

血管内皮生长因子表达与肝癌患者临床病理特征及预后的关系研究

张 义^{1,2△}, 陈华阳^{3#}, 张长茂², 鲍 清⁴, 梁安民^{5△}

(北京中医药大学厦门医院 1. 外二科; 3. 肛肠外科, 厦门 361009; 2. 福建医科大学附属协和医院肝胆外科, 福州 350001; 4. 厦门大学附属中山医院肝胆外科, 厦门 361000; 5. 广西医科大学附属肿瘤医院肝胆外科, 南宁 530021)

摘要 目的: 研究肝细胞肝癌(HCC)组织中血管内皮生长因子(VEGF)表达与患者临床病理特征及预后的关系。方法: 采用免疫组织化学染色法检测 79 例在广西医科大学附属肿瘤医院行肝癌根治性切除术的 HCC 患者癌组织中 VEGF 的表达情况, 分析 VEGF 表达与树突状细胞(DC)浸润程度、肿瘤大小、癌栓、包膜、血清 AFP 水平及术后肝外转移的关系, 随访患者术后生存情况及肿瘤复发情况。结果: 79 例 HCC 患者中, VEGF 低表达 43 例(54.4%), 高表达 36 例(45.6%)。VEGF 表达与 DC 浸润程度、肿瘤直径及血清 AFP 水平有关($P < 0.05$), 与年龄、性别、肿瘤分化程度、包膜完整性、有无癌栓、术后远处转移情况无关($P > 0.05$)。VEGF 高表达组 2 年内复发率为 83.3%(30/36), 明显高于 VEGF 低表达组的 60.5%(26/43), 差异有统计学意义($P < 0.05$)。VEGF 高表达组平均生存时间为(34.33±4.60)个月, VEGF 低表达组平均生存时间为(35.30±3.90)个月, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论: VEGF 与癌组织 DC 浸润程度、肿瘤直径及血清 AFP 水平有关, 其在 HCC 组织中高表达可能增加肝癌术后短期复发风险, 可作为肝癌早期复发预警指标。

关键词 肝细胞肝癌; 血管内皮生长因子; 树突状细胞; 复发; 转移; 预后

中图分类号: R735.7 文献标志码: A 文章编号: 1005-930X(2018)07-0944-04

DOI: 10.16190/j.cnki.45-1211/r.2018.07.011

Relationship between vascular endothelial growth factor expression and clinicopathologic features of patients with hepatocellular carcinoma

Zhang Yi^{1,2}, Chen Huayang³, Zhang Changmao², Bao Qing⁴, Liang Anmin⁵. (1. The 2nd Surgical Department; 3. Department of Anorectal Surgery, Xiamen Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Xiamen 361009, China; 2. Department of Hepatobiliary Surgery, The Affiliated Xiehe Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, China; 4. Department of Hepatobiliary Surgery, The Affiliated Zhongshan Hospital of Xiamen University, Xiamen 361000, China; 5. Department of Hepatobiliary Surgery, The Affiliated Tumour Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, China)

Abstract Objective: To study the relationship between the expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and clinicopathologic features and prognosis of patients with hepatocellular carcinoma (HCC).

Methods: VEGF protein expression was examined by immunohistochemistry in tumor tissues from 79 HCC patients undergoing curative resection. Furthermore, the relationships between VEGF expression and clinicopathologic features or postoperative survival of HCC patients were evaluated.

Results: Low VEGF expression was detected in 54.4% (43/79) of patients with HCC, and high expression was detected in 45.6% (36/79) of patients. VEGF expression was significantly correlated with degree of dendritic cell (DC) infiltration, tumor size, and serum AFP level ($P < 0.05$), but not with age, gender, degree of tumor differentiation, integrity of capsule, presence of tumor thrombus, and postoperative distant metastasis ($P > 0.05$). Patients with high VEGF expression had higher 2-year recurrence rate than patients with low VEGF expres-

sion (83.3% vs. 60.5%) ($P < 0.05$). No significant difference in mean survival time between the high and low VEGF expression groups [(34.33±4.60) months vs. (35.30±3.90) months, $P > 0.05$]. **Con-**

共同第一作者

△通信作者

收稿日期: 2018-04-14

clusion: VEGF expression was correlated with DC infiltration, tumor size and serum AFP level in HCC patients. High VEGF expression might increase the risk of postoperative recurrence. It suggested that VEGF could be an indicator of early recurrence in HCC.

Keywords hepatocellular carcinoma; vascular endothelial growth factor; dendritic cell; metastasis; recurrence; prognosis

原发性肝癌的发病率在全球恶性肿瘤中居第6位,病死率居第2位^[1]。肝细胞性肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是原发性肝癌中最常见的病理类型。原发性肝癌发展快,患者预后差,若不及时治疗,自然生存期平均仅4.3个月,即使手术切除,5年生存率也仅为37.2%。影响肝癌手术疗效的主要原因是术后复发和转移,而肿瘤血管的形成、机体免疫抑制是肝癌生长浸润、复发转移的重要原因^[2]。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)作为一种信号蛋白,一方面通过刺激内皮细胞增殖从而促进肿瘤新生血管的形成。另一方面,可通过抑制树突状细胞(dendritic cell, DC)来降低肿瘤宿主局部的免疫应答^[3]。有研究表明,VEGF的表达与多种肿瘤的侵袭转移相关^[4-5]。本研究通过检测79例HCC患者癌组织中VEGF表达情况,探讨其与HCC临床病理特征及预后的关系。

1 资料与方法

1.1 样本来源 79例肝癌组织样本来源于1997年1月至2003年1月在广西医科大学附属肿瘤医院肝胆外科行肝癌根治性切除的HCC患者。79例患者中,男76例,女3例;年龄23~69岁,平均49.3岁;其中小肝癌28例,大肝癌38例,巨型肝癌13例。所有患者入院前均未接受其他治疗干预,术后均接受2年以上随访,且临床病理资料完全。

1.2 免疫组织化学染色方法 采用免疫组化法检测癌组织中VEGF的表达。组织标本用10%甲醛溶液固定24h后,常规脱水,石蜡包埋,行4 μ m厚连续切片。10 mmol/L、pH为6.0的柠檬酸缓冲液高温高压抗原修复。自然冷却后,PBS冲洗,3%过氧化氢封闭内源性过氧化物酶,加一抗4 $^{\circ}$ C孵育过夜,PBS液冲洗后加二抗孵育30 min。DAB显色,中性树脂胶封片,显微镜下观察。抗VEGF鼠抗人单克隆抗体购于上海长岛公司。由两位病理科医生以双盲法阅片,如两者意见不一,由第3位更高年资病理科医生判定。

结果判定方法:VEGF阳性的信号为棕黄色颗

粒状物质,表达于肝癌细胞质内,高倍镜($\times 400$)下随机选取10个视野,根据每个视野中阳性细胞百分率和染色强度进行半定量分析。染色强度:无染色0分,染色弱但强于阴性对照记1分,染色清晰记2分;阳性细胞数 $< 10\%$ 记0分,10%~30%记1分, $> 30\%$ 记2分,两项积分之和为VEGF最终评分。取中位数,评分 $>$ 中位数为高表达,评分 \leq 中位数为低表达。

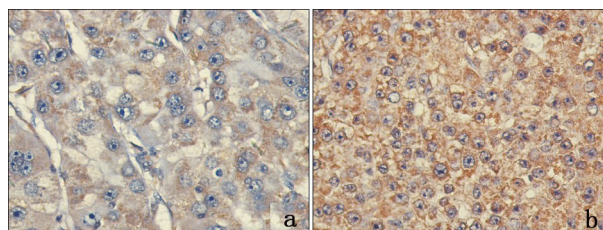
1.3 术后随访 对所有患者进行随访,术后随访至患者死亡或2007年4月1日。随访方式为住院复查或门诊复查,未能按时复查者则信访或(和)电话追踪。复发标准以影像学检查(B超、CT或MRI等)和AFP升高为主要依据,如诊断有疑问,则进一步行肝动脉造影或穿刺活检以确诊,单纯AFP升高不作为复发事件出现的标准。

1.4 临床病理资料收集 收集患者的临床和病理学资料,包括性别、年龄、血清AFP水平、肿瘤大小、包膜是否完整、分化程度、DC浸润程度等。

1.5 统计学方法 采用SPSS 18.0统计软件进行数据分析,计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 t 检验;计数资料以频数或百分率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验,采用Kaplan-Meier方法分析VEGF表达与HCC总生存期的关系,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 VEGF在肝癌组织中的表达 VEGF蛋白表达于细胞质(图1)。79例HCC患者中,VEGF低表达43例(54.4%),高表达36例(45.6%)。



a: VEGF低表达,可见细胞质呈浅黄色着色;b: VEGF高表达,可见细胞质大量棕黄色着色。

图1 VEGF在肝癌组织中的表达(免疫组织化学染色, $\times 400$)

2.2 VEGF 表达与肝癌患者临床病理特征的关系

VEGF 表达与 DC 浸润程度、肿瘤直径及血清 AFP 水平有关 ($P < 0.05$), 与年龄、性别、肿瘤分化程度、包膜完整性、有无癌栓、术后有无远处转移情况无关 ($P > 0.05$), 见表 1。

表 1 VEGF 表达与肝癌患者临床病理特征的关系

临床特征	n	VEGF		P
		高表达 (n=36)	低表达 (n=43)	
年龄/岁	<55	54	25	0.851
	≥55	25	11	
性别	男	76	34	0.589
	女	3	2	
肿瘤直径/cm	<5	28	9	0.032
	5~10	38	18	
	≥10	13	9	
分化程度	低分化	19	11	0.097
	中分化	48	22	
	高分化	12	3	
DC 浸润	少量	38	28	0.000
	大量	41	8	
血清 AFP 水平/(μg/L)	<400	47	17	0.043
	≥400	32	19	
癌栓	有	8	2	0.280
	无	71	34	
肿瘤包膜	完整	31	13	0.697
	不完整	48	23	
术后远处转移	有	27	10	0.278
	无	52	26	

2.3 随访情况 术后随访 2 年, 79 例患者的随访率为 100%。VEGF 高表达组 2 年内复发率为 83.3% (30/36), 明显高于 VEGF 低表达组的 60.5% (26/43), 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。对 79 例患者进行 Kaplan-Meier 生存分析, VEGF 高表达组平均生存时间为 (34.33 ± 4.60) 个月, VEGF 低表达组平均生存时间为 (35.30 ± 3.90) 个月, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

3 讨论

VEGF 是一种与肝素结合的糖蛋白, 相对分子量为 34~42 ku。目前已知 VEGF 多肽生长因子家族有 6 个成员: VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D、胎盘生长因子 (placenta growth factor, PIGF) 及 VEGF-E。VEGF 由肿瘤细胞分泌, 可与血管内皮细胞上的受体结合, 诱导血管生成, 从而维持肿瘤的持续生长。研究发现, 乳腺癌、胃癌、大肠

癌、非小细胞肺癌等恶性肿瘤中 VEGF 表达均显著增加, 而在正常组织中呈低表达, 并且 VEGF 表达水平升高会影响肿瘤患者的预后^[6]。本研究发现, VEGF 高表达组肿瘤直径大于 VEGF 低表达组, 且血清 AFP 水平较高。表明肝癌细胞分泌的 VEGF 可促进肿瘤新生血管的形成, 从而促使肿块持续增大。

DC 是一种专职的抗原提呈细胞, 其将抗原信息提呈给 T 细胞, 进而诱导免疫反应。在多种肿瘤组织中均可见肿瘤浸润性 DC, 其浸润程度、数量与预后相关。DC 可通过多种途径发挥抗肿瘤作用: (1) 加工、提呈肿瘤抗原, 激活细胞毒性 T 淋巴细胞、巨噬细胞和自然杀伤细胞, 释放端粒酶、穿孔素等, 裂解肿瘤细胞; (2) 表达肿瘤坏死因子 (TNF), TNF 凋亡相关配体 (TRAIL) 或释放一氧化氮 (NO), 直接导致肿瘤细胞凋亡或坏死; (3) DC 分泌趋化因子, 专一趋化初始型 T 细胞聚集, 增强 T 细胞激活, 释放抗血管生成物质 (如 IL-12、IFN-γ) 及前血管生成因子, 抑制肿瘤血管形成, 最终抑制肿瘤生长。有研究显示, 胃癌患者血清 VEGF 水平显著升高, 同时外周血及引流淋巴结内成熟 DC 的数量显著减少^[7]。本研究发现, VEGF 在 DC 少量浸润癌组织中呈高表达 ($P < 0.05$)。说明肝癌细胞分泌的 VEGF 可能抑制 DC 在肝癌组织中浸润。本课题组前期研究发现, 肿瘤浸润的 DC 存在功能缺陷, 其表面分子 HLA-DR、CD54、CD80 等共刺激因子和黏附因子表达降低, 这可能与肝癌细胞分泌 VEGF、转化生长因子 (TGF)-β1 和白介素 (IL)-10 有关^[8]。可见, VEGF 不仅影响 DC 在组织中的浸润, 还影响 DC 的功能, 其机制有待进一步研究。

不同时间段内患者复发的原因不同, 常以术后 2 年为临界点。术后 2 年内复发多由于原发肝癌病灶切除不彻底, 肝癌切除前已发生转移, 或患者术后免疫力低下。肿瘤新生血管的形成可促进微转移, 微小残余病灶及新发肿瘤快速生长, 进而出现可探查到的复发病灶。本研究结果显示, VEGF 高表达组 2 年复发率显著高于 VEGF 低表达组 ($P < 0.05$), 但两组平均生存时间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。提示 VEGF 表达并不能影响肝癌总生存期, 仅能促使肝癌术后近期复发, 这与文献报道的结果一致: 国外多项临床研究显示, 针对 VEGF 或 VEGFR 的抗血管生成药物 (贝伐单抗、利尼伐尼布、布伐万尼和雷米昔单抗) 远期疗效较差^[9-10]。

综上所述, 肝癌组织中 VEGF 的表达增高, DC

浸润程度降低,患者早期复发风险增加。VEGF 可作为早期复发的预警指标。

参考文献:

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer Statistics, 2017[J]. CA Cancer J Clin, 2017(67):7-30.
- [2] PANG T C, LAM V W. Surgical management of hepatocellular carcinoma[J]. World J Hepatol, 2015(7):245-252.
- [3] GOEL H L, MERCURIO A M. VEGF targets the tumour cell[J]. Nat Rev Cancer, 2013, 13(12):871-882.
- [4] CHEN S, ZHANG X, PENG J, et al. VEGF promotes gastric cancer development by upregulating CRMP4[J]. Oncotarget, 2016, 7(13):17074-17086.
- [5] DAS M, WAKELEE H. Targeting VEGF in lung cancer[J]. Expert Opin Ther Targets, 2012, 16:395-406.
- [6] KIM M S, PARK T I, LEE Y M, et al. Expression of Id-1 and VEGF in non-small cell lung cancer[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2013, 6(10):2102-2111.
- [7] TSUJITANI S, KAKEJI Y, WATANABE A, et al. Infiltration of dendritic cells in relation to tumor invasion and lymph node metastasis in human gastric cancer[J]. Cancer, 1990, 66(9):2012-2016.
- [8] LUO X L, LIANG A M, GE L Y, et al. Influence of dendritic cell infiltration on prognosis and biologic characteristics of primary liver cancer[J]. J Hunan Normal Univ Med Sci, 2006(3):20-23.
- [9] RAOUL J L, GILBERT M, ADHOUTE X, et al. An in-depth review of chemical angiogenesis inhibitors for treating hepatocellular carcinoma [J]. Expert Opin Pharmacother, 2017, 18(14):1467-1476.
- [10] HUBBARD J M, MAHONEY M R, LOUI W S, et al. Phase I/II randomized trial of sorafenib and bevacizumab as first-line therapy in patients with locally advanced or metastatic hepatocellular carcinoma: North Central Cancer Treatment Group trial N0745 (Alliance)[J]. Target Oncol, 2017, 12(2):201-209.

(本文编辑: 禚霏霏)

广西医科大学学报 2018 July;35(7)

冻干重组人脑利钠肽对缺血性心肌病合并心力衰竭患者神经内分泌激素及心室重构的影响

李 玮¹, 穆少丽²

(1. 陕西省汉中市中心医院, 汉中 723000; 2. 陕西省汉中市三二〇一医院, 汉中 723000)

摘要 目的:探讨冻干重组人脑利钠肽(rh-BNP)治疗缺血性心肌病(ICM)合并心力衰竭(HF)的临床疗效及对患者神经内分泌激素、心室重构的影响。方法:将120例ICM合并HF患者随机分为观察组和对照组,每组60例。对照组给予常规治疗,观察组在常规治疗基础上加用rh-BNP治疗。比较两组临床疗效,治疗前、后测定神经内分泌激素水平,超声检查心功能及心室重构参数。结果:观察组治疗总有效率为95.00%,明显高于对照组的80.00%($P < 0.05$)。治疗后,观察组左室射血分数(LVEF)显著高于对照组($P < 0.05$),Tei指数、左室舒张末期内径(LVEDD)、左室收缩末期内径(LVESD)、左室舒张末期容积(LVEDV)、左室收缩末期容积(LVESV)、左室后壁厚度(LVPWT)、心室间隔收缩末期厚度(IVSS)、左心室后壁收缩末期厚度(PWS)及左室心肌质量指数(LVMI)均显著低于对照组($P < 0.05$);治疗后,观察组血浆氨基末端脑钠肽前体(NT-proBNP)、内皮素-1(ET-1)、血管紧张素II(Ang II)、去甲肾上腺素(NE)、醛固酮(ALD)显著低于对照组($P < 0.05$)。结论:rh-BNP可通过改善ICM合并HF患者的心功能,调节神经内分泌激素水平,抑制心室重构,提高临床疗效。

关键词 缺血性心肌病;心力衰竭;冻干重组人脑利钠肽;神经内分泌激素;心室重构

中图分类号:R542.2;R541.6 文献标志码:A 文章编号:1005-930X(2018)07-0947-05

DOI:10.16190/j.cnki.45-1211/r.2018.07.012

The influence of lyophilized recombinant human brain natriuretic peptide on neuroendocrine hormones and ventricular remodeling in patients with ischemic cardiomyopathy and heart failure

Li Wei¹, Mu Shaoli². (1. The Central Hospital of Hanzhong, Hanzhong 732000, China; 2. The

收稿日期:2018-01-16