

素:如手术中出血、气腹压力不足、视野暴露差、麻醉不满意、过度牵拉胆囊管使之成角等干扰因素均会增加胆道损伤的可能。

及时发现并有效处理胆漏或梗阻是治疗胆道损伤的唯一手段,特别是首次处理方法非常重要,对于手术后效果及术后胆道狭窄等并发症的防治最为有效^[6,7]。一旦发现胆道损伤,首先判断胆道损伤的部位、性质、程度,再视具体情况及患者条件采取不同处理方式。笔者认为,非横断性损伤,管壁无明显缺损者,可以行 I 期缝合,放置 T 管支撑引流,但要严格选择适应证,如勉强吻合,张力过高一定导致胆漏无法愈合;横断性损伤宜行 I 期胆肠吻合内引流术^[8]。胆管空肠吻合内引流术有效解除梗阻,恢复胆道引流,术后使用 T 管等支撑引流 6 个月以上还可有效防止吻合口漏或狭窄。我们 3 例患者行胆肠吻合内引流术,2 例行胆管端端吻合术,5 例行修补缝合术,T 管均放置半年以上,术后疗效仅 1 例患者为差,表现为频繁发作的胆道感染及黄疸,需反复治疗,其余患者效果均为优良,表明及时有效的术式及足够时间的胆道支撑,能有效保证术后疗效。

总之,胆囊手术时理清解剖关系、规范操作、避免

盲目操作,并适时中转开腹手术,可降低医源性胆道损伤的发生率。术中发现胆管损伤,应 I 期修补或重建,II 期修复则宜行规范的胆肠吻合术。尽早发现、及时处理能有效防止术后胆管狭窄。

参考文献

- 1 刘允怡,赖俊雄.对《胆管损伤的预防与治疗指南(2008 版)》的建议[J].中华消化外科杂志,2008,7(4):267
- 2 赵玉元.术中胆道损伤 143 例的原因及处理[J].中华肝胆外科杂志,2005,11(6):378-380
- 3 刘允怡.医源性胆道损伤的分类[J].中华肝胆外科杂志,2005,11(3):149-150
- 4 王秉成,徐元灯.医源性胆管损伤原因及诊治探讨[J].肝胆胰外科杂志,2004,16(4):306-307
- 5 黎介寿,吴孟超.手术学全集:普通外科卷[M].北京:人民军医出版社,1996:652
- 6 张云珍,杨盼勇.胆囊切除致肝外胆道损伤九例临床分析[J].中华肝胆外科杂志,2007,13(6):366
- 7 柳东,沈立仁,吴永丰.医源性胆管损伤的预防及处理[J].临床误诊误治,2009,22(2):26-27
- 8 杜子友,秦斌,孙胜.腹腔镜胆囊切除术后胆道损伤诊治反思[J].临床误诊误治,2009,22(11):80 (收稿:2011-09-15)
(修回:2011-10-28)

组织蛋白酶 D 对口腔鳞癌中 VEGF-C 和 VEGF-D 的影响及淋巴管生成作用的研究

胡振宇

摘要 目的 检测组织蛋白酶 D(Cath-D)对口腔鳞癌中血管内皮生长因子-C(VEGF-C)和血管内皮生长因子-D(VEGF-D)表达的影响,探讨其对淋巴管生成的作用。**方法** 选择 86 例口腔鳞癌标本作为观察组,收集 60 例正常口腔黏膜组织作为对照组,应用流式细胞分析 Cath-D、VEGF-C 和 VEGF-D 蛋白在两组中的表达,关注其表达的相关性及临床价值。**结果** 口腔鳞癌中 Cath-D、VEGF-C 和 VEGF-D 高表达,口腔鳞癌中 Cath-D、VEGF-C 和 VEGF-D 的表达与肿瘤的分化程度、炎细胞浸润及淋巴结转移的差别有统计学意义。口腔鳞癌中 Cath-D 与 VEGF-C、Cath-D 与 VEGF-D 均呈正相关。**结论** 口腔鳞癌中 Cath-D、VEGF-C 和 VEGF-D 表达明显增加,Cath-D 能促进 VEGF-C 和 VEGF-D 的表达,进而促进淋巴管的生成。联合检测 Cath-D、VEGF-C 和 VEGF-D 的表达可能对判断肿瘤的预后有参考价值。

关键词 口腔鳞癌 组织蛋白酶 D VEGF-C VEGF-D 流式细胞术

Clinical Study of Lymphangiogenesis of Cath-D in Oral Squamous Cell Carcinoma. Hu Zhenyu. Zhejiang Provincial People's Hospital, Zhejiang 310014, China

Abstract Objective To detect the expressions of Cath-D, VEGF-C and VEGF-D in oral squamous cell carcinoma, study their clinical significance and relationship, for directing clinical work. **Methods** The observation group included 86 cases of oral squa-

mous cell carcinoma, and the control group included 60 cases of normal oral mucosa. The expressions of Cath - D, VEGF - C and VEGF - D were detected in two groups by flow cytometry. We analyzed their clinical significance and relationship in the observation group. **Results** The expressions of Cath - D, VEGF - C and VEGF - D were obviously higher in the observation group than those in the control group. The expressions of Cath - D, VEGF - C and VEGF - D were obviously different in differentiation, inflammation and lymph node metastasis in the observation group. There was positive correlation between Cath - D and VEGF - C, Cath - D and VEGF - D in oral squamous cell carcinoma. **Conclusion** The higher expressions of Cath - D, VEGF - C and VEGF - D may promote the development of oral squamous cell carcinoma. Cath - D can promote the pathway of VEGF - C\VEGF - D, induce the lymphangiogenesis in neoplasm. The expressions of Cath - D, VEGF - C and VEGF - D may be significant prognostic indicators in oral squamous cell carcinoma.

Key words Oral squamous cell carcinoma; Cath - D; VEGF - C; VEGF - D; flow cytometry (FCM)

淋巴道转移是口腔鳞癌转移的重要途径,而淋巴管生成则是促进肿瘤淋巴道转移的重要因素。近年来人们发现了以血管内皮生长因子 - C (VEGF - C)、血管内皮生长因子 - D (VEGF - D) 为代表的淋巴管生成因子^[1]。但是对于此通路的相关影响因素研究甚少。组织蛋白酶 D (Cath - D) 对肿瘤的转移具有重要的促进作用,目前其与淋巴管生成的关系报道较少。本实验关注 Cath - D 对口腔鳞癌淋巴管生成因子的作用,以期为进一步探讨肿瘤淋巴管形成的机制提供理论支持。

材料与方法

- 1. 临床资料: 观察组标本均为笔者医院 2004 年 1 月 ~ 2006 年 12 月行口腔鳞癌手术后预后的新鲜标本, 共 86 例, 患者的年龄 43 ~ 80 岁, 平均年龄 52.12 岁。患者手术前均未进行任何放、化疗。同时选取外伤或门诊拔牙患者的正常口腔黏膜组织 60 例作为对照组, 两组在性别、年龄等一般因素的比较中, 无明显差别, 具有可比性。
- 2. 流式细胞术检测 Cath - D、VEGF - C 和 VEGF - D 的表达: 取出冻存新鲜标本后, 置于 70% 乙醇中固定 2 ~ 3 天。将标本放在 120 目的网上, 用眼科剪刀剪碎, 轻轻搓组织并冲

洗, 收集混悬液, 过滤去除较大的碎块样的组织, 收集过滤后的细胞悬液, 离心, 将其制成 $1 \times 10^6/\text{ml}$ 的单细胞悬液。每次检测均取单细胞悬液 1ml, 分别加入 Cath - D、VEGF - C 和 VEGF - D 的工作液, 室温中孵育 30min, 加入 PBS 10ml 洗涤, 弃上清, 加入 FITC - IgG 二抗工作液 $100\mu\text{l}$, 避光室温孵育 30min, 加入 PBS 10ml 离心同上, 弃上清以除去未结合的荧光二抗, 加入 PBS 0.1ml, 经铜网过滤后上机检测, 流式细胞检测结果用随机软件进行处理, 对结果进行半定量分析。应用荧光指数 (fluorescence index, FI) 表示 Cath - D、VEGF - C、VEGF - D 的相对含量^[2]。FI 值计算公式为: $\text{FI} = (\text{肿瘤中不同蛋白表达的平均荧光强度} - \text{对照样品平均荧光强度}) / \text{正常对照样品平均荧光强度}$ 。

- 3. 统计学方法: 本组的实验结果均采用 SAS6.12 进行分析, 组间比较应用 *t* 检验, 相关分析应用线性相关分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. Cath - D、VEGF - C 和 VEGF - D 在观察组与对照组中的表达: Cath - D、VEGF - C 和 VEGF - D 在观察组与对照组中的表达差别有统计学意义, 即观察组中高表达 (表 1)。

表 1 Cath - D、VEGF - C、VEGF - D 在观察组与对照组中的表达 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	Cath - D	<i>P</i>	VEGF - C	<i>P</i>	VEGF - D	<i>P</i>
观察组	86	1.35 ± 0.34	<0.05	1.32 ± 0.35	<0.05	1.37 ± 0.31	<0.05
对照组	60	1.00 ± 0.25		1.00 ± 0.23		1.00 ± 0.21	

Cath - D. 组织蛋白酶 D; VEGF. 血管内皮生长因子

- 2. 观察组中 Cath - D、VEGF - C 和 VEGF - D 的表达在不同临床病理特征中的比较: 口腔鳞癌中 Cath - D、VEGF - C 和 VEGF - D 的表达在不同分化程度、不同临床分期及有无淋巴结转移的比较中, 差别均有统计学意义 (表 2)。
- 3. 观察组中 Cath - D、VEGF - C 和 VEGF - D 表达的关系: 经线性相关分析, 观察组中 Cath - D 和 VEGF - C ($r = 0.43, P < 0.05$)、Cath - D 和 VEGF -

D ($r = 0.47, P < 0.05$) 具有正相关性。

讨 论

肿瘤淋巴管生成是当今研究的热点。Cath - D 是一种糖蛋白, 正常组织即可合成, 主要分布于细胞质。Cath - D 是溶酶体性蛋白酶, 属于酸性溶酶体蛋白酶, 存在于所有细胞中, 具有刺激细胞生长, 催化基膜和细胞外基质的降解, 形成局部溶解区, 构成肿瘤细胞移动的通道, 并间接破坏血管基膜^[3]。VEGF -

表 2 观察组中 Cath - D、VEGF - C 和 VEGF - D 的表达在不同临床病理特征中的比较

临床病理特征	n	Cath - D	P	VEGF - C	P	VEGF - D	P
分化程度							
高 + 中分化	44	1.25 ± 0.26	<0.05	1.24 ± 0.28	<0.05	1.27 ± 0.28	<0.05
低分化	42	1.45 ± 0.23		1.42 ± 0.27		1.47 ± 0.26	
炎细胞浸润							
无	46	1.25 ± 0.23	<0.05	1.24 ± 0.28	<0.05	1.27 ± 0.26	<0.05
有	40	1.45 ± 0.37		1.43 ± 0.32		1.46 ± 0.28	
淋巴结转移							
无	51	1.26 ± 0.24	<0.05	1.24 ± 0.29	<0.05	1.29 ± 0.28	<0.05
有	35	1.48 ± 0.32		1.46 ± 0.31		1.49 ± 0.36	

Cath - D. 组织蛋白酶 D; VEGF. 血管内皮生长因子

C 是近年来新发现的血管内皮生长因子家族成员, VEGFR3 为受体型酪氨酸蛋白激酶家族成员, 是 VEGF - C 的特异性受体, 具有调节淋巴管生成的通路作用^[4]。有观点认为两者通过配体 - 受体的相互作用, 起到化学趋化的作用, 促进癌细胞以淋巴管内皮细胞为目标, 引起淋巴道转移^[5]。VEGF - D 也称 c - fos 介导的生长因子, 其 cDNA 序列含有 419 碱基对, 是新发现的促淋巴管生长因子之一, 通过作用于主要表达在淋巴管内皮细胞的特异性受体 VEGFR - 3 而介导肿瘤的淋巴管生成, 促进肿瘤经淋巴道转移^[6]。

本实验应用流式细胞术进行检测, 结果显示 Cath - D、VEGF - C 和 VEGF - D 在口腔鳞癌中表达明显高于对照组, 提示 Cath - D、VEGF - C 和 VEGF - D 在肿瘤中具有重要作用, 也提示 3 种蛋白参与口腔鳞癌的发生及发展。恶性肿瘤细胞可产生多种蛋白水解酶, 降解细胞外基质及基膜, 为肿瘤的生长及转移提供空间及通道, Cath - D 为其中一种蛋白水解酶, 一方面可通过水解作用降解细胞外基质, 参与肿瘤的侵袭和转移; 另一方面, 可以激活组织蛋白酶 B, 再次激活尿激酶激活因子, 并与其受体结合, 调节与肿瘤有关的蛋白分解作用^[6]。实验结果显示 Cath - D、VEGF - C 和 VEGF - D 与肿瘤的分化程度、炎细胞浸润及淋巴结转移密切相关, 提示三者参与了肿瘤的分化过程, 参与到肿瘤间质的炎性反应及转移过程中。实验显示 Cath - D、VEGF - C 和 VEGF - D 具有正相关性, 由于 VEGF - C 和 VEGF - D 具有较强的促淋巴管生长的功能, 而 Cath - D 可以提高 VEGF - C 和 VEGF - D 的表达, 提示 Cath - D 可以通过 VEGF - C 和 VEGF - D 的间接作用, 诱导肿瘤淋巴管生成。肿瘤中存在着淋巴管生成, 此淋巴管与全身淋巴循环相联系, 构成淋巴循环的整体, 因此淋巴循环更为丰富,

肿瘤与淋巴管的联系更为密切, 而 Cath - D 诱导的淋巴管生成发生在肿瘤内, 为肿瘤细胞进入淋巴循环提供了重要的条件, 对解释肿瘤淋巴道转移提供了最为直接依据^[7,8]。

总之, 口腔鳞癌中 Cath - D、VEGF - C 和 VEGF - D 表达明显增加, Cath - D 能促进 VEGF - C 和 VEGF - D 的表达, 进而促进淋巴管的生成, 对肿瘤淋巴道转移提供了直接途径。联合检测 Cath - D、VEGF - C 和 VEGF - D 的表达可能对判断肿瘤的预后参考价值。

参考文献

- 1 Takanami I. Lymphatic microvessel density using D2 - 40 is associated with nodal metastasis in non - small cell lung cancer[J]. Oncol Rep, 2006, 15(2): 437 - 442
- 2 刘爱东, 庞久玲, 刘士生. 胃癌中基质金属蛋白酶 - 9 和 CD105 表达关系的研究[J]. 中国老年学杂志, 2009, 29(4): 886 - 887
- 3 许丽君. 组织蛋白酶 D 对子宫内膜癌淋巴管生成作用的实验研究[J]. 医学信息, 2010, 23(12): 54 - 55
- 4 刘爱东, 王献华, 庞久玲. 大肠癌血管内皮生长因子 - C 及酪氨酸激酶受体 - 4 的表达与淋巴管生成及其转移的关系[J]. 华北煤炭医学院学报, 2006, 8(5): 592 - 594
- 5 王海琴, 霍继荣, 韩卓辉, 等. VEGF - D 及 D2 - 40 在胃癌中的表达及与淋巴管生成关系的研究[J]. 临床消化病杂志, 2009, 21(5): 286 - 288
- 6 Stacker SA, Caesar C, Baldwin ME, et al. VEGF - D promotes the metastatic spread of tumor cells via the lymphatics[J]. Nat Med, 2001, 7(2): 186 - 191
- 7 吴晶晶, 张鹏宇, 张明智, 等. 组织蛋白酶 - D 和 MMP - 9 在非小细胞肺癌中的表达意义[J]. 中国现代药物应用, 2010, 4(15): 5 - 7
- 8 Cursiefen C, Schlotzer - Schrehardt U, Kuchle M, et al. Lymphatic vessels in vascularized human corneas; immunohistochemical investigation using LYVE - 1 and podoplanin[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2002, 43(7): 2127 - 2135

(收稿: 2011 - 04 - 09)
(修回: 2011 - 04 - 19)