

• 论 著 •

VEGF 对急性白血病预后的预测作用分析

代利霞¹, 涂小琼², 蔡冰冰³

(湖北医药学院附属随州医院: 1. 血液内科; 2. 新生儿科; 3. 肾内科, 湖北随州 441300)

摘要:目的 分析血管内皮生长因子(VEGF)对于急性白血病预后的预测作用。方法 选取该院确诊的急性白血病患者 73 例及对照组 80 例, 白血病患者留取血清及髂后上棘穿刺活检取骨髓组织; 对照组受试对象留取血清进行检测和比较。用免疫组化的方法检测 VEGF 表达水平。结果 血清和骨髓 VEGF 表达阳性与阴性的急性白血病患者治疗后 1 年随访, 血清 VEGF 表达阳性患者中急性髓性白血复发病例 19 例(57.58%), 阴性患者中复发 1 例(20.00%), 阳性患者中复发比例高于阴性患者, 比较差异有统计学意义($P < 0.05$); 血清 VEGF 表达阳性患者中检出急性淋巴细胞白血复发病例 16 例(51.62%); 骨髓 VEGF 表达阳性患者中急性髓性白血复发病例和急性淋巴细胞白血复发病例各 17 例(48.57%)。治疗后 1 年随访测定血清和骨髓 VEGF 水平, 提示两型急性白血复发者的血清和骨髓 VEGF 水平均高于缓解者, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 血中以及骨髓中的 VEGF 水平均可在急性白血病的初治以及复发状态下高表达, 而在缓解状态下表达显著下降, 特别是在复发状态下, 表达水平相对更高, 提示了血与骨髓中 VEGF 表达增高可以协助预测复发风险。

关键词:血管内皮生长因子; 急性白血病; 复发; 预测

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2017.23.025

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2017)23-3288-03

Analysis of the predictive effect of vascular endothelial growth factor on prognosis of acute leukemia

DAI Lixia¹, TU Xiaoqiong², CAI Bingbing³

(1. Department of Hematology; 2. Department of Neonatal; 3. Department of Nephrology, Suizhou Hospital Affiliated to Hubei University of Medicine, Suizhou, Hubei 441300, China)

Abstract: **Objective** To analyze the prognostic value of vascular endothelial growth factor in acute leukemia. **Methods** 73 patients with acute leukemia as the leukemia group and 80 patients as the control group were selected. The serum and bone marrow tissue taken by puncture biopsy of posterior superior iliac spine of the leukemia group were collected. The serum of the control group was collected and compared. The expression of vascular endothelial growth factor was detected by immunohistochemistry. **Results** The acute leukemia patients with positive and negative serum VEGF or with positive and negative bone marrow VEGF were followed. The positive expression of serum VEGF was found in 19 recurrent cases of acute myeloid leukemia (57.58%) and the negative expression of serum VEGF was found in 1 recurrent cases (20.00%). The recurrence rate in patients with positive serum VEGF was higher than that in patients with negative serum VEGF, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$); the positive expression of serum VEGF was found in 16 recurrent cases of acute lymphoblastic leukemia (51.62%); the positive expression of bone marrow VEGF was found in 17 recurrent cases of acute myeloid leukemia and 17 recurrent cases of acute lymphoblastic leukemia respectively (48.57%). The serum VEGF level and the bone marrow VEGF were measured on follow-up one year after treatment, which showed the levels of recurrent cases of acute myeloid leukemia and acute lymphoblastic leukemia were all higher than those of Remission patients, and the difference was statistically significant ($P < 0.01$). **Conclusion** The levels of VEGF in blood and bone marrow cells can be highly expressed in the initial treatment and recurrence of acute leukemia, especially in the relapsed condition, the expression level is higher, but the expression level is significantly decreased in the remission state. Increased expression of VEGF in blood and bone marrow cells may help to predict an increased risk of recurrence.

Key words: vascular endothelial growth factor; acute leukemia; recurrence; prediction

白血病是血液系统的一种恶性肿瘤, 近年来白血病的发病率有增高趋势。从病理角度来看, 白血病同其他系统器官的恶性肿瘤相似, 发生发展都同细胞凋亡紊乱等分子机理有着极为密切的关联^[1-2]。肿瘤细胞的增殖与生长, 大多数与新生毛细血管的形成存在或多或少的关联, 新生血管为肿瘤侵袭转移提供了必备条件^[3-4]。血管内皮生长因子(VEGF)是促进血管内皮细胞有丝分裂的一种细胞因子, 同时 VEGF 还对血管新生过程发挥正调控作用, 其可促进血管内皮细胞的增殖, 使得血管通透性增强并对细胞凋亡起到抑制作用。研究表明 VEGF 的表达变化与不少恶性肿瘤有关, 其与血液系统恶性疾病的关系近年来备受关注, 国内外已有研究^[3-5]提示白血病患者血清

VEGF 可见高水平表达, 且表达增加幅度与肿瘤的恶性程度呈正相关, 其与白血病的治疗预后也存在着重要关联。白血病患者除了血清 VEGF 可见高表达外, 各型白血病患者骨髓 VEGF 及 VEGFm RNA 均可见显著增高, 但升高程度不一。本文就血清和骨髓 VEGF 与急性白血病预后的预测作用进行初步分析。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2015 年 1 月至 2016 年 6 月本院确诊的急性白血病患者 73 例作为观察组, 其中男 37 例, 女 36 例, 平均年龄(40.02 ± 5.07)岁。同时选取 80 例体检健康人群作为对照组, 其中男性和女性各 40 例, 平均年龄(41.32 ± 5.11)岁。

两组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。纳入标准:能够配合本研究的确诊急性白血病患者。排除标准:排除并发恶性肿瘤、排除血液系统其他严重疾病的患者。

1.2 方法 白血病患者留取血清以及髂后上棘穿刺活检取骨髓组织,对照组受试对象留取血清进行检测。使用兔抗人Ⅷ因子相关抗原(Ⅷ-R-Ag)和 VEGF 单克隆抗体(北京中山生物技术有限公司)检测 VEGF 的表达水平。免疫组化测定方法具体细则:免疫组化染色依照试剂盒说明书严格完成;阴性对照以对照以 PBS 代替一抗,阳性对照使用试剂盒中阳性片。同时对 VEGF 基因进行 PCR 检测:取枸橼酸钠抗凝的血液以及骨髓液标本稀释后在玻璃离心管中加淋巴细胞分离液,用塑料吸管将稀释的标本液沿管壁,配平后离心,分离出单个核细胞;然后提取总 RNA,经逆转录后进行 PCR 检测,反应体系 25 μ L,包括 cDNA 模板、缓冲液,DEPC 水以及引物和 dNTPs、Taq 酶。取 10 μ L 扩增产物,进行电泳后染色进行分析。结果判定中,除了比较免疫组化法测定的 VEGF 表达水平外,还对通过 PCR 法测定的 VEGF 基因阳性率进行了比较,阳性判定标准:细胞浆出现棕黄色染色为阳性结果,采用半定量计分方法评估表达情况,对每张切片阳性细胞着色强度及阳性细胞比例进行计分,其中的 0%、25%、50%和 75%分别计为 0、1、2 和 3 分,以得分“0~1”为阴性染色,得分“2~3”为阳性染色。比较分析受试者初治时 VEGF 表达水平及表达阳性情况,治疗后随访 1 年,分析 VEGF 表达水平与复发预后之间的相互关联。

1.3 统计学处理 数据分析中使用 SPSS18.0 统计软件包,计数资料使用百分率(%)描述,比较采用 χ^2 检验;计量资料使用 $\bar{x}\pm s$ 进行描述,组间比较采用 t 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 观察组和对照组血清、骨髓 VEGF 表达水平和比较 急性白血病患者血清 VEGF 表达水平为(265.87 $\pm$ 97.97)pg/mL。按白血病分类,可将观察组再分为急性髓性白血病组(38/73)和急性淋巴细胞性白血病组(35/73)。急性白血病患者患者的血清 VEGF 表达高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);急性髓性白血病组和急性淋巴细胞性白血病组的 VEGF 水平也高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);急性淋巴细胞白血病组血清 VEGF 水平略高于急性髓性白血病组,差异有统计学意义($P<0.05$);急性髓性白血病的血清 VEGF 阳性率(86.84%)相比急性淋巴细胞白血病组(88.57%),差异无统计学意义($P>0.05$)。急性淋巴细胞白血病组骨髓 VEGF 水平略高于急性髓性白血病组,差异有统计学意义($P<0.05$)。急性髓性白血病的血清 VEGF 阳性率((92.11%)相比急性淋巴细胞白血病组(94.29%),差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

2.2 治疗后 1 年随访复发情况 治疗后 1 年随访,血清 VEGF 阳性患者中急性髓性白血病复发病例 19 例(19/33,57.58%),阴性者中检出 1 例(1/5,20.00%),阳性患者复发比例显著高于阴性患者,差异有统计学意义($P<0.05$);血清 VEGF 表达阳性患者中急性淋巴细胞白血病复发病例 16(16/31,51.62%)例,血清 VEGF 阴性患者中未见急性淋巴细胞白血病复发病例;骨髓 VEGF 表达阳性患者中检出急性髓性白血病复发病例和急性淋巴细胞白血病复发病例各 17 例,骨髓 VEGF 阴性患者中未见急性白血病的复发病例。见表 2。

2.3 治疗后 1 年随访血清和骨髓 VEGF 水平 两型急性白血病复发者的血清和骨髓 VEGF 水平均高于缓解者,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 3。

表 1 各组血清、骨髓 VEGF 表达水平比较

项目	<i>n</i>	血清 VEGF ($\bar{x}\pm s$)	骨髓 VEGF ($\bar{x}\pm s$)	血清 VEGF 阳性率 [<i>n</i> (%)]	骨髓 VEGF 阳性率 [<i>n</i> (%)]
急性髓性白血病组(pg/mL)	38	254.65 $\pm$ 99.87*	70.44 $\pm$ 31.90	33(86.84)	35(92.11)
急性淋巴细胞白血病组(pg/mL)	35	275.65 $\pm$ 96.55*#	100.00 $\pm$ 35.77#	31(88.57)	33(94.29)
急性白血病患者	73	265.87 $\pm$ 97.97*	82.76 $\pm$ 32.44	64(87.67)	68(93.15)
对照组	80	127.43 $\pm$ 40.22	—	0(0.00)	—

注:与对照组比较,* $P<0.05$;两种类型的白血病患者之间比较,# $P<0.05$;"—"表示该项无数据。

表 2 治疗后 1 年随访复发情况[*n*(%)]

复发情况	血清 VEGF 阳性	血清 VEGF 阴性	骨髓 VEGF 阳性	骨髓 VEGF 阴性
急性髓性白血病复发	19(57.58)*	1(20.00)	17(48.57)	0(0.00)
急性淋巴细胞白血病复发	16(51.62)	0(0)	17(51.52)	0(0.00)

注:与血清 VEGF 表达阴性者比较,* $P<0.05$ 。

表 3 治疗后 1 年随访血清和骨髓 VEGF 水平比较($\bar{x}\pm s$,pg/mL)

预后情况	急性髓性白血病复发	急性髓性白血病缓解	急性淋巴细胞白血病复发	急性淋巴细胞白血病缓解
血清 VEGF	364.61 $\pm$ 92.82*	132.54 $\pm$ 46.87	365.87 $\pm$ 96.27*	133.43 $\pm$ 44.54
骨髓 VEGF	367.66 $\pm$ 95.59*	134.49 $\pm$ 41.02	359.89 $\pm$ 98.52*	132.76 $\pm$ 46.08

注:与同类型缓解比较,* $P<0.05$ 。

3 讨 论

肿瘤细胞的特征之一就是无限制增生,其生长以及增殖需

要依赖于新生血管形成。既往研究对于新生血管的探索主要集中于实体肿瘤,近年来有学者发现^[6-7],在血液系统恶性肿瘤

中也有类似机制存在, VEGF 作为调控新生血管增殖形成的重要调控因子, 在大部分恶性血液病细胞中呈现高表达状态。VEGF 的高表达促进了血管新生及新生血管的自分泌与旁分泌, 进而加速了肿瘤细胞增殖, 同时还具有抑制细胞凋亡的功能。既往研究提示^[8-10], 在实体肿瘤中当肿瘤直径大于 2 毫米时, 肿瘤的生长和增殖就要依赖于新生血管的形成, 所以血管生成与肿瘤的生长浸润以及预后的复发转移等均存在一定的关联, 但是新生血管的形成以及相关作用机制在血液肿瘤研究当中尚处于起步阶段。虽然有研究报道^[11-12]提示二者存在关联, 但关联程度等细节还有待更多研究提供依据。

本研究中急性白血病患者治疗后 1 年随访, 血清 VEGF 表达阳性组中急性髓性白血病复发病例检出 19 例, 阴性患者中检出 1 例, 阳性患者中复发比例明显高于阴性患者; 其他的血清 VEGF 表达阳性患者和骨髓 VEGF 表达阳性患者中同时检出多例复发病例, 而阴性患者中均未发现复发病例, 印证了 VEGF 表达与白血病发生之间存在的关联。同时, 本研究还发现治疗后 1 年随访测定血清和骨髓 VEGF 水平, 两型急性白血病复发者的血清和骨髓 VEGF 水平均明显高于缓解者, 表明在缓解状态下 VEGF 表达可出现下降趋势, 而复发状态下水平更高, 表明了血清与骨髓中的 VEGF 表达增高可以预测白血病复发风险。

综上所述, 血中及骨髓细胞中的 VEGF 水平均可在急性白血病的初诊以及复发时表现出高表达状态, 而在缓解状态下表达水平免贵性下降, 特别是在复发状态下, 表达水平相对更高, 提示了外周血与骨髓中 VEGF 表达水平有助于预测白血病复发风险。

参考文献

- [1] 张文菊, 弓文秀. 形态学及化学染色早期诊断急性白血病 1 例[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(19): 2920-2920.
- [2] 唐雪, 肖剑文. 急性早前 T 细胞淋巴细胞白血病研究进展

[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(20): 3027-3029.

- [3] 王海玲, 阮林海, 赵小强. 急性白血病中 OPN, VEGF 的表达以及与血管新生关系[J]. 中国实验血液学杂志, 2011, 19(4): 926-929.
- [4] 张育, 顾健, 王敏, 等. 白血病患者血管新生及相关因素研究[J]. 中华血液学杂志, 2005, 26(3): 175-178.
- [5] 叶琇锦, 王丽君, 林茂芳, 等. 急性白血病患者骨髓血管新生的研究及临床意义[J]. 中华内科杂志, 2003, 42(7): 486-489.
- [6] 高玉萍, 董平, 刘永, 等. WT1, VEGF 基因在急性白血病患者外周血中的表达及其意义[J]. 医学临床研究, 2015, 32(12): 2454-2456.
- [7] 贺今, 纪春岩. NOTCH, VEGF 信号通路在急性髓性白血病发生及血管新生中的作用[J]. 中国临床研究, 2016, 29(4): 558-559.
- [8] 何晓娟, 尹列芬. 血管内皮细胞生长因子靶向治疗急性髓系白血病的研究进展[J]. 中国综合临床, 2016, 32(7): 659-661.
- [9] 刘学文, 白学琴, 韩轩茂, 等. 急性白血病治疗前后骨髓中 VEGF、CTGF mRNA 水平的研究[J]. 肿瘤防治研究, 2015, 42(4): 359-362.
- [10] 郭霞, 李强. 急性白血病发病机制研究进展[J]. 实用儿科临床杂志, 2005, 20(7): 690-693.
- [11] 马丽萍, 廖鹏军. 初诊老年急性髓性白血病患者预后因素分析[J]. 循证医学, 2015, 15(2): 83-85.
- [12] 陈颖, 王瑾, 刘元昉, 等. 急性白血病患者化疗前后外周血 IL-2, TNF- α 和 VEGF 水平变化及与临床预后的关系[J]. 现代生物医学进展, 2015, 15(20): 3892-3894.

(收稿日期: 2017-06-26 修回日期: 2017-08-10)

(上接第 3287 页)

- 疫球蛋白及 T 淋巴亚群的影响[J]. 海南医学院学报, 2017, 23(4): 553-559.
- [4] 王树红, 庞保东, 曹丽华, 等. 奥卡西平对癫痫患儿细胞免疫功能调节作用的研究[J]. 中国现代医学杂志, 2011, 21(10): 1261-1263.
- [5] 沈晓明, 王卫平, 常立文, 等. 儿科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 396-397.
- [6] Ito Y, Natsume J, Kidokoro H, et al. Seizure characteristics of epilepsy in childhood after acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion[J]. Epilepsia, 2015, 56(8): 1286-1293.
- [7] 朱晓华, 陈强, 柯江维, 等. 支气管肺炎患儿免疫功能变化的临床分析[J]. 中国当代儿科杂志, 2013, 15(3): 175-178.
- [8] 李平甘, 杨炼红, 罗向阳. 免疫球蛋白对 Landau-Kleffner 综合征疗效分析(附 1 例报道)[J]. 岭南急诊医学杂志, 2008, 13(4): 257-259.
- [9] 谢文锋, 严海燕, 曾华, 等. 癫痫患儿外周血 CD19⁺B、CD20⁺B 淋巴细胞和自然杀伤细胞的检测及意义[J]. 中华神经医学杂志, 2011, 10(9): 914-918.
- [10] Golombeck KS, Bonte K, Monig C, et al. Evidence of a

pathogenic role for CD8(+) T cells in anti-GABAB receptor limbic encephalitis[J]. Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm, 2016, 3(3): e232.

- [11] 李晚狄, 季伟, 尤海章, 等. EV71 型手足口病患儿细胞免疫变化[J]. 临床儿科杂志, 2012, 30(6): 525-527.
- [12] 陈京, 林涛. 肾母细胞瘤患儿外周血调节性 T 细胞和自然杀伤 T 细胞的表达研究[J]. 中国当代儿科杂志, 2016, 18(12): 1222-1226.
- [13] 庞迪舟, 檀卫平, 蓝丹. 哮喘患儿外周血 CD3⁺TCR α 24 + NKT 细胞亚群分析[J]. 免疫学杂志, 2014, 30(5): 441-446.
- [14] 梁俊娟, 乔晓红, 谢晓恬. 骨髓 NKT 细胞活性与儿童再生障碍性贫血相关性研究[J]. 同济大学学报(医学版), 2016, 37(2): 35-39.
- [15] 李春, 马维宁, 王华. 癫痫患儿外周血中调节性 T 细胞的变化及其临床意义[J]. 中国当代儿科杂志, 2011, 13(11): 889-891.
- [16] Nowak M, Bauer S, Haag A, et al. Interictal alterations of cytokines and leukocytes in patients with active epilepsy[J]. Brain Behav Immun, 2011, 25(3): 423-428.

(收稿日期: 2017-07-12 修回日期: 2017-09-11)