临床研究 文章编号：0253-3626（2011）04-0487-03

口腔扁平苔藓组织微血管密度的分析研究

萧智利，吴树洪，向学熔，黄 姣
（重庆医科大学附属口腔医院牙周黏膜科，重庆 400015）

【摘 要】目的：测定正常颊黏膜组织、糜烂型及非糜烂型口腔扁平苔藓（Oral lichen planus，OLP）组织和颊癌组织的微血管密度（Microvessel density，MVD），观察其 MVD 的变化，为进一步探讨 OLP 的发病机理及治疗方法提供参考。方法：选择 2008 年 12 月至 2010 年 3 月在重庆医科大学附属口腔医院就诊的初诊患者共 40 例，包括 10 例糜烂型 OLP，10 例非糜烂型 OLP 和 10 例颊癌，收集 10 例颊部外伤创面组织作为正常人颊黏膜标本。组织切片采用 CD34 标记血管内皮细胞，S-P 免疫组化染色，光学显微镜下测定 MVD，用 SPSS 软件对数据进行统计学分析。结果：颊癌、糜烂型 OLP、非糜烂型 OLP、正常颊黏膜的 MVD 分别为：36.825 0±7.048 5、27.700 0±6.183 3、16.600 0±5.111 5、7.350 0±1.472 9，经秩和检验分析，糜烂型 OLP 与正常对照组之间、颊癌与正常组织之间、颊癌与非糜烂型 OLP 之间的 MVD 差异有统计学意义（$P<0.05$）。结论：糜烂型 OLP 及颊癌较正常颊黏膜组织 MVD 明显增高；糜烂型与非糜烂型 OLP 的 MVD 差异无统计学意义；MVD 与 OLP 组织的病变程度有明显相关性，可以考虑将 MVD 作为 OLP 治疗转归、癌变发展的评价指标。

【关键词】口腔扁平苔藓；微血管密度；CD34；发病机理
【中国图书分类法分类号】R781.5 【文献标志码】A 【收稿日期】2010-07-12

An analytical study of microvessel density in oral lichen planus

XIAO Zhi-li, et al
(*Deptartment of Periodontics and Oral Mucosal Diseases, the Affiliated Stomatologic Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To detect the microvessel density (MVD) in tissue of normal buccal mucosa, erosive and non-erosive oral lichen planus and buccal cancer; to observe the microvessel density changes in order to further explore the pathogenesis of oral lichen planus and provide reference treatment. *Methods*: A total of 40 cases of newly diagnosed patients were selected from December 2008 to March 2010 in the affiliated hospital of stomatology, Chongqing medical university, including 10 cases of erosive OLP, 10 cases of non-erosive OLP and 10 cases of buccal cancer, and 10 cases of buccal injury wound tissue collected as a normal buccal mucosa specimens. Tissue sections were performed by using vascular endothelial cell markers CD34, S-P immunohistochemistry. The microvessel density was measured under the optical microscope, with SPSS software for statistical analysis. *Results*: The MVD data for buccal cancer, erosive OLP, non-erosive OLP, and normal buccal mucosa were 36.825 0±7.048 5, 27.700 0±6.183 3, 16.600 0±5.111 5, and 7.350 0±1.472 9 respectively; by rank sum test, the difference of MVD between the erosive OLP and normal buccal mucosa, buccal cancer and normal buccal mucosa, buccal cancer and non-erosive OLP groups had statistical significance ($P<0.05$). *Conclusion*: The MVD of erosive OLP and buccal cancer is much higher than that of normal oral buccal mucosa; there's no significant difference in MVD between the erosive and non-erosive OLP; the microvessel density and the severity of OLP tissue are significantly correlated, which could be considered as an evaluating index for the treatment and prognosis of OLP, as well as the development of cancer.

【Key words】oral lichen planus; microvessel density; CD34; pathogenesis

口腔扁平苔藓（Oral lichen planus，OLP）是一种较常见的口腔黏膜慢性非特异性炎症，世界卫生组织（WHO）将其归为癌前病变[1]，说明其具有发展为癌症的危险性。目前，OLP 的病因与发病机制尚不明确，因此至今没有令人满意的治疗方法。越来越多的研究证实，人类各种肿瘤组织的微血管密度（Microvessel density，MVD）均与肿瘤病变的进展程度密切相关[2]。OLP 作为一种癌前病变，与正常组织相比，尚不明确是否存在 MVD 有意义的变化。因此本文测定了糜烂型及非糜烂型 OLP 组织的 MVD，与正常颊黏膜组织和颊癌组织进行比较，观察其 MVD 的变化，为进一步探讨 OLP 的发病机理及治疗方法提供参考。

作者介绍：萧智利（1979-），女，硕士，主治医师，研究方向：口腔黏膜病学。
通信作者：向学熔，女，副教授，Email：cqzxfxp@sina.com。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选择 2008 年 12 月至 2010 年 3 月在重庆医科大学附属口腔医院牙周黏膜科及颌面外科就诊，经临床与病理检查确诊的患者 30 例，其中 10 例糜烂型 OLP 患者，10 例非糜烂型 OLP 患者和 10 例颊黏膜鳞状细胞癌患者，收集其口腔黏膜损害标本。另外收集 10 例颊部外伤创面组织作为正常人颊黏膜标本。40 例患者均无全身系统性疾病，近 3 个月内未接受过药物治疗，各组年龄、性别情况见表 1，且各组间年龄、性别差异无统计学差异。

1.2 研究方法

1.2.1 免疫组化染色　石蜡标本常规切片，厚 4~6 μm，脱蜡后抗原修复，CD34（ZM-0046，浓度为 1:70）单克隆抗体进行血管内皮细胞标记，滴加生物素化二抗工作液（SP-9001），DAB 显色剂显色。CD34 及 DAB 显色试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.2.2 MVD 测定　在低倍显微镜下（×40 和×100）观察每张切片微血管染色分布，确定最高微血管染色区域。每张组织切片选择最高微血管染色区域 1 个，然后在高倍镜下（×200）进行计数，将 CD34 阳性细胞形成的管腔确定为微血管，测定微血管数。计数由 2 名病理科医师采用双盲法完成。

1.3 统计学处理

用 SPSS 软件对数据进行统计学分析，计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示，4 组间 MVD 比较因方差不齐，采用 Kruskal-Wallis 秩和检验法；组间两两比较采用 Nemenyi 法，$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结　果

2.1 免疫组化染色结果

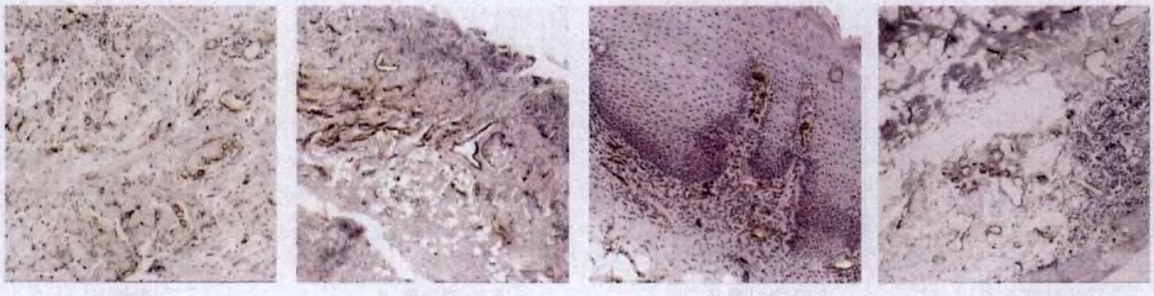
血管内皮细胞 CD34 染色阳性，微血管呈棕黄色至棕褐色，深染。高倍显微镜下（×200）观察，口腔鳞状细胞癌病变组织（图 1A）内微血管较密集；糜烂型 OLP 病变组织（图 1B）可以看到明显的血管增生集聚，微血管管腔有扩张，微血管密集程度与鳞癌相近；非糜烂型 OLP（图 1C）和正常的口腔颊黏膜（图 1D）镜下均显示微血管散在分布，较为稀疏。

2.2 MVD 度测量结果

4 个观察组的微血管计数情况见表 1。4 个观察组的 MVD 由小到大依次为：正常组、非糜烂型 OLP 组、糜烂型OLP 组、鳞癌组。各组测量结果经 Kruskal-Wallis 秩和检验法统计分析显示，4 个观察组微血管数目总体上差异有统计学意义。4 个观察组间 MVD 两两比较采用 Nemenyi 法检验（表 2），结果显示糜烂型 OLP 与正常对照组之间、颊癌与正常组织之间、颊癌与非糜烂型 OLP 之间的 MVD 差异有统计学意义。

表 1　4 个观察组的基本情况及 MVD 测定结果

分　组	例数（男/女）	年龄（$\bar{x} \pm s$）	微血管数（$\bar{x} \pm s$）	秩和检验（K-W 检验）
正常组	4/6	46.900 0 ± 9.048 6	7.350 0 ± 1.472 9	
非糜烂性 OLP 组	4/6	46.900 0 ± 9.456 9	16.600 0 ± 5.111 5	χ^2=32.848 2，
糜烂性 OLP 组	4/6	46.700 0 ± 5.831 9	27.700 0 ± 6.183 3	P<0.000 1
鳞癌组	4/6	46.600 0 ± 12.694 7	36.825 0 ± 7.048 5	



A. 颊癌　　B. 糜烂性 OLP　　C. 非糜烂性 OLP　　D. 正常颊黏膜

图 1　4 个观察组微血管染色情况（CD34 标记，S-P 免疫组化法染色，×200）

表 2　4 个观察组间 MVD 的两两比较

分　组	χ^2	P值
糜烂组 - 非糜烂组	3.770 9	0.151 762
糜烂组 - 正常对照	16.218 7	0.000 301
糜烂组 - 颊癌对照	1.793 5	0.407 888
非糜烂组 - 正常对照	4.348 7	0.113 679
非糜烂组 - 颊癌对照	10.765 6	0.004 595
正常对照 - 颊癌对照	28.799 0	0.000 001

3 讨 论

血管生成现象被认为是许多生理和病理过程的基础，是一个非常复杂、敏感、精细而又活跃的过程[3,4]，受到多种细胞的调控和影响。当组织缺血或缺氧时，这些细胞被激活和释放出细胞因子来调控血管生成[5-7]。这些细胞因子根据作用不同可分为正性和负性调控因子。当血管生成正性调控因子高表达或血管生成负性调控因子低表达时，局部组织的血管发生病理性过度生成，从而促进疾病的发生发展[8]。许多研究都已表明血管生成对肿瘤生长和转移影响的重要性，MVD 的高低与肿瘤的恶性程度具有明显的相关性[9]。

目前已有研究证实了 OLP 的恶变病例中也存在着血管生成现象的异常[10]，但这些研究均是以恶变组织为研究对象观察血管生成现象的，尚未从 OLP 的发生发展及转化角度证实血管生成现象的变化。因此，本研究纳入了未发生恶变的OLP 组织为对象，以 CD34 为血管内皮细胞的标记物，测量其MVD，是对 OLP 血管生成现象是否存在及存在何种变化的直接评价。

本研究结果发现 4 个观察组的 MVD 由小到大依次为正常组、非糜烂型 OLP 组、糜烂型 OLP 组、鳞癌组。糜烂型与非糜烂型 OLP 之间，糜烂型 OLP 与颊癌之间，非糜烂型 OLP 与正常对照之间的 MVD 差异无统计学意义。而糜烂型 OLP 与正常对照组之间，颊癌与正常组织之间，颊癌与非糜烂型OLP 之间的 MVD 差异有统计学意义。说明 MVD 与组织的病变程度有明显相关性，这与以往的研究存在一致性。Johnstone S 等[11]的研究发现，从正常口腔黏膜向增殖性口腔黏膜病过渡的过程中，血管新生也明显增加。在多项关于血管内皮生长因子的研究中，均发现其在 OLP 上皮细胞中的表达增高[12]。MVD 的增高可能为 OLP 的癌变提供条件。有研究表明糜烂型较非糜烂型 OLP 的癌变几率更大[13]，但也有相反的观点认为 OLP 癌变与病损类型无明显相关性[14]。OLP 作为一种癌前病变，具有肿瘤的一些组织病理学特征，如上皮组织的异常增生[15]，其病因与肿瘤有相似之处，如心理因素、激素、感染、损伤、遗传、免疫等，其发病机理可能与肿瘤也有相似之处。但 MVD 的增加是否一定会增加其癌变风险尚值得进一步探讨。此外，针对 OLP 组织 MVD 明显增加的现象，今后可考虑将抗血管生成的方法用于 OLP 的治疗。

综上所述，糜烂型 OLP 及颊癌较正常颊黏膜组织 MVD 明显增高，糜烂型与非糜烂型 OLP 的 MVD 无明显差异。MVD 与 OLP 组织的病变程度有明显相关性。可以考虑将 MVD 作为 OLP 治疗转归、癌变发展的评价指标。

参 考 文 献

[1] Kramer I R, Lucas R B, Pindborg J J, et al. Definition of leukoplakia and related lesions: an aid to studies on oral precancer[J]. Oral Surg Oral Med Oral Pathol, 1978, 46(4): 518-539.

[2] 蔡惠芳，沈钧康，曹 益. 胃癌组织微血管密度和 VEGF 表达的关系及其临床意义[J]. 中国血液流变学杂志，2006，16(4)：596-598.

[3] van Beijnum J R, Fan T P, Griffioen A W. Eur (omega) conference Angiogenesis Ⅱ[J]. Angiogenesis, 2003, 6(3): 159-164.

[4] Tao X, Huang Y, Li R, et al. Assessment of local angiogenesis and vascular endothelial growth factor in the patients with atrophic-erosive and reticular oral lichen planus[J]. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2007, 103(5): 661-669.

[5] Pettersson A, Nagy J A, Brown L F, et al. Heterogeneity of the angiogenic response induced in different normal adult tissues by vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor[J]. Lab Invest, 2000, 80(1): 99-115.

[6] Scardina G A, Ruggieri A, Messina P, et al. Angiogenesis of oral lichen planus: a possible pathogenetic mechanism[J]. Med Oral Patol Oral Cir Bucal, 2009, 14(11): 558-562.

[7] Scardina G A, Picone V, Cacioppo A, et al. Study of microcirculation in oral lichen planus by video-capillaroscopy[J]. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2007, 103(4): 30-34.

[8] Keane M P, Strieter R M, Lynch J P, et al. Inflammation and angiogenesis in fibrotic lung disease[J]. Semin Respir Crit Care Med, 2006, 27(6): 589-599.

[9] Weidner N. Tumoural vascularity as a prognostic factor in cancer patients: the evidence continues to grow[J]. J Pathol, 1998, 184(2): 119-122.

[10] Jin Y, Tipoe G L, White F H, et al. A quantitative investigation of immunocytochemically stained blood vessels in normal, benign, premalignant and malignant human oral cheek epithelium[J]. Virchows Arch, 1995, 427(2): 145-151.

[11] Johnstone S, Logan R M. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) in normal oral mucosa, oral dysplasia and oral squamous cell carcinoma[J]. Int J Oral Maxillofac Surg, 2007, 36(3): 263-266.

[12] 张古泉，龙跃州，邢在臣，等. 血管内皮生长因子在口腔扁平苔癣上皮细胞中的表达[J]. 中国组织工程研究与临床康复，2007，11(32)：6447-6449

[13] 陈作良，陈宏柏. 口腔扁平苔藓癌变的临床研究[J]. 临床口腔医学杂志，2000，16(1)：52-53.

[14] 张 虹，宋晓晶，李松岩，等. 口腔扁平苔藓癌变的临床研究（附 9 例报告）[J]. 临床口腔医学杂志，2008，24(3)：561-563.

[15] 于世凤，高 岩. 口腔组织学与病理学[M]. 第 1 版. 北京：北京大学出版社，2005. 164-165.

（责任编辑：冉明会）