

doi:10.3969/j.issn.1671-038X.2016.07.12

血清 VEGF 与 VEGFR-2 检测在直肠癌新辅助化疗后疗效评估中的价值分析

杨仁智， 蔡枚龄
(海南省儋州市第一人民医院 消化内科,海南 儋州 571700)

摘要:[目的]探讨血清 VEGF 与 VEGFR-2 检测对评估直肠癌新辅助化疗疗效的临床价值。[方法]选择 2013 年 7 月~2014 年 7 月医院收治的 55 例直肠癌患者作为研究组,患者采用奥沙利铂、亚叶酸钙和氟尿嘧啶组成的 FOLFOX6 方案,患者均完成 2 个疗程的治疗;另选择同期在医院体检的 50 例健康人群作为对照组,采用酶联免疫吸附试验检测两组血清 VEGF、VEGFR-2 水平表达水平。[结果]中分化、高分化组血清 VEGF、VEGFR-2 水平显著低于低分化组,高分化组血清 VEGF、VEGFR-2 水平又显著低于中分化组($P<0.05$);Ⅳ期直肠癌患者血清 VEGF、VEGFR-2 水平显著高于Ⅲ期($P<0.05$)。化疗前研究组血清 VEGF、VEGFR-2 水平均显著高于对照组,化疗后 CR+PR 组、SD 组血清 VEGF、VEGFR-2 水平显著降低,PD 组血清 VEGF、VEGFR-2 水平显著升高,化疗前后比较差异具有统计学意义($P<0.05$);其中化疗后 CR+PR 组、SD 组血清 VEGF、VEGFR-2 显著低于 PD 组,CR+PR 组血清 VEGF、VEGFR-2 又显著低于 SD 组($P<0.05$)。相关性分析显示研究组化疗前后血清 VEGF、VEGFR-2 表达均呈正相关关系($P<0.05$)。[结论]VEGF、VEGFR-2 是直肠癌发生、发展的敏感性生物学指标,通过检测患者血清 VEGF、VEGFR-2 水平能够有助于评价辅助化疗疗效及预后。

关键词:血管内皮生长因子;直肠癌;新辅助化疗;血管内皮细胞受体
中图分类号:R735.3 **文献标志码:**A **文章编号:**1671-038X(2016)07-0534-05

Clinical value of serum VEGF and VEGFR-2 detection in evaluation the efficacy of neoadjuvant chemotherapy for rectal cancer

YANG Ren-zhi, CAI Mei-ling
(Department of Gastroenterology, the First People's Hospital of Danzhou City, Hainan 571700, China)
Corresponding author: YANG Ran-zhi, E-mail: 936132479@qq.com

Abstract: [Objective] To explore the clinical value of serum VEGF and VEGFR-2 detection in evaluating the efficacy of neoadjuvant chemotherapy for rectal cancer. [Methods] A total of 55 cases of rectal cancer patients treated in hospital from July 2013 to July 2014 were selected as study group, constituted by oxaliplatin, leucovorin and fluorouracil of FOLFOX6 therapeutic regimen were treated for patients. All patients received 2 courses of treatment. Another 50 healthy people were selected in same period as the control group, and the levels of serum VEGF and VEGFR-2 expression were detected by enzyme-linked immunosorbent assay in two group. [Results] The levels of serum VEGF and VEGFR-2 in medium differentiation group and highly differentiation group were significantly lower than those in the low differentiation group, and the levels of serum VEGFR-2 and VEGF in highly differentiation group were significantly lower than medium differentiation group ($P<0.05$). The levels of serum VEGF and VEGFR-2 in Ⅳ stage were obviously higher than those in Ⅲ stage ($P<0.05$). Before chemotherapy the levels of serum VEGF and VEGFR-2 in study group were significantly higher than the control group, after treatment the serum levels of VEGF and VEGFR-2 in CR+PR group and SD group were significantly lower, PD group were significantly increased, before and after chemotherapy, the difference was statistically significant ($P<0.05$); after chemotherapy the serum VEGF and VEGFR-2 in CR+PR group and SD group were significantly lower than that in PD group, and the serum VEGF and VEGFR-2 in CR+PR group were significantly higher than

收稿日期:2015-11-01
作者简介:杨仁智,男,主治医师,消化内科专业
通讯作者:杨仁智, E-mail: 936132479@qq.com

those in SD group ($P < 0.05$). The correlation analysis showed that the expression of serum VEGF and VEGFR-2 in the study group was positively correlated before and after chemotherapy ($P < 0.05$). [Conclusion] The VEGF, VEGFR-2 were sensitive biological indicator for the occurrence and development of colorectal cancer. By detecting the levels of serum VEGF and VEGFR-2 can be helpful to evaluate clinical efficacy and prognosis of adjuvant chemotherapy.

Key words: vascular endothelial growth factor; rectal cancer; neoadjuvant chemotherapy; vascular endothelial cell receptor

直肠癌是临床上常见的消化系统恶性肿瘤,其发病率居消化系统肿瘤的第3位^[1],已经成为威胁人类健康的主要恶性肿瘤之一。新辅助化疗在直肠癌的治疗中占有重要地位,目前是直肠癌治疗的主要辅助手段。然而依然有部分患者化疗不敏感或预后不佳,导致肿瘤复发、转移;若能在化疗时观察其临床疗效,并及时调整化疗方案,对患者的临床治疗具有重要的指导意义。国外研究^[2]证实肿瘤复发、转移、生长有赖于肿瘤血管的形成,而以新生血管为靶点的生物标记物成为临床研究的热点。在众多与血管生长有关的生物活性物质中,血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)被认为是血管形成的主要因子^[3-4],当 VEGF 与相应的血管内皮细胞受体(vascular endothelial growth factor receptor, VEGFR)结合后会刺激内皮细胞的增殖和迁移,从而促进肿瘤血管的形成。本研究采用酶联免疫吸附试验检测直肠癌新辅助化疗患者治疗前后血清 VEGF、VEGFR-2 变化水平,并进一步探讨上述指标与患者预后的关系,旨在为直肠癌化疗的疗效观察提供生物学评价依据,现将研究成果总结如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择 2013 年 7 月~2014 年 7 月医院收治的 55 例直肠癌患者作为研究组,男 31 例,女 24 例,年龄 24~73 岁,平均(51.8 ± 7.1)岁;临床分期:Ⅲ期 37 例,Ⅳ期 18 例;肿瘤分化程度:低分化 13 例,中分化 24 例,高分化 18 例。纳入标准:①经病理学证实为直肠癌;②入组时临床分期Ⅲ~Ⅳ期;③初治直肠癌患者;④化疗前卡氏评分 ≥ 60 分;⑤预计生存期 ≥ 6 个月;⑥告知患者治疗目的、方案及毒副作用,经患者同意并签署知情同意书。排除标准:①过敏体质、凝血功能异常者;②肝肾功能不全或严重脏器功能衰竭者;③合并全身严重感染或自愿放弃治疗者。另选择同期在医院体检的健康人群 50 例作为对照组,男 28 例,女 22 例,年龄 19~80 岁,平均(51.3 ± 6.9)岁;均排除肝肾功能损害或其他脏器疾病者,研究组和对照组性别、年龄等一般资料比较差异无统

计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 化疗方法 研究组均采用奥沙利铂、亚叶酸钙和氟尿嘧啶组成的 FOLFOX6 方案:奥沙利铂(50 mg/支 ,批号:120917) 135 mg/m^2 ,持续静脉滴注 3 h,第 1 d;亚叶酸钙(5 mg/支 ,批号:130120) 200 mg/m^2 ,静脉滴注 2 h,第 1 d;氟尿嘧啶(0.125 g/支 ,批号:120512) 2400 mg/m^2 ,加入 Baxter 输液泵持续静脉输注 44~46 h;每周化疗 5 d,连续化疗 3 周为 1 个疗程,每位患者化疗 2 个疗程以上。患者同时服用止吐药、提高免疫力药,化疗后门诊定期检查血常规、肝肾功能。

1.2.2 检测方法 研究组分别于化疗前和化疗 2 个疗程后抽取肘静脉血 3 ml,对照组于体检时抽取肘静脉血 3 ml,置于抗凝管中, 12000 r/min 离心 5 min(离心半径 3 cm),分离血清后置于 -20°C 冰箱保存待检。采用酶联免疫吸附试验检测两组血清 VEGF、VEGFR-2 水平,相关试剂盒购至上海拜力生物科技有限公司(VEGF 试剂盒批号:130120, VEGFR-2 试剂盒批号:120817),检测操作严格按照试剂盒说明书进行。

1.3 疗效评价标准

参考实体瘤的疗效评价标准^[5],完全缓解(CR):瘤体完全消失并持续 4 周以上;部分缓解(PR):最大瘤体长径与直径的乘积缩小 $>50\%$,并持续 4 周以上,病灶周围未发现无新病灶;稳定(SD):最大瘤体长径与直径的乘积缩小 $25\% \sim 50\%$,病灶周围未发现无新病灶;疾病进展(PD):最大瘤体长径与直径的乘积缩小 $<25\%$,或原病灶周围出现无新病灶;其中疗效总有效率 $=[(\text{CR} + \text{PR})/\text{总例数}] \times 100\%$ 。

1.4 统计学处理

采用 SPSS19.0 统计学软件进行检验,患者计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,治疗前后采用配对 t 检验,2 组间比较采用成组 t 检验,多组间比较采用 one-way ANOVA 单因素方差分析,两两比较采用 SNK- q 检验,计数资料采用 χ^2 检验,相关性采用 Pearson 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 化疗前研究组与对照组血清 VEGF、VEGFR-2 水平比较

化疗前研究组血清 VEGF、VEGFR-2 水平均显著高于对照组,2 组比较差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

表 1 化疗前研究组与对照组血清 VEGF、VEGFR-2 水平比较 ng/L, $\bar{x}\pm s$

组别	例数	VEGF	VEGFR-2
研究组	55	240.2±23.7 ¹⁾	219.3±18.7 ¹⁾
对照组	50	38.9±9.3	29.5±8.7

与对照组比较,¹⁾ $P<0.05$ 。

2.2 研究组不同分化程度血清 VEGF、VEGFR-2 水平比较

不同分化程度直肠癌血清 VEGF、VEGFR-2 水平比较差异具有统计学意义($P<0.05$),其中中分化、高分化组血清 VEGF、VEGFR-2 水平显著低于低分化组,高分化组血清 VEGF、VEGFR-2 水平又显著低于中分化组($P<0.05$),见表 2。

表 2 研究组不同分化程度血清 VEGF、VEGFR-2 水平比较 ng/L, $\bar{x}\pm s$

分化程度	例数	VEGF	VEGFR-2
低分化	13	350.3±37.9	308.8±31.2
中分化	24	224.8±20.4 ¹⁾	203.8±17.4 ¹⁾
高分化	18	181.2±17.9 ¹⁾²⁾	175.4±15.9 ¹⁾²⁾

与低分化组比较,¹⁾ $P<0.05$;与中分化组比较,²⁾ $P<0.05$ 。

3 讨论

直肠癌死亡率较高,调查显示^[6]直肠癌病死率已高居各类恶性肿瘤的第 5 位,临床工作者也致力于研究直肠癌的最佳治疗措施。新辅助化疗是伴随着综合治疗的理念而提出的一种干预措施,其主要通过术前化疗降低肿瘤的体积或肿瘤细胞数,从而

2.3 研究组不同病理分期血清 VEGF、VEGFR-2 水平比较

Ⅳ期直肠癌患者血清 VEGF、VEGFR-2 水平显著高于Ⅲ期($P<0.05$),见表 3。

表 3 研究组不同病理分期血清 VEGF、VEGFR-2 水平比较 ng/L, $\bar{x}\pm s$

病理分期	例数	VEGF	VEGFR-2
Ⅲ期	37	194.8±18.9 ¹⁾	187.9±17.4 ¹⁾
Ⅳ期	18	333.5±39.4	256.3±27.1

与Ⅳ期比较,¹⁾ $P<0.05$ 。

2.4 研究组化疗疗效

2 个疗程后,研究组 CR4 例,PR31 例,SD15 例,PD5 例,总有效率为 63.6%(35/55)。

2.5 研究组不同疗效血清 VEGF、VEGFR-2 水平比较

不同疗效患者化疗前血清 VEGF、VEGFR-2 水平比较差异无统计学意义($P>0.05$),化疗后 CR+PR 组、SD 组血清 VEGF、VEGFR-2 水平显著降低,PD 组血清 VEGF、VEGFR-2 水平显著升高,化疗前后比较差异具有统计学意义($P<0.05$);其中化疗后 CR+PR 组、SD 组血清 VEGF、VEGFR-2 显著低于 PD 组,CR+PR 组血清 VEGF、VEGFR-2 又显著低于 SD 组($P<0.05$),见表 4。

2.6 血清 VEGF、VEGFR-2 表达相关性

研究组化疗前血清 VEGF、VEGFR-2 表达呈正相关关系($r=0.873$, $P<0.01$),化疗后血清 VEGF、VEGFR-2 表达亦呈正相关关系($r=0.929$, $P<0.01$);对照组血清 VEGF、VEGFR-2 表达无明显相关性($r=0.073$, $P>0.05$)。

表 4 研究组不同疗效血清 VEGF、VEGFR-2 水平比较 ng/L, $\bar{x}\pm s$

疗效	例数	VEGF		VEGFR-2	
		化疗前	化疗后	化疗前	化疗后
CR+PR	35	240.4±21.7	85.3±8.4 ²⁾	219.4±17.5	79.8±9.5 ²⁾
SD	15	239.1±19.4	161.7±14.3 ¹⁾²⁾	218.8±20.8	131.0±15.8 ¹⁾²⁾
PD	5	240.8±18.1	281.2±22.9 ¹⁾	220.1±19.6	269.3±23.5 ¹⁾

与 CR+PR 组比较,¹⁾ $P<0.05$;与 PD 组比较,²⁾ $P<0.05$ 。

提高根治性切除率和降低术后复发率。虽然新辅助化疗已经广泛应用于临床,但是用于评价化疗疗效的指标并不多,而传统癌胚抗原、糖类抗原等血清标记物均存在敏感性偏低等缺陷^[7-8]。有国外学者提出^[9]“肿瘤血管形成学说”,其认为肿瘤的生长、转移均有赖于新生血管的形成;当在新生血管前期时,若

抑制血管的形成将使肿瘤细胞处于静止生长状态。而在血管期,新生的血管为肿瘤细胞提供了营养代谢的途径,为肿瘤细胞分裂、增殖、转移提供了物质基础。

VEGF 在促血管生长因子中功能最为强大,在恶性肿瘤生长、发育的每个阶段均能诱导肿瘤血管形成,而内皮细胞有丝分裂提供路径。刘涛等^[10]证实 VEGF 还能抑制血管凋亡和增加血管渗透性,最终形成肿瘤血供的血管网。然而 VEGF 发挥生物学效应必须首选作用于相应的受体,VEGFR-2 是一种酪氨酸激酶,当与 VEGF 结合后会促进血管内皮细胞发生一系列变化,并通过级联反应激活血管内皮细胞,诱导新生血管形成会维持其结构和功能的完整性。亦有报道^[11]证实 VEGF 持续刺激 VEGFR-2 后会介导内皮细胞合成,并进一步诱导内皮细胞发生增殖,导致血管通透性发生变化,从而有利于血浆渗出。本研究证实,化疗前研究组血清 VEGF、VEGFR-2 水平均显著高于对照组,说明直肠癌患者肿瘤血管旺盛,通过形成血管网为肿瘤细胞提供物质、能量的供应。符炜等^[12]也在研究中提出,直肠癌对周围组织侵袭时首选形成新生血管,VEGF 及其受体持续性升高与直肠癌的发生、发展密切相关。此外不同分化程度的直肠癌患者血清 VEGF、VEGFR-2 表达存在差异,具体表现为随着分化程度越低,血清 VEGF、VEGFR-2 表达越高。由于低分化肿瘤恶性度高、预后差^[13],即使行手术治疗其复发率也显著高于中、高分化肿瘤。结合上述结果,提示血清 VEGF、VEGFR-2 与直肠癌预后存在一定关系,VEGF、VEGFR-2 越高,患者预后也越差。进一步研究显示Ⅳ期直肠癌患者血清 VEGF、VEGFR-2 水平显著高于Ⅲ期,提示 VEGF、VEGFR-2 水平与直肠癌的恶性程度有关。王铭河等^[14]发现 VEGF 在正常直肠组织、癌旁组织、肿瘤组织的表达水平呈逐渐上升趋势,提示 VEGF 在促进血管内皮细胞、调节肿瘤细胞增殖方面起到重要作用。

在疗效评估方面,化疗后 CR+PR 组、SD 组血清 VEGF、VEGFR-2 水平显著降低,PD 组血清 VEGF、VEGFR-2 水平显著升高,这说明随着肿瘤细胞的控制,血清 VEGF、VEGFR-2 会逐渐降低,而疾病控制不佳的患者血清 VEGF、VEGFR-2 升高,肿瘤血管依然为瘤体持续提供营养和能量物质。而不同治疗效果患者血清 VEGF、VEGFR-2 也存在差异:化疗后 CR+PR 组、SD 组血清 VEGF、VEGFR-2 显著低于 PD 组,CR+PR 组血清

VEGF、VEGFR-2 又显著低于 SD 组,相关性分析也证实研究组化疗前后血清 VEGF、VEGFR-2 表达均呈正相关,说明若化疗药物有效控制肿瘤,则肿瘤血管能够得到有效抑制,并进一步诱导肿瘤细胞发生凋亡。同样,若药物未能有效控制肿瘤,则血清 VEGF、VEGFR-2 不会降低,甚至上升,继续诱导肿瘤新生血管的形成;这也证实 VEGF、VEGFR-2 有助于评价直肠癌新辅助化疗疗效。

综上所述,VEGF、VEGFR-2 是直肠癌发生、发展的敏感性生物学指标,通过检测患者血清 VEGF、VEGFR-2 水平能够有助于评价辅助化疗疗效及预后。然而 VEGF、VEGFR-2 生物学效应很多,本文也仅对其在化疗疗效中的评估价值做一初步探讨,关于其更多的临床价值尚需要深入研究。

参考文献

- [1] ATTENBERGER UI, PILZ LR, MORELLI JN, et al. Multi-parametric MRI of rectal cancer-Do quantitative functional MR measurements correlate with radiologic and pathologic tumor stages[J]? Eur J Radiol, 2014, 83:1036-1043.
- [2] YASUDA H, TANAKA K, SAIGUSA S, et al. Elevated CD133, but not VEGF or EGFR, as a predictive marker of distant recurrence after preoperative chemoradiotherapy in rectal cancer[J]. Oncol Rep, 2009, 22: 709-717.
- [3] 张 蓓,刘志苏,黄汉涛,等.碳酸酐酶Ⅹ在直肠癌中的表达及其与血管内皮生长因子和肝转移关系[J].中华实验外科杂志,2010,27(12):1898-1900.
- [4] 刘晓平,邓 伟,苏晋捷,等.血管内皮生长因子 C 和 Podoplanin 对老年直肠癌淋巴结转移预后评价的价值[J].肿瘤防治研究,2015,42(2):164-167.
- [5] 杨学宁,吴一龙.实体瘤治疗疗效评价标准-RECIST[J].循证医学,2004,4(2):85-90,111.
- [6] DOI H, BEPPU N, ODAWARA S, et al. Neoadjuvant short-course hyperfractionated accelerated radiotherapy (SC-HART) combined with S-1 for locally advanced rectal cancer[J]. J Radiat Res, 2013, 54:1118-1124.
- [7] 吴文铭,邱辉忠,吴 斌,等.临床病理指标预测直肠癌新辅助治疗效果初探[J].中华外科杂志,2010,48(5):348-352.
- [8] 苏传伟.中性粒细胞明胶酶相关载脂蛋白和癌胚抗原在直肠癌诊断和预后中的意义[J].医学综述,2014,20(14):2618-2620.
- [9] MAIA J, VAZaO H, PEDROSO DC, et al. VEGF-Functionalized Dextran Has Longer intracellular Bioactivity than VEGF in Endothelial Cells[J]. Biomacromolecules, 2012, 13:2906-2916.

(下转第 540 页)

达。食管腺癌中的 P53 阳性率显著高于正常食管黏膜组织及 Barrett 食管,正常食管黏膜与 Barrett 食管及食管腺癌比较 $P<0.05$,见表 4。

表 4 P53 在各组食管疾病中的表达 例(%)

组别	例数	阳性	阴性
正常食管黏膜组织	30	2(6.7)	28(93.3)
Barrett 食管	30	11(36.7)	19(63.3)
食管腺癌	30	24(80.0)	6(20.0)

3 讨论

我们应用免疫组织化学技术所测得的 P53 为突变型。这种突变型 p53 可以阻碍细胞的死亡,这一作用与 BCL-2 相似^[4]。本实验研究结果表明 P53、BCL-2 在正常食管组织、Barrett 食管、食管腺癌中均有表达,但在正常食管组织中较低,在 HGD、EAC 中阳性表达率较高,也可表明随着疾病的进展 P53、Bcl-2 表达逐渐增高;在 30 例 Barrett 食管中,30 例食管腺癌中,P53 在重度异型增生及食管腺癌之中的阳性表达率在 80% 以上,但在 19 例异型增生中总体表达率仅为 47.4%,与有一些研究发现,P53 基因突变在食管腺癌及重度异型增生中总体发生率可达 80% 以上,不太相符,分析原因在于:①本次病理组织取材较少,导致阳性细胞数较少;②病例标本量少。因此,从本实验可以得出随着肠化生程

度的加重,P53、BCL-2 表达的阳性率也随之升高。

综上所述,P53、BCL-2 在异型增生 Barrett 食管中表达随着化生程度的加重,阳性率越高,说明在肿瘤发生发展过程中与细胞生长活跃和细胞凋亡受阻有很大的关系,P53、BCL-2 有望成为 Barrett 食管上皮化生的生物学标志物。对 BE 的诊断、防治及预后判断有一定的临床价值。

P53、BCL-2 在正常食管黏膜、Barrett 食管(不伴不典型增生,伴轻、中、重度不典型增生)、食管腺癌黏膜中的表达依次增高,提示 P53、BCL-2 可作为食管癌前病变的生物标记物,检测 P53、BCL-2 可作为对食管癌前病变的干预及食管癌的预防的手段。

参考文献

[1] 莫宏波,刘誉,陈万群.食管腺癌生物标记物的研究进展[J].肿瘤防治研究,2005,32(8):519—521.

[2] KAWAKAMI K, BRABENDER J, LORD R V, et al. Hypermethylated APC DNA in plasma and prognosis of patients with esophageal adenocarcinoma[J]. J Natl Cancer Inst, 2000, 92:1805—1811.

[3] 王妍,何慧仪.宫颈癌相关基因的研究进展[J].中华肿瘤防治杂志,2011,18(16):1316—1320.

[4] SAROSI G, BROWN G, JAISWAL K, et al. Bone marrow progenitor cells contribute to esophageal regeneration and metaplasia in a rat model of Barrett's esophagus[J]. Dis Esophagus, 2008, 21:43—50.

(上接第 537 页)

[10] 刘涛,张超,吕伟,等.VEGF-C 在直肠癌中的表达及其意义[J].重庆医学,2009,38(5):508—509, 511.

[11] DIAS FJ, ISSA JP, BARBOSA AP, et al. Effects of low-level laser irradiation in ultrastructural morphology, and immunoexpression of VEGF and VEGFR-2 of rat masseter muscle[J]. Micron, 2012, 43:237—244.

[12] 符炜,李爱娜,王玉兰,等.CCX-CKR 与 VEGF-C 在人直肠癌中的表达及临床意义[J].安徽医科大学学

报,2012,47(2):178—180.

[13] 李靖涛,高春,赵洪川,等.CTHRC1 和 VEGF-C 在直肠癌组织中的表达及相关性[J].世界华人消化杂志,2009,17(13):1318—1323.

[14] 王铭河,师英强,陆洪芬,等.Ⅱ、Ⅲ期直肠癌组织中 COX-2 和 VEGF-C 的表达及其与肿瘤血管生成及预后的关系[J].中国癌症杂志,2006,16(7):557—561, 567.