

本研究发现,随着临床分期进展,SCC的表达逐渐升高。Sandri等^[6]研究结果显示SCC与临床分期、淋巴结转移状况、肿瘤大小都具有较高的相关性。王金华等^[7]的研究结果也证实,SCC的上升程度与临床分期的进展具有正相关,并且随着肿瘤体积和范围的增大,SCC也会上升。综合上述结果,说明细胞的增殖和凋亡不平衡是导致肿瘤发生的重要机制之一。

Ki67是一种核抗原,它与细胞的增殖情况相关,检测Ki67的表达能够反映出宫颈癌细胞的增殖情况。本研究发现,随着临床分期进展,Ki67的表达逐渐升高。在早期宫颈鳞癌中低表达占71.67%,中-晚期宫颈鳞癌组织高表达占94.28%。Rosamilia C等^[8]通过免疫组化检测了Ki67在正常宫颈上皮与宫颈鳞癌的表达,结果发现Ki67的表达在这两种组织中差异有统计学意义,这与本研究的结果基本一致。目前的研究同样发现,Ki67在前列腺癌、乳腺癌以及口腔癌等^[9]癌症中,也可以作为预后指标,Ki67表达过高,预后较差。Kuznetsova ME等^[10]回顾性研究89名宫颈鳞癌患者肿瘤组织中Ki67的表达,指出Ki67的增殖指数对治疗及治疗结局有重要的预测意义。Wang S等^[11]认为Ki67增殖指数可作为疾病独立的预后指标。

综上所述,本研究初步认为SCC和Ki67在宫颈鳞癌组织中是高表达的,并探讨了SCC和Ki67与宫颈鳞癌的临床分期有密切关系,为临床医生确定临床分期提供参考价值,但要最终用于临床常规检测,还有待进一步验证。

参考文献

- [1] Schmid MP, Kirisits C, Nesvacil N, et al. Local recurrences in cervical cancer patients in the setting of image-guided brachytherapy: a comparison of spatial dose distribution within a matched-pair analysis[J]. *Radiation Oncology*, 2011, 100(3):468.
- [2] Menczer J. Patient-tailored conservative surgical treatment of invasive uterine cervical squamous cell carcinoma [J]. *Minerva Ginecol*, 2013, 65(4):407-415.
- [3] 曾亮, 朱红, 邓亚平, 等. 应用蛋白质组学技术筛选宫颈鳞癌临床分期相关蛋白[J]. *现代生物医学进展*, 2009, 9(16):3049-3052.
- [4] Byoung-Gie Kim. Squamous cell carcinoma antigen in cervical cancer and beyond[J]. *J Gynecol Oncol*, 2013, 24(4): 291-292.
- [5] Sandri MT, Salvatici M, Mauro C, et al. Detection of squamous cell carcinoma antigen with two systems in the follow-up of patients with cervical cancer[J]. *Int J Biol Markers*, 2013, 28(3): 403-404.
- [6] 王金华, 郑秀, 陈丽红, 等. 血清鳞癌相关抗原、糖类抗原125表达与宫颈癌临床分期的相关性[J]. *中国临床药理学杂志*, 2015, 31(15): 1546-1548.
- [7] 闵玲, 钟亮星, 陈琳娜, 等. 血清TSGF、SCC联合检测在宫颈癌诊断中的应用价值[J]. *实用医学杂志*, 2014, 30(6):898-899.
- [8] 奈嫚嫚, 尹如铁, 谢聪, 等. Rho C和Ki67在宫颈鳞癌中的表达和意义[J]. *四川大学学报(医学版)*, 2009, 40(2):236-239.
- [9] Klimowicz AC, Bose P, Nakoneshny SC, et al. Basal Ki67 expression measured by digital image analysis is optimal for prognostication in oral squamous cell carcinoma[J]. *Eur J Cancer*, 2012, 48(14):2166-2174.
- [10] Kuznetsova ME, Pozharisskii KM, Vinokurova VL, et al. Ki67 expression as a predictor of the effectiveness of radiotherapy and of outcome in locally advanced squamous cell carcinoma of the uterine cervix (immunohistochemical study)[J]. *Vopr Onkol*, 2007, 53(2):175-180.
- [11] 王帅, 马晓艳, 夏阳, 等. 上皮性卵巢癌组织中Ki67和PCNA的表达及有丝分裂指数[J]. *四川大学学报(医学版)*, 2010, 41(5):575-580.

彩色多普勒超声与经颅多普勒超声联合应用对无症状性颈内动脉重度狭窄或闭塞的诊断价值

王欣 孟璇 马东梅 郭方舟

【摘要】 目的: 研究彩色多普勒超声(CDFI)与经颅多普勒超声(TCD)联合应用对无症状性颈内动脉(ICA)重度狭窄或闭塞的诊断价值。**方法:** 对3000例高危人群行CDFI和TCD常规检测,其中49例(98支动脉)确定为单侧或双侧ICA重度狭窄或闭塞。通过CDFI对颅外段ICA的峰值流速(PSV)、舒张末期流速(EDV)等的检测,TCD对颅内Willis环动脉的检测,确定ICA重度狭窄或闭塞的血流动力学改变,并经颈脑血管造影(DSA)检测证实;将CDFI、TCD及两者综合结合分别与DSA进行对比分析。**结果:** DSA结果显示ICA重度狭窄50支,闭塞16支,阴性32支。CDFI、TCD及综合结果与DSA符合分别为87支、83支和97支;敏感性分别为89.57%、84.69%、98.13%;特异性分别为85.80%、76.11%、和100%;准确率分别为87.88%、84.69%、98.98%;两者的综合结果明显提高了准确率($P < 0.01$)。**结论:** CDFI和TCD联合应用明显提高了无症状性ICA重度狭窄或闭塞诊断的准确性,为临床选择不同的治疗方案提供一种可靠安全的综合检测方法。

【关键词】 彩色多普勒超声;经颅多普勒超声;DSA;颈内动脉重度狭窄或闭塞;无症状性

文献标识码:A

文章编号:1004-2725(2016)09-0643-04

基金项目:甘肃省自然科学基金项目(项目编号:1506RJZA238)

作者单位:730030 甘肃 兰州,兰州大学第二医院超声中心

第一作者:王欣, E-mail: 372802125@qq.com

Diagnostic value of combining color doplex flow imaging and transcranial cerebral dopple in diagnosing severe stenosis or occlusion of internal carotid artery symptomless Wang Xin, Meng Xuan, Ma Dongmei, Guo Fangzhou. Center of Ultrasonics, Lanzhou University Second Hospital, Lanzhou, 730030, China

【Abstract】 Objective: To study diagnostic value of combining Color doplex flow imaging(CDFI) and Transcranial cerebral dopple (TCD) in diagnosing severe stenosis or occlusion of internal carotid artery(ICA) symptomless.**Methods:** 3000 cases symptomless high risk population of stenosis or occlusion of ICA were examined by CDFI and TCD. 49 cases(98 arteries) with unilateral or bilateral stenosis or occlusion of ICA were detected and confirmed by digital subtraction angiography(DSA). CDFI determined the datas of PSV and EDV of ICA and TCD determined the changes of the hemodynamics of intracranial artery. The results of CDFI, TCD and combination of two method were compared by χ^2 test.**Results:** The DSA showed there were 50 stenosis 16 occlusion and 32 normal arteries of 98 ICA. The sum of detecting stenosed or occluded ICA by CDFI, TCD and CDFI plus TCD confirmed by DSA were 87, 83 and 97 arteries respectively. The sensitivity (SEN) was 89.57%, 88.52% and 98.13%; specificity (SPE) was 85.8%, 76.11% and 100% respectively. The overall accuracy (OA) was 87.88%, 84.69% and 98.98% respectively. The result of combining CDFI and TCD has significantly higher accuracy than CDFI and TCD alone ($P < 0.01$).**Conclusion:** Combining CDFI and TCD two non-invasive method may provides a higher accuracy in diagnosing severe stenosis or occlusion of ICA symptomless and more choices in clinic treatment.

【Key words】 color doplex flow imaging(CDFI); transcranial Doppler(TCD); digital subtraction angiography(DSA); severe stenosis or occlusion of internal carotid artery; symptomless

DOI: 10.15975/j.cnki.gsyy.2016.09.002

脑血管病是目前威胁人类健康的最常见的慢性病之一,其中70%~80%是缺血性脑血管病(缺血性脑卒中),其具有高致病率,高致残率和高致死率,具有突发性;近年来流行病学调查结果显示,其发病具有年轻化趋势^[1,2]。缺血性脑血管病的发病原因主要是颅内或颅外血管病变所致,特别是颈内动脉粥样硬化引起的血管腔狭窄或闭塞是重要因素;部分患者早期无神经系统症状(即无症状性颈内动脉狭窄或闭塞患者),但如果得不到及时防治,可发展为症状性缺血性脑血管病,从而失去二级预防机会^[3,4]。目前脑血管病的检测手段主要有数字减影血管造影(digital subtraction angiography, DSA)、磁共振血管成像(magnetic resonance cmgiography, MRA)、CT血管成像(CT Angiography, CTA)等。DSA是脑血管病诊断的“金标准”^[5,6],但由于DSA的重创伤性,并发症较多,操作复杂等缺点,单纯用于脑血管病的诊断越来越少,更多的用于治疗和研究;MRA、CTA检测虽已广泛用于临床,但由于较高的检查费用和微创性,要成为脑血管病早期大规模筛查、早期诊断及定期复查的检查手段也不太现实。目前国内外的研究主要集中在症状性缺血性脑血管病方面,对无症状性颈内动脉狭窄或闭塞的检测方法、相关危险因素等报道较少,对其尚无较理想的早期筛查、早期诊断及规范化的跟踪监测方法。彩色多普勒超声(Color doplex flow imaging, CDFI)和经颅多普勒(Transcranial cerebral dopple, TCD)通过对颅内外血管的检测,对评价重度ICA狭窄或闭塞性病变具有较高的特异性^[7]。本文应用二者同步检测无症状性ICA重度狭窄或闭塞患者,并与DSA进行对比,进一步

证实CDFI和TCD联合应用的诊断价值,为临床选择治疗方案提供可靠依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择2013年1月至2015年12月在兰州大学第二医院体检及就诊的门诊和住院3000例高危人群, CDFI和TCD常规检测,并经DSA证实的49例无症状性ICA重度狭窄或闭塞的患者,其中高血压12例,糖尿病10例,高血脂症14例,冠心病8例,吸烟5例。男性35例,女性14例,年龄53~71岁,平均(62.51±7.23)岁。以上患者同意血管造影,并对造影剂、X射线、肝素不过敏;凝血机制正常。排除先天性颈脑血管狭窄者及脑出血的颈脑血管狭窄患者。

1.2 方法

1.2.1 颈脑血管造影检测。采用股动脉穿刺逆行血管造影术,常规消毒铺巾,暴露双侧腹股沟部,1%利多卡因局部浸润麻醉,使用Seldinger技术穿刺成功后置入导管鞘,静脉注射20~30mg肝素,分别用5F猪尾,单弯导管行动脉弓及弓上各血管造影,数字减影机(德国Siemens公司),从多角度(正位、斜位、侧位)显示双侧颈动脉,范围包括颈总动脉起始至颈内动脉虹吸弯,以此作为颈动脉狭窄判断的金标准,评价49例98条颅外段ICA狭窄程度。

1.2.2 颈动脉超声检查。采用荷兰Philips公司生产的IU Elite彩色多普勒超声诊断仪,选择3~9MHz线阵及3~5MHz凸阵探头,常规检测并排除颈总、颈外、锁骨下及椎动脉血管病变;详细检测并记录ICA及颈总动脉(CCA)相关血流动力学参数:收缩期峰值流速

(PSV)、舒张期流速(EDV),计算 PSV_{ICA}/PSV_{CCA} 比值。ICA重度狭窄或闭塞的判定见表1^[6,7]。

表1 ICA重度狭窄和闭塞诊断标准

狭窄程度	PSV(cm/s)	EDV(cm/s)	PSVICA/PSVCCA
70%~99%(重度)	≥230	≥100	≥4.0
闭塞	无血流信号	无血流信号	无血流信号

1.2.3 经颅多普勒超声检测。采用深圳德力凯公司生产的EMS-9A脑血流检测仪,选择1.6MHz脉冲多普勒探头,检测双侧颅外段ICA、大脑中动脉(middle cerebral artery,MCA)、大脑前动脉(anterior cerebral artery,ACA)、大脑后动脉(post erior cerebral artery,PCA)及椎动脉(vertebral artery,VA)、基底动脉(basilar artery,BA)血流速度和搏动指数(PI)。当ICA重度狭窄或闭塞时,TCD可测得颅内侧支循环开放的血流动力学特征:①前交通动脉(ACOA)开放指征:患侧MCA、ACA流速及PI值低于健侧;患侧大脑前动脉血流方向逆转,健侧ACA流速代偿性升高,压迫健侧颈总动脉时,患侧大脑中动脉、大脑前动脉血流速度降低;②后交通动脉开放指征:患侧大脑后动脉流速升高并高于健侧PCA的50%,压迫健侧CCA患侧PCA血流相对升高,说明PCA通过开放的PCOA向患侧半球供血;③颈内外动脉侧支开放指征:眼动脉血流方向逆转,搏动值降低。颅外段ICA闭塞时除以上血流动力学特征外,颅外段ICA血流消失,此是诊断ICA闭塞的重要方面,根据文献^[7]确定TCD诊断ICA诊断狭窄或闭塞的标准。

1.3 统计学方法 应用SPSS16.0统计学软件对资料进行处理,行Fisher和 χ^2 检验, $P<0.05$ 差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 DSA检测结果 49例患者共检测98支血管,ICA重度狭窄50支,闭塞16支(病变血管共66支),正常32支。其中单侧狭窄16例,单侧闭塞16例,双侧狭窄17例。

2.2 CDFI/TCD各自单测结果及综合诊断结果 CDFI、TCD联合应用检测结果基本与DSA结果符合。见表2。

表2 CDFI、TCD各自单测结果及综合诊断结果(支)

检测方法	病变检出率(%)	狭窄	闭塞	正常	假阳性	假阴性	与DSA符合率(%)
CDFI	84.84 (56/66)	50	6	31	6	5	88.77 (87/98)
TCD	80.30 (53/66)	48	5	32	7	8	84.69 (83/98)
综合	98.48 (65/66)	50	15	32	0	1	98.98 (97/98)

2.3 CDFI、TCD结果敏感性、特异性、准确率 CDFI与TCD的综合诊断结果较单纯CDFI、TCD检测结果的敏感性、特异性、准确率及阳性、阴性预测值均有明显提高($P<0.05$, $P<0.01$)。见表3。

表3 CDFI和TCD综合结果与CDFI、TCD单测结果比较(%)

结果分类	敏感性	特异性	准确率	阳性预测值	阴性预测值
CDFI	89.57	85.68	88.77	91.48	82.96
TCD	88.52	76.11	84.69	83.14	82.87
综合	98.13 [*]	100 ^{**}	98.98 [*]	100 ^{**}	96.88 [*]

注:分别与CDFI、TCD单测结果比较^{*} $P<0.05$,^{**} $P<0.01$

3 讨论

CDFI对血管狭窄或闭塞进行直观的形态学及病变局部血流动力学检测具有较高的敏感性和特异性。本组49例ICA重度狭窄或闭塞患者单纯CDFI病变检出率为84.84%,与DSA符合率为88.77%,敏感性、特异性、准确率分别为89.57%、85.68%、88.77%;阳性和阴性预测值分别为91.48%、82.96%。结果与文献^[9]报道的对症状性ICA狭窄或闭塞的研究结果基本一致。对于一侧或双侧颈内外动脉分叉位置过高及血管弯曲走向的患者,容易造成检测遗漏,影响病变的检出率和准确性,本组49例患者中出现假阳性,假阴性共11支血管。其原因可能是由于探测角度和血管走向的弯曲,导致血流速度异常升高而诊断为ICA狭窄,ICA分叉位置较高或分叉角度过大,未能充分显示ICA颅外段全程而认为ICA闭塞,而产生诊断的假阳性;对侧支循环开放导致增粗的颈外动脉主干及其分支认为是颈动脉分叉,将代偿的血流升高及相对血管阻力减低的颈外动脉血流误认为ICA的存在,而使ICA漏诊而造成假阴性^[7]。

TCD是通过检测颅内Willis环动脉的血流速度和血流方向,评价ICA狭窄或闭塞引起的颅内血流动力学变化。当ICA颅外段重度狭窄或闭塞时,导致颅内供血障碍,出现患侧MCA血流减低,健侧ICA通过ACOA、患侧PCA通过PCOA及颈内外动脉之间的侧枝循环通路向患侧MCA供血。TCD可测到ICA重度狭窄或闭塞时的颅内Willis环特征性血流动力学改变。本研究单纯TCD病变检出率为80.30%,与DSA符合率为84.69%,敏感性、特异性、准确率分别为88.52%、76.11%、84.69%,阳性及阴性预测值分别为83.14%、82.87%、82.87%。TCD病变检出率及准确性主要受操作者的经验及颅骨声窗的影响^[7,10]。回顾性分析,首先TCD的结果可能因操作者的经验未检出典型颅内外侧支循环特征而导致假阴性8支,因声窗和操作经验两种原因导致假阳性8支。

本研究结果证实,CDFI和TCD结果的一致可减少或避免各自的假阳性或假阴性结果的出现,提高了诊断的准确性。CDFI和TCD的综合结果对无症状性ICA重度狭窄或闭塞诊断的敏感性、特异性、准确率分别为98.13%、100.00%、98.98%;阳性及阴性预测值分别为100.00%、96.88%,以上各指标分别与单纯CDFI、TCD检测结果比较均有显著性差异($P<0.05$, $P<0.01$),与DSA符合率为98.98%。

由此,可以认为CDFI与TCD结合应用大大提高了二者同步检测在临床的使用价值,是一种无创性、安全、快速、价廉、操作简便,可重复的可靠检测分析方法,适用于ICA粥样硬化病变高危人群的筛查、随访等,同时为临床选择治疗方案提供可靠依据。

参考文献

[1] 刘昊,邓丽影,徐丽君.血管内皮损伤因子ACA、hsCRP与颈动脉斑块的关系[J].中国神经精神病杂志,2007,33(8):472-475.

- [2] 方俐,李晓裔,刘姝,等.经颅多普勒超声检测颅内外动脉粥样硬化性狭窄及相关因素分析[J].中国动脉硬化杂志,2015,23(2):188-190.
- [3] 国家卫生和计划生育委员会卒中筛查与防治工程委员会.卒中筛查与防治技术规范[J].中华神经科学杂志,2014,47(1):199-203.
- [4] 中华医学会神经病学分会脑血管病学组缺血性脑卒中二级预防指南撰写组.中国缺血性脑卒中和短暂性脑缺血发作二级预防指南[J].中华神经科学杂志,2010,43(1):154-160.
- [5] 华扬,郑宇.脑血管超声与卒中防治[M].北京:人民卫生出版社,2006:83-86.
- [6] 张薇,张洪临.脑分水岭梗死发病机制与治疗进展[J].卒中与神经疾病杂志,2009,16(6):382-384.
- [7] 华扬.实用颈动脉超声与颅脑血管超声诊断学[M].北京:科学出版社,2002:79-80,182-183.
- [8] 华扬,高培毅.脑卒中高危人群的筛查[M].北京:卫生部卒中筛查与防治工程委员会,2012:61,66-71.
- [9] 曹骥,石正洪,郭佳,等.彩超与血管造影对颅外段颈内动脉狭窄诊断的相关性比较[J].兰州大学学报(医学版),2009,35(4):61-66.
- [10] Witterdink JI,Feldman E,Furie KL,et al.Transcranial Doppler ultrasound battey reliably identifies severe internal carotid artery stenosis[J].Stroke,1997,28(1):133-136.

骨肉瘤Saos-2细胞Set7/9基因沉默及基因治疗靶点构建

施星臣 耿哲 施鑫鹤

【摘要】 目的:构建沉默的人Set7/9的真核表达载体,筛选其稳定转染的骨肉瘤Saos-2细胞株,评价干扰效果以及对骨肉瘤相关基因表达和细胞增殖的影响,为临床骨肉瘤基因治疗提供新靶点。**方法:**依据靶向序列,构建人Set7/9基因的shRNA和对照载体,稳定转染骨肉瘤细胞Saos-2。应用Real-time PCR以及Western-blot方法检测其基因和蛋白质水平,确定该基因的沉默情况。**结果:**构建载体Set7/9-shRNA,Real-time PCR和Western-blot结果显示,沉默后Set7/9基因和蛋白表达明显被抑制,而与其相关的Sirt1、Suv39h1蛋白表达水平提高,细胞增殖率增加。**结论:**沉默Set7/9基因后,上调与其相关的Sirt1和Suv39h1蛋白表达水平,Set7/9基因在骨肉瘤Saos-2细胞系中可能调控其的表达。此外,细胞增殖效率增加表明Set7/9具有抑制骨肉瘤Saos-2细胞增殖的作用。

【关键词】 Set7/9;Saos-2细胞;Western-blot

文献标识码:A

文章编号:1004-2725(2016)09-0646-04

Establishment and effecton of Saos-2 Stable cell lines with Saos-2 gene knockdown and new thinking for therapy Shi Xingchen¹, Geng Zhe², Shi Xinhe³. 1.Department of Orthopaedics, the Second People's Hospital of Lanzhou City, Lanzhou 730046,China; 2.School of Basic Medicine, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China; 3.Department of Central Laboratory, Lanzhou University Second Hospital, Lanzhou 730030,China

【Abstract】 Objective: To silence human gene Set7/9 and screen out stable transfection cell line in Saos-2, and investigate the impact of knockdown of Set7/9 and influence to the expression of the related genes. Supply new target for clinical test and therapy. **Methods:** The target oligo was designed by the soft and synthesized, shRNA interference vector and the control vector were constructed and transfected into Saos-2 cells. Then Real-time PCR and western-blot were performed for detection of knockdown of Set7/9. **Results:** The shRNA interference vector was constructed and transfected into Saos-2 cells successfully, compared with the negative control group, the expression of Set7/9 was dramatically down-regulated. Meanwhile, expression of related protein Sirt1 up regulated. **Conclusion:** Down regulation the expression of Set7/9 can upregulate Sirt1 and Suv39h1, imply that Set7/9 may regulate their expression in Saos-2, and suppress the proliferation.

【Key words】 Set7/9; Saos-2 cells; Western-blot

DOI:10.15975/j.cnki.gsy.2016.09.003

基金项目:甘肃省青年科技基金计划(项目编号:1506RJYA315)

作者单位:730046 甘肃 兰州,兰州市第二人民医院骨科(施星臣);730000 甘肃 兰州,兰州大学基础医学院生物化学与分子生物学研究所(耿哲);730030 甘肃 兰州,兰州大学第二医院中心实验室(施鑫鹤)

第一作者:施星臣,E-mail:shixh@lzu.edu.cn