

舌鳞癌微血管密度与预后的关系

潘朝斌, 王建广, 陈伟良, 李海刚, 李劲松

(中山大学附属第二医院口腔颌面外科, 广东 广州 510120)

摘要: 【目的】研究舌鳞状细胞癌(简称舌鳞癌, 下同)组织中新生微血管的密度(MVD)与舌鳞癌患者预后的关系。【方法】用免疫组织化学 S-P 法对 75 例舌鳞癌标本进行染色, 依据 Weidner 法进行肿瘤微血管密度计数, 并与舌鳞癌的病理分级、颈淋巴结转移与否及患者生存期作比较。【结果】不同分化程度舌鳞癌组织中新生血管密度不同($P < 0.01$), 低分化者 MVD 高于高分化者; G_1, G_2, G_3 期 MVD 分别为 $24 \pm 10, 31 \pm 11$ 和 48 ± 12 ; 颈淋巴结转移组 MVD 为 36 ± 11 , 无颈淋巴结转移组 MVD 为 27 ± 9 ($t = 2.383, P < 0.01$); 五年生存组 MVD 为 26 ± 9 , 五年内死亡组 MVD 为 34 ± 10 ($t = 2.042, P < 0.01$)。【结论】肿瘤微血管密度与舌鳞癌生物学行为相关, 可以作为舌鳞癌患者预后的指标。

关键词: 舌鳞状细胞癌; 微血管密度; 预后

中图分类号: R739.86

文献标识码: A

文章编号: 1000-257X(2002)05-0378-02

Study on the Relationship Between Microvessel Density and Prognosis of Tongue Squamous Cell Carcinoma

PAN Chao-bin, WANG Jian-guang, CHEN Wei-liang, LI Hai-gang, LI Jin-song. (Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Second Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510120, China)

Abstract: 【Objective】To study the relationship between microvessel density (MVD) in tongue cancer and the prognosis of patients with tongue squamous cell carcinoma (TSCC). 【Methods】75 cases of TSCC samples were stained with immunohistochemical S-P method and the microvessel density assessed by Weidner method was compared among patients with different pathological grades, with or without cervical lymph node metastasis and with different survival periods. 【Results】MVD was associated with histological grade of differentiation. MVD in G_1, G_2, G_3 stage TSCC was $24 \pm 10, 31 \pm 11, 48 \pm 12$ respectively. The higher the histological grade, the lower the MVD. MVD in patients with cervical lymph node metastasis and without metastasis was 36 ± 11 and 27 ± 9 respectively. MVD in patients with 5-year survival period and in patients died within 5 years was 26 ± 9 and 34 ± 10 respectively. 【Conclusion】MVD was correlated with the biological behavior of TSCC and can be served as a prognostic factor for the patients with TSCC.

Key words: squamous cell carcinoma; tongue; microvessel density; prognosis

肿瘤的生长具有血管依赖性, 肿瘤的血管生成不仅为肿瘤提供丰富的养分, 带走大量的代谢产物, 同时癌细胞穿过新生的毛细血管由血路远处转移^[1]。已有报道证明脑胶质瘤, 乳腺癌微血管密度(MVD)与患者的生存期具有相关性^[2]。为明确舌鳞癌微血管生成与预后的关系, 本研究采用免疫组织化学 S-P 法对 75 例舌鳞癌标本进行微血管密度测定。

1 材料和方法

1.1 临床资料

追踪复查 1985~1996 年进行舌鳞癌根治术的患者 75 例, 其中男性 42 例, 女性 33 例, 年龄 22~81 岁, 平均(52 ± 3)岁。全部原发灶均经病理证实, 组织病理学分级为 G_1 (高分化)28 例, G_2 (中分化)36

例, G_3 (低分化)11 例。临床分期按 UICC 四期分类方案, I、II、III、IV 期分别为 10、21、28 和 16 例, 其中颈淋巴结转移 23 例, 无淋巴结转移 52 例。

1.2 试剂来源

Ⅷ因子多克隆抗体和 S-P 试剂盒均购自福建迈新公司(即用型)。

1.3 方法及结果判断

免疫组化具体方法依 S-P 法操作^[3]。肿瘤微血管密度的测定按 Weidner^[4]报道的方法进行, 即先用低倍镜观察整个切片野, 以便寻找“热点”(高血管密度区), 这些区域通常位于肿瘤包膜区域的纤维组织中, 也可见于肿瘤的任何部位。再用 200 倍的光镜统计 3 个视野中被 Ⅷ因子染成棕色的血管的平均数, 作为该病例的 MVD 值, 记录以备统计用。

收稿日期: 2002-02-28

基金项目: 211 工程基金资助项目(98097)

作者简介: 潘朝斌(1965-), 广西武宣人, 博士, 副教授, 李海刚, 本院病理科。

1.4 统计学分析

均数比较采用 t 检验, 或方差分析。

2 结果

2.1 不同病理分级舌鳞癌组织中 MVD 值

在所有的标本中均有新生的微血管。微血管网主要位于肿瘤周边纤维组织中, 血管染色为棕褐色(图 1)。G₁, G₂ 和 G₃ 经分级的舌鳞癌各有 28, 36, 11 例, MVD 分别为 24 ± 10 , 31 ± 11 和 48 ± 12 。经方差分析 (SNK- q 检验), 不同分化程度的舌鳞癌组织中微血管密度有差异 ($P < 0.005$), 肿瘤分化程度越低, 微血管密度越大。

2.2 舌鳞癌 MVD 和颈淋巴结转移的关系

颈淋巴结转移组 23 例, MVD 值为 36 ± 11 , 中位数为 37, MVD 值超过 37 的 27 例中 21 例有转移。无淋巴结转移组 52 例, MVD 值为 27 ± 9 , 两组经 t 检验, $P < 0.001$, 颈淋巴结转移的舌鳞癌 MVD 值高于无颈淋巴结转移组。

2.3 MVD 与病人预后的关系

在预后方面, 75 例病人 5 年生存 45 例, 总体 5 年生存率达 60%, 该组 MVD 值为 26 ± 9 ; 生存期低于 5 年组 30 例, 其 MVD 为 34 ± 10 。血管密度值超过中位数者 33 例, 其中 28 例生存期小于 5 年, 即 MVD 超过中位数病例, 73.6% 在 5 年内死亡。

2.4 各临床分期舌癌 MVD 值比较

在各分期中, I 期、II 期、III 期和 IV 期病例的 MVD 值经方差分析未发现血管密度有显著性差异。

3 讨论

在临床研究中发现, 一些早期的舌鳞癌病例根治术后并未达到预期的生存期, 而一些晚期病例术后效果好, 此种现象在临床及病理方面无法解释。近年来不断有报道证实, 影响实体肿瘤患者生存期的一个重要因素可能是肿瘤新生血管形成。肿瘤生存和转移离不开新生血管, 实体瘤在没有新生血管长入时, 即无血管期, 其大小不会超过数个 mm³; 而一旦肿瘤内血管生成则其体积呈指数增长, 并获得转移能力^[5]。

本研究中发现, 在低分化舌癌中新生血管的量多。一般认为分化程度低的肿瘤中, 其细胞增殖愈明显, 而细胞凋亡率较低。有研究证实, 新生血管不是独立于肿瘤细胞增殖的现象, 而是伴随的结果。新生血管的量可影响细胞的凋亡, 无血管期肿

瘤细胞增殖速度与血管期肿瘤细胞增殖速度并无差异, 如果没有新生血管的长入, 细胞增殖与凋亡处于动态平衡, 肿瘤组织将保持休眠状态或是退化。故可相信, 肿瘤的新生血管是影响实体肿瘤体积增长的重要指标。我们发现的另一结果是各临床分期(主要决定于原发灶大小)肿瘤的微血管密度值无差异性, 这可说明 MVD 和舌鳞癌的生物学潜能相关, 而与肿瘤大小无关。

肿瘤转移无疑是导致鳞癌患者术后死亡的重要因素。肿瘤的生长不仅有赖于血管生成, 其转移也离不开新生血管。在无血管生成期, 肿瘤极少发生转移。肿瘤增殖至临界的细胞数时, 启动了血管生成的表型, 产生强力的血管生成活性, 进入血管化期^[6]。与正常血管不同, 肿瘤血管内皮细胞结构不完整, 基底膜稀疏易于泄漏, 肿瘤细胞脱落后易进入肿瘤旁血管中。再者, 血管生成本身就具有一定的组织侵袭性, 细胞可以沿着新生血管所开启的胶原裂隙侵袭。肿瘤细胞释放的血浆蛋白酶原激活剂等能诱导组织纤维蛋白的生成, 进而生成肿瘤细胞转移所需的物质, 使游离的肿瘤细胞通过基质迁移入血液循环中。但是, 淋巴结的转移为何与血管密度大小如此密切? 目前认为肿瘤细胞侵入淋巴管的途径有: ①侵入周围组织的癌细胞进入癌周的淋巴管; ②血流中的癌细胞通过淋巴-血管连接进入淋巴管^[7]。本组的结果显示, 舌鳞癌中 MVD 值越高, 颈淋巴结转移的机会也越高。

影响舌鳞癌预后的另一方面因素是术后的局部复发。在 Shpitzer 等^[8]的研究中发现早期的舌癌术后复发病例的瘤组织中 MVD 值高于无复发的病例。不少的研究发现, 随着肿瘤微血管的增加, 肿瘤侵袭及转移等恶性潜能也明显增加^[9]。我们认为由于肿瘤的新生血管多位于肿瘤的周边区域, 这些血管和更远的组织有接合, 也即这些微血管侵入到邻近组织, 血管数量越大, 手术切除舌癌后的边缘阳性机会越大。综合本研究结果表明, MVD 可以作为判断舌鳞癌转移, 复发和预后的重要指标。

(本文图 1 见插页 2 Fig. 1 Shown in back coloured page 2)

参考文献:

- [1] Folkman J. Angiogenesis in cancer, vascular rheumatoid and other diseases[J]. Nature Med. 1995, 1(1): 27.

(下转第 384 页 to page 384)

缺损形状和眶容积增加量来进行术前预制或术中即时塑形, 缩短手术时间。1985年Perry开始用羟基磷灰石义眼座植入以增进外观美容效果^[3], 因羟基磷灰石多微孔有利于血管化和稳定的组织相容性在国内外得到广泛使用, 经10多年实践已证实是至今最好的眼眶植入材料。但羟基磷灰石较脆, 难以成形, 对眶骨缘缺损者, 用钛网固定成形弥补了羟基磷灰石板的不足。

3.3 手术切口的选择

本方法在传统的下穹隆结膜切口、下睑睫毛下切口、下眶缘切口及经鼻筛窦进路的基础上进行改进, 依据不同的骨折选择不同的手术入路。对于明显的上颌骨凹陷者联合眼眶和上颌窦切口, 既有利于从眼眶把嵌顿组织复位, 也可从上颌窦使上颌骨复位, 比单纯从上颌窦切口减少眼眶组织受损的机会, 但如单纯从眼眶切口又难以把上颌骨复位, 故联合切口有互补作用。对合并颧骨骨折者采用头皮切口有利于手术野的暴露, 并减少颜面手术疤痕的可能性。

3.4 填充量的评估

眼球凹陷的主要原因, 在于爆裂伤后眼眶容积的增大。文献报道, 当伤后眼眶容积增加超过8%(2 mL)后, 将发生明显的眼球凹陷^[4]。为矫正扩大的眶腔容积及预防复位的软组织再一次疝出, 必须进行移植物的眶内填充。对手术填充量的控制, 可采用眼球突出度监测的方法。文献报道眼眶爆裂性骨折患者的眼球支撑系统受到破坏, 可产生眼球突出度的改变^[5]。本文采用术中目测眼球突出

度, 以术眼突出度大于健眼2~3 mm为宜, 以眼球突出度来指导手术的填充量, 不但使手术效果满意, 并且对手术的预后和评价也有一定量化作用。

恢复双眼单视是手术治疗眼眶爆裂性骨折的主要目的之一。同视机检查可有助于获得确切的临床资料, 评价手术效果。本组病例视力高于0.1者使用同视机检查, 69.6%患者复视消失, 其中50.4%恢复了双眼视觉II级融合功能。合并泪囊炎者经同时摘除泪囊, 术后无泪管溢脓现象, 所有患者的外观均得到不同程度的矫正, 无植入物排出、感染和骨髓炎等并发症发生, 获得良好的效果。但本方法仍存在一些不足, 如羟基磷灰石材料塑形差以及在术中通过目测来估计手术填充量难以达到精确等问题, 还有待于进一步探讨。

参考文献:

- [1] Charteris D G, Chan C H, Whitehouse, *et al.* Orbital volume measurement in the management of pure blowout fractures of the orbital floor[J]. *Br J Ophthalmol*, 1993, 77(2): 100.
- [2] Mommaerts M Y, Casselman J W. Assessment of the damages by orbital blow-out fractures[J]. *Acta Chir Belg*, 1993, 93(5): 201.
- [3] 郑永欣, 刘金陵. 保全自体巩膜和眼外肌的义眼座植入法[J]. *中山医科大学学报*, 2000, 21(6): 451.
- [4] Lee J W, Chiu H Y. Quantitative computed tomography for evaluation of orbital volume change in blow out fractures[J]. *J Formos Med Assoc*, 1993, 92(4): 349.
- [5] Manson P N, Grivas A, Rosenbaum A. *et al.* Studies on enophthalmos. II. The measurement of orbital injuries and their treatment by quantitative computed tomography[J]. *Plast Reconstr Surg*, 1986, 77(2): 203.

(编辑 刘清海)

(上接第379页 from page 379)

- [2] 蒋晓山, 黄北孚, 李吉友. 乳腺癌血管生成与淋巴转移的关系[J]. *中华外科杂志*, 1997, 35(10): 583.
- [3] 潘朝斌, 黄洪章, 陈伟良, 等. 舌鳞状细胞癌组织中基因蛋白的表达[J]. *中山医科大学学报*, 2000, 21(4): 248.
- [4] Weidner N. Current pathologic methods for measuring intratumoral microvessel density within breast carcinoma and other solid tumor[J]. *Breast Cancer Res Trent*, 1995, 36(2): 169.
- [5] Carron C P, Meyer D M, Pegg J A, *et al.* Apeptidomimetic antagonist of the integrin alpha beta 3 inhibits leydig cell tumor growth and development of hypercalcemia of malignancy[J]. *Cancer Res* 1988, 58(9): 1930.
- [6] Cau Y, Linedew P, Famebo J, *et al.* Vascular endothelial growth

C induces angiogenesis *in vivo* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(24): 14389.

- [7] Folkman J. Clinical application of research on angiogenesis[J]. *N Engl J Med* 1995, 333(26): 1751
- [8] Shpitzer T, Chaimoff M, Gal G, *et al.* Tumor angiogenesis as a prognostic factor in early oral tongue cancer[J]. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 1996, 122(8): 865.
- [9] Zolota V, Gerkoata A, Melachriou M, *et al.* Microvessel density, proliferating activity, p53 and bcl-2 expression *in situ* dental carcinoma of the breast[J]. *Anticancer Res*, 1999, 19(48): 3269.

(编辑 刘清海)

一氧化氮在舌鳞癌血管生成中的作用 (正文见第 375 页)

Role of Nitric Oxide in Angiogenesis in Squamous Cell Carcinoma of Tongue (Text in page 375)

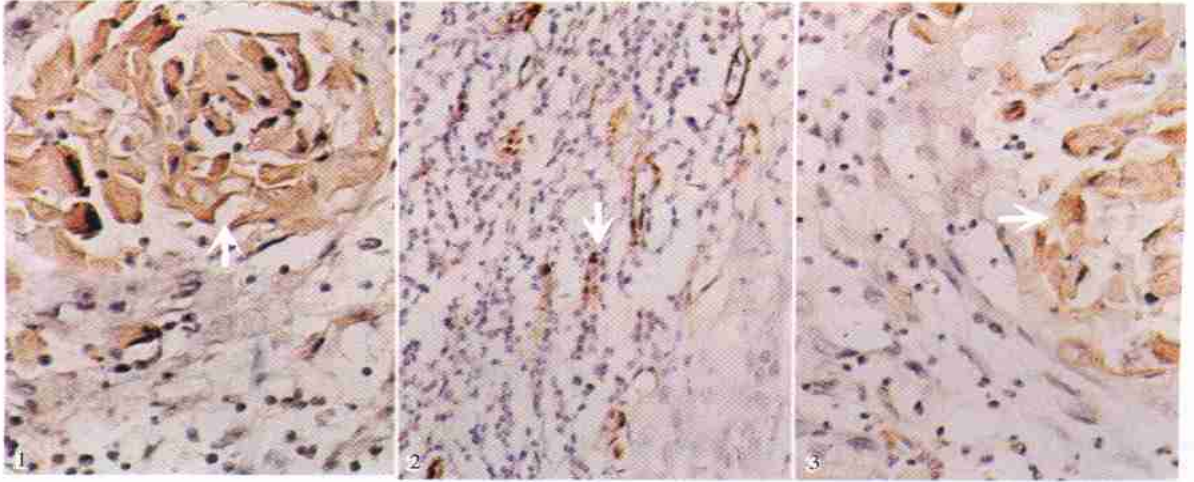


图 1 原位杂交 iNOSmRNA 在舌鳞癌角化珠周围癌细胞中强阳性表达

图 2 iNOS mRNA 表达阳性的舌鳞癌组织微血管热点区

图 3 舌鳞癌 iNOS mRNA 表达强阳性的癌细胞中 VEGF 蛋白强阳性表达

Fig. 1 iNOSmRNA positive expressed strongly in squamous cell carcinoma of tongue by in situ hybridization assay which around the keratin pearls ($\times 200$, stained by DAB, \rightarrow showed the positive expressed cell)

Fig. 2 Microvessel hot spot in the range of tongue carcinoma tissue which iNOSmRNA expressed postively ($\times 200$, SP immunohistochemistry, stained by DAB, \rightarrow showed the microvessel)

Fig. 3 VEGF protein expressed strongly in squamous cell carcinoma of tongue which also expressed iNOSmRNA strongly ($\times 200$, SP immunohistochemistry, stained by DAB, \rightarrow showed the positive cell)

舌鳞癌微血管密度与预后的关系 (正文见第 378 页)

Study on the Relationship Between Microvessel Density and Prognosis of Tongue Squamous Cell Carinoma (Text in page 378)

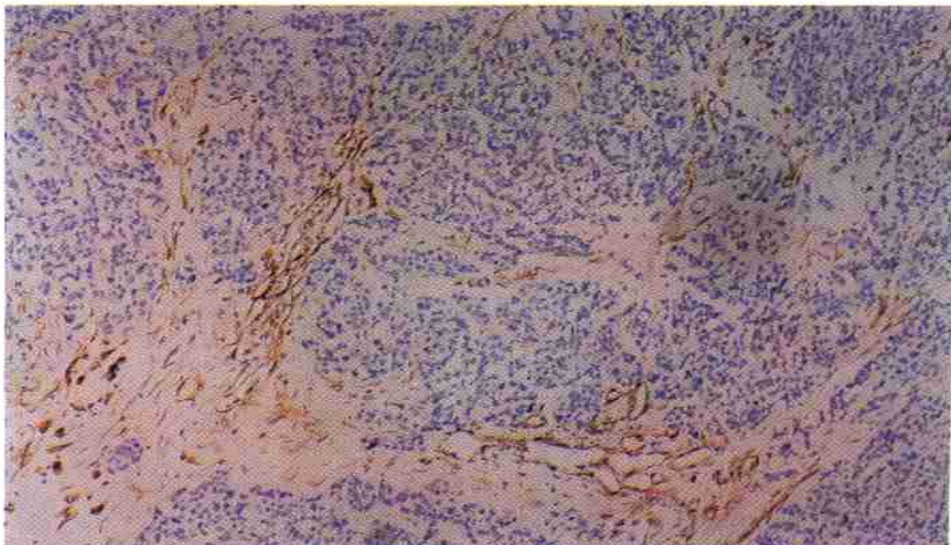


图 1 染成棕色的肿瘤微血管

Fig. 1 Microvessel in tumor tissue are dyed brown Microvessel is mainly located at the edge of tumor tissue ($\times 200$)