

# VEGF-D 和 COX-2 在口腔颌面部淋巴管畸形中的表达及意义

于桐 李重阳 刘维贤

中国医科大学附属盛京医院, 辽宁 沈阳 110004

**摘要:** 目的: 探究血管内皮生长因子-D 和环氧化酶-2 在口腔颌面部淋巴管畸形中的表达及临床意义。方法: 收集 2008 年 2 月~2016 年 6 月于中国医科大学附属盛京医院口腔颌面部手术切除且资料较为完整的口腔颌面部 LM 石蜡标本 40 例及正常淋巴组织 10 例。应用免疫组化 SP 法检测其中 VEGF-D 和 COX-2 的表达情况。在口腔颌面部 LM 和正常淋巴组织中 VEGF-D 和 COX-2 蛋白的表达差异采用卡方检验进行分析, VEGF-D 及 COX-2 在淋巴管畸形中的相关性采用 Spearman 相关进行分析。结果: VEGF-D 在 LM 和正常淋巴组织中的阳性表达率分别为 85.0%(34/40)和 30.0%(3/10), COX-2 在 LM 和正常淋巴组织中阳性表达率分别为 67.5%(27/40)和 20.0%(2/10)。VEGF-D 和 COX-2 在 LM 和正常淋巴组织中的表达差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。在 LM 中, VEGF-D 和 COX-2 的表达呈正相关( $P < 0.05$ )。结论: 在口腔颌面部 LM 的发生发展过程中, VEGF-D 和 COX-2 发挥了一定作用, 可作为 LM 病因学研究的指标之一。

**关键词:** 血管内皮生长因子-D; 环氧化酶-2; 口腔颌面部淋巴管畸形; 免疫组织化学

淋巴管畸形是人体淋巴系统的发育障碍所致的脉管病变, 多为良性<sup>[1]</sup>。可发生于任何年龄, 多在 2 岁前发病<sup>[2]</sup>, 发病率为 1/4000~1/2000, 尚未发现在种族及性别方面的差异。头颈部的 LM 约占全身 LM 病变的 90%, 该现象可能与人类头颈部含丰富的淋巴管系统有关。其临床症状与病变的深度、大小范围及周围的组织或器官影响的程度密切相关。LM 大多生长较为缓慢, 自然消退较少, 一旦受到创伤、感染、或者囊内破裂出血时常在短期内迅速增大。

## 1 资料与方法

实验组为 2008 年 2 月~2016 年 6 月于中国医科大学附属盛京医院口腔颌面部手术切除且资料较完整的口腔颌面部 LM 石蜡标本 40 例, 进行免疫组化检测, 且研究对象术前均未进行过任何治疗。对照组为口腔颌面部正常淋巴组织 10 例, 经中性福尔马林溶液固定, 脱水后进行石蜡包埋, 做厚度为 4  $\mu\text{m}$  的连续切片。

## 2 方法

### 2.1 实验试剂与耗材

兔抗人 VEGF-D 单克隆抗体 (工作浓度 1: 400)

兔抗人 COX-2 单克隆抗体 (工作浓度 1: 100)

(一抗均购自武汉三鹰生物技术有限公司)

(1) 兔 SP 试剂盒 (2) DAB 显色试剂盒 (3) 磷酸盐缓冲液 (PBS) (4) 中性树脂

### 2.2 主要实验仪器与设备

精密天平, 纯水系统, 微波炉, 摇床, 冰箱, 光学显微镜, 显微照相仪。

### 2.3 实验方法

1) 切片脱蜡至水, 高温高压修复 10min 后, 自然冷却至室温; 2) PBS 冲洗三次, 每次 5min; 3) 滴加内源性过氧化物酶阻断剂, 室温下于保湿盒内孵育 20min; 4) PBS 冲洗三次, 每次 5min; 5) 滴加封闭用正常山羊血清工作液, 室温下于保湿盒内孵育 20min 后倾去; 6) 滴加一抗, 4℃冷房孵育过夜; 7) 室温下复温 30min, PBS 冲洗三次, 每次 5min; 8) 滴加生物素标记山羊抗兔 IgG 聚合物, 室温下于保湿盒内孵育 20min; 9) PBS 冲洗三次, 每次 5min; 10) 滴加辣根酶标记链霉卵白素工作液, 室温下于保湿盒内孵育 20min; 11) PBS 冲洗三次, 每次 5min; 12) 滴加 DAB 溶液, 于镜下控制显色时间; 13) 复染、脱水、中性树脂封片; 14) 镜下观察结果。

### 2.4 结果判断

组织切片中染色区主要为细胞膜或细胞浆, 染色呈淡黄至棕黄色为阳性表达。根据切片显色的强度及显色细胞百分比进行评分。先于低倍显微镜下 ( $\times 100$ ) 观察组织切片, 确定淋巴管高密度区域, 然后在高倍显微镜下随机计数 5 个视野, 其平均值则为该切片的百分率。根据显色细胞占计数细胞的百分率记 0~4 分: 百分率  $\geq 76\%$  标记 4 分, 51%~75% 标记 3 分, 26%~50% 标记 2 分, 6%~25% 为标记 1 分,  $\leq 5\%$

标记 0 分。根据细胞显色强度记 0~3 分: 强阳性, 棕褐色 (3 分); 阳性, 棕黄色 (2 分); 弱阳性, 浅棕色 (1 分); 阴性, 不着色 (0 分)。两者相乘, 为其最后得分: 2~12 分为阳性 (+); 0~1 分为阴性 (-)。

## 2.5 统计学处理

应用 SPSS20.0 统计软件系统处理数据。VEGF-D 和 COX-2 分别在口腔颌面部 LM 和正常淋巴组织中的表达差异应用卡方检验进行分析; VEGF-D 和 COX-2 在口腔颌面部 LM 中的相关性采用 Spearman 相关进行分析,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 研究对象的基本情况

在 40 例口腔颌面部 LM 患者中, 年龄为 46 天~64 岁, 中位年龄 3.50 岁, 平均年龄 10.67 岁。男性 28 例, 女性 12 例。患病部位: 唇舌部 4 例、颊部 8 例、耳颞部 2 例、腮腺区 8 例、颌下及颌下区 5 例、颈部 13 例。(见表 1)

临床病理参数	分组	例数
年龄	$\leq 3.50$	20
	3.50-10.67	8
	$> 10.67$	12
性别	男	28
	女	12
部位	唇舌部	4
	颊部	8
	耳颞部	2
	腮腺区	8
	颌下及颌下区	5
	颈部	13

### 3.2 实验结果

VEGF-D 在 LM 和口腔颌面部正常淋巴组织中的表达分别如图 1、2。VEGF-D 蛋白在 LM 中的阳性表达主要位于细胞浆及细胞膜, 呈棕黄色颗粒, 弥散分布。VEGF-D 蛋白在口腔颌面部正常淋巴组织中表达弱。COX-2 蛋白在 LM 中的阳性表达主要位于细胞膜, 呈棕黄色颗粒。COX-2 蛋白在口腔颌面部正常淋巴组织中表达弱。

### 3.3 数据整理及统计分析

表 2 为 40 例口腔颌面部 LM 和 10 例正常淋巴组织中 VEGF-D 和 COX-2 的检测情况。口腔颌面部 LM 标本中 VEGF-D 和 COX-2 的阳性表达率分别为 85.0%、67.5%。正常淋巴组织中 VEGF-D 和 COX-2 的阳性表达很弱。VEGF-D 和 COX-2 在口腔颌面部 LM 与正常淋巴组织之间的表达差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

表2 口腔颌面部淋巴管畸形和正常淋巴组织中 VEGF-D、COX-2 的表达

组别	例数	VEGF-D		$\chi^2$	P	COX-2		$\chi^2$	P
		+	-			+	-		
淋巴管组织	40	34	6	12.578	<0.05	27	13	7.410	<0.05
正常淋巴组织	10	3	7			2	8		

在口腔颌面部 LM 中 COX-2 的阳性表达和 VEGF-D 阳性表达之间有显著相关性 ( $P < 0.05$ )。将口腔颌面部 LM 组织 VEGF-D 与 COX-2 进行相关性分析, VEGF-D 与 COX-2 之间呈正相关,  $r=0.4024$  (见表3)。

表3 口腔颌面部淋巴管畸形中 COX-2 的表达和 VEGF-D 表达的关系

COX-2	例数	VEGF-D		P
		+	-	
+	27	26	1	<0.05
-	13	8	5	

**4 讨论**

淋巴管畸形的发病原因尚不明确, 现多数人认为是先天发育的畸形或某些原因导致病变区域的淋巴液无法正常排出, 该部位淋巴液滞留、淋巴管出现程度不等的扩张及增生。

本实验的 VEGF-D 在 40 例淋巴管畸形病例中, 有 34 例呈阳性表达, 阳性率是 85.0%。而 VEGF-D 在正常淋巴组织中仅有 3 例为阳性表达, 阳性率为 30.0%。两者之间的差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。口腔颌面部 LM 的发生或发展过程可能与 VEGF-D 呈高表达有关。

本实验中 COX-2 在 40 例 LM 病例中, 有 27 例为阳性表达, 阳性率是 67.5%。COX-2 在正常组织中有 2 例为阳性, 阳性率是 20.0%, 经分析, 两者之间的差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。本研究结果显示, 口腔颌面部 LM 发生发展的过程可能与 COX-2 的高表达有关。

**5 结论**

在口腔颌面部 LM 的发生发展过程中, VEGF-D 和 COX-2 发挥了一定作用, 可作为 LM 病因学研究的指标之一。

**参考文献**

[1]Sun RW, Tuchin VV, Zharov VP, et al. Current status, pitfalls and future directions in the diagnosis and therapy of lymphatic malformation[J]. Journal of Biophotonics, 2018, 11(8):124.  
 [2]中华医学会整形外科学分会血管瘤和脉管畸形学组. 血管瘤和脉管畸形诊断和治疗指南(2016版)[J]. 组织工程与重建外科杂志, 2016, 12(2):63-97.  
 [3]and treatment: Clinical study of 23 cases[J]. Eur Ann Otorhinolaryngol Head Neck Dis, 2016, 133(6):393-396.