

2012

耳鼻咽喉头颈外科学 新进展

ADVANCES

主 编 韩德民

副主编 周 梁 孔维佳 肖水芳



人民卫生出版社

2012

耳鼻咽喉头颈外科学 新进展

主 编 韩德民

副主编 周 梁 孔维佳 肖水芳

编 者 (以姓氏汉语拼音为序, 仅选文章中的第一作者)

陈 东	陈 慧	陈 明	陈乾美	程 雷	戴 吉
杜晓东	龚树生	华清泉	焦传家	柯星星	李 兵
李 兰	李 谊	李健东	李进让	李树春	刘 阳
刘继远	卢连军	罗 颜	马兆鑫	苏法仁	王 琪
王斌全	王俊阁	温晓慧	夏 寅	肖水芳	肖志文
徐志文	杨 军	杨玉成	于振坤	翟立杰	张 青
张庆泉	张维天	赵长青	甄宏韬		



人民卫生出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

2012耳鼻咽喉头颈外科学新进展/韩德民主编.

—北京: 人民卫生出版社, 2012. 12

ISBN 978-7-117-16665-2

I. ①2… II. ①韩… III. ①耳鼻喉外科手术
②头部-外科学③颈-外科学 IV. ①R762②R651

中国版本图书馆CIP数据核字 (2012) 第262689号

人卫社官网	www.pmph.com	出版物查询, 在线购书
人卫医学网	www.ipmph.com	医学考试辅导, 医学数 据库服务, 医学教育资 源, 大众健康资讯

版权所有, 侵权必究!

2012耳鼻咽喉头颈外科学新进展

主 编: 韩德民

出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 010-59780011)

地 址: 北京市朝阳区潘家园南里 19 号

邮 编: 100021

E - mail: pmph@pmph.com

购书热线: 010-67605754 010-65264830

010-59787586 010-59787592

印 刷: 中国农业出版社印刷厂

经 销: 新华书店

开 本: 889×1194 1/32 印张: 10.5

字 数: 399 千字

版 次: 2012 年 12 月第 1 版 2012 年 12 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 978-7-117-16665-2/R · 16666

定 价: 30.00 元

打击盗版举报电话: 010-59787491 E-mail: WQ@pmph.com

(凡属印装质量问题请与本社销售中心联系退换)

目 录

第一篇 耳 科 学

第一章	发育早期GABA能和甘氨酸能递质极性转变 机制的研究·····	3
第二章	中耳胆脂瘤的发生与原癌基因和抑癌基因的关系·····	9
第三章	前庭基因治疗研究进展·····	17
第四章	眼肌前庭诱发肌源性电位的研究现状及展望·····	24
第五章	慢性地方性氟中毒导致听力损害的实验研究·····	32
第六章	美国耳鼻咽喉-头颈外科基金会突发性聋诊疗指南 解读及国内诊疗现状·····	35
第七章	鼓膜通气管的临床研究进展·····	41
第八章	上鼓室切开软骨重建技术在乳突鼓室成形 手术中的应用·····	44
第九章	外伤性耳聋临床诊治研究进展·····	48
第十章	骨锚式助听器植入手术临床应用分析·····	56
第十一章	颞骨内面神经肿瘤的影像诊断·····	60
第十二章	迷路内神经鞘膜瘤·····	66

第二篇 鼻 科 学

第一章	慢性鼻-鼻窦炎：黏膜炎症与组织重构·····	75
第二章	鼻脑毛霉菌病的治疗进展·····	89

第三章	鼻面部创伤继发畸形的形态和功能重建手术·····	97
第四章	鼻再造研究进展·····	104
第五章	颧骨颧弓骨折临床诊疗进展·····	111
第六章	益生菌的免疫调节作用与变应性疾病防治·····	118
第七章	重组变应原的研究进展·····	129
第八章	Foxp3表达在变应性鼻炎研究中的进展·····	142
第九章	树突状细胞参与变应性鼻炎发病及其治疗的 研究进展·····	149
第十章	变应性鼻炎的手术选择进展·····	156
第十一章	鼻内翻性乳头状瘤的发病和转移机制研究进展·····	164
第十二章	鼻内镜手术治疗鼻及鼻窦恶性肿瘤的临床进展·····	174
第十三章	内镜下眼眶沟通性肿瘤切除术·····	180
第十四章	内镜颅底外科进展·····	195

第三篇 咽喉科学

第一章	儿童咽喉反流相关疾病·····	205
第二章	咽喉反流发病机制、诊断、治疗的进展·····	215
第三章	双侧声带麻痹的治疗进展·····	223
第四章	远程监测技术在睡眠呼吸疾病中的临床应用·····	229
第五章	气管插管后气管狭窄病因及诊疗进展·····	236
第六章	软腭缺损的修复再造技术·····	246

第四篇 头颈外科学

第一章	先天性鳃裂畸形的临床研究进展·····	255
第二章	甲状腺全切与腺叶切除术·····	263
第三章	经鼻内镜挽救性手术治疗放疗后局部复发鼻咽癌·····	267
第四章	头颈部血管瘤和脉管畸形·····	275
第五章	唾液腺放射性损伤及其机制的研究进展·····	282
第六章	喉癌外科切缘的基础研究及临床意义·····	289
第七章	甲状腺癌的研究进展·····	293
第八章	肿瘤干细胞的研究概况及在喉癌实体瘤中的应用·····	302
第九章	^{18}F -FDG PET/CT显像对鼻咽癌复发早期诊断价值·····	310
第十章	组织工程软骨研究新进展·····	316

第一篇

耳 科 学

发育早期GABA能和甘氨酸能递质极性转变机制的研究

在听觉发育早期,斜方体内侧核(medial nucleus of the trapezoid body, MNTB)-上橄榄外侧核(lateral superior olive, LSO)抑制性通路,为 γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid, GABA)能和甘氨酸能(Gly)抑制性通路,这一通路的正常发育是正常听力和声源定位能力发育的基础。在MNTB-LSO传导通路从出现到发育成熟经历了短暂的优化过程,包括功能优化和结构优化。在发育成熟的中枢神经系统, GABA是最主要的抑制性递质,但在发育早期, GABA能和甘氨酸能递质活性却是兴奋性的,其表型由除极化到超极化转变是MNTB-LSO抑制性通路建立与完善的关键,对于听觉中枢的正常发育至关重要,也是目前研究的一个热点。这一极性转变依赖于LSO细胞内 Cl^- 浓度改变,而神经元内高 Cl^- 浓度的维持与降低则由阳离子氯离子转运蛋白(cation-chloride cotransporters, CCCs)调控,阐明该抑制性通路的发育机制对于理解整个中枢听觉生理及认识听觉发育障碍等具有重要意义,也可为进一步探讨中枢听觉功能发育可塑性的分子机制提供重要依据。

一、MNTB-LSO抑制性通路

MNTB是参与声源定位的主要听觉中继核,接受耳蜗球形细胞的兴奋性传入,中继后主要投射到上橄榄内侧核(medial superior olive, MSO)和LSO, LSO直接接受同侧耳蜗核的兴奋性传入,这一传入为谷氨酸能神经纤维。而对侧耳蜗核的谷氨酸能兴奋性传入先到达与LSO同侧的MNTB,经过MNTB中继后转换为GABA能和甘氨酸能抑制性传入,传至LSO,最终形成MNTB-LSO传导通路。声源定位信号的编码过程在分离的脑干核内, LSO负责编码声源定位的耳间强度差(interaural level difference, ILD)信号, MSO编码耳间时间差(interaural time difference, ITD)信号。LSO分别通过整合两侧的传入来编码ILD,这些传入在其单个细胞上依据音频定位来精确汇集,使LSO神经元以

频率特异的方式 (frequency-specific manner) 来提取ILD。

MNTB-LSO通路从最初的出现到发育成熟经历了短暂的优化过程, 而MNTB-LSO抑制性通路的建立与优化是声源定位能力形成的前提。虽然成熟的MNTB-LSO抑制性通路的神经递质是GABA和甘氨酸能抑制性递质, 但在听觉起始之前, 即大鼠出生0~8天 (postnatal day, P0~P8), 未成熟的MNTB-LSO通路的神经递质以GABA能递质为主, 其活性为兴奋性, 并且该时期此通路内也有少量兴奋性谷氨酸递质存在, 只是此时谷氨酸递质含量较低, 并且其兴奋性效应也弱于GABA能递质。而GABA能递质在发育早期其兴奋性效应的发挥还具有神经营养效应, 除了能促进LSO神经元在形态学上的成熟, 在MNTB至LSO传导通路的突触发生上也起一定的作用, 因而这一兴奋性效应对于维持MNTB-LSO通路的功能活动是必需的。在大鼠出生8天以后, LSO神经元对于甘氨酸和GABA的反应转变为超极化, GABA和甘氨酸由兴奋性神经递质转变为抑制性神经递质。其转变过程主要表现为GABA和甘氨酸的释放由促进突触后神经元的 Ca^{2+} 内流变为抑制其 Ca^{2+} 内流。作为兴奋性递质的GABA和甘氨酸与LSO膜细胞膜上的 GABA_A 受体和甘氨酸受体结合, 导致LSO除极化和 Ca^{2+} 通道的开放, 产生 Ca^{2+} 内流和兴奋性反应。作为抑制性递质的GABA和甘氨酸与LSO膜细胞膜上的 GABA_A 受体和甘氨酸受体结合, 导致LSO超极化和 Ca^{2+} 通道的关闭, 阻滞 Ca^{2+} 内流并产生抑制性反应。因而GABA和甘氨酸早期兴奋性和其表型从兴奋到抑制的转换对MNTB-LSO传导通路的修整、优化到最终完善具有重要意义, 也是听觉中枢发育和声源定位能力建立的关键。

二、GABA能突触早期兴奋性的形成依赖于神经元内较高的 Cl^- 浓度

进一步研究表明GABA活性从兴奋到抑制的转变主要依赖于神经元胞内的 Cl^- 浓度。当LSO细胞内 Cl^- 浓度处于高水平时, GABA发挥兴奋性神经递质的作用, 与 GABA_A 受体结合引起 Cl^- 外流和LSO神经元除极化, 最后引起 Ca^{2+} 内流。当细胞内 Cl^- 浓度降低到一定程度后, GABA发挥抑制性神经递质的作用, 与 GABA_A 受体结合引起 Cl^- 内流及LSO神经元超极化, 最后阻滞 Ca^{2+} 内流。因此, 发育过程中机体对GABA能突触极性的调控主要是通过改变LSO细胞内 Cl^- 浓度来实现。Balakrishnan等 (2003) 通过对甘氨酸电位的研究发现, 大鼠甘氨酸能递质极性的转变发生在P8。此外, 其对单个神经元膜电位的研究也表明, 在P3时, LSO神经元内 Cl^- 浓度处于高水平, $E_{\text{Cl}^-} > V_{\text{rest}}$; 而在P12时, LSO神经元内 Cl^- 浓度下降, 此时 $E_{\text{Cl}^-} < V_{\text{rest}}$ 。Löhrke等 (2005) 对LSO神经元膜

电位的研究也支持Balakrishnan的结果,即发育过程中 E_{Cl^-} 的改变反映出 Cl^- 浓度的变化。不同的是,Stefan认为在GABA和甘氨酸介导的LSO神经元极性由除极化到超极化的转变发生在P4~P5,同时在P6时编码高频音区域的神经元已经表现出幅值较大的超极化电位,而编码低频音的神经元至P8也未能显示出同样幅值的超极化电位,表明编码低频音的LSO外周部位神经元的发育延迟,LSO内部神经元的超极化转变及发育不均衡。

那么,LSO内的 Cl^- 浓度的变化又是如何来实现的?研究表明,中枢神经系统内至少有7种CCCs: NCC、NKCC1、KCC1、KCC2、KCC3、KCC4和AE3,由这些蛋白来负责神经细胞内外 Cl^- 的转运,从而调控神经元内 Cl^- 浓度。CCCs蛋白均为膜转运糖蛋白,分子量介于120~200kDa之间,由*Slc12a1*~9基因编码,其跨膜转运 Cl^- 的动力来自于 Na^+-K^+ -ATP酶建立的 Na^+-K^+ 浓度梯度,由于CCCs水解位点不同导致的结构变化以及磷酸化位点和亚细胞定位的差异导致了其表达产物的多样性。

在皮层及海马神经元内, Cl^- 浓度的升高和降低与 $Na^+-K^+-2Cl^-$ 共转运体1(NKCC1)和 K^+-Cl^- 共转运体2(KCC2)有关。其中NKCC1将细胞外 Cl^- 向细胞内转运,促进细胞内 Cl^- 聚集,而KCC2则外排胞内的 Cl^- ,降低胞内的 Cl^- 浓度。在发育早期,海马和大脑皮质神经元内NKCC1表达相对较多(P1~P14),KCC2表达较少,造成神经元胞内高 Cl^- , $E_{Cl^-} > V_{rest}$,GABA与受体结合引起 Cl^- 通道开放, Cl^- 外流,由此产生的结果是神经元的除极化。随着发育,KCC2表达不断增加,NKCC1表达不断降低,细胞内的 Cl^- 浓度也不断下降,大约在生后10天左右, $E_{Cl^-} < V_{rest}$,GABA与受体结合引起 Cl^- 内流,导致神经元的超极化。这样,NKCC1和KCC2在发育过程中通过表达量的改变调控了海马和大脑皮质神经元对GABA的反应由兴奋转向抑制。

另外,在脊髓和海马的研究显示,导致神经元内 Cl^- 聚集的转运蛋白可能不只是NKCC1,可能与 HCO_3^- - Cl^- 交换器-AE3也有关。Gonzalez-Islas等(2009)阻滞脊髓NKCC1后应用GABA受体激动剂所产生的动作电位小于未阻断以前,证明NKCC1是新生鼠脊髓神经元内 Cl^- 聚集的原因,但是在阻断NKCC1后新生鼠脊髓神经元仍然可以聚集 Cl^- ,认为AE3可能是新生鼠脊髓神经元内高 Cl^- 浓度产生的原因。Pfeffer等(2009)对敲除NKCC1基因鼠的研究中发现,在没有NKCC1的情况下,GABA诱发的新生鼠海马神经元的除极化(兴奋性)电位降低,而且GABA能和谷氨酸能突触的发育成熟时间也将延迟。但是,大脑的形态、突触的密度以及发育相关基因的表达强度均没有改变。同时发现,在敲除了AE3基因鼠中,在AE3缺乏的情况下,GABA诱发的新生神经元的除极化(兴奋性)电位也降低。上述的研究显示出中枢神经系统存在多种 Cl^- 协同转运蛋白,而且这些转运蛋白的表达和分布存在差异。

那么,在脑干的听觉核团,尤其是LSO内,负责 Cl^- 在细胞内聚集的转运

蛋白是否与皮层和海马相似？如果NKCC1在发育早期的听觉脑干（尤其是LSO内）也存在高分布，那么就可以很好地解释LSO内GABA活性早期的兴奋性。但是，Becker等（2003）研究显示，脑干内表达KCC1、KCC3、KCC4和AE3，不表达NCC和NKCC1，因此其认为NKCC1不太可能是新生LSO神经元内高Cl⁻浓度产生的原因。同时，其研究还发现AE3在P3和P12均高表达，KCC1和KCC4表达极弱，推测AE3才是维持发育早期LSO神经元内高Cl⁻浓度的主要原因。除此以外，尚无其他有力证据表明AE3是发育早期LSO神经元内Cl⁻聚集的原因。而Balakrishnan（2003）认为新生大鼠LSO内无法检测到NKCC1，随着年龄的增加，NKCC1表达稍有增加，表现为P3时无法检测到NKCC1表达，而在P12时（此时GABA表现为超极化反应），LSO神经元内能够检测到少量NKCC1的免疫标记，只是其密度和表达强度均极低。因此，发育早期MNTB-LSO传导通路的递质GABA发挥兴奋性递质的活性，然而这一兴奋性活性是由何种蛋白产生并维持尚有争论，需待进一步深入研究。

三、GABA能突触极性转变依赖于LSO神经元内Cl⁻浓度的降低与维持

钾-氯协同转运蛋白家族（KCC）包括4种亚型，分别是KCC1、KCC2、KCC3和KCC4，其作用是协同转运Cl⁻和K⁺，降低胞内的Cl⁻浓度，但4种KCC中只有KCC2是中枢神经系统特异的，是由*SLC12a5* 基因编码。研究发现，KCC2促使Cl⁻外流的动力均来自于神经元内外Cl⁻的浓度梯度，并且在转运Cl⁻的同时伴随有K⁺的协同转运，这使得GABA能和甘氨酸能递质活性表现为超极化抑制。目前较为肯定的是成熟海马神经元低Cl⁻浓度是由KCC2产生并维持，证据来自于敲除KCC2的小鼠，敲除了KCC2的小鼠甘氨酸在正常除极化期后仍保持一个除极化的神经递质。同时，研究显示，出生后的前2周内，海马神经元的KCC2 mRNA呈上调趋势，而新生大鼠海马内几乎无法检测到KCC2 mRNA，到P5时KCC2 mRNA明显增加，到P9时KCC2 mRNA的检出量已经与成年大鼠相似，这种KCC2表达量上调与Cl⁻浓度的降低相一致。

在脑干听觉中枢核LSO内KCC2表达又是如何？Balakrishnan等（2003）结果显示LSO的神经元内KCC2表达与分布机制与海马和皮质不同，在LSO神经元的除极化期和超极化期（分别为P0和P16），LSO神经元内均有KCC2 mRNA表达，听觉脑干内KCC2的表达量较为恒定，免疫组化显示在P0时KCC2主要存在于胞质，从P12开始KCC2开始在胞膜表达。但KCC2是外排神经元胞内Cl⁻的主要蛋白，而发育早期，LSO神经元内Cl⁻浓度又处于高水平，因此认为随着发育KCC2蛋白发生了位置迁移，并由此引发了功能

的活化。同时, *KCC2*基因敲除小鼠在P3时其 Cl^- 浓度梯度变化介导的 E_{Gly} 除极化幅值与*KCC2*⁺小鼠无明显差别, $E_{\text{Gly}, \text{KCC2}^-}$ 为 $(-32 \pm 14) \text{ mV}$, $E_{\text{Gly}, \text{KCC2}^+}$ 为 $(-38 \pm 20) \text{ mV}$, 但在P12时*KCC2*基因敲除小鼠 $E_{\text{Gly}, \text{KCC2}^-}$ 为 $(-33 \pm 7) \text{ mV}$, $E_{\text{Gly}, \text{KCC2}^+}$ 为 $(-75 \pm 8) \text{ mV}$, $E_{\text{Gly}, \text{KCC2}^-}$ 与P3时 $E_{\text{Gly}, \text{KCC2}^+}$ 大致相等, 说明*KCC2*在新生的LSO内不具有功能, *KCC2*基因敲除使LSO神经元处于未成熟状态(Becker等, 2003), 同时*KCC2*基因敲除小鼠的纯合子后代在生后不久即死亡, 海马*KCC2*基因敲除后胞内高 Cl^- 浓度降低了细胞存活时间都说明*KCC2*产生的 Cl^- 外排效应是促使组织成熟和维持正常生理功能所必需的。Blaesse等(2006)研究显示成熟LSO内的*KCC2*多为低聚体, 其蛋白分子量 $\geq 270 \text{ kDa}$, 而不成熟的LSO内的*KCC2*则低聚体少, 但随着发育单体/低聚体比率降低, 揭示随发育*KCC2*蛋白组装成低聚体的形式并开始发挥效能。与此种低聚化变化相对应, Cl^- 浓度梯度在P12时明显低于P3时, 说明这种多聚化作用有可能与翻译后基因磷酸化修饰有关。此外, 也有学者通过采用不同的抗体和mRNA探针进行研究发现, *KCC2*存在两种亚型, 即*KCC2a*和*KCC2b*, *KCC2a*表达较为恒定, 主要与脑低级结构的一些基本功能有关; *KCC2b*随着发育, 其表达量出现了上调, 其功能主要与GABA能和甘氨酸能突触极性转变有关。因此, 对于*KCC2*不同亚型在时间和空间表达式样的不同也决定了其活性的发挥。

四、结 语

近年来, 有关声源定位抑制性通路发育机制的研究取得了较大进展, MNTB-LSO传导通路以及大脑其他区域的GABA能和甘氨酸能递质表型由除极化到超极化经历了极大的转换, 并且这种极性转变与神经元内 Cl^- 浓度改变在时间上一致。然而, 发育早期LSO内高 Cl^- 浓度的形成与维持是由何种蛋白产生并维持尚存在争议。此外, *KCC2*的表达引起了 Cl^- 浓度的降低, 从而介导了GABA能递质极性的转变, 而*KCC2*的活化又与哪些机制有关尚处于推测阶段。因此, 进一步深入研究有关MNTB-LSO传导通路发育规律, 并由此作为切入点, 或许可以揭示出声源定位抑制性传导通路发育变化的机制。

(温晓慧 王宁宇)

参 考 文 献

1. Balakrishnan V, Becker M, Lohrke S, et al. Expression and function of chloride transporters during development of inhibitory neurotransmission in the auditory brainstem. *J Neurosci*, 2003, 23: 4134-4145

2. Becker M, Nothwang HG, Friauf E. Differential expression pattern of chloride transporters NCC, NKCC2, KCC1, KCC3, KCC4, and AE3 in the developing rat auditory brainstem. *Cell Tissue Res*, 2003, 312: 155–165
3. Blaesse P, Guillemain I, Schindler J, et al. Oligomerization of KCC2 correlates with development of inhibitory neurotransmission. *J Neurosci*, 2006, 26: 10407–10419
4. Gonzalez-Islas C, Chub N, Wenner P. NKCC1 and AE3 appear to accumulate chloride in embryonic motoneurons. *J Neurophysiol*, 2009, 101: 507–518
5. Löhcke S, Srinivasan G, Oberhofer M, et al. Shift from depolarizing to hyperpolarizing glycine action occurs at different perinatal ages in superior olivary complex nuclei. *Eur J Neurosci*, 2005, 22: 2708–2722
6. Pfeiffer CK, Stein V, Keating DJ, et al. NKCC1-dependent GABAergic excitation drives synaptic network maturation during early hippocampal development. *J Neurosci*, 2009, 29: 3419–3430

中耳胆脂瘤的发生与原癌基因和抑癌基因的关系

中耳胆脂瘤的主要特征是中耳腔内的大量角化鳞状上皮增生，引起邻近的骨质破坏和腔内角化碎屑堆积。病理属良性病变，但它具有侵袭性、破坏性、迁移性、异常增殖和复发性等特征，与恶性肿瘤的生物学特征十分类似，有文献视为一种高分化鳞癌。关于中耳胆脂瘤的发病机制至今尚不清楚，主要学说有4种：①袋状内陷学说；②上皮移行学说；③上皮植入学说；④上皮化生学说。随着分子生物学技术的不断发展，许多学者发现胆脂瘤的发生、发展与原癌基因及抑癌基因有关，探讨它们在胆脂瘤中的作用，对进一步阐述胆脂瘤的发生机制及其防治有重要意义。

一、原癌基因与抑癌基因

原癌基因（proto-oncogene）是指存在于正常细胞中的能导致细胞恶性转化的核酸片段。抑癌基因（tumor suppressor gene）是一大类可以抑制细胞生长并能潜在抑制癌变作用的基因，它们通过各自的表达产物在调节正常细胞的生长、分化中起重要作用。众多研究表明，原癌基因和抑癌基因在肿瘤的发生、发展、治疗和预后中发挥着重要的作用。通过对原癌基因和抑癌基因的研究，不仅能在分子生物学水平阐明肿瘤的形成机制，而且可以为设计抗肿瘤治疗的新方法提供理论依据，意义重大。

二、胆脂瘤相关性原癌基因

（一）Bcl-2家族

原癌基因Bcl-2具有抑制凋亡的作用，目前已经发现的Bcl-2蛋白家族按功能可分为两类：一类是像Bcl-2一样具有抑制凋亡作用，如Bcl-2、Bcl-xl；而另一类具有促进凋亡作用，如Bax、Bcl-xs。Bcl-2在胆脂瘤上皮中的表达明显高于皮肤对照组，说明中耳胆脂瘤上皮增殖的同时伴有明显的凋亡抑制障

碍,认为胆脂瘤上皮的过度增殖、凋亡抑制是中耳胆脂瘤的重要特征之一。Bel-xl主要在胆脂瘤上皮和正常外耳道皮肤的基底层表达,认为尽管胆脂瘤上皮处于高度增殖状态,但胆脂瘤上皮具有跟正常外耳道皮肤一样的分化和凋亡机制,这样胆脂瘤上皮增殖不至于失控。

(二) *c-jun*与*c-fos*

原癌基因*c-jun*位于染色体1p31-32,属bZIP家族核内转录因子成员之一,可结合在许多基因的启动子上参与基因转录的调控。*c-jun*蛋白结构包含3个重要的结构域和2个磷酸化区域。*c-jun*蛋白作为一种核内转录因子,在细胞生长、增殖及分化中起重要的调节作用,其持续表达可使细胞增殖、分化异常,致肿瘤发生。JNK信号通路中,JNK通过磷酸化*c-jun*的氨基末端第63和73位丝氨酸残基,进而激活*c-jun*,增强其转录活性。剔除*c-jun*基因或者JNK磷酸化的位点发生改变时,能使小鼠肠道肿瘤变小,肿瘤细胞减少,并且延长小鼠的寿命。说明*c-jun*及JNK对*c-jun*的磷酸化在肿瘤发生、发展中起重要作用。那么,胆脂瘤中是否有JNK信号通路对*c-jun*的调节呢?

人类原癌基因*c-fos*是1983年在正常人体细胞中发现的,它是鼠FBJ-骨肉瘤反转录病毒基因*v-fos*的细胞内同源基因。人类*c-fos*基因位于14q21-23,正常情况下,在大多数细胞中*c-fos*有低水平的表达。*c-fos*基因产物表达异常或过度表达可能引起肿瘤的恶性表型。

关于*c-jun*、*c-fos*与胆脂瘤的关系,发现胆脂瘤上皮基底层和棘层有*c-jun*的高表达,认为*c-jun*参与胆脂瘤上皮细胞的增殖和分化。应用免疫组化SP法发现*c-fos*在中耳胆脂瘤中表达显著增强,且与胆脂瘤的侵袭能力有显著相关性,提示*c-fos*高表达是胆脂瘤上皮细胞高度增殖特征的影响因素之一。*c-jun*和*c-fos*以亮氨酸拉链结构的形式形成AP-1(激活剂蛋白-1),并与DNA结合后,可在转录水平调节下游靶基因的表达,参与细胞增殖和转化。研究发现,与正常外耳道皮肤相比,胆脂瘤细胞中*c-fos*、*c-jun*编码的蛋白产物高表达。他们推测在胆脂瘤发生过程中,通过促分裂原活化的蛋白激酶(MAPK)通路细胞信号转导途径激活*c-fos*和*c-jun*基因,促使*c-fos*和*c-jun*蛋白表达增加,两者结合组成激活剂AP-1蛋白,通过转录调节诱导多种生长因子表达,促进胆脂瘤上皮细胞过度增殖。

(三) *c-myc*

原癌基因*c-myc*位于染色体8q24,属核蛋白类调控基因,*c-myc*蛋白在细胞周期变化、细胞的生长代谢、基因的不稳定性、刺激血管生成、细胞恶性转化、分化及凋亡中起重要的调节作用,已证明*c-myc*蛋白在许多肿瘤中存在着异常表达。研究发现*c-myc*在胆脂瘤中高度表达,提示*c-myc*在胆脂瘤的发生、发展及上皮的增殖过程中起重要作用。所有胆脂瘤标本的上皮细胞中*c-myc*蛋白的表达明显强于外耳道皮肤。该项研究同样对端粒酶催化亚单位

(TERT)进行检测,发现它在所有胆脂瘤标本的上皮细胞的表达也明显强于外耳道皮肤,与c-myc蛋白成正相关,认为c-myc基因通过结合TERT基因的DNA序列来有效调节TERT转录,激活端粒酶并提高端粒酶活性,导致胆脂瘤细胞增殖。

(四) *mdm2*

原癌基因*mdm2*定位于12q13-14上。*mdm2* mRNA在正常人的多种组织(如肺、肝、肌肉及胰腺)中均有表达,但以骨骼肌为最高,在心、脑、胎盘、肾等组织中表达缺如。*mdm2*基因在人体中广泛表达,可能是由于它参与细胞的基本生理过程。*mdm2*主要通过与p53的结合抑制p53的功能,对p53进行负调控。正常细胞中,野生型p53和*mdm2*相互作用形成一反馈环,*mdm2*蛋白的表达水平通常由野生型p53表达水平来调控。如果p53被激活,可诱导*mdm2*基因转录增强,致使细胞中*mdm2*表达水平升高,并与p53结合形成复合物也增多,抑制野生型p53的转录激活,继而引起*mdm2*基因转录下调。如果这种平衡被打破可导致基因的不稳定和细胞增生,导致肿瘤形成。汪欣等(2005)研究发现*mdm2*在胆脂瘤上皮表达明显强于正常外耳道皮肤,认为p53/*mdm2*反馈环异常可能是胆脂瘤上皮异常增殖和凋亡的原因之一。*mdm2*在胆脂瘤上皮基底层细胞的少量表达可能是胆脂瘤细胞区别于恶性肿瘤细胞无限增殖和浸润生长的基础。

(五) *ErbB-2*

原癌基因*ErbB-2*属表皮生长因子受体(EGFR)家族,又称ErbB受体家族,有4个成员即ErbB-1(EGFR/HER1)、ErbB-2(HER2/neu)、ErbB-3(HER3)和ErbB-4(HER4),均属于I型酪氨酸激酶受体(TITK)。通过激活酪氨酸激酶,底物转磷酸化,启动一系列细胞质内的信号转导通路,激活ras/raf/MAPK和多种转录因子,如c-fos、c-jun、c-myc等,促使细胞生长分化或肿瘤性转化。证实当皮肤基底层和棘层下层的角质化细胞移向已分化的上层细胞层时,局限于细胞质内的ErbB-2蛋白会移向细胞表面,提示ErbB-2的表达在细胞分化与凋亡中起重要作用。发现胆脂瘤的各层角质细胞中ErbB-2蛋白过度表达,并出现于细胞表面,而在外耳道皮肤ErbB-2蛋白主要在基底层表达。另外,该研究发现,相对于外耳道皮肤,单链DNA在胆脂瘤中的分布一致,而单链DNA在核小体链接区的变化被认为是凋亡早期关键的一步。因而认为ErbB-2蛋白可能在调节胆脂瘤上皮各层角质化细胞的终末分化和凋亡中发挥作用,通过增强的凋亡导致角质碎屑的堆积,从而导致胆脂瘤的发生发展。

(六) *Ras*

哺乳动物的*Ras*基因家族有3个成员,分别是*H2ras*、*K2ras*和*N2ras*,各种*Ras*基因具有相似的结构,它们的编码产物是相对分子量均为2.1万的蛋白