

# 下咽鳞状细胞癌组织 claudin-1 的表达 及与微淋巴管生成的关系

李武杰<sup>1</sup>, 李大军<sup>1</sup>, 张樊苹<sup>1</sup>, 杨振刚<sup>1</sup>, 潘新良<sup>2</sup>

(1. 泰安市中心医院 耳鼻咽喉科, 山东 泰安 271000; 2. 山东大学齐鲁医院 耳鼻咽喉头颈外科, 山东 济南 250012)

**摘 要:** **目的** 通过检测 97 例下咽鳞状细胞癌患者癌组织中 claudin-1 与 D2-40 蛋白的表达, 分析 claudin-1 与微淋巴管密度 (MLVD) 之间的相互关系, 探讨它们与肿瘤临床分期、病理学分级及患者临床预后之间的相关性, 探索下咽鳞状细胞癌淋巴结转移的机制。**方法** 应用免疫组化法检测 97 例下咽鳞状细胞癌及 90 例癌旁组织标本中 claudin-1 与 D2-40 蛋白的表达, 采用 Pearson  $\chi^2$  检验分析标志物和临床病理特征之间的关系; 采用 Log rank 实验方法进行生存分析。**结果** Claudin-1 在下咽鳞状细胞癌中呈高表达; claudin-1 蛋白表达与肿瘤的分化程度 ( $P = 0.004$ ) 和淋巴结转移有关 ( $P = 0.026$ ); Kaplan-Meier 分析显示 claudin-1 与患者的生存率相关 ( $P = 0.003$ )。癌巢周边区的 MLVD 与组织病理学分级、临床分期和淋巴结转移等指标显著相关, claudin-1 与 MLVD 呈正相关 ( $r = 0.54$ ,  $P = 0.012$ )。**结论** 高表达 claudin-1 可能会诱导肿瘤淋巴管生成, 从而促进淋巴结转移, 可能成为下咽鳞状细胞癌治疗的一个新的靶点。

**关 键 词:** 下咽鳞状细胞癌; Claudin-1; D2-40; 免疫组化

**中图分类号:** R739.63

## Relationship between expression of claudin-1 and micro-lymphatic vessel density in hypopharyngeal squamous cell carcinoma

LI Wujie<sup>1</sup>, LI Dajun<sup>1</sup>, ZHANG Fanping<sup>1</sup>, YANG Zhengang<sup>1</sup>, PAN Xinliang<sup>2</sup>

(1. Department of Otorhinolaryngology, Central Hospital of Taian City, Taian 271000, China; 2. Department of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, Qilu Hospital, Shandong University, Jinan 250012, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate the relationship between claudin-1 and micro-lymphatic vessel density (MLVD) by detecting expressions of claudin-1 and protein D2-40 in hypopharyngeal squamous cell carcinoma (HSCC), and to study the mechanism of lymph node metastasis in HSCC by exploring the correlation between their expressions and clinical stage, pathological grade, and clinical prognosis of HSCC. **Methods** Expression levels of claudin-1 and protein D2-40 were detected by immunohistochemistry in cancer specimens from 97 patients with HSCC and 90 para-tumor specimens. The correlation between the markers and clinicopathological features was analyzed by using the Pearson chi-square test, and survival analysis by the log-rank test. **Results** Claudin-1 expression was high in HSCC and was related to tumor differentiation ( $P = 0.004$ ) and lymph node metastasis ( $P = 0.026$ ). Kaplan-Meier analysis showed that claudin-1 expression was related to patients' survival rate ( $P = 0.003$ ). There were significant relationships between MLVDs in the para-tumor tissues and the indices of histopathological grade, clinical stage, and lymph node metastasis. The claudin-1 expression was positively correlated to MLVD ( $r = 0.54$ ,  $P = 0.012$ ). **Conclusion** High expression of claudin-1 may induce the generation of tumor lymphatic vessels and facilitate lymphatic metastasis in HSCC, and therefore becomes a new target for the treatment of this tumor.

**Keywords:** Hypopharyngeal squamous cell carcinoma; Claudin-1; D2-40; Immunohistochemistry

基金项目: 山东省泰安市科技发展规划 (引导计划) 项目 (2018NS)。  
第一作者简介: 李武杰, 男, 博士, 副主任医师。Email: ta3709@126.com

下咽鳞状细胞癌发生部位比较隐匿,不易发现,其生物学特性恶劣,同时下咽部有丰富的淋巴管网,因此极易出现颈部淋巴结转移,使患者就诊时多为晚期<sup>[1]</sup>。患者的总体生存率相对较低,5年总生存率为30%~45%<sup>[2]</sup>。紧密连接(tight junction, TJ)存在于机体的上皮细胞、内皮细胞间,维持细胞稳态和保持细胞的极性,其主要封闭蛋白是 claudin 蛋白<sup>[3]</sup>,其表达数量和分布结构的变化直接影响细胞膜表面功能区紧密连接的结构和功能。Claudin-1是目前发现的 claudins 家族成员中的一个,在不同的肿瘤中有不同的表达方式,这种差异性的表达方式已被证实与肿瘤的发生、发展密切相关。

D2-40是目前已发现的最具有特异性的淋巴管标记物,能识别特异性表达于淋巴管内皮细胞的唾液酸糖蛋白<sup>[4]</sup>,不仅能识别极少量淋巴管的存在,还能特异性判断肿瘤的淋巴源性及血管源性<sup>[5]</sup>。因而广泛的应用于肿瘤淋巴管生成的研究。

本研究通过检测97例下咽鳞状细胞癌患者癌组织中 claudin-1 与 D2-40 蛋白的表达,分析 claudin-1 及微淋巴管密度(microlymphatic vessel density, MLVD)之间的相互关系,探讨它们与下咽鳞状细胞癌浸润、转移及预后的关系,探索下咽鳞状细胞癌淋巴转移的机制,从而为下咽鳞状细胞癌的治疗和抑制其淋巴结转移提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 标本收集

收集2008年1月—2011年4月在山东大学齐鲁医院耳鼻咽喉科手术治疗并经病理确诊的下咽鳞状细胞癌97例,同期取癌旁组织90例,距肿瘤切缘2 cm以上的形态学正常的黏膜组织作为对照。所有病例术前均未接受放射治疗、化疗或免疫治疗等治疗,均行标准根治性手术,且手术切缘均为阴性,术后均行放疗治疗,剂量为50~65 Gy。按国际抗癌联合会(UICC, 2002)的TNM分期标准对所有病例进行病理分期和分型等。所有患者的具体临床资料见表1。所有样本收集前都经过山东大学齐鲁医院伦理委员会审核通过并征得患者或家属书面同意。

### 1.2 实验方法

免疫组织化学染色 claudin-1 (ZA-0365) 和 D2-40 (ZM-0465) 试剂均购于北京中衫金桥生物公司。按免疫组织化学染色 PV9000 二步法进行染色。

### 1.3 结果判定

由两位有经验的病理科医生独立阅片并观察记录染色结果, claudin-1 阳性颗粒为黄色或棕黄色,定位于细胞膜/细胞质。参照金浩等<sup>[6]</sup>改良法的标准,按照至少10个400倍视野下染色细胞计数所占比例进行分级。综合染色强度和阳性细胞所占比例进行半定量测定。染色强度评分标准:不着色(0分),黄色(1分),棕黄色(2分),黄褐色(3分);阳性细胞数评分标准:<10%(0分),10%~40%(1分),40%~70%(2分),>70%(3分)。两者评分相加,0~2分为阴性(-),2分为弱阳性(+),3~4分为阳性(++),5~6分为强阳性(+++)。所有结果均进行双盲读片,3分及以上为高表达,2分及以下为低表达。

MLVD计数:D2-40染色微淋巴管内皮,阳性表达于微淋巴管内皮细胞的胞质,呈棕黄色颗粒,染色阳性的微淋巴管的管壁较薄,多由单层内皮细胞组成,不含有肌层,形状也不规则,并且管腔内无红细胞,可呈圆形、扩张状或闭塞呈条索状,部分微淋巴管的管壁不完整。参照Weidner等<sup>[7]</sup>报道的方法,首先在低倍镜下( $\times 100$ )扫视整个切片,确定肿瘤组织内微淋巴管最丰富的区域即“hot spot”,然后在高倍镜下( $\times 400$ )计数每一视野的微淋巴管数目,单个或者成群无管腔的棕黄色染色的淋巴管内皮细胞或细胞丛可作为一个独立的淋巴管,其分枝结构不相连亦可作为一个微淋巴管计数。计数均由两位病理科医师采用双盲法独立进行,分别计数癌巢中心、癌巢周边及癌旁正常组织的微淋巴管,取其均值。结果采用5个400倍视野下微淋巴管数目的平均值作为MLVD。

### 1.4 统计学分析

应用SPSS 17.0统计软件进行统计学分析。两组样本间的比较分别采用独立样本 Mann-Whitney 双尾检验。分析标志物和临床病理特征之间的关系时采用 Pearson  $\chi^2$  检验。采用 Log rank 实验方法进行了生存分析。MLVD 与 claudin-1 表达相关性检验用 Spearman 相关分析。所有统计分析均为双侧,  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 Claudin-1 蛋白免疫组织化学染色结果

2.1.1 Claudin-1 蛋白在下咽癌组织及癌旁组织中的表达 我们对97例下咽鳞状细胞癌组织和90例

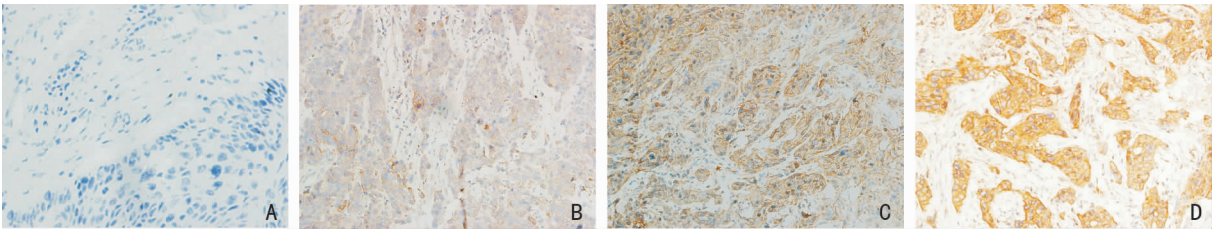


图1 Claudin-1 在肿瘤中的表达(PV9000 二步法) A:claudin-1 在肿瘤中阴性表达 (×200); B:claudin-1 在肿瘤中弱阳性表达 (×200); C:claudin-1 在肿瘤中的中度阳性表达 (×200); D:claudin-1 在肿瘤中强阳性表达 (×200)

癌旁黏膜组织进行了免疫组织化学染色,结果显示 claudin-1 在细胞膜和细胞质中都有表达,但是主要表达在细胞质的核膜周围,且表现为异质性,有些区域呈弥漫性,有些区域呈局灶性。Claudin-1 在 73.2% (71/97) 的癌组织中高表达,而仅在 30% (27/90) 的癌旁组织中高表达。经过统计分析发现,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。见图 1。

2.1.2 Claudin-1 蛋白在肿瘤中的表达与临床病理学指标的相关性分析 我们采用 Pearson  $\chi^2$  检验进行分析,结果显示 claudin-1 蛋白表达与肿瘤的分化程度( $P=0.004$ )和淋巴结转移( $P=0.026$ )有关;其余临床病理学指标和 claudin-1 蛋白表达无明显相关性。具体数据见表 1。

2.1.3 Claudin-1 与患者生存分析 97 例下咽鳞状细胞癌患者,术前均留存详细联系方式,术后均通过门诊复诊或电话获得随访,随访 3~5 年。我们采用 Log rank 实验方法进行生存分析发现 claudin-1 与患者的生存率相关( $P=0.003$ ),见图 2。

2.2 D2-40 免疫组织化学染色结果

2.2.1 D2-40 在下咽鳞状细胞癌和癌旁正常黏膜组织中 MLVD 的表达情况 D2-40 阳性表达于微淋巴管内皮细胞的胞浆,呈棕黄色颗粒,在下咽鳞状细胞癌癌巢中心区、周边区及癌旁正常黏膜组织中均可见到 D2-40 染色阳性的微淋巴管分布,淋巴管的形态不一,数量多少不一。癌巢中心区的微淋巴管

较少或缺失,多呈塌陷条索状(图 3A),形状不规则且管腔小、管壁薄;而在下咽癌周边区的淋巴管多呈扩张状,形态多不规则(图 3B),部分淋巴管内可见癌栓(图 3C)。癌旁正常组织中的微淋巴管形态比较规则,大多呈扩张状,而且多分布于黏膜下(图 3D)。97 例下咽鳞状细胞癌标本中,癌巢周边区的 MLVD 数目( $14.15 \pm 4.46$ )显著高于癌巢中心区 MLVD( $3.35 \pm 2.32$ ),两者差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。癌巢周边区的 MLVD 数目( $14.15 \pm 4.46$ )也显著高于癌旁正常黏膜组织中 MLVD( $4.52 \pm 2.65$ ),差异具有统计学意义( $P<0.05$ ),而癌巢中心区 MLVD 与癌旁正常黏膜组织中 MLVD 相比,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

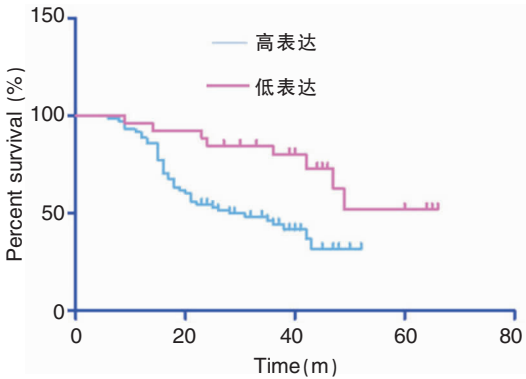


图2 Claudin-1 与患者生存分析

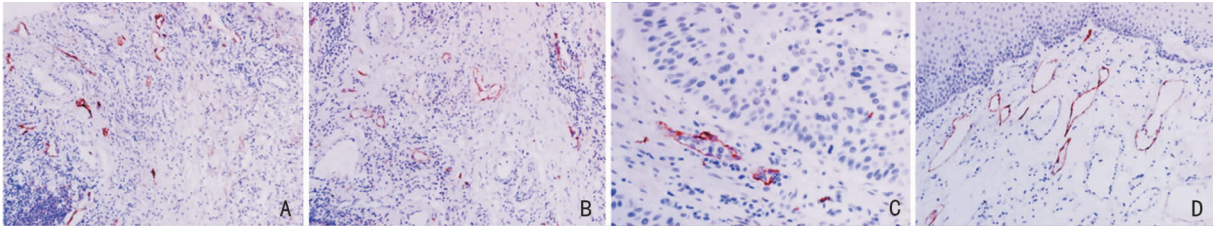


图3 不同部位组织中微淋巴管的表达(PV9000 二步法) A:癌巢中心区 (×200); B:癌巢周边区 (×200); C:癌巢周边区微淋巴管内可见癌栓 (×400); D:癌旁正常组织 (×200)

表 1 Claudin-1 表达、MLVD 与临床资料之间的关系

临床资料	例数(%)	Claudin-1 表达[例(%)]			MLVD( $\bar{x} \pm s$ )		
		低表达	高表达	<i>P</i>	癌巢中心区	癌巢周边区	<i>P</i>
年龄(岁)				0.175			0.635
<60	54(55.7)	17(17.5)	37(38.2)		4.28 ± 1.56	14.26 ± 3.25	
≥60	43(44.3)	9(9.3)	34(35.0)		3.86 ± 2.11	13.98 ± 2.56	
性别				0.055			0.562
女	9(9.3)	5(5.2)	4(4.1)		4.35 ± 2.05	14.68 ± 2.36	
男	88(90.7)	21(21.6)	67(69.1)		4.08 ± 1.66	14.22 ± 3.06	
吸烟史				0.085			0.322
无或少量	19(19.6)	8(8.2)	11(11.4)		4.53 ± 1.35	13.85 ± 3.28	
大量	78(80.4)	18(18.6)	60(61.8)		4.11 ± 2.05	14.32 ± 2.14	
饮酒史				0.069			0.207
无或少量	35(36.1)	13(13.4)	22(22.7)		4.39 ± 2.75	13.66 ± 2.76	
大量	62(63.9)	13(13.4)	49(50.5)		4.57 ± 1.78	14.02 ± 1.88	
组织分级				0.004 *			0.011 *
高、中分化	62(63.9)	20(20.6)	42(43.3)		3.95 ± 2.06	12.58 ± 2.45	
低、未分化	35(36.1)	6(6.2)	29(29.9)		4.38 ± 1.89	16.65 ± 3.56	
临床分期				0.221			0.004 *
I、II	18(18.6)	3(3.1)	15(15.5)		3.75 ± 2.83	13.33 ± 2.74	
III、IV	79(81.4)	23(23.7)	56(57.7)		4.32 ± 2.23	16.98 ± 3.15	
淋巴结转移				0.026 *			<0.001 *
无	35(36.1)	14(14.4)	21(21.7)		4.15 ± 2.36	12.62 ± 2.25	
有	62(63.9)	12(12.4)	50(51.5)		4.86 ± 2.03	17.32 ± 3.69	

注: \* *P* <0.05 为差异具有统计学意义; MLVD:下咽癌组织微淋巴管密度计数。

2.2.2 MLVD 与临床资料的关系 癌巢中心区的 MLVD 与患者年龄、性别、吸烟史、饮酒史、组织病理学分级、临床分期和淋巴结转移等指标进行相关分析均无统计学意义(*P* >0.05)。见表 1。

癌巢周边区的 MLVD 与患者年龄、性别、吸烟史、饮酒史等无关,而与组织病理学分级、临床分期和淋巴结转移等指标显著相关,分析均有统计学意义(*P* <0.05)。

2.3 Claudin-1 和 MLVD 的相互表达关系

癌巢中心区的 claudin-1 表达阳性组的 MLVD 为 4.68 ± 1.42,与阴性组(3.54 ± 2.75)相比差异无统计学意义(*P* =0.667);癌巢周边区 claudin-1 表达阳性 MLVD 为 16.58 ± 3.36,与阴性组(12.16 ± 2.54)相比差异具有统计学意义(*P* <0.05)。相关分析表明在下咽鳞癌癌巢周边区中 claudin-1 表达与 MLVD 之间呈正相关表达(*r* = 0.54,  $\chi^2$  = 9.6, *P* =0.012)。

3 讨论

目前研究发现,claudin-1 的异常表达使上皮细胞渗透屏障功能破坏、细胞极性丧失、细胞间黏附力下降,从而导致肿瘤的发生发展<sup>[8]</sup>。进一步研究发现 claudin-1 高表达可以抑制 E-钙黏蛋白(E-cadher-

in)表达,失去 E-cadherin 表达使 E-cadherin/Tcf 信号通路上调;claudin-1 在细胞膜上定位的改变、E-cadherin 表达减少、E-cadherin /Tcf 信号通路上调共同作用促进肿瘤的发生发展<sup>[9]</sup>。在多种肿瘤中可检测到 claudin-1 高表达<sup>[10-11]</sup>;Dos Reis 等<sup>[12]</sup>在口腔鳞状细胞癌的研究中发现,claudin-1 高表达与肿瘤组织的脉管侵犯和外周神经侵犯有关。在本研究中发现 claudin-1 在下咽癌中的表达明显高于癌旁组织中的表达,且 claudin-1 蛋白表达与肿瘤的分化程度(*P* =0.004)和淋巴结转移(*P* =0.026)均有关,而与其他临床病理学指标无关;Kaplan-Meier 分析显示:claudin-1 高表达患者的生存率低于低表达患者,且两者差异有统计学意义(*P* =0.003),原因考虑 claudin-1 的高表达促进了细胞迁移活性,同时伴随基质金属蛋白酶 2(matrix metalloproteinase-2, MMP-2)激活、层黏连蛋白-5y2 裂解物和表皮生长因子(epidermal growth factor,EGF)受体激活<sup>[13]</sup>;而目前普遍认为 MMP-2 表达水平的上调可以提高肿瘤的侵袭能力,患者往往预后不良<sup>[14]</sup>。说明 claudin-1 可能参与了下咽鳞状细胞癌的发生发展和淋巴结转移过程,这个发现为下咽鳞状细胞癌的诊断、预后评估和治疗方案的选择提供了重要依据,claudin-1 高表达患者术后需要更多的干预措施。

D2-40 分子是由 166 个氨基酸构成的一种唾液

酸黏蛋白,是一种特异性的淋巴管内皮细胞标记物,能特异性地判断肿瘤淋巴源性还是血管源性<sup>[15]</sup>。在电子显微镜下对超微结构的进一步研究也显示,D2-40 主要表达于微淋巴管内皮细胞的腔面,而在大淋巴管内皮细胞以及血管的内皮细胞中均不表达<sup>[16]</sup>,认为 D2-40 的特异性和敏感性均高于其他淋巴管分子标记物<sup>[17]</sup>。本研究发现 D2-40 在下咽鳞状细胞癌组织中标记的微淋巴管主要集中在癌巢周边区及周围间质中,而血管内皮细胞无明显着色,与周围组织也无明显交叉染色,标记 MLVD 有显著的特异性,显示了很好的临床效果。它标记的下咽鳞状细胞癌癌巢周边区的微淋巴管多呈扩张的管腔状,形态多不规则,内无红细胞,部分淋巴管内可见癌栓,而下咽鳞状细胞癌癌巢区的微淋巴管很少,有的甚至完全缺乏,管腔多闭锁,形态呈闭锁的线状或者扁平的管状,癌旁正常组织中的微淋巴管形态则相对比较规则,多呈扩张的管腔状,而且多分布于黏膜下,此结果说明,D2-40 对于下咽鳞状细胞癌的淋巴管内皮细胞具有很高的特异性,是一种很好的微淋巴管标记物。

Beasley 等<sup>[18]</sup>认为,在头颈部鳞状细胞癌中,肿瘤内 MLVD 呈高表达,并且与淋巴结转移有关,认为这些新生淋巴管是有功能的,肿瘤通过这些淋巴管转移到淋巴结。本研究发现在下咽癌中 MLVD 癌巢周边区明显高于癌巢区( $14.15 \pm 4.46$  vs  $3.35 \pm 2.32$ ),两者差异具有统计学意义,癌巢周边区 MLVD 与淋巴结转移有关,而癌巢区则与淋巴结转移无关,原因考虑可能是随着肿瘤细胞过度生长及增殖,肿瘤组织内部间隙压力升高,癌巢区淋巴管呈高压状态,受到肿瘤细胞挤压、入侵、破坏,导致微淋巴管受压、塌陷、萎缩,并丧失功能<sup>[19]</sup>。而癌巢周边区组织间隙压力较低,所产生的间质静水压较低,不足以使微淋巴管闭塞,使新生淋巴管多为扩张状,淋巴系统增生活跃,成为功能性淋巴管,为肿瘤细胞周边转移等提供了有利的条件<sup>[20]</sup>,肿瘤细胞可能通过这些淋巴管到达淋巴结,从而促进了肿瘤的淋巴结转移。Padera 等<sup>[21]</sup>研究认为:肿瘤内淋巴管受到肿瘤组织的破坏,仅残留部分内皮细胞,从而丧失了功能,肿瘤通过侵袭癌旁具有功能性的淋巴管而实现转移,与我们的研究结果基本一致。Nitti 等<sup>[22]</sup>也认为瘤内微淋巴管为无功能的淋巴管,与肿瘤的转移无关,而肿瘤周边的微淋巴管则具有功能,可导致肿瘤的转移,因此,我们认为在下咽鳞状细胞癌中,癌巢周边区淋巴管可能是引起肿瘤转移的功能性淋巴

管,在局部淋巴结的转移过程中可能发挥重要的作用,通过检测癌巢周边区的 MLVD 可能作为预测是否存在淋巴结转移的一个重要指标。

Yoon 等<sup>[23]</sup>研究发现 claudin-1 过表达可增强 MMP-2 的表达和活性,MMP-2 能有效促进血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor,VEGF)-C, VEGF-D 的释放,使 VEGF-C, VEGF-D 表达上调<sup>[24]</sup>,而 VEGF-C 和 VEGF-D 是目前公认的主要的淋巴管生成调节因子,通过与血管内皮生长因子受体(vascular endothelial growth factor receptor, VEGFR)-3 结合而特异性引起淋巴管的增生与新淋巴管的形成<sup>[25]</sup>。目前认为肿瘤诱导的微淋巴管生成是肿瘤淋巴管转移的重要部分<sup>[26]</sup>,这些新生成的微淋巴管结构简单,仅由单层内皮细胞组成,无基底层,细胞间 TJ 较少,这些均有利于肿瘤细胞进入淋巴管。同时微淋巴管生成导致 MLVD 增加,细胞-细胞之间的黏附力下降,使癌细胞更容易自原发灶释放脱落,更容易接近微淋巴管,浸润并侵入微淋巴管,经淋巴道转移进入区域淋巴结,从而发生淋巴结转移<sup>[27]</sup>。

本研究发现:在下咽鳞癌癌巢周边区中,claudin-1 阳性表达的 MLVD 明显高于 claudin-1 阴性表达组,差异具有统计学意义,考虑 claudin-1 过表达可能通过增强 MMP-2 的表达,导致 VEGF-C, VEGF-D 的释放和表达上调,通过特定的途径,特异性引起淋巴管的增生与新淋巴管的形成,导致 MLVD 增加,同时,claudin-1 过表达抑制了 E-cadherin 表达,后者表达降低,细胞-细胞间的粘附力下降,使肿瘤细胞更容易自原发灶脱落,接近微淋巴管,浸润并侵入相邻微淋巴管,经淋巴管转移进入淋巴结,从而导致淋巴结转移。

综上所述,我们发现 claudin-1 在下咽鳞状细胞癌中存在过表达现象,并且与下咽癌的分化程度及淋巴结转移均有关,同时,claudin-1 阳性表达的 MLVD 明显高于 claudin-1 阴性表达组,考虑淋巴结转移与 MLVD 有关,高表达 claudin-1 可能会诱导肿瘤淋巴管生成,从而促进淋巴结转移。此外,claudin-1 与患者的生存率相关,可作为下咽鳞状细胞癌术后的监测指标,可能成为下咽鳞状细胞癌治疗的一个新的靶点。

#### 参考文献:

[1] 宁文娟,李正江.晚期下咽癌喉功能保留的临床进展[J].中华

- 耳鼻咽喉头颈外科杂志,2020,55(5):554-558.
- [2] 周梁. 下咽癌的治疗进展[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2019,25(4):333-338.
- [3] Heiskala M, Peterson PA, Yang Y. The roles of claudin superfamily proteins in paracellular transport[J]. Traffic, 2001, 2(2):93-98.
- [4] 沈源, 保丽玲, 吴桂霞, 等. 淋巴管密度、微血管密度与 VEGF 在胃癌中的生物学意义[J]. 暨南大学学报(自然科学与医学版), 2018, 39(3):223-228.
- [5] Liang H, Giorgadze R, Bellucci K, et al. D2-40 is highly expressed in primary skin adnexal carcinomas but negative in adenocarcinoma metastases to skin[J]. Mod Pathol, 2005, 18(Suppl 1):86A.
- [6] 金浩, 刘会春, 周少波, 等. Claudin-1 在胆囊癌中的表达及意义[J]. 蚌埠医学院学报, 2012, 37(1):22-24.
- [7] Weidner N. Intratumor microvessel density as a prognostic factor in cancer[J]. Am J Pathol, 1995, 147(1):9-19.
- [8] Osanai M, Takasawa A, Murata M, et al. Claudins in cancer: bench to bedside[J]. Pflugers Arch, 2017, 469(1):55-67.
- [9] Dhawan P, Singh AB, Deane NG, et al. Claudin-1 regulates cellular transformation and metastatic behavior in colon cancer[J]. J Clin Invest, 2005, 115(7):1765-1766.
- [10] 张承敏, 斯琴, 贾立周. Claudin-1 与卵巢癌相关性的研究进展[J]. 内蒙古医科大学学报, 2014, 36(2):193-196.
- [11] 贾志伟, 邢贺楠, 刘晓川, 等. Claudin-1 和 E-cadherin 蛋白在大肠癌组织中的表达及临床意义[J]. 癌症进展, 2019, 17(13):1583-1585.
- [12] Dos Reis PP, Bharadwaj RR, Machado J, et al. Claudin 1 overexpression increases invasion and is associated with aggressive histological features in oral squamous cell carcinoma[J]. Cancer, 2008, 113(11):3169-3180.
- [13] Oku N, Sasabe E, Ueta E, et al. Tight junction protein CLDN1 enhances the invasive activity of oral squamous cell carcinoma cells by promoting cleavage of laminin-5 gamma2 chain via matrix metalloproteinase (MMP)-2 and membrane-type MMP-1[J]. Cancer Res, 2006, 66(10):5251-5257.
- [14] de la Peña S, Sampieri CL, León-Córdoba K. Matrix metalloproteinases as molecular markers in gastric cancer[J]. Med Clin (Barc), 2010, 134(3):123-126.
- [15] Kahn HJ, Bailey D, Marks A. Monoclonal antibody D2-40, a new marker of lymphatic endothelium, reacts with Kaposi sarcoma and a subset of angiosarcomas[J]. Mod Pathol, 2002, 15(4):434-440.
- [16] Braun M, Flucke U, Debal M, et al. Detection of lymphovascular invasion in early breast cancer by D2-40 (podoplanin): a clinically useful predictor for axillary lymph node metastases[J]. Breast Cancer Res Treat, 2008, 112(3):503-511.
- [17] Yonemura Y, Endou Y, Tabuchi K, et al. Evaluation of lymphatic invasion in Primary gastric cancer by a new monoclonal antibody D2-40[J]. Hum Pathol, 2006, 37(9):1193-1199.
- [18] Beasley NJ, Prevo R, Banerji S, et al. Intratumoral lymphangiogenesis and lymph node metastasis in head and neck cancer[J]. Cancer Res, 2002, 62(5):1315-1320.
- [19] Jain RK, Fenton BT. Intratumoral lymphatic vessels: a case of mistaken identity or malfunction? [J]. J Natl Cancer Inst, 2002, 94(6):417-421.
- [20] Kandemir NO, Barut F, Bektas S, et al. Can lymphatic vascular density be used in determining metastatic spreading potential of tumor in invasive ductal carcinomas? [J]. Pathol Oncol Res, 2012, 18(2):253-262.
- [21] Padera TP, Kadambi A, di Tomaso E, et al. Lymphatic metastasis in the absence of functional intratumor lymphatics[J]. Science, 2002, 296(5574):1883-1886.
- [22] Nitti D, Marchet A, Olivieri M, et al. Ratio between metastatic and examined lymph nodes is an independent prognostic factor after D2 resection for gastric cancer: analysis of a large European monoinstitutional experience[J]. Ann Surg Oncol, 2003, 10(9):1077-1085.
- [23] Yoon CH, Kim MJ, Park MJ, et al. Claudin-1 acts through c-Abl-protein kinase C delta (PKCdelta) signaling and has a causal role in the acquisition of invasive capacity in human liver cells[J]. J Biol Chem, 2010, 285(1):226-233.
- [24] Park DY, Sol MY, Suh KS, et al. Expressions of transforming growth factor (TGF)-beta and TGF-beta type II receptor and their relationship with apoptosis during chemical hepatocarcinogenesis in rats[J]. Hepatol Res, 2003, 27(3):205-213.
- [25] Shida A, Fujioka S, Kobayashi K, et al. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) C and D in gastric carcinoma[J]. Int J Clin Oncol, 2006, 11(1):38-43.
- [26] Kumada T, Tsuneyama K, Hatta H, et al. Improved 1-h rapid immunostaining method using intermittent microwave irradiation: practicability based on 5 years application in Toyama Medical and Pharmaceutical University Hospital[J]. Mod Pathol, 2004, 17(9):1141-1149.
- [27] Kim H, Dumont DJ. Molecular mechanisms in lymphatic angiogenesis: model systems and implications in human disease[J]. Clin Genet, 2003, 64(4):282-292.

(收稿日期:2020-07-17)

**本文引用格式:**李武杰, 李大军, 张樊苹, 等. 下咽鳞状细胞癌组织 claudin-1 的表达及与微淋巴管生成的关系[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2021, 27(3):294-299. DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.202103150

**Cite this article as:**LI Wujie, LI Dajun, ZHANG Fanping, et al. Relationship between expression of claudin-1 and micro-lymphatic vessel density in hypopharyngeal squamous cell carcinoma[J]. Chin J Otorhinolaryngol Skull Base Surg, 2021, 27(3):294-299. DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.202103150