

2 结果

6例患者经术前矫治、牙槽外科手术复位及术后细微调整等治疗后,均达到了预期矫治目标。手术移动的骨块均为一期愈合,骨性粘连牙的位置及覆盖覆盖均正常。

3 讨论

牙外伤脱位再复位固定后,多数患牙牙骨质与牙槽骨直接发生骨性愈合,牙周膜消失¹。骨性粘连的牙齿不仅本身不能做任何正畸移动,还妨碍邻牙的正畸移动。若发生骨性粘连的牙齿错位严重,且患牙所在牙弓内存在中度以上拥挤,则应考虑拔除骨性粘连牙,利用该间隙排齐牙弓²。若骨性粘连牙所在的牙弓存在轻度拥挤或不存在拥挤,则应尽量保留骨性粘连牙。本文所介绍的牙槽外科配合固定正畸的方

法,较好地解决了骨性粘连牙的保存与正畸移动之间的矛盾。

笔者认为由于骨性粘连牙牢固、稳定,可充分发挥其强有力的支抗作用。在术前正畸排齐其他牙齿的过程中,可充分利用这一支抗,加快其他牙齿的排齐与内收速度。但也应注意避免骨性粘连牙因其稳固不动而对正畸力的消耗。如在弓丝上弯制恰当的“ ”形曲,越过于唇向错位的骨性粘连牙,则可获得事半功倍的效果。

[参考文献]

- 1] 邱蔚六主编. 口腔颌面外科理论与实践M. 北京:人民卫生出版社,1998:340-342.
- 2] 姜世同. 牙再植后牙列拥挤一例J. 华西口腔医学杂志,2000,18(1):29.

(本文编辑 李 彩)

[文章编号 1000-1182(2005)03-0261-02

口腔鳞癌患者唾液中端粒酶活性的表达

钟来平¹,陈关福¹,许则丰²,张 行²,赵士芳³

(1. 浙江大学医学院附属第二医院 口腔颌面外科;2. 浙江大学肿瘤研究所,浙江 杭州 310009;

3. 浙江大学医学院附属口腔医院 口腔颌面外科,浙江 杭州 310031)

[中图分类号] R 739.8 [文献标识码] A

端粒酶是一种辅助延长染色体末端端粒重复序列的核糖核蛋白,是依赖RNA的DNA聚合酶,属于逆转录酶。端粒酶活性的改变与人类大多数恶性肿瘤的发生发展有关,大约有85%的肿瘤组织表达端粒酶活性,如神经母细胞瘤、肺癌、结肠直肠癌、肝癌、胃癌、前列腺癌、乳腺癌、头颈鳞癌等¹。端粒酶活性在头颈口腔颌面部鳞癌中的表达已经被诸多学者所证实,但对患者唾液中端粒酶活性的定性和定量研究尚少见。本研究运用端粒酶mRNA的TRAP-PCR-ELISA法检测口腔鳞癌患者唾液中的端粒酶活性,并探讨其与口腔鳞癌的关系。

1 材料和方法

1.1 研究对象

32例口腔鳞癌患者来自2002年4月~2002年12月浙江大学医学院附属第二医院口腔颌面外科住院病例,均经病理确诊为鳞癌。32例患者中,男性23例,女性9例,年龄31~84岁,平均年龄58.84岁。肿瘤部位:舌部15例,牙龈7例,颊部5例,口底4例,腭部1例。肿瘤最大5.0 cm × 4.0 cm × 4.0 cm,最小1.0 cm × 1.5 cm × 1.0 cm。临床分期: 期6例,

期12例, 期8例, 期6例。32例患者中有淋巴结转移者10例,但均无远处转移。30例正常对照者来自同期同年龄段的健康人。

1.2 方法

端粒酶活性测定的方法采用德国Biohringer Mannheim公司生产的Telomerase PCR ELISA试剂药盒进行。(1)标本处理:收集无刺激状态的唾液3 ml,立即用生理盐水稀释至15 ml,4 ℃、3 300 g离心15 min,弃上清液,将离心细胞重新悬浮在1.5 ml生理盐水中再次离心,弃上清液后用于检测。(2)检测前,用50~200 μl裂解液溶解,混匀,4 ℃培养30 min,然后4 ℃、15 000 g离心20 min,将上清液转移到新鲜试管中用于TRAP反应。(3)PCR扩增:将25 μl扩增液和3 μl标本提取物加无菌水至50 ml,覆盖石蜡油;混合物在25 ℃、30 min,94 ℃、5 min,做1个循环;尔后于94 ℃、30 s,50 ℃、30 s,72 ℃、90 s,做30个循环;再在72 ℃反应10 min;最终产物在4 ℃保存。(4)杂交及酶联免疫吸附测定:取0.5 ml管,加入20 μl变性液和5 μl PCR产物,室温10 min,管内加入225 μl杂交液并混匀;按每孔100 μl放入包被板中,室温避光2 h;用洗涤液洗5次,拍干;加入酶工作液每孔100 μl,室温避光30 min;用洗涤液洗5次,拍干;加入四甲基联苯胺底物每孔100 μl,室温避光30 min;加入终止液每孔100 μl,30 min;450 nm波长比色(半自动酶标仪,Opsys MR™ NYNES型,美国Wearmax Holdings公司)。

[收稿日期 2005-02-20; 修回日期 2005-03-22

[作者简介]钟来平(1977-),男,浙江人,博士研究生

[通讯作者]钟来平, Tel: 0571-87783520

1.3 判定标准

端粒酶活性检测的 OD₄₅₀ 值大于、等于 0.2 为阳性, 小于 0.2 则为阴性。

1.4 统计分析

采用 SPSS10.0 对检测结果进行 χ^2 检验。

2 结果

32 例口腔鳞癌患者中端粒酶活性检测阳性者 24 例, 占 75.0%, 阴性者 8 例, 占 25.0%。此组患者端粒酶活性 OD₄₅₀ 值均值为 0.504 ± 0.470。30 例正常对照组中端粒酶活性阳性者 2 例, 占 6.67%, 阴性者 28 例, 占 93.33%, 其端粒酶活性 OD₄₅₀ 值均值为 0.136 ± 0.028。口腔鳞癌患者组唾液中端粒酶活性的阳性检出率与正常对照组相比, 其差异有统计学意义 ($\chi^2 = 29.693, P < 0.001$)。口腔鳞癌早期(Ⅰ、Ⅱ期)和晚期(Ⅲ、Ⅳ期)患者的唾液端粒酶活性的检测结果见表 1。表 1 结果经统计学分析, 可见早期和晚期患者唾液中端粒酶活性的阳性检出率无统计学差异 ($\chi^2 = 0.169, P = 0.681$)。口腔鳞癌早期、晚期患者与正常对照组的端粒酶活性的阳性检出率均有统计学差异 ($\chi^2 = 22.503, P < 0.001$; $\chi^2 = 23.709, P < 0.001$)。

表 1 32 例不同临床分期的口腔鳞癌患者唾液中端粒酶活性检测结果

Tab 1 Results of telomerase activity in saliva from 32 oral squamous cell carcinoma patients with different clinical stages

临床分期	n	端粒酶活性阳性 (%)	端粒酶活性阴性 (%)
Ⅰ、Ⅱ期	18	13(72.22)	5(27.78)
Ⅲ、Ⅳ期	14	11(78.57)	3(21.43)

在有淋巴结转移的 10 例患者中, 端粒酶活性阳性者 6 例, 在无淋巴结转移的 22 例患者中, 端粒酶活性阳性者 18 例。有无淋巴结转移的患者唾液中端粒酶活性的阳性检出率的差异无统计学意义 ($\chi^2 = 1.745, P = 0.186$)。

3 讨论

端粒的功能是保护基因组 DNA, 使染色体末端在正常情况下不发生降解、重组、融合, 并能使之不被识别为断裂 DNA 末端。端粒的长度随着正常体细胞的分裂而缩短, 当缩短到一定程度时, 细胞染色体就会失去活性而进入一种不能再分裂的状态, 细胞发生凋亡。端粒酶在其他因素作用下, 能以自身 RNA 为模板, 不断延长端粒, 使得细胞获得不断地分裂增生或“永生性”的能力, 并有可能发展成为肿瘤。近来研究表

明肿瘤的进展以端粒酶的重新激活为特征, 端粒酶活性被认为是组织细胞恶性变的诊断标志之一, 可用于判别肿瘤的发展, 并有可能成为治疗肿瘤的新靶点。

以往学者²⁻⁷ 对头颈口腔颌面部鳞癌的研究发现, 约 75% 肿瘤组织表达端粒酶活性, 并且其与肿瘤的预后有关, 而正常对照组织中几乎不表达端粒酶活性。Califano 等⁶ 采用基于 PCR 技术的放射性方法检测头颈鳞癌患者漱口水中的端粒酶活性, 阳性检出率仅为 32%。本文运用非放射性反应技术, 提供了一种高敏感性的光测酶联免疫吸附测定方法用于检测患者唾液中的端粒酶活性。它不仅避免了使用放射性显影技术所致的环境污染, 同时简化了操作步骤。这种方法主要基于以下几个依据: (1) 肿瘤来源于口腔黏膜表面; (2) 唾液中不停有口腔鳞状上皮细胞脱落; (3) 癌前和浸润性肿瘤组织中存在端粒酶活性; (4) PCR 法具有检测少量端粒酶活性的能力。在研究中, 作者采用自然分泌的唾液, 其中含有的肿瘤细胞较多, 同时采用 TRAP-PCR-ELISA 法, 使口腔鳞癌患者唾液中端粒酶活性的检出率达到 75.0%, 明显高于采用 PCR 免疫放射法⁶。本文研究发现, 口腔鳞癌患者与健康人相比, 唾液中端粒酶活性的检出率具有显著性差异, 而端粒酶活性的表达与其临床分期及有无淋巴结转移没有明显的联系。在口腔鳞癌的早期, 患者唾液中端粒酶活性的检出率为 72.22%, 这提示对患者唾液中端粒酶活性的检测可以为口腔鳞癌的早期诊断提供帮助, 但其能否作为口腔鳞癌早期诊断的指标之一尚需要进一步的研究。

[参考文献]

- 1] Kim NW. Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer J. Science, 1994, 266(5193): 2011-2015.
- 2] Mao L, El-Naggar AK, Fan YH, et al. Telomerase activity in head and neck squamous cell carcinoma and adjacent tissues J. Cancer Res, 1996, 56(24): 5600-5604.
- 3] Curran AJ, St Denis K, Irish J, et al. Telomerase activity in oral squamous cell carcinoma J. Arch Otolaryngol Head Neck Surg, 1998, 124(7): 784-788.
- 4] Liao J, Mitsuyasu T, Yamane K, et al. Telomerase activity in oral and maxillofacial tumors J. Oral Oncol, 2000, 36(3): 347-352.
- 5] Ries JC, Hassfurth E, Steininger H, et al. Correlation of telomerase activity, clinical prognosis and therapy in oral carcinogenesis J. Anticancer Res, 2001, 21(2A): 1057-1063.
- 6] Califano J, Ahrendt SA, Meining G, et al. Detection of telomerase activity in oral rinses from head and neck squamous cell carcinoma patients J. Cancer Res, 1996, 56(24): 5720-5722.
- 7] 张志宏, 叶茂昌, 戴海明, 等. 端粒酶活性在口腔鳞状细胞癌中的检测 J. 安徽医科大学学报, 2001, 36(4): 301-302.

(本文编辑 李 彩)