在胃肠肿瘤中,支原体的感染较非肿瘤疾病有显著增高,支原体在肿瘤组织中的感染与某些恶性肿瘤细胞的发生有一定关系,支原体感染能导致肿瘤侵袭力增强并和其致癌性存在相关性。Zhang 等^[11]报道支原体的慢性感染可诱导宿主细胞的恶性转化,介导促进细胞的“不死性”。其机制可能通过与细胞膜受体作用,活化并传递一个抗凋亡的放大信号,抑制细胞凋亡,使细胞持续增殖,最终导致细胞转化,它是一个多阶段多步骤的积累过程^[1,3]。

本研究发现 2G10 在喉癌组织中的感染阳性率为 44.63%,与寿成超等^[2,3]报道的在其他多种肿瘤组织中的支原体检测阳性率相接近。我们的检测结果表明 2G10 在喉癌周对侧正常组织、喉癌旁正常组织、声带息肉、喉癌前病变和喉癌组织及喉癌颈转移淋巴结组织中表达各异,其中喉癌组织及喉癌颈转移淋巴结组织中支原体感染明显高于非肿瘤组织中的感染阳性率,表明喉癌的发生、发展及预后与支原体感染之间存在一定关系。本组 14 例喉癌旁正

常组织中发现 1 例 2G10 表达阳性,这可能与支原体感染的普遍性有关。

本研究对 121 例喉癌患者进行随访,结果发现Ⅲ-Ⅳ期病例总 3、5 年生存率分别为 68.18%(45/66)、66.12%(41/62)。将喉癌Ⅲ-Ⅳ期 2G10 表达阳性病例 3、5 年生存率(60.0%、58.14%)与Ⅲ-Ⅳ期阴性病例生存率(85.71%、84.21%)分别对比,结果发现 2G10 表达阳性组 3、5 年生存率明显低于阴性组,提示喉癌预后可能与支原体感染相关。

上述研究结果表明支原体感染与喉癌的发生、发展及预后有一定的相关性,但 2G10 在喉癌中的致病作用及影响机制仍待进一步探讨。

[参考文献]

- [1] Tsai S, Wear DJ, Shih JW, et al. Mycoplasmas and oncogenesis: persistent infection and multistage malignant transformation[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1995, 92:10197-10201.
- [2] 黄 甦,寿成超,吴 健,等.支原体感染与人胃肠肿瘤的关系[J].中华医学杂志,2001,81:601-604.
- [3] 宁金鹰,寿成超.支原体感染与肿瘤[J].癌症,2004,23:602-604.
- [4] 王正敏,陆书昌 主编.现代耳鼻咽喉科学[M].北京:人民卫生出版社,2001:954-955.
- [5] Gallus S, Bosetti C, Franceschi S, et al. Laryngeal cancer in women: tobacco, alcohol, nutritional, and hormonal factors[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2003,12:514-517.
- [6] Bosetti C, La Vecchia C, Talamini R, et al. Energy, macronutrients and laryngeal cancer risk[J]. Ann Oncol, 2003,14:907-912.
- [7] Zhao SW, Fei SZ, Guo ZX, et al. Studies on the interrelationship of Chinese laryngeal carcinoma and human papillomavirus[J]. J Med Coll PLA, 1996,11:294-299.
- [8] 孙宝春,赵舒薇,何 金,等.人喉癌组织中增殖细胞核抗原、CD44 蛋白的表达及临床意义[J].第二军医大学学报,2003,24:77-79.
- [9] 邱 杰,赵舒薇,英信江,等.人乳头状瘤病毒 16E7 在人喉癌细胞系中的转染及表达[J].第二军医大学学报,2005,26:1343-1346.
- [10] 英信江,赵舒薇,邱 杰,等. HPV16E7 蛋白和 Rb 蛋白在人喉鳞状细胞癌中的表达及相关性研究[J].第二军医大学学报,2004,25:1364-1367.
- [11] Zhang SM, Tsai S, Wu TT, et al. Mycoplasma fermentans infection promotes immortalization of human peripheral blood mononuclear cells in culture[J]. Blood, 2004,104:4252-4259.

[收稿日期] 2005-12-21

[修回日期] 2006-04-05

[本文编辑] 贾泽军