

[文章编号] 1000-1182(2006)03-0285-03

口腔鳞癌中血管生成及基质金属蛋白酶-2和尿激酶型纤溶酶原激活物的表达

张 壮¹, 李宁毅¹, 陈万涛², 尚 伟¹

(1.青岛大学医学院附属医院 口腔颌面外科, 山东 青岛 266003;

2.上海第二医科大学附属第九人民医院 口腔颌面外科, 上海 200011)

[中图分类号] R739.8 [文献标识码] A

癌基因、抑癌基因及相关基因的正常表达与肿瘤的血管生成有密切的关系, 并且对肿瘤的生长和侵袭具有重要意义^[1]。本实验采用免疫组化法检测口腔鳞癌(oral squamous cell carcinoma, OSCA)间质中微血管密度(microvessel density, MVD)及基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinase-2, MMP-2)、尿激酶型纤溶酶原激活物(urokinase plasminogen activator, uPA)的表达, 分析三者之间及它们与口腔鳞癌的关系, 探讨它们作为判断口腔鳞癌侵袭、转移指标的可行性。

1 材料和方法

1.1 病例选择

选择2002年1月—2004年10月在青岛大学医学院附属医院口腔科进行手术治疗的80例口腔鳞癌患者为研究对象, 对其癌周正常组织和鳞癌组织进行研究。80例患者中, 男54例, 女26例; 患者年龄31—78岁, 平均48岁。部位: 舌癌37例, 其他部位包括颊癌、牙龈癌、口底癌、腭癌、唇癌共43例。病理分级: Ⅰ级47例, Ⅱ级33例^[2]。临床分期: Ⅰ期38例, Ⅱ期42例^[3]。颈淋巴结有转移者27例, 无转移者53例。所有原发灶及颈淋巴结转移灶均经病理证实。

病例纳入标准: 术前未接受放疗、化疗及任何生物治疗; 癌旁组织位于肿瘤边缘外2.0 cm, 经病理证实无癌变。排除标准: 非原发于口腔的转移癌(多原发癌除外)。

1.2 主要试剂和仪器

兔抗人uPA多克隆抗体(武汉博士德公司), 鼠抗人原始造血细胞CD34单克隆抗体(北京中杉金桥生物技术有限公司), 鼠抗人基质金属蛋白酶-2单克隆抗体(Santa Cruz Biotechnology公司, 美国); PV6000二步法免疫组化检测试剂盒(Zymed公司, 美国); VIDAS图像分析仪(OPTON公司, 德国)。

1.3 免疫组织化学染色

所有的病理标本均常规经10%中性甲醛溶液固定, 逐级乙醇脱水, 石蜡包埋, 3 μm连续切片4张, 其中1张空白对照, 3张行免疫组织化学染色。CD34自身为阳性对照, MMP-2、uPA以乳腺癌为阳性对照。采用免疫组化通用型两步法, 阳

性染色为棕黄色颗粒。MVD计数参照Weidner^[4]报道的方法, 采用双盲法进行判定。对MMP-2、uPA有阳性染色的切片进行图像分析, 用积分光密度(integral optical density, iOD)的值来表示抗原的表达水平, 积分光密度的值越大说明抗原表达的水平越高, 反之亦然。

1.4 统计学处理

采用SPSS 11.5统计软件包对结果进行分析。口腔癌旁组织和口腔鳞癌二者采用Wilcoxon方法进行检验; 口腔癌旁组织、高分化鳞癌、中低分化鳞癌采用Mann-Whitney U方法进行检验; MVD、MMP-2、uPA三种检测指标与临床病理因素的关系采用Spearman相关分析; MMP-2、uPA的表达与MVD的关系亦采用Spearman相关分析。

2 结果

2.1 微血管、MMP-2、uPA在口腔癌旁组织和鳞癌中的分布

在癌旁组织和鳞癌中, 均可见血管内皮细胞染成棕黄色。癌旁组织中, 微血管形态差异不大, 大部分具有明显的管腔结构, 内皮细胞无异型性。高分化鳞癌中, 微血管数目较癌旁组织多, 形态各异, 分布不均匀, 集中在癌巢细胞邻近的间质和肿瘤周边, 内皮细胞具有一定的异型性。中低分化鳞癌中, 微血管数量较高分化鳞癌增多, 杂乱无章, 分布在癌巢邻近的间质内, 具有管腔结构的微血管数量少, 可见管壁溶解, 内皮细胞异型性明显(图1)。

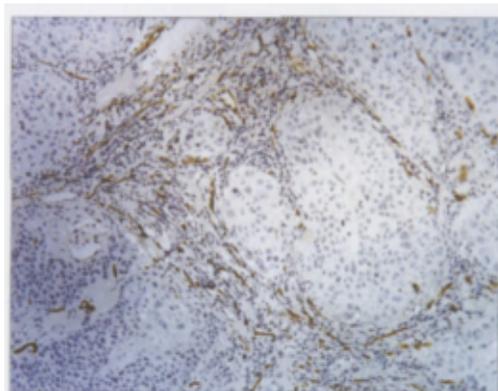


图1 微血管在口腔鳞癌间质内的分布 通用型两步法 ×100

Fig 1 The microvessels distributed in the stroma of oral squamous cell carcinoma universal two-step method ×100

[收稿日期] 2005-12-20; [修回日期] 2006-03-21

[基金项目] 国家自然科学基金重点资助项目(30330580)

[作者简介] 张 壮(1974-), 男, 辽宁人, 住院医师, 硕士研究生

[通讯作者] 李宁毅, Tel: 0532-82911342

MMP-2、uPA表达阳性细胞主要是肿瘤细胞、血管内皮细胞和少量成纤维细胞。MMP-2阳性表达主要见于浸润性生长的上皮层及癌巢细胞中，表达较均匀(图2)。uPA的表达主要见于癌巢边缘的细胞，癌巢中心表达较弱(图3)。

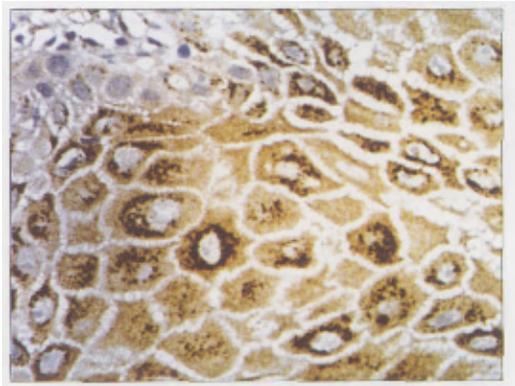


图2 MMP-2在口腔鳞癌细胞胞浆中阳性表达 通用型两步法 ×400

Fig 2 Expression of MMP-2 in the cell plasm of oral squamous cell carcinoma universal two-step method ×400

2.2 口腔癌旁组织与口腔鳞癌中微血管密度及MMP-2、uPA的表达

口腔癌旁组织和鳞癌中微血管密度及MMP-2、uPA的表达见表1。统计分析表明，口腔鳞癌中微血管密度及MMP-2、uPA的表达高于癌旁组织 ($P < 0.05$)；高分化与中低分化口腔鳞癌中微血管密度及MMP-2、uPA的表达均高于癌旁组织 ($P < 0.05$)，中低分化鳞癌中微血管密度高于高分化鳞癌 ($P < 0.05$)，而MMP-2、uPA的表达二者无显著性差异 ($P > 0.05$)。

表2 口腔鳞癌中微血管密度及MMP-2、uPA表达与临床病理指标的关系 $\bar{x} \pm s$

Tab 2 Relations between the expression of MVD, MMP-2, uPA and clinical pathology index in OSCA $\bar{x} \pm s$

临床病理指标	n	MVD	r	MMP-2	r	uPA	r
肿瘤大小							
T1—T2	53	23.38 ± 0.50	0.389**	64.28 ± 0.28	0.300**	95.50 ± 3.98	0.292**
T3—T4	27	30.71 ± 8.35		88.59 ± 39.44		137.96 ± 68.19	
生长方式							
外生、溃疡型	40	21.83 ± 7.86	0.359**	61.55 ± 36.39	0.205	93.05 ± 74.58	0.279*
浸润型	40	29.88 ± 11.10		83.42 ± 43.62		126.60 ± 84.80	
生长部位							
舌	37	28.37 ± 11.43	-0.190	67.69 ± 38.29	0.128	121.17 ± 81.08	-0.111
其他部位	43	23.69 ± 8.97		76.61 ± 43.93		100.07 ± 80.82	
病理分级							
级	47	21.57 ± 8.39	0.487**	62.35 ± 30.22	0.171	101.73 ± 73.36	0.195
— 级	33	31.97 ± 9.95		86.92 ± 50.53		121.37 ± 90.97	
临床分期							
— 期	38	17.87 ± 5.08	0.774**	48.74 ± 24.42	0.552**	74.59 ± 69.29	0.525**
— 期	42	33.09 ± 8.46		93.97 ± 42.07		141.71 ± 78.46	
淋巴结转移							
无转移	53	19.80 ± 5.59	0.785**	52.98 ± 26.95	0.626**	87.26 ± 73.29	0.524**
有转移	27	37.74 ± 6.59		110.77 ± 38.18		154.13 ± 78.58	

注：* $P < 0.05$ ；** $P < 0.01$ ；r为相关系数

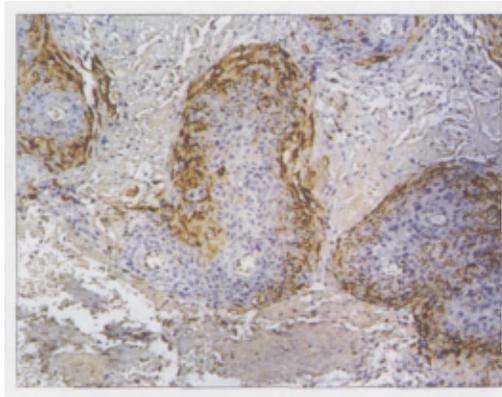


图3 uPA在癌巢周边细胞中阳性表达 通用型两步法 ×100

Fig 3 Expression of uPA in the peripheral cell of cancer nest universal two-step method ×100

表1 口腔癌旁组织、鳞癌组织中MVD、MMP-2、uPA的检测结果 $\bar{x} \pm s$

Tab 1 Expression of MVD, MMP-2, uPA in epithelial adjant to cancer and OSCA $\bar{x} \pm s$

检测组织	n	MVD	MMP-2	uPA
癌旁组织	80	5.94 ± 2.74	5.11 ± 3.04	1.62 ± 6.89
口腔鳞癌组织	80	25.86 ± 0.38	72.49 ± 1.40	109.83 ± 1.12
高分化鳞癌组织	47	21.57 ± 8.39	62.35 ± 30.23	101.73 ± 73.36
中低分化鳞癌组织	33	31.97 ± 9.95	86.92 ± 50.53	121.37 ± 90.97

2.3 口腔鳞癌中微血管密度及MMP-2和uPA表达与临床病理指标的关系

口腔鳞癌中微血管密度及MMP-2和uPA表达与临床病理指标的关系见表2。

表2结果表明, 微血管密度与肿瘤大小、生长方式、病理分级、临床分期和淋巴结转移成正相关, 而与鳞癌生长部位无明显相关; MMP-2表达与肿瘤大小、临床分期和淋巴结转移成正相关, 而与鳞癌的生长部位、病理分级无明显相关; uPA表达与肿瘤大小、生长方式、临床分期和淋巴结转移成正相关, 而与鳞癌生长部位、病理分级无明显相关。

2.4 MMP-2、uPA的表达与MVD的关系

Spearman相关分析表明, MMP-2、uPA的表达与MVD均存在正相关关系 ($P<0.01$), 相关系数分别为0.558和0.556。

3 讨论

血管生成对肿瘤的侵袭和转移具有重要影响, 是反映口腔鳞癌演变和预后的一个重要指标^[9]。同时, MMP-2、uPA在头颈部及其他类型的肿瘤中都有表达且被激活, 其变化与肿瘤的侵袭和演变过程比较一致^[6-7]。本文研究结果表明, 口腔鳞癌中MVD、MMP-2、uPA的表达较癌旁组织高, 二者的差异具有统计学意义。同时研究表明, 随着肿瘤分化程度的降低, 微血管密度逐渐增加, 这说明随着细胞分化程度的降低, 血管生成的能力逐渐增强。而MMP-2、uPA的表达在不同分化程度的鳞癌中无显著性差异, 这提示MMP-2、uPA的表达增强可能是口腔鳞癌恶性特征的一种体现, 而与鳞癌的分化程度无关。

口腔鳞癌具有较高的侵袭和转移能力, 因此选择合适的判断肿瘤侵袭转移的指标对于口腔鳞癌的治疗具有重要意义。本研究发现: MVD、MMP-2、uPA的表达与临床分期、淋巴结状况正相关, 同时MVD与MMP-2、uPA的表达显著性正相关, 提示微血管密度与MMP-2、uPA的表达变化趋势较为一致, 并且与口腔鳞癌的演变过程也比较一致, 因此MVD、MMP-2、uPA均是理想的监测口腔鳞癌是否转移的参考指标。

实体瘤的侵袭和转移需要血管的生成, 肿瘤为了进一步

生长和侵袭, 释放和诱导多种促进和抑制血管生成的因子。uPA、MMP-2在肿瘤血管生成中的作用十分复杂。降解基膜, 诱导血管内皮细胞生长、侵入可能是uPA、MMP-2促进血管生成的主要机制。本实验发现间质中血管内皮细胞MMP-2、uPA阳性表达, 同时微血管密度与MMP-2、uPA的表达呈正相关, 提示MMP-2、uPA在口腔鳞癌中有可能参与并促进了微血管的形成。

[参考文献]

- [1] Radovanovic I, D Angelo MG, Aguzzi A. Angiogenesis in transgenic models of multistep angiogenesis[J]. *Cancer Treat Res*, 2004, 117 (1): 97-114.
- [2] 于世凤, 汪说之. 口腔组织病理学[M]. 5版. 北京:人民卫生出版社, 2004: 339-340.
(YU Shi-feng, WANG Shuo-zhi. Oral tissue and pathology[M]. 5th ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2004: 339-340.)
- [3] Sobin LH. TNM classification of malignant tumors/UICC[M]. 6th ed. New York: Wiley-Liss, 2002: 146-155.
- [4] Weidner N. Current pathologic methods for measuring intratumoral microvessel density within breast carcinoma and other solid tumors [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 1995, 36 (2): 169-180.
- [5] Guttman D, Stern Y, Shpitzer T, et al. Expression of MMP-9, TIMP-1, CD-34 and factor-8 as prognostic markers for squamous cell carcinoma of the tongue[J]. *Oral Oncol*, 2004, 40 (8): 798-803.
- [6] Yoshizaki T, Sato H, Furukawa M. Recent advances in the regulation of matrix metalloproteinase 2 activation: From basic research to clinical implication (Review) [J]. *Oncol Rep*, 2002, 9 (3): 607-611.
- [7] Duffy MJ, Maguire TM, McDermott EW, et al. Urokinase plasminogen activator: A prognostic marker in multiple types of cancer [J]. *J Surg Oncol*, 1999, 71 (2): 130-135.

(本文编辑 李 彩)

2006年国家级继续医学教育项目

“老年口腔医学新进展暨口腔临床实用新技术学习班”通知

经卫生部批准, 由解放军总医院口腔科主办, 无锡解放军第101医院协办的2006年国家级继续医学教育项目“老年口腔医学新进展暨口腔临床实用新技术学习班”(项目编号: 2006-08-05-021), 定于2006年7月25日—30日在江苏无锡举行。学习班将邀请解放军总医院、军医进修学院的专家授课。

授课内容: 老年口腔医学的特点与发展、咬合病的影响与矫治、全口义齿常见问题与处理、老年根龋防治新进展、颞下颌关节紊乱病的修复治疗、颌骨牵张成骨技术、正颌外科技术、唇腭裂修复进展、老年口腔肿瘤诊治、根管治疗新技术、口腔病的激光治疗、颌面部畸形诊治、牙齿脱色技术与牙齿美容、化学机械去龋技术、呼吸暂停综合征(打鼾综合征)的口腔治疗等。

学习班结业时授予国家级继续医学教育项目学分12学分。学习班费用(含资料费): 600元。食宿统一安排, 费用自理。有意参加者请与解放军总医院口腔科或江苏无锡第101医院口腔科联系。联系方式: 北京市复兴路28号解放军总医院口腔医学杂志编辑部, 邮编: 100853, 联系人: 王东胜, 电话: 010-66936254、66937949, 传真: 010-66936254, E-mail: cnkqxf@301hospital.com.cn。也可联系江苏省无锡解放军第101医院口腔科, 邮编: 214044, 联系人: 丁加根, 电话: 0510-85142210、85142211, 或军线: 0513-42210、42211。

解放军总医院口腔科