引文格式:李宝华,刘平,王新. 整合素连接激酶和 Toll 样受体-2 在眼附属器黏膜相关淋巴组织淋巴瘤中的表达及其对预后的影响[J]. 眼科新进展,2018,38(2):164-167. doi:10.13389/j.cnki.rao.2018.0037

【应用研究】

整合素连接激酶和 Toll 样受体-2 在眼附属器黏膜相关淋巴组织淋巴瘤中的表达及其对预后的影响

李宝华 刘平 王新

作者简介:李宝华,男,1980 年 5 月出生,河南驻马店人,硕士。E-mail:376935831@qq.com;ORCID:0000-0003-1161-0827

About LI Bao-Hua: Male, born in May, 1980. Master degree. E-mail: 376935831@qq.com; ORCID: 0000-0003-1161-0827

收稿日期:2017-05-15
修回日期:2017-08-10
本文编辑:盛丽娜

作者单位:450003 河南省郑州市,郑州人民医院眼科
通讯作者:刘平,E-mail:lxylp2388@sina.com;ORCID:0000-0003-3337-8723

Received date: May 15, 2017
Accepted date: Aug 10, 2017

From the *Zhengzhou People's Hospital*, *Zhengzhou* 450003, *Henan Province*, *China*
Responsible author: LIU Ping, E-mail: lxylp2388@sina.com; ORCID: 0000-0003-3337-8723

Expression of integrin-linked kinase (ILK) and Toll-like receptor (TLR-2) in ocular adnexal MALT lymphoma and the effects on patients' prognosis

LI Bao-Hua, LIU Ping, WANG Xin

【Abstract】 **Objective** To investigate the expression of integrin-linked kinase (ILK) and Toll-like receptor (TLR-2) in ocular adnexal mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) lymphoma and the effects on patients' outcomes. **Methods** Tissue specimens from 46 patients with MALT lymphoma were collected in this study. The expression of ILK and TLR-2 protein was detected by immunohistochemical methods, and the correlation of ILK and TLR-2 protein expression with clinicopathological features and patients' outcomes was analyzed. **Results** The positive rates of ILK and TLR-2 protein expression in tumor tissues were 67.4% (31/46) and 71.7% (33/46), respectively, which was related to the clinical stage of AnnArbor ($P<0.05$), rather than to sex, age and lesion location (all $P>0.05$). The survival of patients with ILK positive expression was less than that of ones with ILK negative expression [(21.5±2.7) months *vs.* (29.2±2.1) months] ($P<0.05$); meanwhile, the survival of patients with TLR-2 positive expression was less than that of ones with TLR-2 negative expression [(20.4±1.7) months *v.* (27.6±2.3) months] ($P<0.05$). **Conclusion** ILK and TLR-2 are closely related to biological behavior of ocular adnexal MALT lymphoma, and combination detection of ILK and TLR-2 has a certain guiding value for diagnosis and prognosis.

【Key words】 integrin-linked kinase; Toll-like receptor-2; ocular adnexal; MALT lymphoma

【摘要】 **目的** 研究整合素连接激酶(integrin linked kinase,ILK)与 Toll 样受体-2(Toll like receptors-2,TLR-2)在眼附属器黏膜相关淋巴组织(mucosa-associated lymphatic tissue,MALT)淋巴瘤中的表达及其对患者生存状况的影响。**方法** 收集 46 例(46 眼)符合眼附属器 MALT 淋巴瘤诊断标准的患者病灶组织标本,运用免疫组织化学染色法测定其 ILK 与 TLR-2 的蛋白表达情况,分析 ILK 与 TLR-2 蛋白与患者临床病理特征的关系;同时探讨 ILK 与 TLR-2 蛋白表达情况与患者预后的关系。**结果** 患者瘤组织中的 ILK 与 TLR-2 蛋白表达阳性率分别为 67.4%(31/46)、71.7%(33/46)。患者瘤组织中 ILK、TLR-2 蛋白表达阳性率均与性别、年龄、病灶部位均无关(均为 $P>0.05$),均与 AnnArbor 临床分期相关(均为 $P<0.05$)。ILK 蛋白表达阳性患者的生存期(治疗结束至随访末期的时间)为(21.5±2.7)个月,低于 ILK 蛋白表达阴性患者的生存期(29.2±2.1)个月($P<0.05$);TLR-2 蛋白表达阳性患者的生存期为(20.4±1.7)个月,低于 TLR-2 蛋白表达阴性患者的生存期(27.6±2.3)个月($P<0.05$)。**结论** ILK、TLR-2 与眼附属器 MALT 淋巴瘤的生物学行为密切相关;联合检测 ILK、TLR-2 对此类疾病诊断及患者预后具有一定的指导价值。

【关键词】 整合素连接激酶;Toll 样受体-2;眼附属器;黏膜相关淋巴组淋巴瘤
【中图分类号】 R777

黏膜相关淋巴组织(mucosa-associated lymphatic tissue,MALT)淋巴瘤是临床较为常见的眼附属器淋巴瘤之一,近年来此病发病人数逐渐增加。眼附属器 MALT 淋巴瘤会对患者的视力及外观等产生不良影响,严重影响患者的生存质量[1]。眼附属器 MALT 淋巴瘤发病机制尚不明确,可能与遗传、免疫抑制等多种因素相关[2-3]。整合素连接激酶(integrin linked kinase,ILK)能够与整合素胞浆域结合,作用于多条与恶性肿瘤相关的信号转导途径[4]。Toll 样受体-2(Toll like receptors-2,TLR-2)在天然免疫及获得性免疫中具有十分重要的作用,其在免疫细胞及肿瘤细胞中均有表达[5]。本研究旨在探讨 ILK 与 TLR-2 在眼附属器 MALT 淋巴瘤中的表达及其对患者生存状况的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2013 年 1 月至 2014 年 4 月我院收治的眼附属器 MALT 淋巴瘤患者 46 例(46

眼)为研究对象,其中,男 24 例(24 眼),女 22 例(22 眼);年龄 29~73 (57.4±2.5)岁;病灶部位:眼睑 20 眼,眼眶 15 眼,泪腺 11 眼;AnnArbor 临床分期,Ⅰ+Ⅱ期 37 眼,Ⅲ+Ⅳ期 9 眼。所有患者均实施外科手术切除治疗,术后均辅以化学治疗或放射治疗,收集其瘤组织进行病理研究。纳入标准:(1)经影像学、病理学等检查确诊为眼附属器 MALT 淋巴瘤;(2)术前未接受任何放射治疗、化学治疗干预处理;(3)病历资料完整。排除标准:(1)存在其他类型的恶性肿瘤者;(2)存在肝、肾等其他器官疾病者。

1.2 免疫组织化学染色 取适量标本组织给予甲醛溶液固定,经石蜡包埋,切片。参照文献[6]的方法进行脱蜡、水化、抗原修复及滴加一抗、二抗、二氨基联苯胺显色操作。ILK 与 TLR-2 抗体(均购自美国 Epitomics 公司)浓度均为 1∶100。阴性对照采用 PBS 替代一抗,用已知阳性标本作阳性对照。结果判定:ILK 蛋白染色阳性为细胞浆呈棕黄色;TLR-2 蛋白染色阳性为细胞膜或细胞浆呈棕黄色。参照免疫组织化学染色评分标准评分:(1)按染色强度计分:无着色为阴性,浅黄色为弱阳性,黄色为中阳性,棕黄色为强阳性,分别计 0~3 分;(2)按阳性细胞数计分:阳性细胞数≤10% 计为 0 分,>10%~25% 为 1 分,>25%~50% 为 2 分,>50% 为 3 分。将(1)、(2)得分相乘:0 分计为(-),1~3 分为(+),4~6 分为(++),7~9 分为(+++);设(+)~(+++)为阳性,(-)为阴性[3]。

1.3 术后随访 所有患者均运用信函或者电话等形式进行随访。随访结束时间为 2017 年 4 月 5 日,平均随访 36 个月。随访内容主要为患者生存期(治疗结束至随访末期的时间)及状态(如死亡、存活、失访等)。

1.4 统计学分析 应用 SPSS 21.0 统计分析数据,计数资料采用卡方检验,生存期分析采用 Kaplan-Meier 分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 免疫组织化学染色检测结果 ILK 与 TLR-2 蛋白表达产物均为棕黄色颗粒(图 1-图 2)。患者瘤组织中的 ILK 与 TLR-2 蛋白表达阳性率分别为 67.4%(31/46)、71.7%(33/46),具体见表 1。

表 1 ILK 与 TLR-2 蛋白在瘤组织中的表达 (眼)

蛋白	*n*	-	+	++	+++	阳性率
ILK	46	15	6	9	16	67.4%
TLR-2	46	13	8	12	13	71.7%

2.2 ILK、TLR-2 蛋白表达与眼附属器 MALT 淋巴瘤临床特征的关系 患者瘤组织中 ILK、TLR-2 蛋白表达阳性率均与性别、年龄、病灶部位无关(均为 $P>0.05$),均与 AnnArbor 临床分期相关(均为 $P<0.05$;见表 2)。

图 1 ILK 蛋白在瘤组织中的阳性表达(×400)

图 2 TLR-2 在瘤组织中的阳性表达(×400)

表 2 ILK、TLR-2 蛋白表达与眼附属器 MALT 淋巴瘤临床特征的关系

临床病理特征	*n*	ILK 蛋白阳性例数	χ^2	*P*	TLR-2 蛋白阳性例数	χ^2	*P*
性别							
男	24	16	0.107	>0.05	17	0.144	>0.05
女	22	15			16		
年龄							
<50 岁	22	15	0.136	>0.05	16	0.178	>0.05
≥50 岁	24	16			17		
病灶部位							
眼睑	20	11			16		
眼眶	15	11	0.251	>0.05	11	0.206	>0.05
泪腺	11	9			6		
AnnArbor 临床分期							
Ⅰ+Ⅱ期	37	22	8.748	<0.05	24	9.003	<0.05
Ⅲ+Ⅳ期	9	9			9		

2.3 ILK、TLR-2 蛋白与患者术后生存期的关系 46 例患者在术后平均 3 a 随访过程中,2 例死亡于 MALT 淋巴瘤复发(男女各 1 例,年龄均大于 50 岁,ILK、TLR-2 蛋白表达均为阳性,AnnArbor 临床分期均为Ⅳ期,病灶部位眼睑与眼眶各 1 例,2 例均在术后 20 个月左右死亡),存活 44 例(存活者无复发),无一例失访。ILK、TLR-2 蛋白异常表达与患者术后

生存期有关,ILK 蛋白表达阳性患者的生存期为(21.5 ±2.7)个月,低于 ILK 蛋白表达阴性患者的生存期(29.2 ±2.1)个月(χ^2 = 6.725,P < 0.05;图 3);TLR-2 蛋白表达阳性患者的生存期为(20.4 ±1.7)个月,低于 TLR-2 蛋白表达阴性患者的生存期(27.6 ±2.3)个月(P < 0.05;见图 4)。

图 3 ILK 蛋白与患者术后生存期的关系

图 4 TLR-2 蛋白与患者术后生存期的关系

3 讨论

MALT 淋巴瘤发病灶常见于胃、肺、眼附属器、皮肤等。眼附属器 MALT 淋巴瘤可发病于结膜、泪腺、眼眶等多个眼部位置,起病较为缓慢,症状不是很明显,较难诊断[7-8]。MRI、B 超、CT 等影像学检查是目前诊断眼附属器 MALT 淋巴瘤的常见方法,但是此类检查只能明确恶性肿瘤的大小、性质等,如要确诊则还需要行病理学检查。通过病理学检查,运用免疫组织化学染色分析与肿瘤相关的分子标志物在患者病灶组织标本中的表达情况,有益于了解患者临床病理特征,科学预测其预后[9-10]。

研究证实[11-12],ILK 在胃癌、肝癌及子宫癌等多种癌组织中均存在高表达,且 ILK 表达程度与肿瘤恶性程度有关。也有学者[13]通过动物实验发现,ILK 过表达能够诱发裸鼠肿瘤的发生。TLR-2 为 TLRs 的重要成员,可通过肿瘤坏死因子受体相关因子-6 实施信号转导,诱发核因子 κB 活化与免疫相关基因进行转录。TLR 信号通路一旦在机体被激活,可以引发促炎细胞因子等的产生[14]。有学者认为,TLR-2 在肺癌及弥漫性大 B 细胞淋巴瘤中的异常表达,可能与肿瘤免疫逃避相关[15-16]。本研究结果显示,眼附属器 MALT 淋巴瘤患者瘤组织中的 ILK 与 TLR-2 蛋白表达阳性率分别为 67.4%、71.7%,这与 ILK 在胃癌[17]、TLR-2 在口腔癌[18]中的研究结果一致。表明 ILK 与 TLR-2 的蛋白在眼附属器 MALT 淋巴瘤中呈高表达,提示 ILK 与 TLR-2 指标异质性较为明显,可用于诊断本病。

我们还发现,患者瘤组织中 ILK、TLR-2 的蛋白表达阳性率均与性别、年龄、病灶部位均无关(均为 P > 0.05),与 AnnArbor 临床分期相关(P < 0.05)。说明眼附属器 MALT 淋巴瘤患者 ILK、TLR-2 的蛋白表达的差异性,会使此类肿瘤细胞生物学行为存在一定的差异。

术后随访发现,ILK 蛋白表达阳性的患者生存期低于 ILK 蛋白表达阴性患者的生存期(P < 0.05);TLR-2 蛋白表达阳性患者的生存期低于 TLR-2 蛋白表达阴性患者的生存期(P < 0.05)。提示 ILK、TLR-2蛋白表达与眼附属器 MALT 淋巴瘤预后相关,ILK、TLR-2 阴性表达者预后更佳。但是,由于眼附属器 MALT 淋巴瘤致病机制比较复杂,其可能是多因素共同作用而形成的,故对 ILK、TLR-2 蛋白表达影响此类患者预后的确切作用机制尚需深入研究。

综上所述,ILK、TLR-2 与眼附属器 MALT 淋巴瘤的生物学行为密切相关;联合检测 ILK、TLR-2 对此类疾病诊断及患者预后具有一定的指导价值。

参考文献

[1] LI YZ, WEI RL, CAI JP, LI Y, CHENG JW. The therapy and the risk factors for ocular adnexal mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma transformation into DLBCL[J]. *Ophthalmol CHN*, 2012, 21(5): 352-356.
李玉珍,魏锐利,蔡季平,李由,程金伟. 眼附属器 MALT 淋巴瘤的治疗及转化为弥漫性大 B 细胞淋巴瘤的危险因素[J]. 眼科, 2012, 21(5): 352-356.

[2] DESAI A, JOAG MG, LEKAKIS L, CHAPMAN JR, VEGA F, TIBSHIRANI R, *et al*. Long-term course of patients with primary ocular adnexal MALT lymphoma: a large single-institution cohort study[J]. *Blood*, 2017, 129(3): 324-332.

[3] OHGA S, NAKAMURA K, SHIOYAMA Y, SASAKI T, YAMAGUCHI T, YOSHITAKE T, *et al*. Treatment outcome of radiotherapy for localized primary ocular adnexal MALT lymphoma-prognostic effect of the ajcc tumor-node-metastasis clinical staging system[J]. *Anticancer Res*, 2015, 35(6): 3591-3597.

[4] GUAN YY. Expression and Significances of integrin-linked kinase and nitric oxide synthase in oral squamous cell carcinoma[J]. *J Oral Sci Res*, 2016, 32(5): 527-530.
管永昱. 整合素连接激酶和一氧化氮合酶在口腔鳞状细胞癌中的表达及意义[J]. 口腔医学研究, 2016, 32(5): 527-530.

[5] LI KY, XIONG SD, XIONG WN. Effects of Toll-like receptor 2 signaling on expression of interleukin-17 in EL4 T cells[J]. *Acta Medi Univ Sci Technol Huazhong*, 2011, 40(5): 517-520.
李开艳,熊盛道,熊维宁. Toll 样受体 2 信号对小鼠淋巴瘤 EL4 细胞系表达 IL-17 的影响[J]. 华中科技大学学报医学版, 2011, 40(5): 517-520.

[6] DE SOUZA DR, SANABANI SS, DE SOUZA AC. Prognostic impact of MYCN, DDX1, TrkA, and TrkC gene transcripts ex-

pression in neuroblastoma[J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2011, 56(5):749-756.
[7] GULATI S, CORRÊA ZM, KARIM N, MEDLIN S. Ocular adnexal lymphoma presenting with visual loss[J]. *Am J Med Sci*, 2016, 8(1):56-60.
[8] BHARDWAJ M, SHARMA A, SEN S, KUMAR L, SATPATHY G, KASHYAP S, *et al*. Chlamydia, and ocular adnexal lymphomas: An Indian experience[J]. *Exp Mol Pathol*, 2016, 101(1):74-80.
[9] JUNG SK, PAIK JS, JUNG SE, PARK G, CHOI BO, OH JK, *et al*. Suggestion of response evaluation criteria in patients with ocular adnexal mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma (OAML)[J]. *Ann Hematol*, 2015, 94(7):1185-1193.
[10] STAGNER AM, JAKOBIEC FA, FREITAG SK. Primary cutaneous extranodal marginal zone B-cell lymphoma of the eyelid skin: Diagnostic clues and distinction from other ocular adnexal diseases[J]. *Sur Ophthalmol*, 2015, 61(3):333-338.
[11] DONG L. Expression and significance of Hsp90 and its client protein ILK in gastric cancer and precancerous lesion[J]. *Chin J Int Trad West Med Digest*, 2016, 24(4):271-274.
董梁. Hsp90 及其受体蛋白 ILK 在胃癌及癌前病变中的表达及意义[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2016, 24(4):271-274.
[12] DAI J, MATSUI T, ABEL ED, DEDHAR S, GERSZTEN RE, SEIDMAN CE, *et al*. Deep sequence analysis of gene expression identifies osteopontin as a downstream effector of integrin-linked kinase (ILK) in cardiac-specific ILK knockout mice[J]. *Circ Heart Fail*, 2014, 7(1):184-193.
[13] LEGATE KR, MONTAÑEZ E, KUDLACEK O, FÄSLER R. ILK, PINCH and parvin: the tIPP of integrin signalling[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2006, 7(1):20-31.
[14] JIN M, CUI JW, LIU XL, SU JJ, WANG WS. Study on antidepressant effect of toll-like receptor 2 inhibitor C29 and its mechanism[J]. *J Xinxiang Med Univ*, 2017, 34(6):460-464.
靳玫, 崔俊伟, 刘晓利, 宿俊杰, 王文晟. TOLL 样受体 2 抑制剂 C29 的抗抑郁效应及其机制[J]. 新乡医学院学报, 2017, 34(6):460-464.
[15] XIONG Y, SUN W, WANG Z, TU Y, LIU XF, LIANG H. TLR2 signaling pathways promote secretion of Foxp3 and VEGF in lung cancer cells[J]. *Chin J Immunol*, 2014, 30(9):1174-1177.
熊莺, 孙午, 王志, 涂艳, 刘晓峰, 梁皓. 肺癌细胞中 TLR2 信号通路促进 Foxp3 和 VEGF 分泌的研究[J]. 中国免疫学杂志, 2014, 30(9):1174-1177.
[16] ZHANG C, ZHANG QY, ZHANG MH, LU KP, WANG Y, ZHAO S. Expression and clinical significance of TLR-2 and TLR-5 in diffuse large B-cell lymphoma[J]. *Clin Oncol*, 2013, 18(5):412-415.
张翠, 张清媛, 张明辉, 卢康平, 王燕, 赵曙. TLR-2 和 TLR-5 在弥漫大 B 细胞淋巴瘤组织中的表达及临床意义[J]. 临床肿瘤学杂志, 2013, 18(5):412-415.
[17] CHANG LH, PAN SL, LAI CY, TSAI AC, TENG CM. Activated PAR-2 regulates pancreatic cancer progression through ILK/HIF-α-induced TGF-α expression and MEK/VEGF-A-mediated angiogenesis[J]. *Am J Pathol*, 2013, 183(2):566-575.
[18] ZELJIC K, SUPIC G, JOVIC N, KOZOMARA R, BRANKOVIC-MAGIC M, OBRENOVIC M, *et al*. Association of TLR2, TLR3, TLR4 and CD14 genes polymorphisms with oral cancer risk and survival[J]. *Oral Diseases*, 2014, 20(4):416-424.

(上接第 163 页)

总之,OASIS 瞳孔扩张器的应用给小瞳孔白内障手术提供了更加安全的模式,能够在白内障手术过程中提供稳定的散大状态的瞳孔,能够为手术操作提供良好的操作空间,同时减少手术并发症的发生。OASIS 瞳孔扩张器的使用没有加重眼内组织特别是角膜内皮的损伤,不影响患者术后视觉质量的恢复。

参考文献

[1] ZHAO JL. Prevention of blindness is still an arduous task and embarks on a long road in China[J]. *Chin J Ophthalmol*, 2012, 48(3):193-195.
赵家良. 我国防盲治盲工作仍然任重而道远[J]. 中华眼科杂志, 2012, 48(3):193-195.
[2] HASHEMI H, SEYEDIAN MA, MOHAMMADPOUR M. Small pupil and cataract surgery[J]. *Curr Opin Ophthalmol*, 2015, 26(1):3-9.
[3] AKMAN A, YILMAZ G, OTO S, AKOVA YA. Comparison of various pupil dilatation methods for phacoemulsification in eyes with a small pupil secondary to pseudoexfoliation[J]. *Ophthalmology*, 2004, 111(9):1693-1698.
[4] GOLDMAN JM, KARP CL. Adjunct devices for managing challenging cases in cataract surgery: pupil expansion and stabilization of the capsular bag[J]. *Curr Opin Ophthalmol*, 2007, 18(1):44-51.
[5] GRAETHER JM. Graether pupil expander for managing the small pupil during surgery[J]. *J Cataract Refract Surg*, 1996, 22(5):530-535.
[6] LIU DM, BI HS, CAI WT, MA XZ, LIU CH. The outcomes of using a pupil dilator for small pupil cataract surgery with a 2.2 mm coaxial microincision[J]. *Chin J Optom Ophthalmol Vis Sci*, 2014, 16(8):475-477.
刘冬梅, 毕宏生, 蔡婉婷, 马先祯, 刘翠红. 2.2 mm 微切口超声乳化术中置入瞳孔扩张器治疗小瞳孔白内障[J]. 中华眼视光学与视觉科学杂志, 2014, 16(8):475-477.
[7] MUŞAT O, MAHDI L, GHEORGHE A, BURCEA M, CERNAT C, CRISTESCU R, *et al*. Malyugin ring--an alternative in the treatment of a miotic pupil[J]. *Oftalmologia*, 2014, 58(2):40-42.
[8] MOYA RJO, OCHOA MGA, CANTERO VMA, GÓMEZ CCA. Malyugin ring for intraoperative miosis in femtosecond laser phacovitrectomy[J]. *Arch Soc Esp Oftalmol*, 2015, 90(9):435-438.
[9] CONRAD-HENGERER I, HENGERER FH, SCHULTZ T, DICK HB. Femtosecond laser-assisted cataract surgery in eyes with a small pupil[J]. *J Cataract Refract Surg*, 2013, 39(9):1314-1320.
[10] ROBERTS TV, LAWLESS M, HODGE C. Laser-assisted cataract surgery following insertion of a pupil expander for management of complex cataract and small irregular pupil[J]. *J Cataract Refract Surg*, 2013, 39(12):1921-1924.
[11] DICK HB, SCHULTZ T. Laser-assisted cataract surgery in small pupils using mechanical dilation devices[J]. *J Refract Surg*, 2013, 29(12):858-862.