

晚期胃癌患者化疗前血清 VEGF 和内皮抑素水平及其临床意义

刘金菊¹, 王秀闻², 张灵智¹, 王 珍¹

(1.临沂市肿瘤医院, 山东 临沂 276000; 2.山东大学齐鲁医院, 山东 济南 250012)

摘要: [目的] 探讨晚期胃癌患者化疗前血清血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和内皮抑素(endostatin)的水平及其临床意义。[方法] ELISA 法检测 38 例晚期胃癌患者化疗前血清 VEGF 和 endostatin 的水平, 并以慢性胃炎患者和健康人群作对照。[结果] 晚期胃癌患者化疗前血清 VEGF 和 endostatin 水平显著高于慢性胃炎患者和健康人群 (P 均 <0.01)。VEGF 水平高的胃癌患者其 endostatin 水平也相应升高, 两者呈正相关 ($r=0.7549$, $P<0.01$), 且两者水平与患者年龄、性别无明显相关 (P 均 >0.05), 而与病理类型、细胞分化程度及患者预后相关 (P 均 <0.05)。[结论] VEGF 和 endostatin 参与了肿瘤血管的生成, 与胃癌的临床病理生理相关, 对评价患者预后有一定的参考价值。

关键词: 胃肿瘤; 血管内皮生长因子; 内皮抑素

中图分类号: R735.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2015)09-0721-04

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2015.09.B004

The Levels of Serum Vascular Endothelial Growth Factor and Endostatin in Patients with Advanced Gastric Cancer Before Chemotherapy and Their Clinical Significance

LIU Jin-ju¹, WANG Xiu-wen², ZHANG Ling-zhi¹, et al.

(1.Linyi Tumor Hospital, Linyi 276001, China; 2.Qilu Hospital of Shandong University, Jinan 250012, China)

Abstract: [Purpose] To investigate the levels of serum vascular endothelial growth factor(VEGF) and endostatin in patients with advanced gastric cancer before chemotherapy and their clinical significance. [Methods] Serum VEGF and endostatin in 38 cases with advanced gastric cancer before chemotherapy were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The cases with chronic gastritis and healthy persons were as controls. [Results] The serum levels of VEGF and endostatin in patients with advanced gastric carcinoma before chemotherapy were significantly higher than those in patients with chronic gastritis and healthy controls ($P<0.01$). There was a significant positive correlation between serum VEGF and endostatin levels, and the correlation coefficient was 0.7549($P<0.01$). The serum levels of VEGF and endostatin were not related to patients' age, gender ($P>0.05$), but were closely related to pathological type, grade and prognosis of the patients ($P<0.05$). [Conclusion] VEGF and endostatin involve in the angiogenesis of tumor, correlate with clinical pathophysiology and have certain reference value for the prognosis evaluation in patients with gastric cancer.

Subject words: gastric neoplasms; vascular endothelial growth factor(VEGF); endostatin

我国是胃癌大国, 每年新发病例占全世界的 52.1%, 居消化道肿瘤发病率的首位^[1]。由于胃癌缺乏早期有效的诊断方法, 就诊患者绝大多数属于进展期或晚期胃癌, 预后较差。胃癌的浸润和转移是患者死亡的主要原因。肿瘤的生长和转移受多种因

素影响, 其中肿瘤的血管生成起着极其重要的作用, 而这一过程依赖于内源性刺激因子和抑制因子之间的平衡。血管内皮生长因子(VEGF)和内皮抑素(endostatin)分别是目前已知作用最强的血管生成促进因子和抑制因子。作者通过监测晚期胃癌患者血清 VEGF 和 endostatin 的水平, 发现它们与胃癌患者肿瘤细胞分化程度、病理类型及预后相关, 现报道如下。

通讯作者: 刘金菊, 主治医师, 硕士; 山东省临沂市肿瘤医院内三科, 山东省临沂市兰山区陵园东街 6 号 (276001); E-mail: 497071598@qq.com

收稿日期: 2014-06-19; **修回日期:** 2014-09-02

1 资料与方法

1.1 一般资料

2010年10月至2011年10月临沂市肿瘤医院内科收治的晚期胃癌患者38例,全组病例诊断均经胃镜活检组织学病理证实,其中男性25例,女性13例;年龄34~72岁,平均 (52.30 ± 7.24) 岁。腺癌32例,其中低分化25例,中分化5例,高分化2例;印戒细胞癌6例。所有病例均经临床、影像学、胃镜等检查,临床资料齐全。20例慢性胃炎患者均来自本院消化内科病人,其中男性12例,女性8例;年龄23~56岁,平均 (40.36 ± 7.13) 岁;其中慢性浅表性胃炎11例,慢性萎缩性胃炎8例,巨大肥厚性胃炎1例;所有病例都经胃镜活检。健康人群组20例来自健康查体者,其中男性12例,女性8例,年龄25~53岁,平均 (39.33 ± 7.76) 岁。研究前对所有受试者履行知情同意告知并获同意后入选本研究。

1.2 纳入标准

①所有患者均为初治的IV期胃癌患者,未行手术、放疗、化疗、生物学治疗等治疗者;②血清标本采集及保存完好;③KPS评分>70分,估计能耐受化疗;④生存期评估>3个月;⑤排除脑转移。

1.3 治疗方案

38例患者一线应用XELOX方案化疗(OXA: $100 \sim 130 \text{ mg/m}^2$, d_1 ; Xeloda $1000 \sim 1250 \text{ mg/(m}^2 \cdot \text{d)}$, d_{1-14} , 分两次饭后口服, 21d为1个周期)。二线应用FOLFIRI方案(CPT-11: 180 mg/m^2 , d_1 ; CF 200 mg/m^2 , $d_{1,2}$, 5-Fu 400 mg/m^2 iv $d_{1,2}$, 5-Fu 600 mg/m^2 civ 22h, $d_{1,2}$, 14d为1个周期)。化疗过程中均未行胃肠吻合等姑息性手术,但患者最终因疾病进展死亡。

1.4 血清标本的收集与保存

患者均于入院未治疗前抽清晨空腹(健康人群则随机清晨空腹)外周静脉血3ml(不抗凝),室温放置30min后3000r/min离心10min,分离血清,置于 -80°C 低温冷冻备用。

1.5 主要试剂及仪器

血清解冻后采用商品化人VEGF及endostatin ELISA检验试剂盒(ELISA检验试剂盒均购自济南芯博生物科技有限公司),酶联免疫吸附试验(ELISA)测定血清游离状态的人类VEGF及endostatin蛋白,用Multiskan MK3型全自动酶标仪测450nm波长和490nm波长下各孔的吸光值(OD值)。

根据标准曲线得出VEGF及endostatin浓度值。

1.6 统计学处理

所有数据均采用SPSS 13.0统计软件包统计处理。各数据以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,各组间均数比较用 t 检验或单因素方差分析,相关关系应用Pearson相关性分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。生存分析采用Kaplan-Meier方法。

2 结果

2.1 晚期胃癌患者化疗前、慢性胃炎患者及健康人群血清VEGF及endostatin水平的比较

晚期胃癌患者化疗前血清VEGF水平为 $(454.81 \pm 169.49) \text{ pg/ml}$, endostatin水平为 $(86.05 \pm 15.86) \text{ ng/ml}$,显著高于慢性胃炎患者和健康人群组(P 均 < 0.01),但慢性胃炎患者组与健康人群组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)(Table 1)。

Table 1 Comparison of serum VEGF and endostatin levels among three groups

Groups	N	VEGF(pg/ml)	Endostatin(ng/ml)
Gastric cancer	38	454.81 ± 169.49	86.05 ± 15.86
Chronic gastritis	20	124.90 ± 17.09	54.01 ± 7.39
Control	20	115.54 ± 23.27	52.82 ± 8.71

2.2 晚期胃癌患者化疗前血清endostatin和VEGF水平与胃癌临床病理特征的关系

高中分化腺癌组化疗前血清endostatin水平为 $(71.37 \pm 11.05) \text{ ng/ml}$,血清VEGF水平为 $(381.90 \pm 117.14) \text{ pg/ml}$,低分化腺癌组血清endostatin水平为 $(99.17 \pm 17.25) \text{ ng/ml}$,血清VEGF水平为 $(536.76 \pm 151.21) \text{ pg/ml}$,两组比较差异均有统计学意义(P 均 < 0.01)。

病理类型为腺癌者化疗前血清endostatin水平为 $(72.22 \pm 12.25) \text{ ng/ml}$,血清VEGF水平为 $(389.90 \pm 121.24) \text{ pg/ml}$,而印戒细胞癌血清Endostatin水平为 $(109.43 \pm 15.21) \text{ ng/ml}$,血清VEGF水平为 $(553.22 \pm 125.54) \text{ pg/ml}$,两组比较差异均有统计学意义(P 均 < 0.01)。血清endostatin及VEGF水平在不同年龄及性别患者间差异均无统计学(P 均 > 0.05 , Table 2)。

2.3 胃癌患者化疗前血清VEGF和endostatin水平间的相关性

对胃癌患者化疗前血清VEGF和Endostatin水平间的相关性分析表明,两者呈显著正相关($r = 0.7549$, $P < 0.01$)(Figure 1)。

Table 2 The relationship between serum levels of endostatin and VEGF and clinicopathological characteristics in patients with gastric cancer ($\bar{x}\pm s$)

Features	N	Endostatin(ng/ml)	<i>t</i>	<i>P</i>	VEGF(pg/ml)	<i>t</i>	<i>P</i>
Gender							
Male	25	84.79±19.65	0.5231	0.6041	477.22±121.47	0.5437	0.5897
Female	13	88.07±15.38			453.19±143.56		
Age(years old)							
≥60	20	91.21±14.57	0.5207	0.6058	471.98±133.98	0.4047	0.6881
<60	18	88.70±15.13			453.94±140.72		
Differentiation grade							
Well or moderate	7	71.37±11.05	6.5846	0.0000	381.90±117.14	2.4969	0.0182
Poor	25	99.17±17.25			536.76±151.21		
Histological type							
Adenocarcinoma	32	72.22±12.25	4.0128	0.0004	389.90±121.24	3.0129	0.0047
Signet ring cell carcinoma	6	109.43±15.21			553.22±125.54		

2.4 胃癌患者治疗前血清 endostatin、VEGF 水平与预后的关系

生存期以确诊开始至死亡或末次随访时间,最后随访时间为 2012 年 1 月,随访期限为 3~15 个月,38 例患者中,有 3 例失访,失访按截尾数据处

理,实际随访 35 例,其中死亡 30 例,存活 5 例。血清 endostatin 低于平均值 86.05ng/ml 患者的中位生存期优于 endostatin≥86.05ng/ml 的患者 (9.5 个月 vs 6.3 个月; $\chi^2=4.482$, $P=0.034$); 血清 VEGF 低于平均值 454.81pg/ml 的患者的中位生存期优于 VEGF≥454.81pg/ml 的患者 (9.5 个月 vs 6.0 个月; $\chi^2=6.491$, $P=0.011$)(Figure 2,3)。

3 讨论

血管内皮生长因子(VEGF)是目前已知的作用最强的血管生成促进因子。1997 年 O'Reilly 等在小鼠血管内皮瘤细胞的培养上清液中分离出一种内源性糖蛋白,具有很强的抑制血管内皮细胞生长的作用,故命名为内皮抑素(endostatin),是目前已知的作用最强的血管生成抑制因子。肿瘤生长与否最终决定

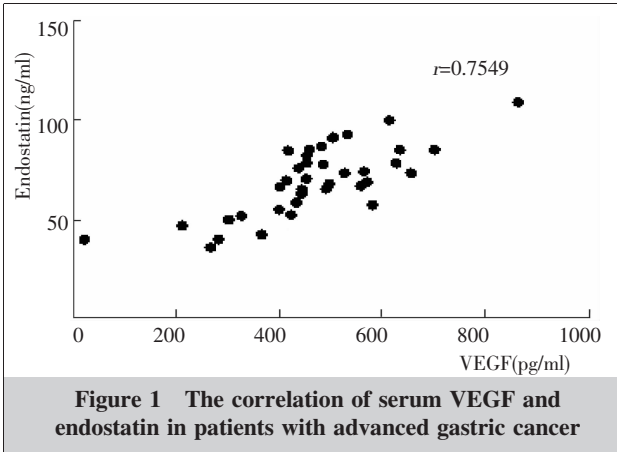


Figure 1 The correlation of serum VEGF and endostatin in patients with advanced gastric cancer

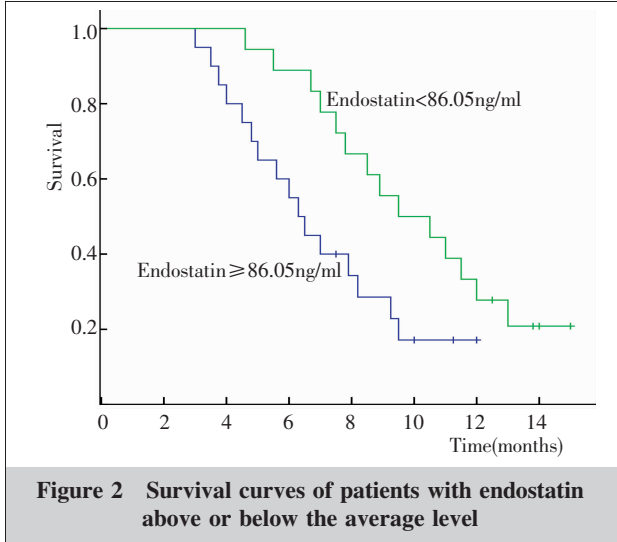


Figure 2 Survival curves of patients with endostatin above or below the average level

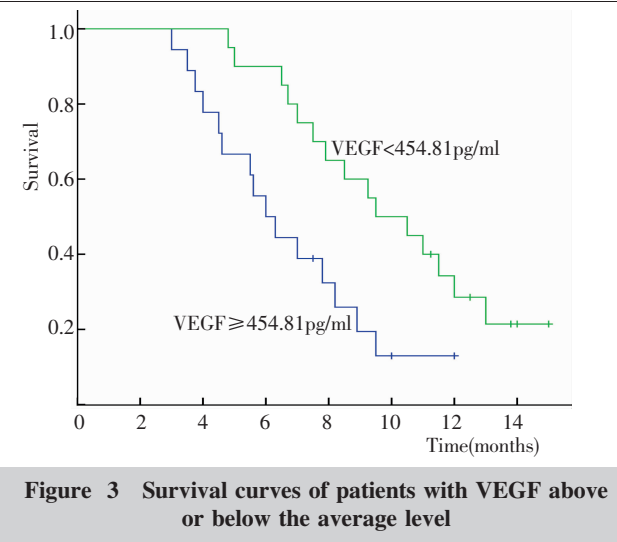


Figure 3 Survival curves of patients with VEGF above or below the average level

于这两种因子含量的对比变化情况^[2]。

3.1 VEGF 和 endostatin 与胃癌的关系

有研究显示多种恶性肿瘤患者的血清 VEGF 和 endostatin 水平明显增高^[3]。本研究中胃癌患者血清 VEGF 和 endostatin 水平均显著高于慢性胃炎患者和健康对照组 ($P < 0.01$), 与 Kuroi 等^[4]的报道一致。袁火忠等^[3]研究发现胃癌患者血清 VEGF 含量与内皮抑素含量呈正相关关系 ($r = 0.423, P < 0.01$), 本研究 VEGF 含量高的患者其 endostatin 含量也相应升高, 两者呈显著正相关 ($r = 0.7549, P < 0.01$)。上述研究结果表明, 胃癌细胞确实能分泌大量的 VEGF, 来促进肿瘤血管生成, 为肿瘤生长提供所需要的营养条件, 并转运出代谢废物, 为肿瘤的浸润和转移打下基础, 同时胃癌细胞可能通过多种途径刺激机体产生大量的 endostatin, 经血液循环到达肿瘤部位, 抑制产生原发性和继发性肿瘤血管, 与促血管生成因子的作用相拮抗, 达到一种新的平衡。胃癌的一些病理生理特征如肿瘤细胞分化程度、病理类型等也与肿瘤细胞的生长速度和肿瘤细胞的恶性生物学行为密切相关。Li 等^[5]报道胃肠道肿瘤患者血清 VEGF、endostatin 水平与患者的性别、肿瘤部位无关 ($P > 0.05$); 而与原发肿瘤大小、组织学分型、浸润深度、肿瘤转移、病理分期有关 ($P < 0.05$)。本研究结果显示, 血清 VEGF 和 endostatin 水平与患者的年龄、性别无关 (P 均 > 0.05); 而与胃癌患者的病理类型、细胞分化程度相关 (P 均 < 0.05), 低分化腺癌患者血清 VEGF 和 endostatin 水平高于高中分化腺癌患者, 印戒细胞癌患者血清 VEGF 和 endostatin 水平总体很高, 但仅 6 例, 具体有待进一步研究。这一结果说明随着胃癌生物学行为恶性程度升高, 肿瘤所分泌的 VEGF 增加, 肿瘤的恶性程度越高, 对氧的需求越高, 越容易造成肿瘤局部缺氧, 缺氧状态下, VEGF 的分泌也越多。然后, 大量 VEGF 刺激肿瘤血管形成和肿瘤浸润、转移, 而肿瘤的生长可进一步加重缺氧^[6]。如此形成一种正向循环, 来促进肿瘤的生长、浸润和转移。同时随着胃癌生物学行为恶性程度增高, 一些蛋白水解酶(基质金属蛋白酶、弹性蛋白酶、组织蛋白酶 L 等)分泌也增加, 这些蛋白水解酶降解体内的胶原蛋白 XVIII, 使 endostatin 的生成也相应增加。本研究提示检测血清中 VEGF 和 endostatin 水平对判断胃癌的生物学行为可能有一定的临床意义。

3.2 VEGF 和 endostatin 水平与胃癌患者预后关系

单因素生存分析发现, 胃癌患者血清 VEGF 和

endostatin 水平与预后密切相关, 血清 VEGF 和 endostatin 水平高于其平均值的患者的生存期均短于 VEGF 和 endostatin 低于平均值的患者 ($P < 0.05$)。既然 endostatin 具有抗肿瘤作用, 那么为什么胃癌患者血清 Endostatin 水平高于平均值者反而生存期短呢? 黄晓烽等^[7]研究发现胃癌患者手术前血清 VEGF 高于平均值 (438.9 pg/ml) 比低于该平均值者生存期缩短, 且有统计学意义 ($P < 0.01$)。手术前血清 endostatin 低于平均值 (49.9 ng/ml) 患者 5 年生存率明显优于高于平均者, 且有统计学意义 ($P < 0.01$)。故这可能的原因是由于二者升高的不平衡所致, VEGF 升高的水平超过了 endostatin 升高的水平, 从而导致肿瘤进一步生长与转移, 导致了患者预后更差。

总之, 本研究结果进一步证明了 VEGF、endostatin 分别作为血管生成促进因子和抑制因子在胃癌发生、发展、侵袭和转移中均起着重要作用, 而且两者之间有明显的相关性。因本研究单因素生存分析 VEGF、Endostatin 在外周血清表达水平与胃癌患者预后的关系存在一定局限性, 故有待进一步研究探索。

参考文献:

- [1] Zheng RS, Zhang SW, Wu LY, et al. Report of incidence and mortality from China cancer registries in 2008 [J]. China Cancer, 2012, 21(1): 1-12. [郑荣寿, 张思维, 吴良有, 等. 中国肿瘤登记地区 2008 年恶性肿瘤发病和死亡分析 [J]. 中国肿瘤, 2012, 21(1): 1-12.]
- [2] Shaarawy M, El-Sharkawy SA. Biomarkers of intrinsic angiogenic and anti-angiogenic activity in patients with endometrial hyperplasia and endometrial cancer [J]. Acta Oncol, 2001, 40(4): 513-518.
- [3] Yuan HZ, Lu C, Huang XW, et al. Serum levels of vascular endothelial growth factor and endostatin in patients with gastric cancer and their clinical significance [J]. Journal of Practical Medicine, 2010, 26(4): 586-587. [袁火忠, 吕春, 黄兴伟, 等. 胃癌患者血清血管内皮生长因子和内皮抑素的水平及临床意义 [J]. 实用医学杂志, 2010, 26(4): 586-587.]
- [4] Kuroi K, Tanaka C, Toi M. Circulating levels of Endostatin in cancer patients [J]. J Oncol Rep, 2001, 8(2): 405-409.
- [5] Li M, Liu F, Sun P, et al. Correlations between serum levels of vascular endothelial growth factor and endostatin with clinical pathological characteristics of patients with gastrointestinal cancers. [J]. Hepatogastroenterology, 2012, 59 (118): 1865-1868.
- [6] Kim SJ, Rabbinc ZN, Dewiest MW, et al. Expression of HIF-1 α , VEGF, and MMP-9 in surgically resected non-small cell lung cancer [J]. Lung Cancer, 2005, 49: 325-335.
- [7] Huang XF, Zhou JB, Du G, et al. Serum levels of vascular endothelial growth factor and endostatin in patients with gastric cancer and their clinical significance [J]. Chinese Journal of Digestive Endoscopy 2006, 23(3): 200-203. [黄晓烽, 周建波, 杜桃, 等. 胃癌患者血清 VEGF 和内皮抑素的水平变化及意义 [J]. 中华消化内镜杂志, 2006, 23(3): 200-203.]