

血清血管内皮因子浓度检测 在恶性肿瘤预后监测中的意义

许平,刘树刚,陈宇萍,刘卉

摘要:目的 研究人血管内皮因子的浓度与恶性肿瘤之间的关系。方法 用自制备的 VEGF 多克隆抗体对 342 例肿瘤患者与正常人群血清 VEGF 浓度进行检测。结果 恶性肿瘤血清 VEGF 水平高于正常人 ($P < 0.01$), 另外对 122 例非小细胞肺癌患者血清 VEGF 水平进行了检测和动态观察, 结果显示血清 VEGF 浓度大于 $350 \mu\text{g/l}$ 的患者两年生存率低于血清浓度小于 $350 \mu\text{g/l}$ 的患者 ($P < 0.01$)。结论 VEGF 是重要的肿瘤血管生成因子, 其血清浓度的检测可作为评价肿瘤预后的一项有价值的指标, 并为抗肿瘤血管治疗提供一定参考。

关键词:人血管内皮生长因子;恶性肿瘤;预后

中图分类号:R730.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-8578(2002)04-0310-03

Significance of clinical determination of serum VEGF in prognosis of malignant tumor

XU Ping, LIU Shu-gang, CHEN Yu-ping, et al

Department of tumor, The Second Workers' Hospital,
Wuhan Steel & Iron Company, Wuhan 430084, China

Abstract: **Objective** To study the relationship between human VEGF level and malignant tumor. **Methods** We determined the serum VEGF with self-made VEGF monoclonal antibody in 342 patients of malignant tumor and normal persons. **Results** The serum VEGF level in the patients with malignant tumor were higher than that in normal person ($P < 0.01$). And we determined the serum VEGF level and did dynamic observation in 122 patients with non-small-cell lung cancer. The result showed that the two-year survival rate in patients with serum VEGF level higher than $350 \mu\text{g/l}$ was lower than that in the patients with serum VEGF level lower than $350 \mu\text{g/l}$ ($P < 0.01$). **Conclusion** VEGF is an important tumor vascular growth factor. The determination of its serum level can be a valuable index on tumor prognosis evaluation. And it can also provide some guidance in the anti-tumor-vessel therapy.

Keywords: VEGF; Malignant tumor; Prognosis

血管内皮生长因子(VEGF)是1989年Ferrara从牛垂体滤泡中的星状细胞体外培养液中首先纯化出来的。目前已知VEGF能特异作用于内皮细胞,也是作用最强的血管通透剂,能引起血管渗透性增加,促使纤维蛋白沉积于细胞外基质,促进新生血管形成^[1]。现已确认VEGF是肿瘤组织血管生成的主要调节因子^[2,3],常见的恶性实体瘤均有VEGF的过量表达。VEGF在肿瘤治疗与诊断中的研究已成为当前肿瘤研究的一个热点,VEGF在肿瘤组织中的过度表达可作为恶性肿瘤诊断与预后的重要指标。

1 材料与方法

1.1 检测对象 健康组:277例,男性147例,女性130例,年龄19~20岁(经AFP、CEA、 C_{125} 检测为阴性)恶性肿瘤组342例,男性236例,年龄24~86岁,女性106例,年龄25~78岁(恶性肿瘤均经过病理学诊断),上述病人来自我院住院病人及门诊病人,健康组来自学生。

1.2 血清血管内皮因子的检测 应用间接ELISA方法,采血方式:早上空腹抽静脉血2ml于普通干燥管,置室温下30min,1500转/min,离心15min分离血清,待测,用包被液PH9.60.05M碳酸缓冲液对血清进行 10^{-1} 稀释,包被过夜,次日,加入抗VEGF₁₆₅抗体,然后加入小孔的碱性磷酸酶标记的鼠抗兔二抗体,再加入TBM显色,终止反应后,在BIO-RAD₄₅₀型

收稿日期:2002-01-11;修回日期:2002-07-08

作者单位:430084 武汉,武钢二院肿瘤科

酶标仪器上采用 450 波长测定 OD 值。

1.3 准曲线绘制,取 RH-VEGF₁₆₅ 抗原含量。对应 OD 值 0.05,0.214,0.508,0.95,1.459 为纵座标,绘制标准曲线。

1.4 统计学处理 采用 ² 检验。

2 结果

2.1 健康组 277 例血清 VEGF 含量检验 经正态性检验,不属于正态分布($P < 0.01$)、采用百分数法计算,按 90% 为正常参考值上限。含量 150 μ g/l 为临界值。

2.2 342 例恶性肿瘤病人血清 VEGF 含量检测 癌症患者与正常人血清 VEGF 含量检测结果,见表 1。对照值与试验组测定值比较按 ² 统计其结果,见表 2。

表 1342 例恶性肿瘤 VEGF₁₆₅ 阳性率

病种	例数	阳性数	阳性率
肺癌	122	104	85.2%
肝癌	48	43	89.6%
肠癌	32	27	85%
乳腺癌	30	15	50%
胃癌	30	25	83.3%
食管癌	30	22	73%
胆管胰腺癌	10	8	80%
其他恶性肿瘤	40	34	85%
合计	342	28	81%

表 2 肿瘤病人组与正常对照组血清、VEGF 含量比较

分组	n	阳性数	比率 (%)	P*
癌症病人组	342	278	81	<0.001
正常人组	277	28	10.1	

* 正常人相比较呈显著性差异

2.3 122 例非小细胞肺癌血清 VEGF 含量与存活率分析 大细胞癌 20 例患者 VEGF 血清含量与存活率进行为期 24 个月的追踪观察其结果,见表 3。

表 3 122 例非小细胞肺癌血浆 VEGF 含量与存活率分析

	n	死亡数	存活率 (%)				P
			6 月	12 月	18 月	24 月	
NSCLC							
<350 μ g/l	94	24	100	92	83	74	<0.01
>350 μ g/l	28	21	86	71	39	25	
鳞癌							
<350 μ g/l	52	14	100	94	83	73	<0.05
>350 μ g/l	11	8	91	72	45	27	
腺癌							
<350 μ g/l	30	7	100	93	87	77	<0.05
>350 μ g/l	9	6	89	78	44	33	
大细胞癌							
<350 μ g/l	12	4	100	92	75	67	<0.05
>350 μ g/l	8	7	75	63	25	13	
合计	122	45	97	89	74	63	

3 讨论

血管内皮生长因子(VEGF)是由正常或肿瘤细胞产生的分子量为 34 ~ 50KD 的二聚体蛋白^[4]。Folkman 认为:实体肿瘤可以无血管小球体形式生长,直径达 1 ~ 2mm,尔后则需通过刺激周围正常组织的成血管反应来进一步生长^[5]。血管生成受控于多种血管生成因子。其中研究最多的是 VEGF。VEGF 是一种内皮细胞特异的致分裂原和肿瘤血管生成的诱导因子。是已知最强的血管渗透剂,促进包括血纤维蛋白的血浆蛋白的渗出,故 VEGF 对血管性肿瘤间质的产生具有重要的生物学作用,为血管内皮细胞的迁移及肿瘤细胞的转移提供基质^[6]。因此抑制血管形成,切断肿瘤形成和转移的“命脉”成为重要的抗癌战略^[7]。最近的研究表明在血管生成以前肿瘤细胞绝少进入循环,表明肿瘤转移亦是血管依赖的^[8]。Melnik 等^[9]通过动物实验发现抗 VEGF 抗体不仅能抑制原发肿瘤的生长,而且对远处转移的形成有抑制作用。VEGF 通过启动肿瘤血管生成,增加肿瘤的血管供应,进而影响肿瘤的侵袭,转移乃至预后。对乳腺癌、结肠癌、胃癌、肺癌、骨肉瘤的研究表明:VEGF 的高表达组比低表达组生存率低。

本研究应用 ELISA 方法对 277 例健康者,342 例肿瘤患者血清 VEGF 浓度进行了检测。以 150 μ g/l 为临界值,实验组在首次测定后半个月再作第 2 次测定以排除其他因素引起的机体血清 VEGF 浓度暂时升高。结果表明肿瘤患者血清 VEGF 浓度显著高于正常对照组,其阳性率为 81.3%。同时本研究对 122 例非小细胞肺癌血清 VEGF 含量与存活率进行了两年的动态观察,以 VEGF 血清含量 350 μ g/l 为临界值,发现 63 例肺鳞癌中 VEGF 血清含量大于 350 μ g/l,11 例(17.5%)2 年存活率仅为 27%,39 例肺腺癌中 VEGF>350 μ g/l,9 例,2 年存活率为 33%,20 例大细胞肺癌中 VEGF>350 μ g/l,8 例,2 年存活率为 13%,122 例非小细胞肺癌中 VEGF>350 μ g/l 的患者 2 年总存活率为 25%,而 122 例非小细胞肺癌血清 VEGF 含量 <350 μ g/l 的患者 2 年存活率为 74%。结果表明,122 例肺癌患者血清 VEGF 阳性率 89%,血清 VEGF 浓度大于 350 μ g/l 的患者存活率显著低于血清 VEGF 浓度小于 350 μ g/l 患者($P < 0.01$)。非小细胞肺癌 VEGF 的这种血清中高浓度与肺癌血管丰富和高度恶性的生物行为是一致的。结果提示:VEGF 浓度的检测是判断非小细胞肺癌及其他肿瘤预后的一项有意义的指标。由于 VEGF 的水平与血管形成及肿瘤生长密切相关,可望利用 VEGF 抗体及受体拮抗剂阻断肿瘤血供诱导肿瘤细胞凋亡^[10]。通过对血清 VEGF 浓度的检测可为该治疗方法提供可靠的治疗诊断依据,预计抗血管生成治疗

和其他治疗方法的联合作用,将会在很大程度上提高肿瘤的总生存率。

参考文献:

- [1] 穆尼热,刘景晶.重组血管内皮生长因子的研究进展[J].药物生物技术,2000,7(3):190-192.
- [2] DenedanpJ.an giogenesis,neovascular proliferationandvascular pathophysiologyastat getsforcancertherapy[J].Br -J- Radiol. 1993,66 (783):181-96.
- [3] WeidnerN,Sem pleJP,WelchWR,etal.Tumoran giogenesisand metastasis-correlationinbreastcarcinoma[J].N - EngJMed, 1991,324 (1):1-8.
- [4] HouckKA,FerraraN,Viner -j,etal.Thevascularendothelial growth,factorfamil g:identificationofafourthmoleculars pecific andcharacterizationofalternatives plicingofRNA[J].Molen - dorind,1991,5 (12):1806-1814.
- [5] FolkmanJ,WetsonK.In gherD,etal.Inducationofan giogenesis duringthetransitionfromh yperlasiatoneo plasia[J].Nature, 1989,339 (6219):58-61.
- [6] NeufeldG,CohenT,Gen griovitchS,etal.Vascularendothelial growthfactor (VEFG)anditsreceptors.FASEBJ,1999,13 (1):9-22.
- [7] Kimk -J,Li -B,Winer -J;etal.Inhibitionofvascularendothelial growthfactor -inducedan giogenesisinssu ppresses tumour growthin vivo[J].Nature,1993,362 (6423):841-844.
- [8] Borgstrom-P,Hillan, -K-J,Sriramarao -P,etal.Com pleteinhibition ofan giogenesisand growthofmicrotumorsb yanti -vascularen - dothelial growthfactorneutralizin gantibody:novelconce ptsofan - giostatictherapyfromintravitalvideomicroscob y[J].CancerRes, 1996,56 (17):4032-4039.
- [9] Goldman-C-K,Kendall -R-L,Cabrera -G,etal.Paracrineex pression ofanativesoluble[J].ProcNatAcadSciUSA,1998,95 (15): 8795-8880.
- [10] Cher-B-P,Hai -T.Ex pressionvectorsforaffinity purificationand radiolabelingof proteinsin Escherichiacoliashost[J].Gene, 1994,139 (1):73-75.

(周永红校对)

(上接第 309 页)

到了治疗效果。本瘤苗制作过程相对简单,而且成本较低,实验结果表明治疗效果较好,具有进一步研究开发的价值。

参考文献:

- [1] GretenTF,JaffeeEM.Cancervaccine[J].JClinOncol,1999,17 (3):1047-1060.
- [2] ShimizuK,ThomasEK,GiedlinM,etal.Enhancementoftumor lysate-and peptide-pulseddendriticcell -basedvaccinesb ytheaddition of foreignhel per protein[J].CancerRes,2001,61 (6):2618-2624.
- [3] GajewskiTF,FallarinoF,AshikariA,etal.ImmunizationofHLA - A2+melanoma patientswithMAGE -3orMelA peptide-pulsed autologous peripheralbloodmononuclearcells plusrecombinanthumaninterleukin12[J].ClinCancerRes,2001,7 (3Supple):895s-901s.
- [4] VermorkenJB,ClasessenAME,TinterenHV,etal.Active specific immunotherapyforstage andstage humancoloncancer:arandomizedtrial.Lancet[J],1999,353 (4):345-350.
- [5] AdlerA,SchachterJ,BarenholzY,etal.Allogeneichumanliposomal melanovaccinewithorwithoutIL -2inmetastaticmelanoma patients:clinicalandimmunobiologicaleffect[J].Cancerbiother, 1995,10 (4):293-306.
- [6] BelliF,ArientiF,SulesusoJ,etal.Activeimmunizationof metastaticmelanoma patientswithinterleukin -2transducedallogeneicmelanomacells:evaluationofefficacyandtolerability[J]. CancerImmunolImmunother,1997,44 (2):197-203.
- [7] FentonRG,SteisRG,MadaraK:A phaseI randomizedstudy of subcutaneousadjuvantIL -2incombinationwithanautologous tumorm vaccinein patientswithadvancedrenalcellcarcinoma[J].J ImmunotherEm phasisTumorImmunol,1996,19 (5):364-374.
- [8] PomerS,ThieleR,StachlerG.Tumovaccinationinrenalcell carcinoma withandwithoutinterleukin -2 (IL-2) adjuvant.A clinicalcontributiontothedevelopmentofeffectiveactive specific immunization[J].Urology,1995,34 (4):215-220.
- [9] SoiflerR,LynchT,MihmM,etal.Vaccinationwithirradiatedautologousmelanomacellsengineeredtosecretehuman granulocyte-Macrophagecolony-stimulating factor generates potent antitumor immunity in patientswithmetastaticmelanoma[J].ProcNatAcad SciUSA,1998,95 (22):3141-3146.
- [10] LeongSP,EncersZP,ZhouYM.Recombinanthuman granulocyte macrophagecolony-stimulating factor (rhGM-CSF) andautologous melanovaccinemediated tumoregression in patientswith metastaticmelanoma[J].JImmunother,1999,22 (2):166-174.
- [11] AsselirPaturelC,PardouxC,Ga yF,etal.FailureofTGFbeta -1andIL -12to regulatehumanFasL andmTNFalloreactivecytotoxicT -cell pathways[J].TissueAntigens,1998,51 (3):242-249.
- [12] KimMS,LeeJ,SoHS,etal.Gamma -interferon (IFN-gamma) augments apoptoticresponsetomistletoelectin -IIviaupregulation ofFas/FasL expressionandcaspaseactivationinhumanmelanoid U937cells[J].ImmunopharmacolImmunotoxicol,2001,23 (1): 55-66.

(贺文校对)