

慢性肥厚性喉炎中医证候与 iNOS 及 VEGF 表达的相关性研究*

陶波 谢强

(江西中医药大学附属医院 南昌 330006)

摘要:目的:从基因蛋白表达层次探索慢性肥厚性喉炎中医证候本质与诱导型一氧化氮合酶(iNOS)和血管内皮生长因子(VEGF)表达的相关性,确定慢性肥厚性喉炎的基本中医证型。方法:选取慢性肥厚性喉炎血瘀型和痰湿型患者各 20 例分别设为血瘀组和痰湿组,另取喉癌蜡块标本 20 例作为喉癌组;三组标本进行 iNOS 和 VEGF 表达检测,同时血瘀组和喉癌组进行 iNOS 和 VEGF 阳性反应强度定量;血瘀组和痰湿组行血液流变学检测。结果:喉癌组的 iNOS 和 VEGF 的阳性表达率分别为 100.0%和 90.0%,血瘀组的 iNOS 和 VEGF 的阳性表达率分别为 80.0%和 60.0%,痰湿组的 iNOS 和 VEGF 的阳性表达率分别为 30.0%和 30.0%,三组 VEGF 和 iNOS 的表达差异具有显著性, $P<0.05$;iNOS 和 VEGF 的表达与血液流变学指标密切相关, $P<0.01$;iNOS 的表达与 VEGF 的表达呈正相关, $P<0.05$ 。结论:iNOS 和 VEGF 可作为评价慢性肥厚性喉炎病情和预测其恶变的指标,血瘀证为慢性肥厚性喉炎的基本中医证型。

关键词:慢性肥厚性喉炎;血瘀证;诱导型一氧化氮合酶;血管内皮生长因子

中图分类号:R767.11

文献标识码:B

doi:10.13638/j.issn.1671-4040.2015.09.020

慢性肥厚性喉炎(Chronic Hypertrophic Laryngitis)为喉黏膜的弥漫性或局限性炎性增生肥厚,又称慢性增生性喉炎,是耳鼻咽喉科常见病和多发病,为喉癌前病变(Laryngeal Precancerosis)的一种。该病病程长,声音嘶哑重,中西医保守治疗疗效不明显,预后不确切,严重影响患者的工作与生活,随着社会交往的频繁和生活节奏的加快,其发病率有所提高。本研究从分子水平上检测与慢性肥厚性喉炎中医血瘀证密切相关的微观指标,确定其基本中医证型。现报告如下:

1 资料与试剂

1.1 一般资料 选取符合慢性肥厚性喉炎血瘀型和痰湿型患者各 20 例,病理石蜡标本分别设为血瘀组合痰湿组,另取我院病理科存档的喉癌标本 20 例作为喉癌组。中医证候诊断标准参照国家中医药管理局发布的《中医辨证诊断治疗标准》,西医诊断标准参照《实用耳鼻咽喉科学》^[1]。

1.2 试剂 即用型鼠抗人单克隆 VEGF 抗体,3 ml (编号 MAB-0243,福州迈新生物技术开发有限公司);兔抗人多克隆 iNOS 抗体,工作浓度:50~200;0.1 ml 免疫组化试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司);即用型第二代免疫组化广谱试剂盒(编号 KIT-9901,福州迈新生物技术开发有限公司);EDTA 组织抗原修复液(编号 MVS-0098,福州迈新生物技术开发有限公司);DAB 显色试剂盒(福州迈新生物技术开发有限公司)。

2 方法

2.1 实验方法 电子喉镜下钳取血瘀型和痰湿型慢性肥厚性喉炎标本各 20 例,采用 10%甲醛固定,

常规石蜡包埋,另取病理科存档喉癌石蜡标本 20 例,将修整后的蜡块以 4 μ m 厚连续切片,制成石蜡切片,用于 SP 法(链霉卵白素-过氧化物酶联结法)免疫组化染色。采用免疫组化二步染色法。同时血瘀组和喉癌组喉组织标本进行 iNOS 和 VEGF 阳性反应强度定量,血瘀组和痰湿组患者进行血液流变学检测。

2.2 结果判断 iNOS 和 VEGF 均为细胞浆着色,细胞内出现棕黄色颗粒为阳性,选择每张切片组织和细胞形态保持完整的组织区域进行免疫组化染色判断。在 400 倍显微镜下每张切片观察 5 个视野,每个视野分别计算总细胞数及 iNOS、VECF 阳性的细胞数,并用图像分析法对 iNOS 及 VEGF 的表达进行阳性反应强度定量。

2.3 统计学数据处理与分析 采用计算机统计软件分析,计数资料组间比较采用 χ^2 检验。各组计量资料的比较采用 F 检验,方差不齐采用秩和检验,检验水平 $\alpha=0.05$ 。比较血瘀组甲皱微循环、血液流变学与 iNOS 及 VEGF 表达的关系,采用多元相关、Logistic 回归等分析。

3 结果

3.1 iNOS 在痰湿组、血瘀组及喉癌组中的表达 经统计学处理, $\chi^2=12.381, P=0.02<0.05$,表明痰湿组、血瘀组及喉癌组中 iNOS 的阳性表达率有显著性差异,其阳性率分别为 30.0%、80.0%和 100.0%,且呈平行递增关系。见表 1。

表 1 三组 iNOS 阳性表达率比较[例(%)]

组别	n	阳性	阴性
痰湿组	20	6(30.0)	14(70.0)
血瘀组	20	16(80.0)	4(20.0)
喉癌组	20	20(100.0)	0(0.0)

* 基金项目:江西省教育厅科学技术研究项目(编号:GJJ08336);

江西省卫生厅中医药科研基金项目(编号:2007A100)

3.2 VEGF 在痰湿组、血瘀组及喉癌组中的表达经统计学处理, $\chi^2=7.500, P=0.024 < 0.05$, 表明痰湿组、血瘀组及喉癌组中 VEGF 的阳性表达率有显著性差异, 其阳性率分别为 30.0%、60.0%和 90.0%, 呈平行递增关系。见表 2。

表 2 三组 VEGF 阳性表达率比较[例(%)]

组别	n	阳性	阴性
痰湿组	20	6(30.0)	14(70.0)
血瘀组	20	12(60.0)	8(40.0)
喉癌组	20	18(90.0)	2(10.0)

3.3 痰湿组、血瘀组及喉癌组 iNOS 表达反应程度比较 经秩和检验, $P=0.018 < 0.05$, 表明痰湿组、血瘀组及喉癌组中 iNOS 的阳性表达反应程度有显著性差异。见表 3。

表 3 三组 iNOS 表达反应程度比较[例(%)]

组别	n	-	+	++
痰湿组	20	14(70.0)	4(20.0)	2(10.0)
血瘀组	20	4(20.0)	10(50.0)	6(30.0)
喉癌组	20	0(0.0)	6(30.0)	14(70.0)

3.4 痰湿组、血瘀组及喉癌组 VEGF 表达反应程度比较 经秩和检验, $P=0.024 < 0.05$, 表明痰湿组、血

瘀组及喉癌组中 VEGF 的阳性表达反应程度有显著性差异。见表 4。

表 4 三组 VEGF 表达反应程度比较[例(%)]

组别	n	-	+	++
痰湿组	20	14(70.0)	4(20.0)	2(10.0)
血瘀组	20	8(40.0)	4(20.0)	8(40.0)
喉癌组	20	2(10.0)	4(20.0)	14(70.0)

3.5 iNOS 和 VEGF 在痰湿组、血瘀组和喉癌组中表达的相关性分析 经 Spearman 等级相关分析, $P < 0.05$, 表明 iNOS 和 VEGF 在痰湿组、血瘀组及喉癌组中的表达呈正相关。见表 5。

表 5 iNOS 和 VEGF 在痰湿组、血瘀组和喉癌组中表达的相关性分析

指标	VEGF		
	痰湿组	血瘀组	喉癌组
iNOS	0.418	0.703	0.593
P	<0.05	<0.05	<0.05

3.6 痰湿组和血瘀组血液流变学指标分析 经统计学分析, 痰湿组和血瘀组的血液流变学指标差异显著, $P < 0.01$; 血瘀组各项指标明显增高, 且均高于正常值, 血瘀与血液流变学之间有着内在联系, 血液流变学所表现出的浓、黏、聚状态是血瘀证本质的客观反映。见表 6。

表 6 两组患者血液流变学检测情况($\bar{x} \pm s$)

组别	n	低切(mPa·s)	中切(mPa·s)	高切(mPa·s)	血浆黏度(mPa·s)	红细胞压积(%)
痰湿组	20	8.843 0± 1.408 2	4.795 0± 0.542 8	3.709 0± 0.375 7	1.408 0± 0.084 4	40.400 0± 5.660 8
血瘀组	20	11.163 0± 0.951 8*	5.855 0± 0.263 9*	4.589 0± 0.311 0*	1.537 0± 0.054 0*	47.980 0± 3.215 5*

注:与痰湿组比较, * $P < 0.01$ 。

3.7 血瘀组 iNOS 和 VEGF 表达与血液流变学指标的关系 结果显示: iNOS 和 VEGF 的阳性与阴性表达与血液流变学指标的差异具有显著性, $P <$

0.01, 阳性表达的血液流变学各项指标明显高于阴性表达。见表 7。

表 7 血瘀组 iNOS 和 VEGF 的表达与血液流变学指标的关系($\bar{x} \pm s$)

项目	iNOS(n=20)		VEGF(n=20)	
	阴性	阳性	阴性	阳性
低切(mPa·s)	8.161 7± 0.781 6	10.792 1± 1.264 0*	8.338 0± 0.728 2	10.558 0± 1.519 2*
中切(mPa·s)	4.576 7± 0.333 8	5.645 7± 0.521 8*	4.614 0± 0.358 9	5.562 0± 0.5983 0*
高切(mPa·s)	3.560 0± 0.284 0	4.401 4± 0.450 3*	3.582 0± 0.311 8	4.338 0± 0.498 6*
血浆黏度(mPa·s)	1.350 0± 0.045 1	1.525 0± 0.051 7*	1.362 0± 0.038 3	1.509 3± 0.078 5*
红细胞压积(%)	37.333 3± 4.546 1	47.128 6± 3.534 8*	37.600 0± 5.029 9	46.386 7± 4.456 3*

注:与阴性组比较, * $P < 0.01$ 。

4 讨论

目前, 中医对慢性肥厚性喉炎病因病机的论述甚多, 但无论病因如何, 最终发病的病机均为气滞血瘀痰凝。慢性肥厚性喉炎的喉局部表现为黏膜充血暗红肥厚、增生隆起, 与中医学的血瘀证相一致, 微循环障碍为其最基本的病理改变。免疫组织化学(Immunohistochemistry) 是利用抗原与抗体特异性结合的原理和特殊的标记技术, 对组织和细胞内的

特定抗原或抗体进行定位、定性或定量检测的一门技术。免疫组化技术以其特异性强、敏感度高、操作简便并且能将形态学改变与功能和代谢结合起来等优点, 得到了广泛的推广和应用。

本研究结果显示痰湿组、血瘀组和喉癌组 VEGF 和 iNOS 均呈不同程度的阳性表达, 三组的 VEGF 和 iNOS 表达差异具有显著性, 其中喉癌组的阳性表达率最高。iNOS 和 VEGF 的表达与血液

流变学指标密切相关,据此我们可认为血瘀证为喉癌前病变的基本中医证型。VEGF 和 iNOS 的表达呈正相关,因此,我们认为在慢性肥厚性喉炎及喉癌的血管生成中,VEGF 和 iNOS 两者相互作用,不断地促进血管新生,在喉癌的发生发展中起着重要的作用。许传杰等^[2]也通过研究证实,iNOS 在喉鳞状细胞癌中表达增高可能与血管形成有关。VEGF 在体外可促进内皮细胞的生长,在体内可诱导血管发生^[3-4]。iNOS 和 VEGF 的表达可作为评价慢性肥厚性喉炎病情、预测其恶变风险的指标。因此,应重视 iNOS 和 VEGF 在血瘀型慢性肥厚性喉炎中的较高表达,提示部分细胞有恶变转化,极易发生癌变,在病理组织学诊断前较早地提示慢性肥厚性喉炎恶变的可能。

活血化瘀治疗慢性肥厚性喉炎有一定的防癌抗变疗效,但因缺乏分子生物学水平的量的观察,特别是缺少重度异型增生与癌症难以区分的癌前病变的

分子生物学水平的量的观察,影响了活血化瘀治疗癌前病变疗效科学的判定。中医药治疗癌症疗效评估的客观化,活血化瘀方药治疗慢性肥厚性喉炎的效应与血管生成调节因子关系,以及慢性肥厚性喉炎与病变局部微血管的关系等研究,是我们今后进一步研究的重点。

参考文献

[1]黄选兆,汪吉宝.实用耳鼻咽喉科学[M].北京:人民卫生出版社,1998.465
 [2]许传杰,王贵全,沙春蕊,等.喉癌组织中诱导型一氧化氮合酶的表达与微血管密度的关系及其临床意义 [J]. 中国老年学杂志,2004,24(2):110-111
 [3]Dvorak HF,Brown LF, Detmar M,et al.Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular hyper permeability and angiogenesis [J].Am J Pathol,1995,146 (5): 1029-1039
 [4]Kondo S,Asano M,Matsuo K,et al.Vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor is detectable in the sera of tumor-bearing mice and cancer patients [J].Biochim Biophys Acta, 1994,1221(2):211-214

(收稿日期: 2015-04-02)

正畸治疗在口腔修复中的应用

马慧

(河南省周口市疾病预防控制中心专科病医院 周口 466000)

摘要:目的:分析正畸治疗在口腔修复中的应用效果。方法:选取 2011 年 2 月~2014 年 8 月我院诊治的 98 例口腔修复患者作为研究对象,根据治疗方式将患者分为正畸治疗组(49 例)与常规修复组(49 例),常规修复组按照常规治疗口腔修复,正畸治疗组采用正畸治疗口腔修复,观察两组患者的不良反应及满意度情况。结果:正畸治疗组患者的不良反应发生率明显低于常规修复组, $P<0.05$;且正畸治疗组患者的总满意率明显高于常规修复组, $P<0.05$ 。结论:正畸治疗在口腔修复中具有良好的应用效果。

关键词:口腔修复;正畸治疗;应用效果

中图分类号:R783.5

文献标识码:B

doi:10.13638/j.issn.1671-4040.2015.09.021

根据相关研究资料表明,随着如今人们对外形美观的要求越来越高,对于牙齿咬合能力、牙齿与面容协调等方面的要求也越来越高,很多患者往往会出出现牙齿间间隙,从而影响到咬字发音和面容美观,因此,需要接受口腔修复的患者也不断的增多^[1]。本文为分析正畸治疗在口腔修复中的应用效果,特选取我院的 98 例口腔修复患者进行了研究。现报道如下:

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2011 年 2 月~2014 年 8 月我院诊治的 98 例口腔修复患者,根据治疗方式将患者分为正畸治疗组(49 例)与常规修复组(49 例),正畸治疗组中男 24 例,女 25 例,年龄 18~76 岁,平均年龄 (42.73 ± 20.52) 岁,其中有 10 例为牙齿松动,7 例

为严重的牙齿颌面磨损,6 例牙髓病,11 例牙齿缺失,9 例牙周病,13 例龋齿;常规修复组中男 25 例,女 24 例,年龄 17~75 岁,平均年龄 (43.15 ± 20.68) 岁,其中有 11 例为牙齿松动,8 例为严重的牙齿颌面磨损,7 例牙髓病,12 例牙齿缺失,10 例牙周病,11 例龋齿。两组患者年龄、性别、口腔修复原因等一般资料比较,差异无统计学意义, $P>0.05$,具有可比性。

1.2 治疗方法 常规修复组按照常规治疗口腔修复,应用 X 线确定口腔情况,并按照规范完成口腔修复;正畸治疗组采用正畸治疗口腔修复,首先是清洁患者的口腔,并了解患者的基础疾病情况,积极纠正牙髓病、牙周病等口腔疾病,及时拆除口腔内损坏的牙体,详细地对患者骨头与肌肉连接的关节以及