

要求,但由于观察时间尚短,其远期修复效果有待进一步研究。

参考文献

1 Fradeani M, Aguilano A. Clinical experience with empress crowns [J]. Int J Prosthodont, 1997,10(3):241-247.

2 黎耀荣,黄世光. 一次性热压充填法治疗后牙慢性牙髓炎的短期疼痛反应[J]. 牙体牙髓牙周病学杂志,2002,12(9):501.

3 Krasteva K. Clinical application of a fiber reinforced post system [J].

J Endod J,2002,27(2):132-133.

4 Fokkinga WA, Le Bell AM, Kreulen CM, et al. Ex vivo fracture resistance of direct resin composite crowns with and without posts on maxillary premolars[J]. Int Endod J, 2005,38(4):230-237.

5 Hamza TA, Rosenstiel SF, Elhosary MM, et al. The effect of fiber reinforcement on the fracture toughness and flexural strength of provisional restorative resins [J]. J Prosthet Dent, 2004, 91(3):258-264.

[收稿日期 2009-06-25][本文编辑 谭毅 刘京虹]

论 著

血管瘤中血管内皮生长因子及其受体 KDR 的表达和血管生成的研究

梁 杰, 黄其佳

基金项目: 广东省湛江市科技攻关项目(编号:2008C02004)

作者单位: 524001 湛江, 广东医学院附属医院整形外科研究所

作者简介: 梁 杰(1964-), 男, 硕士研究生, 主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向: 婴幼儿血管瘤诊治。E-mail: liangjie1964@163.com

通讯作者: 黄其佳(1983-), 男, 在读硕士研究生, 研究方向: 婴幼儿血管瘤诊治。E-mail: 43516472@163.com

[摘要] 目的 探讨血管内皮生长因子(VEGF)及其受体 KDR 在血管瘤中的表达以及其与微血管密度(MVD)的关系。方法 采用免疫组化 SP 法检测 35 例婴幼儿血管瘤 VEGF 及 KDR 的表达和 MVD。结果 35 例血管瘤中 VEGF、KDR 的蛋白表达阳性率分别是 66.5%、73.4%。其中增生期和消退期 VEGF 阳性率分别为 92.1%、31.4% ($P < 0.01$), KDR 阳性率分别为 89.3%、42.5% ($P < 0.01$); MVD 分别为 75.7 ± 13.71 、 28.9 ± 8.5 ($P < 0.01$)。KDR 的表达与 VEGF 成正相关 ($P < 0.01$), KDR 和 VEGF 与 MVD 都成正相关 ($P < 0.01$)。结论 血管瘤增生期血管内皮细胞存在着血管内皮细胞生长因子及其受体 KDR 的相互作用, 促进了新生微血管生成。

[关键词] 血管瘤; VEGF; KDR; 微血管密度

[中图分类号] R 782.22 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2009)11-1131-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2009.11.05

The relationship between the expression of VEGF, KDR and the angiogenesis in infancy hemangioma LIANG Jie, HUANG Qi-jia. The Institute of Plastic Surgery, Guangdong Medical College, Zhanjiang 524001, China

[Abstract] **Objective** To investigate the relationship between the expression of the vascular endothelial cell growth factor(VEGF) and KDR and microvessel density(MVD) in hemangioma. **Methods** Immunohistochemical streptavidin/peroxidase(SP) stain was applied to examine the expression of KDR, VEGF and CD34. The amount of microvessel was counted by the expression CD34 in endothelial cell. **Results** In 35 cases, positive rate for KDR was 73.4%, for VEGF was 66.5%. In the proliferating phase, positive rate for KDR was 89.3%, for VEGF was 92.1%. However, the positive rate for KDR, in the involuting phase, was 42.5%, and for VEGF was 31.4%. There was a very significantly difference between two phases ($P < 0.01$). In the proliferating phase, MVD was (75.7 ± 13.71). In the involuting phase, MVD was (28.9 ± 8.5) ($P < 0.01$). The correlation between the KDR and VEGF was positive ($P < 0.01$). There was a positive correlation between the KDR and MVD ($P < 0.01$). **Conclusion** There might be a spe-

cial interaction between the KDR and VEGF in endothelial cell of the hemangioma in proliferating phase, which could result in the angiogenesis.

[Key words] Hemangioma; VEGF; KDR; MVD

婴幼儿血管瘤是一种好发于婴幼儿的良性血管源性肿瘤,男女患病比率为1:3~5,白种人发病率较黑种人、黄种人高。它好发于头面部,自然病程包括生长期、消退期和消退完成期3个阶段。临床以一过性异常的血管增生为特征,其发病机制目前尚不清楚,在目前已知的与血管内皮细胞增殖有密切关系的血管形成因子中,血管内皮细胞生长因子VEGF及其受体备受关注。本文采用免疫组织化学方法对手术切除的不同生长时期血管瘤及血管畸形标本进行VEGF及其受体KDR以及微血管密度的检测,探讨其在血管瘤发生发展中的作用,为临床鉴别诊断、分期和治疗血管瘤提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料 28例婴幼儿血管瘤组织标本为本科室存档的2003-01~2006-06的蜡块,其中男性9例,女性19例。标本均按照Mulliken的临床和病理诊断标准,确定为增生期者20例,年龄20d~3个月;消退期者15例,年龄10个月~5岁。同时抽取2004-04~2006-06的动静脉畸形(数字减影动脉造影技术确诊)存档石蜡标本19例,年龄7~60岁;正常儿童皮肤软组织15例。

1.2 方法 标本经10%甲醛固定,常规脱水包埋,做厚度3~4 μm的连续切片,进行SP法免疫组化染色。兔多克隆抗体VEGF、兔抗VEGFR/KDR-A及SABC试剂盒均为北京中山生物公司产品。鼠抗人单抗CD34购自DAKE公司。PBS液替代一抗做阴性对照,阳性对照片由试剂公司提供。

1.3 结果判定标准 VEGF和VEGFR/KDR蛋白以血管内皮细胞胞浆中有棕黄色颗粒为阳性,无阳性反应为阴性两者均在高倍镜下(×400)对每张切片随机选择5个视野,计数200个细胞/视野,共计1000个。阳性细胞数<1%为阴性(-),阳性细胞1%~10%为弱阳性(+),11%~50%为中度阳性(++),>50%为强阳性(+++)。CD34蛋白表达以细胞浆内出现黄色颗粒为阳性标记。MVD测定方法:在

100倍光镜下挑选微血管分布最高区域,在200倍视野下计数5个视野的血管内皮细胞CD34阳性的血管数目,取其平均值作为MVD,每一个与邻近的微血管明显分离的阳性染色的血管内皮细胞或内皮细胞簇都视为独立的微血管;管腔内皮细胞数目>8个,给予排除。

1.4 统计学方法 计数资料采用秩和分析和Fisher's精确检验,资料的相关性采用Spearman等级相关分析;计量资料在进行方差齐性和正态分布检验后,采用多样本单因素方差分析。所有数据统计均在SPSS11.1软件上进行。

2 结果

2.1 VEGF蛋白表达情况 VEGF主要表达在血管内皮细胞胞浆内(VEGF在平滑肌细胞中均出现阳性表达)。35例血管瘤标本中,VEGF的阳性表达率为66.5%,其中增生期的阳性表达率为92.1%,消退期为31.4%,两者比较差异有统计学极显著意义(P<0.01, Fisher's精确检验)。在正常组织和AVM中,VEGF的阳性率分别为12.5%和13.3%,和血管瘤增生期比较差异有统计学极显著意义(P<0.01, Fisher's精确检验)。

2.2 KDR蛋白表达情况 KDR主要表达在血管内皮细胞胞浆内。35例血管瘤标本中,KDR的阳性表达率为73.4%,其中增生期的阳性表达率为89.3%,消退期为42.5%,两者比较差异有统计学极显著意义(P<0.01, Fisher's精确检验)。在正常组织和AVM中,VEGF的阳性率分别为19.7%和33.8%,和血管瘤增生期比较差异有统计学极显著意义(P<0.01, Fisher's精确检验)。

2.3 MVD计数情况 CD34蛋白主要在血管瘤内皮细胞的胞浆中表达,呈黄色。在血管瘤炎症细胞密集部位CD34表达明显增高。血管瘤增生期MVD计数为75.8±12.45,消退期为29.8±8.6,正常对照组为12.8±5.36。见表1。

表1 血管瘤中VEGF、KDR、MVD的表达情况

项目	n	MVD	F	P	VEGF				χ ²	P	KDR				χ ²	P
					(-)	(+)	(++)	(+++)			(-)	(+)	(++)	(+++)		
增生期	20	75.8±12.45*	136	0.01	3	2	5	10	14.13	0.002	1	4	7	8	12.86	0.002
消退期	15	29.8±8.6			9	4	2	0	17.87	1.41×10 ⁻⁵	7	3	2	0	17.88	1.19×10 ⁻⁵
对照组	15	12.8±5.36			13	2	0	0	21.48	4.9×10 ⁻⁶	12	2	1	0	11.43	0.0003
AVM	19	-			16	3	0	0			12	3	2	2		

注: * MVD进行多样本单因素方差分析,方差齐,P=0.14

2.4 VEGF、KDR 和 MVD 三者关系 血管瘤中 VEGF 与 KDR 表达成正相关($r=0.843$),具有统计学极显著意义($P<0.01$),VEGF 表达升高,VEGF/

KDR 表达也升高;MVD 和 VEGF、KDR 表达成正相关($r=0.853$ 和 0.908),具有统计学极显著意义(P 均 <0.01)。见表 2。

表 2 血管瘤中 VEGF、KDR、MVD 的相互关系

KDR	VEGF				MVD
	(+++)	(++)	(+)	(-)	
(+++)	9	1	1	0	80.5 ± 8.09
(++)	1	5	0	0	67.3 ± 11.76
(+)	1	3	2	1	41.4 ± 6.37
(-)	0	0	4	7	29.8 ± 11.7
MVD	88.3 ± 9.45	59.5 ± 13.73	45.2 ± 19.45	29.7 ± 9.83	

3 讨论

3.1 血管瘤发生的确切机制目前尚未完全阐明。既往研究发现婴幼儿血管瘤的增生期以内皮细胞增生为主,有活跃的血管形成,增生可能是血管瘤和邻近的正常组织表达的促血管形成因子和抑制血管形成的因子之间失去平衡的结果^[1-4]。血管形成因子中研究较多的是血管内皮细胞生长因子 VEGF 以及细胞凋亡方面,本课题组在这两方面的研究结果与新近的国外文献报道基本相符并有新的发现^[5,6]。

3.2 VEGF 是一种直接作用于内皮细胞的特异性有丝分裂原,最早由 Senger 等^[7]于 1983 年报道在无血清的癌细胞培养基和瘤性腹水中发现,其生物学功能主要有:(1)增加血管通透性;(2)促进内皮细胞增殖和血管形成;(3)抑制内皮细胞凋亡。VEGF 只有和特异受体结合才能发挥其生物学功能,增加微血管的生长和渗透性^[8]。目前发现至少有下列三种受体和 VEGF 有关,即 VEGF 受体 1(fl-1)、VEGF 受体 2(fl-1/KDR)和 VEGF 受体 3(fl-4)。三者均属细胞膜上具有酪氨酸激酶活性的受体。其中,KDR 经 VEGF 诱导产生酪氨酸自动磷酸化和促进有丝分裂活性,引起血管内皮细胞的分裂、增殖和迁移。故认为 KDR 主要在血管形成过程中起重要调节作用。近年有研究表明,将 VEGF 基因去除后,胚胎的发育出现严重障碍,KDR 基因的突变,导致胚胎造血祖细胞和血岛发育异常及无血管结构及内皮细胞形成,进一步提示 VEGF 和 KDR 是血管瘤发生的重要环节^[9,10]。本研究中 VEGF 和 KDR 在增生期血管瘤中高表达,在消退期血管瘤、血管畸形及含血管的正常皮肤中低表达,说明血管瘤增生期血管内皮细胞存在着 VEGF 及其受体 KDR 的相互作用,促进了新生微血管生成。

3.3 MVD 被认为是最能反映肿瘤血管生成的指标

之一。CD34 在正常及肿瘤性的小血管内皮细胞中都有表达,是一种与新生小血管相关的抗原;利用 CD34 标记血管内皮细胞可以更准确地统计新生微血管的密度^[11]。本组病例中增生期血管瘤 MVD 和对照组结果比较有统计学意义,镜下可见增生期血管瘤主要由大量新生微血管组成。所以在血管瘤增生期,快速增生应该是大量的微血管生成引起,MVD 可以代表血管瘤增生的趋势。本组病例中血管瘤的 VEGF、KDR 蛋白表达水平和 MVD 都呈正相关,提示血管瘤内皮细胞 VEGF、KDR 蛋白表达水平和血管瘤的增生趋势密切相关,这将为后续的研究提供实验理论依据。

3.4 近来针对血管瘤发生机制的另一研究热点是有关血管内皮祖细胞(endothelial progenitor cell, EPC)方面,EPC 是血管内皮细胞的前体细胞,又称为血管母细胞(angiolast),不仅参与胚胎血管生成,也参与出生后的血管发生过程^[12]。研究还表明,VEGF 是 EPC 动员和分化的关键调节信号,局部性缺血被认为是 EPC 动员的重要内源刺激因子^[13,14]。在后续的进程中,我们将对 VEGF 与 EPC 及其他相关因子如缺氧诱导因子-1 α 、MMP-9 等的关系进行探讨和研究。

参考文献

- 1 Chang J, Most D, Bresnick S, et al. Proliferative hemangiomas analysis of cytokine gene expression and angiogenesis[J]. *Haast Reconst Surg*, 1999, 103(1):1-9.
- 2 Hasan Q, Tan ST, Gush J, et al. Steroid therapy of a proliferatin hemangioma; histochemical and molecular changes [J]. *Pediatrics*, 2000, 105 (1 Pt 1):117-121.
- 3 Tan ST, Velickovic M, Tuger MB. Cellular and extracellular markers of hemangioma[J]. *Plast Reconstr Surg*, 2000, 106 (3):529-538.
- 4 Folkman J. Clinical applications of research on angiogenesis[J]. *New*

Eng J Med, 1995, 333 (26): 1757 - 1763.

5 程立新, 梁杰, 汤少明, 等. 细胞凋亡抑制基因 bcl-2 在血管瘤发病中作用的研究[J]. 中华整形烧伤外科杂志, 1999, 15(1): 35.

6 梁杰, 吴泽勇, 罗少军. Caspase-3 与 Clusterin 在血管瘤组织中的表达及其相关性研究[J]. 中国实用医药杂志, 2008, 3(10): 5 - 6.

7 Senger DR, Asch BB, Smith BD, et al. Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid[J]. Nature, 1983, 302(5910): 714 - 715.

8 Hartenba EM, Olson TA, Goswitz JJ, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression and survival in human epithelial ovarian carcinomas [J]. Cancer Lett, 1997, 121(2): 169 - 175.

9 Ferrara N, Cgver Moore K, Chen H, et al. Heterozygous embryonic lethality induced by targeted inactivation of the VEGF gene [J]. Nature, 1996, 380(6573): 439 - 442.

10 Shalaby F, Rossant J, Yamachi TP, et al. Failure of blood-island formation and vasculogenesis in Flk-1-deficient mice [J]. Nature, 1995, 376(6535): 62 - 66.

11 Zolota V, Gerokosata A, Melachrinou M, et al. Microvessel density, proliferating activity, p53 and bcl-2 expression in situ ductal carcinoma of the breast [J]. Anticancer Res, 1999, 19 (4B): 3269 - 3274.

12 Asnhara T, Murohara T, Sullivan A, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis [J]. Science, 1997, 275 (5302): 964 - 967.

13 Iyer NV, Kotch LE, Agani F, et al. Cellular and developmental control of O₂ homeostasis by hypoxia-inducible factor 1 alpha [J]. Genes Dev, 1998, 12(2): 149 - 162.

14 Ceradini DJ, Kulkarni AR, Callaghan MJ, et al. Progenitor cell trafficking is regulated by hypoxic gradients through HIF-1 induction of SDF-1 [J]. Nat Med, 2004, 10(8): 858 - 864.

[收稿日期 2009 - 07 - 13][本文编辑 韦挥德 刘京虹]

论 著

温和灸在预防化疗消化道反应的疗效评价

黄乔统

基金项目: 广西壮族自治区卫生厅计划课题(合同号: Z2008172)

作者单位: 530023 南宁, 广西中医学院第一附属医院肿瘤血液科

作者简介: 黄乔统(1965 -), 女, 大学本科, 主管护师, 研究方向: 肿瘤、血液病临床护理。E-mail: hzqyty22@yhaoo.cn

[摘要] 目的 比较恩丹西酮、恩丹西酮 + 奥美拉唑、恩丹西酮 + 温和灸三种止吐方案预防化疗消化道反应的疗效。方法 以顺铂为主化疗的患者 90 例, 随机分成三组, 每组 30 例, 分别使用上述止吐方案, 观察其预防化疗消化道反应的效果。结果 对于呕吐, 单用恩丹西酮、恩丹西酮 + 奥美拉唑、恩丹西酮 + 温和灸三个方案的有效率相近, 分别为 80%、87%、90%; 对于恶心, 三个方案的有效率分别为 63%、80%、90%, 差别具有统计学显著意义($\chi^2 = 6.3, P < 0.05$); 对于食欲不振, 三个方案的有效率分别为 17%、53%、80%, 有显著差异($\chi^2 = 24.27, P < 0.005$)。结论 单独使用恩丹西酮不足以完全预防化疗引起的消化道反应, 加用奥美拉唑后效果有所提高, 恩丹西酮 + 温和灸效果最好, 特别是预防化疗恶心和食欲不振明显优于单用恩丹西酮或恩丹西酮 + 奥美拉唑。

[关键词] 化疗; 恶心呕吐; 食欲不振; 恩丹西酮; 奥美拉唑; 温和灸

[中图分类号] R 730.54 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674 - 3806(2009)11 - 1134 - 03

doi: 10.3969/j.issn.1674 - 3806.2009.11.06

Mild moxibustion in the prevention of chemotherapy induced gastrointestinal reactions HUANG Qiao-tong.
Department of Cancer Hematology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical College, Nanning 530023, China

[Abstract] **Objective** To compare the antiemetic efficacy of ondansetron, ondansetron combined omeprazole, ondansetron combined mild moxibustion, three kinds of programs to prevent chemotherapy induced gastrointestinal reactions. **Methods** Ninety patients treated with cis-platinum-based chemotherapy were randomly divided into three groups of 30 cases, respectively. These programs were used to observe the effect of prevention of chemotherapy induced digestive tract reaction. **Results** For vomiting, three programs' efficiency were similar, respectively,